



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OOFEREKTOMİZE DIŞI SIÇANLARDAN
İZOLE EDİLMİŞ TORASİK AORT ÜZERİNE
CAPE (CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER)'İN
VASKÜLER ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.SERPİL ÇEÇEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Rauf Onur EK

AYDIN- 2010

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OOFEREKTOMİZE DIŞI SIÇANLARDAN
İZOLE EDİLMİŞ TORASİK AORT ÜZERİNE
CAPE (CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER)'İN
VASKÜLER ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.SERPİL ÇEÇEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Rauf Onur EK

AYDIN- 2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilimsel gelişmelere açık, akademik bir ortamda çalışmamız için bilgi, tecrübe ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli sayın hocalarım; başta Anabilim Dalı başkanımız Doç. Dr. Rauf Onur EK olmak üzere, Doç. Dr. Yüksel YILDIZ, emekli hocamız Yrd. Doç. Dr. Sadun TEMOÇİN'e teşekkürü borç bilirim.

Bu tez çalışmasının tamamlanmasında büyük katkıları olan; tez danışmanı hocam, Sayın Doç. Dr. Rauf Onur EK'e, Sayın Doç. Dr. Yüksel YILDIZ'a, Kalp ve Damar Cerrahisi hocalarımız Sayın Doç. Dr. Mehmet BOĞA ve Doç. Dr. Erdem Ali ÖZKISACIK'a, yine Kalp ve Damar Cerrahisi bölümünden asistan arkadaşım Arş. Gör. Dr. Selim DURMAZ'a teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve bilgi paylaşımında bulunduğum Arş. Gör. Dr. Hakan ÖZKAYRAN'a, Arş. Gör. Dr. Filiz GÖKALP'e, Arş. Gör. Dr. Özlem ÖZ'e, Arş. Gör. Harun BAŞOĞLU'na, Arş. Gör. Dr. Salih COŞKUN'a, tüm asistan arkadaşlarıma ve deney hayvanları bakıcısı Sevinç TOMBUL'a teşekkür ederim.

Ayrıca tüm eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, değerli aileme sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	Sayfa I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
RESİMLERİN DİZİNİ	VII
1- GİRİŞ	1
2- GENEL BİLGİLER	2
2.1. Menopoz Tanımı	2
2.2. Menstrüel Siklus	4
2.2.1 <i>Ovaryel Siklusun Folliküler Fazı</i>	5
2.2.2. <i>Ovulasyon</i>	7
2.2.3. <i>Ovaryel Siklusun Luteal Fazı</i>	8
2.2.4. <i>Uterus Döngüsünün Proliferatif Fazı</i>	8
2.2.5. <i>Uterus Döngüsünün Sekretuar Fazı</i>	9
2.2.6. <i>Menstrüasyon</i>	10
2.3. Menopozda Oluşan Nöroendokrin Değişimler	10
2.4 Menopozda Oluşan Klinik Değişimler	13
2.4.1. <i>Vazomotor Bulgular</i>	14
2.4.2. <i>Nöropsikolojik Bulgular</i>	14
2.4.3. <i>Östrojenlerin Nörotransmitterler Üzerine Etkileri</i>	16
2.4.6. <i>Östrojenin Nöroprotektif Etkileri</i>	18
2.5. Menopozda Görülen Psikolojik Bozukluklar	19
2.6. Menopozda Kalıcı Bulgular	20
2.6.1. <i>Reproduktif Sistemde Oluşan Değişiklikler</i>	20
2.6.2. <i>Üriner sistem Değişiklikleri</i>	22
2.6.3. <i>Meme</i>	22
2.6.4. <i>Deri</i>	22
2.6.5. <i>Kemik</i>	23
2.6.6. <i>Kardiyovasküler Sistem</i>	24
2.7. Tedavi	27
2.7.1 <i>Alternatif Tedavi Yöntemleri</i>	28

2.8. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)	30
2.9. Endotel	34
2.10.Nitrik Oksit (NO)	35
2.10.1 NO'in Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri	39
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER	42
3.1. Deney Hayvanları	42
3.2. Ooferektomi	42
3.3. Gruplar	44
3.4. Organ Banyosu	44
3.5. İstatistiksel Analiz	47
3.6. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	48
4- BULGULAR	49
5- TARTIŞMA	54
6- SONUÇ	60
7- ÖZET	61
8- SUMMARY	63
9- KAYNAKLAR	65

TABLolar

Tablo I : Nöropsikolojik belirtiler	15
Tablo II : Östrojenlerin etkilediği nöropeptidler	16
Tablo III : Torasik aort gevşeme yüzdelerinin ortalama, standart sapma, standart hata ve minimum-maksimum değerlerinin tablo olarak gösterilmesi	49

ŞEKİLLER

Şekil 1 : Menstrüel siklusta folliküler büyüme	6
Şekil 2 : Ovulasyon	7
Şekil 3 : Menstrüel siklus süresince hormon düzeyleri	8
Şekil 4 : Menstrüel siklusda endometrium değişiklikleri	9
Şekil 5 : Kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in kimyasal yapısı	32
Şekil 6 : Sağlam endotelin yapısı	34
Şekil 7 : Endotelden salınan nitrik oksitin etki mekanizması	37
Şekil 8 : Endotel hücresinde (EC) ve vasküler düz kas hücresinde (VSMC) NO'nun ve/veya S-nitrozotiyollerin (RSNO) sentezi, depolanması ve salınımı ile ilgili mekanizmalar	38
Şekil 9 : Süperoksit (O ₂ ⁻) iyonunun Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Nitrik oksit (NO) ile oluşturduğu reaksiyonlar	41
Şekil 10 : Torasik aort gevşeme yüzdelerinin ortalama, standart hata ve minimum maksimum değerlerine göre grupların karşılaştırılmasının grafiksel olarak gösterilmesi	50
Şekil 11 : Organ banyosu çalışmasını gösteren grafik (CAPE 10 µMol ile)	51
Şekil 12 : Banyo 3' de endoteli sağlam, banyo 4' de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 10 µ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları	51
Şekil 13: Banyo 1' de endoteli sağlam, banyo 2' de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 100 µ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları	52
Şekil 14 : Banyo 1' de endoteli sağlam, banyo 2' de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 300 µ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları	52
Şekil 15 : Banyo 3' de endoteli sağlam, banyo 4' de endotel hasarı oluşturulmuş aortada vehicle (%30 luk ethanol) verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları	53

SİMGELER VE KISALTMALAR

WHO :	World Health Organization
CAPE:	Caffeic Acid Phenethyl Ester
FSH:	Folikül Stimulan Hormon
LH:	Luteinizan Hormon
GnRH:	Gonadotropin Releasing Hormon
NPY:	Nöropeptid Y
GABA:	Gamaamino Butirik Asit
TRH:	Tirotropin Releasing Hormon
CGRP:	Calcitonin Gene-related Peptide
CRF :	Cortikotropin Releasing Faktör
NO:	Nitrik Oksit
REM:	Rapid Eye Movement
MAO :	Monoamino Oksidaz
IGF-I:	Insulin-like Growth Factor 1
Vit D:	Vitamin D
PTH:	Paratiroid Hormon
Ca :	Kalsiyum
HERS:	Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
WHI:	Women's Health Initiative
cGMP:	Siklik Guanozin Monofosfat
NOS:	Nitrik oksit sentaz
MAP-Kinaz :	Mitojen- Aktive Protein Kinaz
RAAS :	Renin- Angiotensin- Aldosteron
ACE :	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
VEGF :	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
HRT :	Hormon Replasman Tedavisi
LDL :	Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL :	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
COX :	Siklooksijenaz
MDA :	Malonildialdehit
SOD :	Süperoksit Dismutaz

CAT :	Katalaz
GSH-Px :	Glutasyon Peroksidaz
TNBS :	Trinitrobenzen Sülfonik Asit
MPO :	Myeloperoksidaz
GSH:	Redükte Glutasyon
NF- κ B :	Nükleer faktör- κ B
i NOS :	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
EDRF :	Endotel Bağımlı Gevşetici Faktör
e NOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
n NOS :	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NADP :	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
BH ₄ :	Tetrahidrobiopterin
PDRF :	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
TNF- α :	Tümör Nekrozis Faktör α
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
c AMP :	Siklik Adenozin Monofosfat
KCL :	Potasyum Klorür
L-NAME :	N-Nitro- L- Arginin Metil Ester

RESİMLER

Resim 1 : Ooferektomi işlemi	43
Resim 2 : Ooferektomi sonrası çıkartılan ovaryumlar	43
Resim 3 : Organ banyosu seti	45
Resim 4 : Torasik aortanın çıkartılması	46
Resim 5 : Çıkartılan torasik aorta (Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde)	46
Resim 6 : Çıkartılan torasik aortanın halkalara ayrılması	47

1- GİRİŞ VE AMAÇ:

Kadın, doğumundan ölümüne kadar belirli süreçlerden geçerek hayatını tamamlamaktadır. Kadın yaşamının önemli bir bölümünü oluşturan menopoza süreci ortalama yaşam süresinin artması sonucu tanımlanmaya başlanmıştır. Çok eski çağlarda adı bile bilinmeyen menopoza günümüz kadınının önemli bir dönemi olarak ele alınmaktadır. Kadın hayatının yaklaşık 1/3 nü bu dönemde geçirmekte ve bu döneme özgü sorunlarla baş etme yollarını aramaktadır (1).

Menopoz kadın hayatının önemli bir dönüm noktasıdır. Çünkü doğa kurallarına göre üretmek için var olan kadın bu önemli yeteneğini artık kaybetmekte, kendini yaşlanmış, işe yaramaz bir varlık olarak düşünmeye başlamakta ve depresyon, anksiyete, irritabilite gibi psikolojik problemleri ortaya çıkmaktadır.

WHO tanımına göre menopoza, menstrüasyonun kalıcı olarak sonlanmasıdır. Böylece bu dönemde kadın için önemli olan östrojen artık yoktur ve bu hormonun eksikliği önemli sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir (2).

Östrojen hormonunun eksikliğinin en klasik bulgusu olan sıcak basmaları sıklıkla çarpıntı ve korku hissi ile beraberdir (3). Sıcak basması (hot flush) tanımı ilk kez eski Mısır'lılar tarafından dile getirilmiştir. Ancak kadınların hepsinde görülmemektedir. Örneğin Japon kadınların % 80'inden fazlasında görülmemektedir. Bu da Japonlar'ın diyetinde bulunan yüksek orandaki fitoöstrojenlerden kaynaklanmaktadır (4). Ayrıca uyku bozuklukları, ürogenital sistemde, kardiyovasküler sistemde, kemik dokuda, santral sinir sisteminde değişiklikler ortaya çıkmaktadır (3). Östrojen metabolizmasındaki düşme sonucu semptomların başladığı andan, geçiş sürecinin bittiği ve semptomların kaybolduğu ana kadar olan dönem 'klimakterium' dönemi olarak adlandırılmaktadır (5). Tedavide eksik olan östrojen hormonunun yerine konulması ve ilk tercih olarak düşünülmesi temel prensiptir (6).

Östrojenin kimyasal sentezi 1920'lerde gerçekleştirildi, 1935'de ilk kez menopozdaki vazomotor semptomların östrojen ile tedavi edilebileceği bildirildi. Albright ve arkadaşları osteoporozda östrojenin yararlı etkilerini gözlemlediler. 1966'da Robert A. Wilson 'Feminine Forever' (Daima Kadın) adlı kitabında menopozdan 'iyileştirilebilir bir hastalık durumu' olarak bahsetmekteydi (7).

Günümüzde menopoza ve tedavisi oldukça güncel ve tartışmaların sürdüğü bir konudur. Yapılan çalışmalar hormon replasman tedavisinin yani eksik olan östrojen

hormonunun yerine konulmasının yaşam süresini ve kalitesini artırdığı yönündedir. Ancak östrojenin kontrendike olduğu durumlarda menopoza bağlı gelişebilecek değişimleri engellemek ya da östrojen replasmanına yardımcı olmak amacıyla bazı ilaçlar kullanılabilir. Tibolon, kalsitonin, fitoöstrojenler bu ilaçlardan bazılarıdır (6).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda CAPE'in immünmodülatör, antiinflamatuvar, antioksidan, vazorelaktan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmamızda CAPE'in menopoz tedavisinde östrojene alternatif bir tedavi seçeneği olup olamayacağının araştırılması istenmiştir.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. . Menopoz Tanımı:

Menopozun tam kelime karşılığı, adet kanamasının kalıcı olarak kesilmesidir. Fakat uygulamada bu terim, kadın hayatının en son adet kanamasına verilen özel bir isim şeklinde de kullanılmaktadır (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) önerdiği ve yaygın olarak kullanılan tanıma göre 'ovaryum aktivitesinin yitilmesi sonucunda menstrüasyonun kalıcı olarak sonlanması'dır. Menopoz sözcüğü Yunanca men (ay) ve pausis (sonlanma) sözcüklerinden köken almaktadır. Ovaryan fonksiyonların kesilmesi sonucu adetlerin daimi olarak kesilmesi şeklinde tarif edilir ve fizyolojik olarak folliküler fonksiyonların kaybına bağlı olarak ortaya çıkan östrojen sekresyonunda azalma ile ilişkilidir (2). Bazı araştırmacıların inancına göre menopoz, uzamış yaşam süresinin bir yan etkisidir (3).

Menopoz belirli bir anda gerçekleşmekle birlikte bu olaya kadar olan çeşitli değişiklikler yıllarca öncesinden başlamaktadır. Menopoz aslında retrospektif olarak tanımlanan bir kavramı vurgular. Eğer bu dönemdeki kadın bir yıl süreyle adet görmemişse, gördüğü son adete menopoz denir ve kadın için 'menopoza girmiş' söylemi kullanılır (2).

Menopoz, genelde klimakterium diye adlandırılan, kadın yaşamının reproduktif çağı ile yaşlılık dönemi arasında yer alan 40 ile 65 yaşları arasındaki süreyi kapsayan dönemde, bir kilometre taşıdır (4). Klimakterium sözcüğü Yunanca 'merdiven' anlamına gelen sözcükten türemiştir (5).

WHO klasifikasyonuna göre klimakterium: Premenopoz, menopoz ve postmenopoz olmak üzere üç bölümde incelenir.

Premenopoz; Menopozal geçiş dönemini ifade eder. Bu dönem ilk menopoz semptomlarının görüldüğü klimakterium başlangıcından, son adet zamanına kadar devam eder (4). Overlerde yetmezlik başladıktan sonra menopozu kadar geçen s reye premenopoz denir (5).

Menopoz; Son adet kanamasını ifade eder.

Postmenopoz; Menopoz ile başlayan 65 yaşına kadar devam eden süreyi kapsar.

Perimenopoz; Menopoz bulgularının başlaması ile başlayan ve menopozdan sonraki bir yıllık süreyi kapsayan dönemdir (4).

. Bazı yazarlara göre perimenopoz, son adetin (menopoz)  ncesi ve sonrasında, bu olayı çevreleyen dönemdir (5).

Klimakterium, kadın yaşamının reproduktif dönemi ile yaşlılık dönemi arasında yer alan, overdeki morfolojik ve fonksiyonel değişimlere bağlı olarak hormonal dengenin farklılaşması sonucu ortaya çıkan semptomlar ile karakterize bir geçiş dönemidir (6).

Klimakterium, kadının tıpkı p berte gibi fizyolojik bir dönemidir. Bu dönemde reproduktif ağ bitmekte ve overler fonksiyonlarını yitirmekte ve kadın için doğurma yeteneğinin kaybolduğu yeni bir dönem başlamaktadır. Kadınlarda bu süreç, bir takım erken ve geç belirtilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Son yıllarda bu dönem için kullanılan terimlerde bir kavram karmaşası olduğu, herkesçe kabul edilmekte ve tartışılmaktadır. Genel olarak, östrojen metabolizmasındaki düşme sonucu semptomların başladığı andan, geçiş sürecinin bittiği ve semptomların kaybolduğu ana kadar olan dönem klimakterium olarak isimlendirilmektedir (5).

Hiç kuşku yok ki, overlerin fonksiyonu menopoz için esastır. Overlerde gonadotropinlere cevap veren folliküllerin tükenmesi, östrojen sekresyonundaki azalmadan ve menstrüel kanamaların kesilmesinden sorumludur (7).

Ovaryan fonksiyonların kaybı ile ortaya çıkan menstrüasyonun kesilmesi normal yaşlanma sürecinin doğal bir olaydır. Menopoz yaşı genetik olarak belirlenmiştir ve ortalama 51' dir. Irk ve beslenme durumu ile ilişkisi görülmemektedir. Menopoz doğum yapmamış kadınlarda, sigara içenlerde ve histerektomi geçirenlerde erken oluşur (2). Yaşam süresinin uzaması nedeniyle kadınların hayatlarının yaklaşık 1/3'  postmenopozal dönemde geçmektedir (8). Ülkemiz için menopoz yaşı çeşitli yayınlarda 46-47 olarak bildirilmiştir. Türkiye Menopoz Derneği tarafından 2000 yılında ülkemiz genelindeki merkezlerden elde edilen verilere bakıldığında, Türkiye'deki menopoz yaşının 46,4 olduğu anlaşılmaktadır.

Devlet İstatistik Enstitüsünün altıncı beşyillik kalkınma planı nüfus öngörülerine göre, 2000 yılında toplam kadın nüfusumuz 34.576.300 ve 45 yaş üzeri kadın nüfusumuz 6.851.100' dür. Ortalama yaşam süresi kadınlar için 72,24'dür. Bu verilere göre kadın nüfusumuzun yaklaşık 1/5' i menopoza sonrası dönemdedir ve yaşamlarının yaklaşık 25 yılını menopoza döneminde geçireceklerdir (5).

Klimakterium başlama yaşı 40 ve üzeri kabul edilmektedir. Daha önce görüldüğünde 'Erken Menopoz' ya da 'Prematür Menopoz' olarak adlandırılır ve bu grup, tüm menopozların yaklaşık % 4 kadarını oluşturur. Adet kanamaları devam etmekte olan bir kadında herhangi bir nedenle over fonksiyonları durdurulursa, bu duruma 'İatrojenik Menopoz' denir. Bu olay ya cerrahi olarak overlerin çıkartılması (cerrahi menopoz) ya da radyasyon veya kemoterapi ile meydana gelebilir (1).

Fizyolojik olan, fakat yaşamı tehdit edici ve yaşam kalitesini bozucu patolojik olaylarla birlikte seyreden klimakterium dönemi, bu özelliğinden dolayı tedavi edilmesi gereken bir süreç olarak değerlendirilmelidir (6).

2.2. Menstrüel Siklus :

Kadının normal üretkenlik yıllarında, cinsel hormonların salgı hızındaki aylık ritmik değişimlere uygun olarak, yumurtalıklar ve cinsel organlarda değişimler görülür. Bu ritmik kalıba cinsel döngü veya menstrüel döngü adı verilir. Döngü Süresi yaklaşık 28 gündür. Bazı kadınlarda bu süre 20 gün kadar kısa veya 45 gün gibi uzun dönemler içinde değişebilir (9). Menstrüel döngünün en belirgin özelliği, uterus mukozasının dökülmesine bağlı olan aralıklı vaginal kanamadır (menstrüasyon). Döngünün günleri, genel olarak menstrüasyonun birinci gününden başlamak üzere numaralanarak tanımlanır (10).

Kadın cinsel döngüsünde iki önemli sonuç ortaya çıkar. İlk olarak, normalde her ay yumurtalıklardan yalnız tek bir olgun yumurta serbestlenir ve her defasında tek bir fetus gelişmeye başlar. İkinci olarak, uterus endometriyumu, ayın belirli günlerinde, döllenmiş yumurtanın yerleşmesi için hazırlanır (9).

Normal menstrüel siklus ovaryel ve uterin siklus şeklinde iki bölümde incelenebilir. Ayrıca ovaryel siklus folliküler ve luteal fazlara, uterin siklus ise bunların karşılıkları olan sırasıyla proliferatif ve sekretuar fazlara bölünebilir (2).

Menstrüel siklus sürecinde ovaryumdaki değişiklikler tamamen ön hipofiz bezinden salgılanan gonadotropik hormonlar, FSH ve LH'a bağlıdır. Hipotalamustan 90

dakikada bir pulsatil tarzda salgılanan GnRH hipofiz bezini etkiler. GnRH bir dekaeptiddir ve hipofiz portal sisteminden ön hipofize gelerek FSH ve LH salınımını stimüle eder (11). Gonadotropik hormonlarla uyarılmayan yumurtalıklar inaktif durumdadır. Bunu gonadotropik hormonların hemen hiç salgılanmadığı çocukluk döneminde görebiliriz. 9-12 yaşlarında hipofiz giderek daha çok FSH ve LH salgılamaya başlar, 11-15 yaşlar arasında aylık menstrüel siklusun başlamasıyla en yüksek düzeye ulaşır (9).

FSH ve LH glikoprotein yapısındadır. FSH siklusun folliküler fazındaki follikül olgunlaşmasını stimüle eder. Aynı zamanda LH ile birlikte olgun oositlerin granüloza hücrelerinden özellikle östrojen olmak üzere steroid hormonların sekresyonunu stimüle eder. LH, ovulasyon için esansiyel rol oynar, siklusun ortasında LH pikinin olmasıyla ovulasyon gerçekleşir. Ayrıca corpus luteumdan progesteron salınımını stimüle eder (11).

2.2.1 Ovaryel Siklusun Folliküler Fazı :

Ovaryum üç katmandan meydana gelir, dıştaki katman kortekstir, germinal epitelyum ile kaplıdır, her biri bir follikül içinde bulunan oositler bu tabakadadır. Bunları saran stromada bağ dokusu elemanları ve interstisyel hücreler bulunur. Diğer iki katman medulla ve hilustur.

Overdeki temel üreme birimi folliküldür. Follikül, granüloza ve teka hücrelerinin meydana getirdiği bir küme tarafından sarılmış bir oositten meydana gelmiştir (5).

Kız çocukları doğduklarında, ovaryumlarında bulunan her bir yumurta, tek tabaka halinde granüloza hücreleri ile kuşatılmış primordiyal folliküller şeklinde bulunur. Puberte sonrasında, ön hipofiz bezinin büyük miktarda FSH ve LH salgılamasıyla, her iki over folliküllerle beraber büyümeye başlar (9).

Folikül gelişiminde ilk aşama, ovumun genişlemesiyle çapının iki-üç kat artmasıdır. Daha sonra, folliküle yeni granüloza hücre tabakalarının eklenmesi ile yapının primer follikül özelliği kazanması ile büyüme olayı sürer (9).

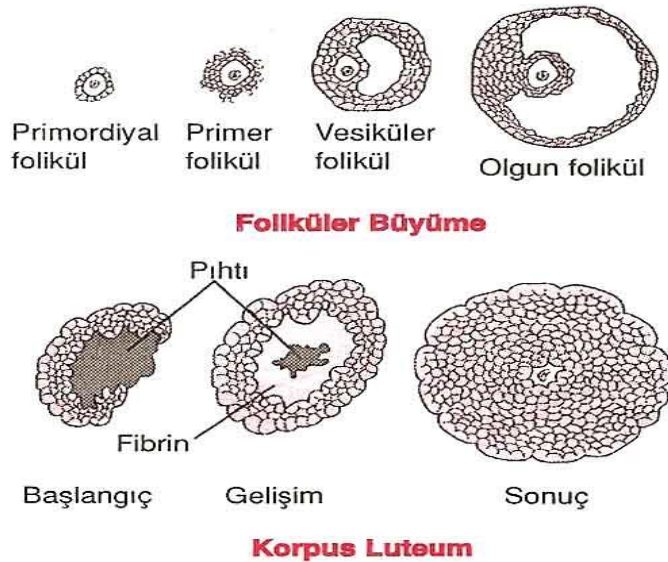
Siklusun başlangıcında FSH ve LH seviyeleri göreceli bir şekilde artar (11). FSH artışı LH'a göre daha fazladır ve 6- 12 primer follikülün büyümesini hızlandırır (9). Primer follikülün büyümeye devam etmesi ile granüloza hücreleri 1-2 tabaka oluştururlar. Bu safhada 'zona pellucida' denen oositi çevreleyen ve oosit tarafından salgılanan glikoprotein bir tabaka oluşmuştur. Yine bu aşamada oosit çapında artış olur ve sekonder follikül adını alır. Büyümesini sürdüren folliküldeki granüloza hücrelerinin sayıları giderek artar ve giderek

büyüyen oositin çevresini çok sayıda tabakalar halinde çevreler, ‘teka’ hücreleri belirginleşir, bu aşamaya ‘preantral follikül’ denir (6). Teka tabakası teka interna ve teka externa olarak farklılaşır. Bu devrede follikül büyümesi gonadotropinlere bağımlıdır. Hangi follikülün dominant follikül olarak seçileceği bilinmemektedir, ancak seçilen follikül teka internanın farklılaştığı ve vaskülaritenin arttığı folliküldür (5).

Bir hafta veya daha uzun süreli büyüme olayından sonra, ovulasyon öncesinde, folliküllerden bir tanesi daha fazla büyümeye başlar, geriye kalan 5-11 gelişmiş follikül küçülür, bu olaya atrezi adı verilir. Atrezi olayının, yalnız bir follikülün ovulasyona yararlı olacak şekilde büyümesini sağlama yönünden önemi açıktır. Ovulasyon anında bu follikülün çapı 1- 1,5 santimetreye ulaşır ve ‘olgun follikül’ adını alır (9).

Gelişen dominant follikül folliküler fazın sonuna doğru periferik dolaşımda yükselen östradiolün primer kaynağıdır. Bu östradiol endometriumu implantasyona hazırlar, preovulatuvar gonadotropin pikini sağlar ve dominant follikül seçimine etki eder (5).

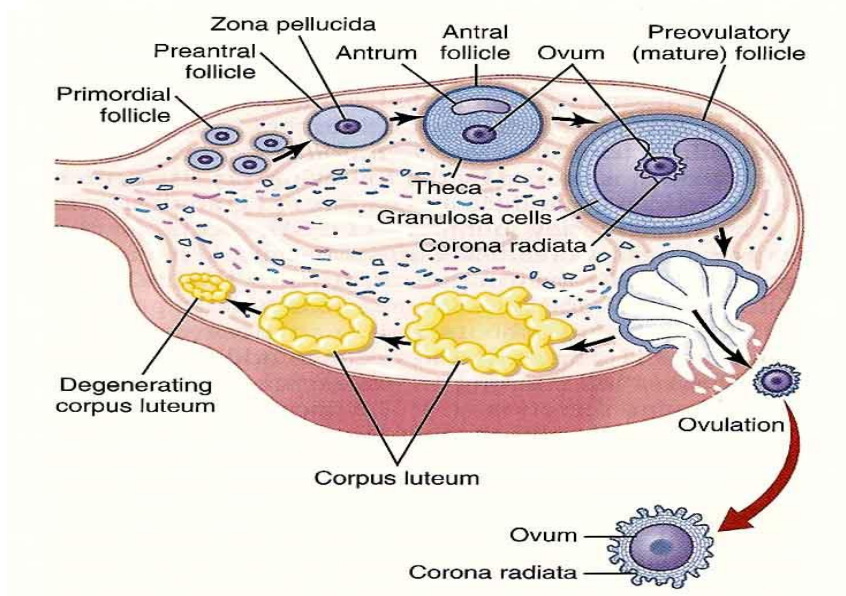
Özetle; Her yeni siklus başında, primordial folliküllerden bir bölümü, preantral ve antral gelişme sürecine katılmakta, aralarından biri (olgun follikül) ön plana geçerek diğerlerini atrezi ile saf dışı bırakmaktadır. Olgun follikül ürettiği östrojen ve ‘inhibin’ ile FSH salınımını azaltmakta ve kısıtlı FSH’ yı sadece kendisi kullanmaktadır (Şekil 1) (12).



Şekil 1 : Menstrüel siklusta folliküler büyüme (9)

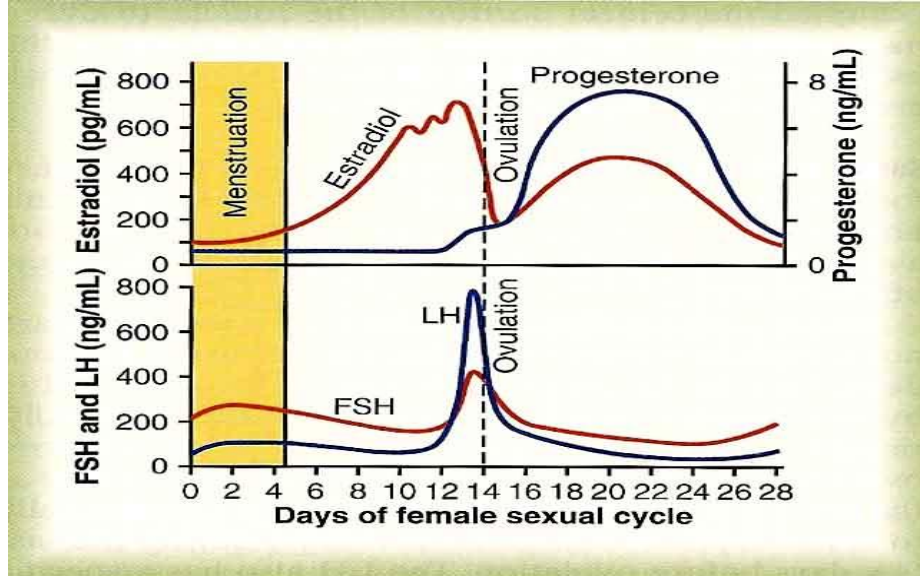
2.2.2. Ovulasyon :

Cinsel döngüsü normalde 28 gün olan bir kadında ovulasyon, adet kanamasının başlangıcından 14 gün sonra gerçekleşir. Ovulasyondan kısa bir süre önce, follikülün dış duvarı kabarır, ‘stigma’ denilen meme başı gibi bir çıkıntı yapar, yarım saat kadar sonra follikül sıvısı stigmadan dışa doğru sızmaya başlar. İki dakika kadar sonra follikül sıvı kaybı nedeniyle küçülürken stigmada büyük bir yırtık oluşur ve follikülün merkez bölgesinde bulunan yoğun sıvı karın boşluğuna dökülür. Bu sıvı, ‘korona radyata’ adı verilen, binlerce küçük granüloza hücreleriyle kuşatılmış ovumu içerir (9). Bu ovulasyon işlemidir (Şekil 2). Ovum fallop tüplerinin fimbriyal uçları tarafından alınıp uterusu taşınır ve döllenme gerçekleşmezse, vajinadan dışarı atılır (10).



Şekil 2 : Ovulasyon (9)

Ovulasyondan yaklaşık iki gün önce henüz tam bilinmeyen nedenlerle LH salgısı belirgin şekilde yükselir, ovulasyondan 16 saat önce 6- 10 katlık bir artış olur (Şekil 3). FSH da iki-üç kat artar, iki hormon birlikte etki ederek ovulasyon öncesi follikülün şişmesini sağlar. LH ayrıca granüloza ve teka hücrelerini etkileyerek bu hücreleri daha çok progesteron, daha az östrojen salgılayan hücrelere dönüştürür. Bu nedenle, ovulasyondan yaklaşık bir gün önce östrojen salgısı azalırken progesteron salgısı artar (9).



Şekil 3: Menstrüel siklus süresince hormon düzeyleri (9)

2.2.3. Ovaryel Siklusun Luteal Fazı :

Yırtılan folikülden geriye kalan materyal *corpus luteum* denen yeni bir endokrin birim üretir (5). Corpus luteumda çok yoğun bulunan granüloza hücreleri büyük miktarlarda progesteron ve östrojen salgılar (9). Granüloza hücreleri LH etkisiyle hipertrofiye olur, sitoplazmalarında yağ damlaları belirir, 'lutein' hücrelerine dönüşür. Döllenme olmazsa 14 günlük yaşam süresini takiben corpus luteum geriler, buna luteoliz denir, bu olayda granüloza ve teka hücreleri nekroza uğrar, damarsız bir nedbe dokusu halini alır (5). Buna *corpus luteumun involüsyonu* denir. İnvolüsyon olayı corpus luteumun yaşamının 12. gününde, siklusun 26. gününde, adet kanamasının başlangıcından iki gün önce gelişir (9). Yeni oluşan dokuya *corpus albicans* denir (10). Östrojen ve progesteron düzeyi azalır, menstrüasyon başlar. Östrojen ve progesteronun azalmasıyla, bu hormonlarca FSH ve LH üzerine yapılan inhibisyon kalkar ve bu hormonların artmaya başlamasıyla yeni bir menstrüel siklus başlar (9).

2.2.4. Uterus Döngüsünün Proliferatif Fazı :

Uterusun işlevi gelişmekte olan fetusa doğuma kadar ev sahipliği yapmak ve beslenmesini sağlamaktır. Uterus, stromal hücreler ve endometrium adlı özgül bir muköz tabakayla kaplı bir boşluğu sarmalayan müsküler bir organdır. Her adet döngüsünün folliküler evresinin başında uterus örtüsü dökülür ve dolayısıyla bu evrede gebelik ürününü kabul edemez (13). Endometriumun yüzeyel 2/3 lük bölümü proliferatif olan ve gebelik

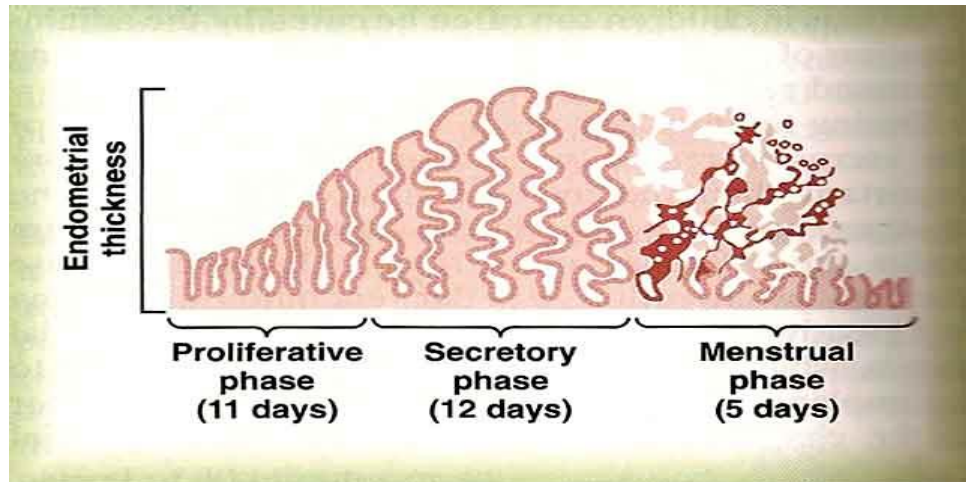
oluşmadığında atılan bölümdür. Bu bölüm *desidua fonksiyonalis* adını alır ve stratum spongiosum ve stratum compactum tabakalarından oluşur. *Desidua basalis* endometriumun en derin bölümü olup her ay proliferasyona uğramamaktadır. Her menstrüasyondan sonra oluşan endometrial rejenerasyonunun kaynağını oluşturmaktadır (2).

Aylık yumurtalık döngüsünün ilk döneminde artan östrojenlerin etkisi ile stromal ve epitelyal hücreler hızla proliferasyona uğrar. Menstrüasyon başlangıcında, 4-7 gün içinde endometrial yüzey yeniden epitelyum hücreleriyle örtülür. Daha sonra endometrium kalınlığı artar, stromal hücre sayısı çoğalır, endometrial bezler büyür, yeni kan damarları oluşur ve ovulasyon anında kalınlık yaklaşık 3-4 mm olur. Bu sırada servikal bölgedeki endometrial bezlerden salgılanan mukus, spermeleri uterusu doğru yönlendirecek uygun kanalları oluşturur (9).

Artan östrojen FSH salgısını baskılar, östrojen salgısı belli bir düzeye gelince LH salgısını uyarır, 24-36 saat sonra ovulasyon meydana gelir (5).

2.2.5. Uterus Döngüsünün Sekretuar Fazı :

Ovulasyondan sonra progesteron üretimi endometrial bezlerde sekretuar değişikliklere neden olur (11). Bezlerde kıvrımlar artar, glandüler epitelyum hücrelerinde salgı maddeleri, stroma hücreleri sitoplazmalarında ise lipid ve glikojen birikir. Ayrıca endometriumu besleyen kan miktarı artar, kan damarları kıvrımlı hale gelir. Ovulasyondan yaklaşık bir hafta sonra endometriumun kalınlığı 5-6 mm olur (Şekil 4). Bütün bu değişimlerin nedeni döllenmiş ovum için uygun ortamı hazırlamaktır (9).



Şekil 4 : Menstrüel siklusda endometrium değişiklikleri (9)

2.2.6. Mestriasyon :

Gebelik görülmez ve corpus luteum gerileyecek olursa, östrojen ve progesteron üretiminin bir anda ortadan kalkması spiral arterler ve uterus kaslarında spazmodik kasılmalara neden olur. Bu etkilerin olası aracısı lokal lökotrien ve prostaglandinlerin üretimidir (13). Vazospazm, endometrium beslenmesinde azalma ve hormonal uyarının ortadan kalkmasıyla endometrium damarlarında nekroz gelişir. Zamanla endometriumun nekroze dış tabakaları hemorajik bölgelerde uterustan ayrılır, dökülmeye başlar, bu olaya menstrüasyon denir (Şekil 4) (9).

Menstrüel kan baskın olarak arteryeldir, sadece % 25'i venöz orijinlidir. Doku pıhtıları, prostaglandinler ve fibrinolizin içerir. Fibrinolizin pıhtıyı eritir ve böylece menstrüel kan normal olarak akıntı çok fazla olmadıkça pıhtı içermez (5).

Normal menstrüasyon süresince, 40 ml kan ve 35 ml seröz sıvı kaybedilir. Menstrüasyondan dört veya yedi gün sonra kan kaybı durur, çünkü bu süreç içinde endometrium yeniden reepitelize olur (9).

2.3.Menopozda oluşan nöroendokrin değişimler

Menopoz, her ne kadar son adet kanaması olarak adlandırılrsa da temel endokronolojik değişimler yaklaşık 10 yıllık bir süreci kapsamaktadır. Hassas endokronolojik değişimler, menopozdan sekiz yıl önce gerçekleşir. Bunun menstrüel siklus düzenine yansımaları ise yine menopozdan dört yıl önce görülür. Fakat başlangıç değişimlerini tespit etmek her zaman mümkün olmaz. Çünkü tespit edilebilen değişimler, menopoza yakın zamanda ve ani olarak ortaya çıkar (1).

Menopoz, ovaryumdaki follikül rezervinin tükenişinin kaçınılmaz bir sonucudur ve ovaryum yetmezliğinin fizyolojik bir formu olarak değerlendirilebilir (5). Kadınlarda cinsel yaşam süresince, yaklaşık 400 primordial follikül veziküler folliküle dönüşerek ovulasyonu sağlar. Yaklaşık 45 yaşlarında FSH ve LH ile uyarılabilecek ancak birkaç primordial follikül kalmıştır. Primordial folliküllerin sayısı sifıra yaklaşırken overlerde östrojen yapımı da azalır (9). Östrojen üretiminin azalması hipotalamustaki negatif feed-back mekanizmayı etkiler ve sonuçta zaman içinde önce FSH, daha sonra da LH yükselir. FSH yükselmesine bağlı folliküler faz kısalır, daha sonra overlerde FSH'ya direnç artar ve folliküler faz uzar. Bu dönemde menstrüel siklus bozuklukları görülebilir. Östrojen düzeyinin düşmesiyle LH piki ve dolayısıyla ovulasyon olamaz (15). FSH da 10- 20 kat, LH da ise üç

kat bir artış olmakta ve menopozdan yaklaşık bir-üç yıl kadar sonra en yüksek seviyelerine ulaşmaktadırlar, sonra bu gonadotropinlerin her ikisinde de kademeli hafif azalmalar görülmektedir. FSH ve LH daki yükselmeler ovaryan yetmezliğin kanıtıdır. FSH seviyesi LH dan biraz daha yüksektir, çünkü LH'nın kandan temizlenme hızı daha fazladır (LH yarı ömrü 20 dakika, FSH üç-dört saat) (14). Ovaryumlarda artık östrojen yapılamaması, hormonun etkili olduğu sistemlerde yıkıcı etkilere yol açar ve bir eksiklik sendromu ortaya çıkar .

İlk endokronolojik değişimler, estradiol, progesteron ve inhibin düzeylerinde azalma ve FSH salınımındaki artıştır. Bu esnada LH üretimi, reproduktif dönemdeki ile aynıdır (5). Yapılan çalışmalar, bu dönemde hipofiz arkuat nukleusundan salınan GnRH seviyelerinde herhangi bir değişimin olmadığını göstermektedir (6).

FSH'nın yükselmesi, rezistansın daha başlangıçta olduğu overlerde multifoliküler değişim meydana getirir. Bu olayın sonucunda östradiol üretimi artar ve folliküler faz kısalır. Bu durum siklus süresinde klinik açıdan tespit edilemeyen belli belirsiz kısaltmaya neden olur (1).

Inhibin FSH salınımını azaltan over kaynaklı nonsteroid maddedir ve over fonksiyonlarının en iyi belirleyicilerinden birisidir (6,15). FSH normalde inhibin salınımını uyarır ancak klimakterium döneminde inhibin düzeyleri azaldığı için FSH salınımını baskılayıcı etkisi ortadan kalkar, östradiol seviyesi normale dönse bile FSH inhibisyonu yeterince olmaz (6).

Overlerdeki direnç ilerleyici olduğu için daha sonraki dönemlerde folliküler gelişim, FSH'nın yükselmesine rağmen yavaşlar ve folliküler faz uzamaya başlar. Bu ise siklus süresini uzatır ve başlangıçta belirgin olmayan bu uzama, süre ilerledikçe belirgin olmaya başlar. Bu dönemlerde FSH'daki yükselme ve inhibin düzeylerindeki azalma belirginleşmiştir. Ancak yinede serum estradiol seviyelerinde azalma olmayabilir (5). Menopoz öncesi estradiol seviyesi 50- 300 pg/ ml arasında değişir (2).

Daha ileri dönemlerde overlerde direncin daha da ilerlemesi ile follikülogenez tamamen yavaşlar ve estradiol sentezi, ovulasyonu sağlayan LH pikine izin vermeyecek seviyelere iner. Böylece anovulatuvar sikluslar ortaya çıkar. FSH'nın yanı sıra LH seviyelerinde de artış başlar ve bu artış 40 IU /L ye ulaştığında ise follikül gelişiminin tamamen durduğu görülür. Cerrahi menopozlarda ise, serum FSH ve LH değerleri postmenopozal düzeye yaklaşık bir ay sonra ulaşır (5).

Reproduktif dönemde siklus gününe göre 40-450 pg/ml arasında değişen estradiol seviyeleri postmenopozal dönemde 10- 20 pg/ml ye düşer. Ortalama 24 saatlik salınım miktarları ise 350 µg'dan 45 µgr'a düşer ve bunun büyük bir kısmı, estronun ekstraglandüler periferik konversiyonundan üretilir (1).

Estron başlıca androstenedionun periferik dönüşümünden elde edilir. Postmenopozal kadında dolaşımdaki estron seviyesi estradiolden yüksektir yaklaşık 30-70 pg/ml dir (14). Yani postmenopozal kadında baskın östrojen estron formundadır (6). Albümine zayıf olarak bağlandığı ve seks hormon bağlayıcı globüline bağlanmadığı için estradiole göre daha hızlı klirens sahiptir (2).

Genç bir kadında progesteronun major kaynağı ovarian corpus luteumdur. Siklusun folliküler fazında progesteron seviyesi düşüktür, ovulasyon ile seviyesi anlamlı ölçüde artar, corpus luteumun sekretuar aktivitesini yansıtır. Postmenopozal kadında fonksiyonel folliküller olmadığı ve ovulasyon oluşmadığı için progesteron seviyesi düşüktür, folliküler fazdaki konsantrasyonunun yalnızca % 30 u kadardır (16). Reprodüktif yıllar boyunca, progesteron endometriumu, primer olarak östrojen reseptörlerini ayarlayarak fazla östrojen stimülasyonundan korur. Progesteronun östrojenin endometrium üzerine trofik etkisini inhibe eden direkt intranükleer etkisi de vardır (2).

Dolaşımdaki östrojen düzeylerinin menopoz öncesi ve bazı postmenopozal kadınlarda endometriumu stimüle edecek derecede yüksek olması nedeniyle, endometriumun karşılanmamış stimülasyonu menopoz öncesi ve sonrası oldukça sık görülen bir problemdir ve menopozdan hemen önce ve sonra bulunan artmış endometrial hiperplazi ve kanser riskini açıklar. Progesteron yokluğunda memede karşılanmamış östrojen stimülasyonunun meme kanseri gelişiminde rol oynadığı hipotezi vardır (2).

Reproduktif yaşam süresince ana ovaryan androjen androstenediondur, gelişen folliküllerin major sekretuar ürünüdür. Menopoz ile dolaşımdaki androstenedion konsantrasyonunda yaklaşık yarı yarıya azalma görülmektedir ve bu durum folliküler aktivitenin yokluğunu yansıtmaktadır. Postmenopozal kadında androstenedionun üretim hızı yaklaşık 1,5 mg/24 saat ve premenopozal üretimin yarısı kadardır. Bu androstenedionun kaynağı çoğunlukla adrenal gland olmakla birlikte %20 kadarı ovaryumlardan sekrete edilmektedir (16).

Androstenedionun tersine testosteron seviyesi, premenopozal kadındakinden minimal oranda düşüktür. Menopozal dönemde testosteron üretim hızında %28 oranında

ölçülebilir bir azalma olmaktadır, 250 µg/24 saat iken 180 µg/24 saat hızına düşmektedir. Testosteronun günlük üretim hızındaki azalma nonovaryan kaynaklardan üretimin azalması nedeniyle. Nonovaryan kaynaklardan üretim hızı %75 iken menopozda %60 civarına düşmektedir. Ovaryan testosteron üretim hızında ise gonadotropinlerin artması nedeniyle %25-40 oranında bir artış olmaktadır (17). Böylece total androstenedion miktarı azalıp periferik testosteron üretimi düşse bile bunu over stromasından salgılanan testosteron kompanse eder. Birkaç yıl devam eden bu yükselme daha sonraları tekrar azalır. Böylece puberte ile birlikte artan seksüel kıllanma, libido, kemik yoğunluğu, adale kütlesi ve immün gelişim gibi androjen ile ilgili özelliklerin tümü, menopozdan sonra gerileme göstermektedir (1).

İlerleyen yaşla birlikte adrenal androjenlerden dihidroepiandrosteronda %60, dihidroepiandrosteron sülfat da %80 oranında azalma olmaktadır. Bu azalmanın menopozla mı yoksa yaşla mı ilişkili olup olmadığı henüz tam belirlenememiştir. Bu iki androjenin temel kaynağı adrenal glanddır ve ovaryan katkı %25'den daha azdır. Dihidroepiandrosteron ve dihidroepiandrosteron sülfattaki belirgin azalma adrenal androjen sekresyonundaki değişimleri yansıtmaktadır (16).

2.4 Menopozda oluşan klinik değişimler

Kadınların yaklaşık olarak %70-80'inde östrojen yetmezliği semptom ve bulguları ortaya çıkmaktadır. Klimakteriumda over fonksiyonlarının bozulmasıyla beraber östrojen eksikliğine bağlı semptomlar hemen ortaya çıkar. Buna rağmen, kadına postmenopozal dönemde ağır morbidite ve mortalite yükleyen kardiyovasküler hastalıklar ve osteoporoza bağlı patolojiler geç dönemde ortaya çıkmaktadır (15).

Klimakteriumda bulgular;

- 1- Erken dönemde ortaya çıkan akut geçici bulgular
 - A) Vazomotor bulgular
 - B) Nöropsikolojik bulgular
- 2- Geç dönemde ortaya çıkan kalıcı bulgular
 - A) Reprodüktif sistemde
 - B) Deri
 - C) Kemik
 - D) Kardiyovasküler sistemde görülen bulgular

2.4.1. Vazomotor bulgular:

Klimakteriumun karakteristik semptomu olup görülme sıklığı % 60- 85 arasında değişmektedir (5). Ateş basması, terleme, çarpıntı ve bazen de bunu takip eden titremeden ibarettir. Vücudun üst yarısında yüzde, kollarda, ellerde, ani başlayan ateş basması, yüzün kızarması, bunu takiben, yüz, boyun ve gövdede terleme ile karakterizedir. Bazen titreme ile birlikte olabilir. Hastaya rahatsızlık veren hoşnut olmayan geçici bir bulgudur. Bu sıcak basma hissi bazen çarpıntı ile birlikte olur (4). Kadının psikolojik yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte, sıklığı günde 20'ye kadar varabilen ve yaklaşık iki-dört dakika süren nöbetler halinde görülür. Bu frekans geceleri artış gösterir ve uyku düzenini etkiler (6). Sigara içenlerde içmeyenlere göre prevalansı daha fazladır. Sigaranın östrojen metabolizmasını artırarak antiöstrojen etki yaptığı düşünülmektedir (18). Semptomlar, olguların bir bölümünde bir- üç yıl sürmekle birlikte %57'inde beş yıla kadar, % 10 unda ise 15 yıldan uzun süre devam edebilir (6).

Vazomotor semptomların nedeni hakkında birçok teori öne sürülmüş olmasına rağmen kesin bir sonuca ulaşılamamıştır. Bazıları, vücut ısı ayar noktasının düşürülmesi, LH yükselmesi, GnRH sekresyonunun artması, sex steroidlerinin santral nörotransmitterlere etkisi, östrojen ve progesteron çekilme teorileridir (4). Etiyolojisi tam açıklığa kavuşmamış olsa da önemli bir gerçek, bu olayın östrojendeki azalma ile birlikte ortaya çıkması ve östrojen tedavisine süratle cevap vermesidir (5).

2.4.2.Nöropsikolojik bulgular:

Menopoza giren kadınlarda, menopozla birlikte bazı nöropsikolojik belirtiler olmaktadır. Bu belirtiler şahsın yapısına, sosyokültürel faktöre, egzersiz, diyet, etnik faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu belirtiler; (4)

Tablo I : Nöropsikolojik belirtiler

- depresyon	- konsantrasyon kaybı
- uykusuzluk	- dikkatsizlik
- konfüzyon	- toplumdan uzaklaşma
- hafıza bozukluğu (unutkanlık, verbal hafıza kaybı)	- güvensizlik
- endişe, panikleme	- olaylardan çabuk etkilenme
- beğeni kaybı	- ağlama, ağlama isteği
- sinirlilik, irritabilite	- yorgunluk, halsizlik
- genel isteksizlik	- iştah değişimleri
	- instabilite, günü gününe uymama

Nöropsikolojik belirtilerin mekanizmalarını açıklayabilmek için sex steroidlerinin beyin, immun beyin bariyer sistemi, X-kromozomu ve nörotransmitterler ile arasındaki ilişkiler bilinmelidir.

- *Sex steroidleri- beyin ilişkisi*; Sex steroidleri glia hücreleri üzerine etkilidir. Glia hücreleri lokal bir nöroaktif steroid meydana getirirler ve bunlar nöroprotektif etki gösterir. Glia hücreleri androjenleri östrojenlere çeviren aromataz enzimini içerirler. Lokal olarak meydana gelen estradiol nöroprotektif etki göstererek dejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmalarda oluşan reaktif gliosis ve lokal iltihabı azaltırlar (19).

- *İmmün beyin bariyer sistemi (IBBS) ve sex steroidleri*; Beyin immun bariyerini oluşturan komponentlerden biri östrojenlerdir. Östrojenler beyinde homeostazisi sağlar ve protektif rol oynarlar (20).

- *X kromozomları ve sex steroidlerinin beyin üzerine etkisi*; Yaşlanma ile ilgili olarak tüm beyin dokusunda frontal ve temporal loblarda doku kaybı incelendiğinde, erkeklerde bu kayıp kadınlardan fazladır. Hipokampus ve parietal loblarda ise kadınlarda kayıp daha fazladır.

Yapılan çalışmalarda, erkeklerde hipokampusta yaşla ilgili bir azalma görülmezken, kadınlarda belirgin bir metabolik azalma saptanmıştır. Yine erkeklerde sol hemisferde metabolizma azalması, sağ hemisferden daha fazla olduğu halde, kadınlarda metabolizma kaybı simetrik olarak bulunmuştur (21).

Beynin hafıza fonksiyonu ile ilgili bölgesi olan hipokampusta, östrojenlerin sinaps ve dentritik yoğunluğu artırdığı ve artışın estradiol kan seviyesi ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (22).

Sex steroidlerinin beyin üzerine olan etkileri genomik ve nongenomik olmak üzere iki şekildedir. Klasik genomik mekanizmalarda, steroidler nöronlar üzerine uzun süreli, yavaş etki edip spesifik intrasellüler reseptörleri aktive edip gen transkripsiyonunu ve protein sentezini modüle ederek etki ederler. Bu şekilde sex steroidleri noradrenalin, dopamin, serotonin, asetilkolin, β -endorfin, NPY, GABA, melatonin, TRH, CGRP ve GnRH'nin ekspresyonunda rol oynarlar (23).

Nongenomik hızlı bir etki göstererek elektriksel excitabilite, sinaps fonksiyonu ve morfolojik özellikleri kontrol ederler.

Bu iki fonksiyon ile sex steroidleri nöroendokrin sistem ve santral sinir sistemi fonksiyonlarını modüle ederler. Sex steroidleri bu şekilde hipotalamustaki nöronları etkileyerek hot flush, terleme, obezite, hipertansiyona neden olurken, limbik sistemi de etkileyerek duygudurum değişiklikleri, anksiyete, depresyon, uykusuzluk, baş ağrısı kognitif fonksiyon değişikliklerine neden olurlar (24).

2.4.3.Östrojenlerin Nörotransmitterler Üzerine Etkileri :

Santral sinir sisteminin muhtelif yerlerinde östrojen, progesteron ve androjenlerle ilgili reseptörler bulunmaktadır ve bu reseptörler beyni etkilemektedirler. Nöronlardaki intrasellüler reseptörleri aktive ederek gen transkripsiyonu ve protein sentezini sağlamaktadırlar. Bu nöron ve nöropeptidler tablo 2'de verilmiştir (23).

Tablo II : Östrojenlerin etkilediği nöropeptidler

1- Nöropeptid Y (NPY)	7- CRF
2- Noradrenalin	8- GABA
3- Dopamin	9- Melatonin
4- Serotonin	10- GnRH
5- Asetil kolin	11- TRH
6- β - endorfin	12- CGRP

Nöropeptid Y (NPY): Östrojenler hipotalamusta, median eminens ve arkuat nükleusta NPY sentez ve salınımını artırır (25). NPY’de GnRH ve gonadotropinlerin pulsatil sekresyonlarını sağlayarak nöroendokrin mekanizmayı düzenlerler. Santral davranış üzerine etkilidirler ve hipotalamus β -endorfin seviyelerini de artırır (26).

Kolinerjik sistem: Kolinerjik sistemin ana merkezi ön beyin bazal kısmında bulunan nöronlardır. Bu nöronların nükleuslarında sex steroidlerine ait reseptörler bulunmaktadır. Östrojenler bu reseptörleri aktive ederler ve asetil kolin sentezinde rol oynarlar. Kolin asetil transferaz, asetil kolin sentezinde, asetil kolin esterazda asetil kolin yıkımında rol oynar. Östrojenler kolin asetil transferaz sentezini artırır. Oluşan asetil kolinin de hipokampus ve frontal beyne transportunu sağlar (27, 28).

Noradrenerjik sistem: Noradrenerjik sistemin inhibisyonunun mental performansı azalttığı ve öğrenme yeteneğini düşürdüğü, aksine östrojen verilerek bu sistemin aktivasyonunun ise hafızayı iyileştirdiği ileri sürülmüştür (29, 30). Östrojenlerin ve progesteronun noradrenalin salınımını artırdığı bunun da hipotalamus ventromedial nöronlarının exitabilitesini artırdığı gösterilmiştir (31).

Serotonerjik sistem : Erkek ve kadında farklılıklar gösterir. Dişi sıçanlarda, hipotalamus, korteks, hipokampus, ön beyin ve rafe’de serotonin sentezi erkek sıçanlardan fazla bulunmuştur (32). Östrojenler serotonin miktarını artırır. Bunu serotonin katabolize eden monoaminooksidaz enziminin parçalanma hızını artırarak yapar (27). Ayrıca östrojen plazma albuminine bağlı olan triptofanın ayrılıp serotonin dönmek için hazır hale gelmesini sağlar (33). Östrojenin diğer bir özelliği de serotonin reseptörlerini up-regüle eder (34).

Dopaminerjik sistem: Östrojenin dopamin sistemi üzerine etkisi bazı çalışmalarda dopaminerjik, bazılarında ise antidopaminerjik olarak bildirilmiştir (35). Östrojen eksikliğinde, katekolaminerjik nöronlarda noradrenalin sekresyonunun arttığı, dopamin salgılanmasının azaldığı gösterilmiştir. Östrojen verilmesinde ise, hipotalamustan noradrenalin salgılanmasını azalırken, dopaminerjik aktivitenin arttığı gösterilmiştir (36).

Östradiol median eminense dopamin salgısını inhibe ederken striatumda dopamin aktivitesini artırır. Preoptik septal dokuda dopamin geri alınımını artırırken, hipotalamusta azaltır (37). Substantia nigradaki dopaminerjik nöronlardan, tip A’da aktiviteyi artırırken, tip B de azaltır (35). Dopamin seviyelerinin, depresyonda önemli rol oynadığı, bu hastalarda düşük seviyelerde olduğu bildirilmiştir (38).

Monoamino oksidaz: Bu enzim serotonin, norepinefrin, dopamin gibi monoamin nörotransmitterlerini metabolize eder (39). Menopozda östrojen eksikliğinde, monoaminooksidaz aktivitesi artar. Östrojen verildiğinde hipotalamus ve amigdal'de monoaminooksidaz aktivitesi azalır. Deprese olan kadınlarda, östrojen verilerek %60 oranında yüksek olan monoaminooksidaz seviyeleri azaltılabilir (40).

GABA: Menopozla birlikte, östrojen azlığına bağlı olarak gama-amino butirik asit (GABA) seviyeleri düşer. Ooforektomi yapılmış sıçanlarda östradiol verildiğinde, santral sinir sisteminde GABA reseptörleri up regüle olur ve GABA seviyeleri artar (41).

Opioid aktivitesi: β -endorfinler vücutta bulunan en etkin ve aktif opioid maddedir. Menopozda, östrojen eksikliği ile birlikte, hipotalamusta endorfin seviyelerinde bir azalma görülür. Östrojen verildiğinde β -endorfin aktivitesinin arttığı görülür (42). Bu madde analjezik bir özellik gösterir, ayrıca davranış ve termoregülasyon üzerinde de önemli rol oynarlar (43). Bir nevi, nöroendokrin fonksiyonların bir belirleyicisidir. Duygudurum değişikliğinden sorumludur. Noradrenalin, dopamin, serotonin, asetil kolin, GABA, CRF (Cortikotropin releasing faktör)'nin, β -endorfin seviyelerinin ayarlanmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir (44).

2.4.6.Östrojenin Nöroprotektif etkileri ;

- Östrojenler antioksidan olarak etki ederler (45)
- Östrojenler nörotrofinler (sinir büyüme faktörü) üzerinden etki ederek sinir büyümesini stimüle ederler (46)
- Östrojenler NO (nitrik oksit) yapımını artırarak beyin kan akımını artırır (47)
- Östrojenler hipokampus nöronlarında glukokortikoidlerin yaptığı tahribatı önlerler (48)
- Östrojenler serbest radikal üreten bazı toksinlere (glutamat vs.) karşı ve nöronal β -amiloid üretimini azaltarak nöroprotektif etki ederler
- Alzheimerde azalan kolinerjik fonksiyonu artırır
- Depresyonda azalan serotonerjik aktiviteyi artırır
- Şizofrenide artan dopaminerjik aktiviteyi azaltır (49).

2.5.Menopozda görülen psikolojik bozukluklar:

Uyku bozuklukları, depresyon ve kognitif bozukluklar olmak üzere üç bölümde incelenir.

A) Uyku bozuklukları: Uykusuzluk (insomnia) menopoz yaklaştıkça ve menopozda artar (50). Owen ve Mathews kadınların yaklaşık %42 sinde uykusuzluk olduğunu bildirmiştir (51). Menopozla birlikte uykunun başlamasında ve devamında bozukluk olduğu, subjektif uyku kalitesinin azaldığı, total uyku zamanı ve uyku etkinliğinin azaldığı, uyku esnasında apne ve hypopne insidansının arttığı bulunmuştur (52). Menopozla birlikte REM (rapid eye movement) uykusunun azaldığı da gösterilmiştir. Östrojenler REM uykusunu düzeltirler (53). Uykuya geçişi kolaylaştırır ve uykunun REM fazını hem sayı hem de süre olarak artırır. Progesteron metaboliti olan progesteronun sedasyon yapıcı etkisi olduğu ve non-REM uykuda artış yaptığı gösterilmiştir (54).

B) Depresyon: Depresyonun en önemli nedenlerinden biri östrojen eksikliğidir. Östrojen eksikliğinde, serotonin ön planda olmak üzere, dopamin, norepinefrin, GABA, β -endorfin seviyelerinde azalma, monoaminooksidaz, β -adrenerjik reseptörler seviyelerinde artma olur. Serotoninerjik sistem depresyonun oluşmasında, duygudurum değişikliğinde, uykusuzlukta, sexüel faaliyet bozukluğunda önemli rol oynar (55). Östrojenler serotonin yapımı için gerekli triptofan yapımındaki enzimleri aktive ederek ve triptofanın serumda bağlı olduğu albümininden ayrılmasını, böylece serotonin yapımı için serbestleşmesini sağlayarak serotonin sentezini artırır. Ayrıca serotonin yıkımını MAO üzerinden inhibe ederek beyindeki serotonin miktarını artırır (56, 57, 58).

Menopozda östrojen az olduğundan, serotonin de azdır. Ancak bu azlık her zaman depresyon yapmaz. Hassas kişilerde ve ileri derecede serotonin azlığında depresyon olur. Östrojen verildiğinde bu geçer (59,60).

Depresyonda rol oynayan diğer önemli bir nörotransmitter dopamindir. Yüksek östrojen seviyelerinin, striatumda, dopamin aktivitesini artırdığını gösteren çalışmalar olduğu gibi kastre edilmiş sıçanlarda striatumdaki dopaminerjik aktivitede önemli artış varken, östrojen verilmesiyle bunun tersine döndüğünü gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (61, 62).

C) Kognitif fonksiyon, bellek ve hafıza bozukluğu: Östrojenlerin kognitif fonksiyon, bellek ve hafıza üzerinde pozitif etkileri olduğu bildirilmiştir. Beynin bellek açısından önemli olan hipotalamus ve limbik bölgelerinde östrojen nörotransmisyonun etkisini ve hızını artırmaktadır. Östrojenler kadınlarda verbal yetenek, algı hızı ve ince motor becerileri

etkileyen dentrit gelişimi ve sinaptik bağlantı üzerinde pozitif etki göstermektedir (63,64,65, 66).

Menopozda görülen diğer psişik bozuklukların temelinde de yine östrojen eksikliği yatmaktadır. Östrojenler yaptıkları vazodilatasyon ile beyne giden kan akımını artırarak, hem nöronların gelişim ve onarımına büyük katkılar sağlamakta, hem de nöropsikolojik bulguların ortaya çıkmasını engellemektedir.

Östrojen azlığında, beyne giden kan akımı azalır, nöronların onarımı yavaşlar, özellikle hipokampus ve limbik bölgelerde, dentritlerde, sinapslarda, sinir büyüme faktörlerinde, sinaptik yoğunlukta azalmalar olur. Bunların sonucu olarak değişik psişik bulgular ortaya çıkar. Östrojen verildiğinde ise bütün bu bulguların gerilediği görülür (4).

2.6. Menopozda kalıcı bulgular

2.6.1.Reproduktif Sistemde Oluşan Değişiklikler:

Östrojen eksikliğine bağlı olarak, özellikle östrojen reseptörü içeren pelvik ve ekstrapelvik dokularda fonksiyonel, metabolik veya organik değişiklikler ortaya çıkar (6). Menopozda reproduktif sistemi oluşturan dokularda olan temel olay atrofidir. Atrofide oluşan karakteristik özellikler; epitel kalınlığının azalması, vaskülarizasyon azalması, elastik doku dejenerasyonu, elastik lif kaybı, kollajen liflerin füzyonu, hyalinleşmesi, hücre hacminin azalması, dokuların incilmesi, organların küçülmesi, dış etkenlere karşı daha az dirençli olma ve kas kütlesi azalmasıdır (4).

Vulva: Östrojen eksikliği nedeniyle vulvada atrofi olur (4). Pubis kılları azalır, vulva derisi incelir ve parlak bir görünüm alır. Ciltaltı yağ dokusunun azalmasına bağlı olarak labium majuslar küçülür, labium minuslar ise hemen hemen kaybolur (6). Ayrıca vulva dış etkenlere oldukça hassas olur, çok çabuk irrite olur ve pruritis gelişir (4). Vulvada kaşıntı ile seyreden distrofiler, postmenopozal kadınlarda en sık görülen semptomlar arasındadır ve ileri evrelerde introitusta aşırı darlıklara neden olur (6). Genelde vulvadaki elastik lifler kaybolur, parçalanır, kollajen doku kaybolur, yağ dokusu azalmıştır. Bu durum sexüel faaliyetleri etkiler, sexüel frekans azalmasına neden olur. Ayrıca ekrin ve apokrin bezlerin epitelyumu incelir ve düzleşir, sebase bez sekresyonu azalır (67).

Vulvadaki atrofının klinik önemi, bu zeminden çıkması muhtemel olan ve ileri yaşlarda insidansı yükselen ‘squamöz hücreli karsinom’lardır (6).

Vagina: Östrojen kaybıyla, vagina soluklaşır, epiteli incilir ve sonuçta esnekliği ve salgısı azalır. Östrojen yetmezliğinde vagina çok kolay travmatize olur (7). Östrojen etkisiyle her siklusta vagina epitelinde parabazal hücrelerden süperfisial hücrelere doğru çoğalma görülmektedir. Vaginanın reproduktif dönemindeki çok katlı yassı epitel örtüsü bu şekilde muhafaza edilmektedir. Yüksek glikojen içeriği olan bu hücreleri kullanan Döderlein basilleri laktik asit üreterek 4.5- 5 arasında değişen vagina pH sınını oluştururlar (15). Östrojen eksikliği durumunda maturasyon indexi yapıldığında süperfisialden çok parabazal hücre hakimiyeti görülür. Vagina epitelinde minimal seviyede glikojen depolandığı ve buna bağlı olarak da laktobasil miktarının azaldığı, vagina pH'sının altı-sekiz düzeyine ulaştığı görülür. Flora bozulmuştur (68). Vaginadaki bu değişikliklere bağlı olarak tekrarlayan vajinitler ve dispareni ortaya çıkar (15).

Serviks: Uzunluğu ve çapı azalır. Fibromusküler stromanın azalması sonucu servix küçülür, silikleşir, adeta büzülür. Vaginaya doğru bir çıkıntı yapmaz. Fornixler kısalmıştır, kanal servikal daralır. Servikste atrofi sonucu epitel tabakası incilir. Endoservikal bezlerde de atrofi olur, mukus miktarı azalır (69). Postmenopozal dönemde servikal erozyon, ektopion ve ülser giderek sık görülür. Endoservikal bezlerden salgılanan mukus miktarının azalması vaginal kuruluğa yol açar (7).

Uterus: Büyük oranda östrojen reseptörü bulunduran myometrium ve endometrium tabakalarını içerdiği için, menopoz sonrası östrojen eksikliğinden en fazla etkilenen organdır. Çocukluk döneminde 1/2 olan corpus / servix oranı, erişkin dönemde 2/1 e ulaşır, menopoz sonrasında tekrar 1/1 e iner. Uterusun toplam ağırlığı 100 gramdan 50-60 grama düşer, yaşlılık dönemlerinde 25-30 gram olur. Myometriumdaki bu atrofi, aynı dokudan menşeyini almış fibroid tümörlerde de kendini gösterir ve menopozu takiben myomlarda küçülme beklenir (6).

Endometrium atrofiye uğrar ve damarlarda sklerotik değişimler meydana gelir, kalınlığı bir mm'ye kadar düşer. Bu atrofi ve damarlardaki değişimlere bağlı olarak hafif kanamalar olabilir (1). Bu tip endometriumlar bakterilere karşı hassas olduklarından infeksiyon riskinde bir artış vardır (4).

Tuba ve overler: Östrojen reseptörlerinin bulunduğu tüm organlarda olduğu gibi bu organlarda da atrofi gelişir (4). Tubaların uzunlukları ve çapları küçülür, lümenleri daralır, sekresyon ve hareket kabiliyetleri azalır. Siliyer yapıların şekil ve fonksiyonları bozulur (5). Overler küçülür ve sklerotik bir hal alır, pembe rengi beyaz hale gelir. Menopoz öncesi 3.5 x

2 x 1.5 cm olan over boyutları erken menopozda 2 x 1.5 x 0.5 cm, geç menopozda 1.5 x 0.75 x 0.5 cm olur (70).

Pelvis tabanı: Kas ve bağ dokusundan oluşmuştur. Östrojen reseptörlerinden zengin olan bu yapılar postmenopozal dönemde tonüs ve elastikiyetlerini kaybederler ve pelvis organlarını yerinde tutma özellikleri zayıflar. Sonuçta pelvis statığı bozulur, sistosel, rektosel, enterosel, uterus prolapsusu oluşması kolaylaşır (6).

2.6.2.Üriner sistem değişiklikleri:

Östrojen eksikliğine bağlı olarak atrofi oluşur. Genelde yaşlanma ile zaten üretrada bir değişiklik olur. Bunun sonucunda inkontinans, noktüri, dizüri görülebilir. Menopoz epitelyum ve vasküler yapıda atrofi yaparak üretrayı etkiler. Üretra elastik olmayan rijid bir boru halini alır (4).

Üroepitel bazal membranında plaklar halinde bulunan ve bariyer görevi yapan tip IV kollajen menopozda azalır. Bu da idrarın epitel altındaki dokuları irrite ederek sistite neden olmasını sağlar (71).

Menopozda bağ dokusu ve pelvis tabanındaki zayıflama, üretral kapanma basıncında meydana gelen önemli azalma ve postero-vesiko-üretral açının artması sonucu gerçek stres inkontinans oluşabilir (4).

2.6.3.Meme:

Hacmi ve boyutları küçülür, atrofi olur. Memenin sarkmasını engelleyen Cooper ligamentinin elastikiyeti kaybolur. Duktuslar küçülür, glandüler elemanlar azalır. Bu dokuların etrafındaki fibröz dokuda artış meydana gelir (72).

2.6.4.Deri:

Epidermis ve dermiste atrofi olur, bu dokular incelmeye başlar. Menopozda görülen bu atrofi özellikle foto-aging etkiyle de birleşerek güneşe maruz kalan bölgelerde daha belirgindir.

Postmenopozal dönemde görülen atrofi kollajen kaybına bağlıdır. Kollajen düzeyinin her yıl ortalama % 2.5 oranında azaldığı gösterilmiştir (73).

Deri kalınlığının azalmasının yanı sıra, deri kurur, kırıtır, ince kepekli bir hal alır, kolayca travmatize olabilir. Dermal papillalar kaybolur, kan damarları azalır, damarlar

skleroze olur. Ektrin, apokrin ve sebace bezlerde atrofi olur, bunların fonksiyonları azalır. Bu nedenle cilt kurur ve kaşıntı olur (4).

2.6.5. Kemik :

Kemik aktif bir organdır. Osteoklastik aktivite ile rezorpsiyonu, osteoblastik aktivite ile de kemiğin yapımı sürekli olarak devam etmektedir. Osteoblastlar kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerinden, osteoklastlar beyaz kan hücrelerinden köken alırlar. Sex steroidleri kemik gelişimine düzenleyici etki yaparlar (14).

Yaşlanma ile birlikte, kemikler de diğer dokular gibi yaşlanır. Östrojen eksikliği, kemiklerin yaşlanmasında önemli rol oynar. Yaşlanma ile beraber osteoporoz oluşur (4). Osteoporoz, minimal travmaya bağlı kırıklarla sonuçlanan ve düşük kemik kitlesi ile beraber kemiğin mikromimarisinin bozulduğu bir durumdur. Gelişmiş toplumlarda osteoporoz önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kadınların % 30-50'si ve erkeklerin %15-30'u osteoporoza bağlı kırıklara maruz kalmaktadır (74).

Postmenopozal osteoporoz ilk kez 1941 yılında Albright tarafından gündeme getirilmiştir. Menopozdan sonraki ilk beş- yedi yılda en fazladır. Kemik kaybı normalde % 75 kadında % 2 oranında normal olarak oluşurken, % 25 kadında ise %6 oranında hızlı bir kayıp olur. Bu tip osteoporozda omurga ve distal radius kırıkları en belirgindir. Trabeküler kemik kaybı normalden üç kat daha fazladır, kortikal kemik kaybı ise daha hafiftir. Trabeküler kemik kaybı nedeniyle akut çökmeler görülebilir (75).

Östrojen kırık oluşumunu azalttığı için osteoporoz tedavisinde kullanılabilir (74). Östrojenlerin direkt ve indirekt olarak osteoklastlara etki ettikleri gösterilmiştir. Östrojenler osteoklastlarda lizozomal aktiviteyi direkt olarak inhibe ederler, böylece rezorpsiyonu azaltırlar. Östrojenler aynı zamanda osteoblastlar üzerinden etki ederek osteoklastik faaliyette etkin olurlar. Şöyle ki ; osteoblast prekürsörlerinden çıkan osteoklast stimüle edici sitokinleri (IL-I, II, III, VI, XI) inhibe ederken, yine osteoblast prekürsörlerinden çıkan osteoklast inhibiting faktörleri ve aynı zamanda IGF-I 'i stimüle ederler. Böylece osteoklastik faaliyeti azaltırlar (75, 76) .

Östrojenin osteoblastlardaki D vitamini aktivitesini hızlandırdıkları gösterilmiştir (77). Östrojenler kalsitonin sentezini artırır, kalsitonin kemik rezorpsiyonunun güçlü bir inhibitörüdür. Östrojen PTH'nun kemik üzerine olan etkisini azaltır, osteoblastların PTH'a karşı duyarlılığını azaltır (4).

Östrojen eksikliği durumunda kemik rezorpsiyonu artar, yapımı azalır, kemik kitlesi azalır, serum ve idrar Ca^{+2} artar, PTH azalır, aktif D vitamini azalır, barsaktan Ca^{+2} absorpsiyonu azalır. Osteoporoz sonucu fraktür, kifoz, lordoz, intervertebral aralık genişlemesi, boy kısalığı ve balık vertebra oluşur (4).

2.6.6.Kardiyovasküler sistem:

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda östrojenlerin kardiyovasküler sistem üzerinde olumlu etkileri olduğu ve kardiyoprotektif bir etki gösterdiği yönündeydi. Ancak daha sonra yapılan HERS (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) ve WHI (Women's Health Initiative) gibi geniş kapsamlı çalışmaların ilk sonuçları ise böyle bir etkinin olmadığı şeklindeydi. Bu çalışmaların daha detaylı incelemelerinden elde edilen veriler, yaş faktörünün önemli olduğunu, hasta yaşının östrojenin etkilerinin pozitif yada negatif olmasında önemli rol oynadığını, ilk çalışmalarda bu gerçeğin göz ardı edilmesi sonucu negatif bulgular elde edildiğini göstermektedir (78,79,80).

Sex steroidlerinin vasküler sistem üzerine olan etkileri direkt ve indirekt olmak üzere iki şekildedir. Direkt etkileri vasküler sistemin normal yapıda olmasına ve aterom plakları ihtiva eden aterosklerotik yapıda olmasına göre farklılık gösterir.

Östrojenlerin normal yapıdaki vasküler sisteme olan direkt etkileri :

- Arteriel vazodilatasyon
- Aterosklerozun önlenmesi
- Angiogenez ve kolleteral oluşumunda artış
- Endotelial bağlantı yerlerinde modülasyonu sağlar, stabilizasyonu temin eder, myositleri ani osmolar değişikliğe karşı korur (81,82)

Östrojenin direkt etkileri nongenomik yol (akut) ve genomik yoldan (kronik) sağlanır.

Nongenomik yol;

a) Östrojenin nitrik oksit (NO) sentezini regüle ederek saniyeler, dakikalar içerisinde vazodilatasyon sağlamasıdır (83).

NO endotelial fonksiyonu ayarlayan en önemli etkidir. Endotel hücrelerinden salgılandıktan sonra difüzyonla altta bulunan vasküler düz kas hücrelerine ulaşır. cGMP üzerinden stimülasyon yaparak vasküler relaksasyonu sağlar (84). NO, L-Arginin'in nitrik oksit sentaz ailesi (NOS) tarafından oksidasyonu ile NO ve Citrulline dönüşmesi ile elde

edilir. Bu reaksiyon Ca^{+2} a bağılıdır. Östrojen bu olayı artırır. Transdermal ve oral östrojenlerin in vitro olarak koroner arter preparatlarında nitrik oksit sekresyon ve sentezini artırdığı gösterilmiştir (85). Hayvan deneylerinde NO sekresyonu dişilerde erkeklerden farklı bulunmuştur. Bu da östrojenler tarafından sağlanmaktadır (85,86).

Östrojen NO sekresyonunu birkaç yoldan ayarlar:

NO sentezinin artışı NOS (e-NOS) enzim aktivitesinin regülasyonu ve östrojenin antioksidan etkileri nedeniyle NO biyoaktivitesinin korunması ile sağlanır.

NO sekresyonunun regülasyonunda esas mekanizma östrojenle hızlı e-NOS (endotelyal-NOS) aktivasyonudur. Bu mekanizma genlerden bağımsız olup, membran reseptörleri, MAP-Kinaz (Mitogen-activated protein kinases) veya Tirozin kinaz'a bağlı yollardır (87,88). Primer mekanizma serin fosforilasyonudur. Bu Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlı değildir (89).

Diğer bir mekanizma heatschock protein 90 (hsp90) ile ilgilidir. Bu madde östrojen ile reaksiyona girer ve dinamik olarak e-NOS aktivitesini regüle eder (90).

Diğer bir NO aktivitesi regülasyon yolu, süperoksit iyon radikalleri ile NO degradasyonunun engellenmesidir. Östrojen süperoksit yapımını azaltır ve böylece NO'nun biyoaktivitesini artırır. Bu, östrojenin kuvvetli antioksidan etkisinden dolayıdır. (91).

b) Östrojenle vasküler duvarın vazomotor cevap reaksiyonu artar. Koroner arterlerde, ister sağlam olsun, isterse aterosklerotik olsun östrojen, asetil kolinin vazokonstriktör cevabını vazodilatasyona çevirir ve kan akımını artırır. Bu etkiyi NO ile yapar (92).

c) Postmenopozal kadınlarda uzun süreli östradiol tedavisi kan NO seviyesini değiştirmez (93). Ancak yapılan hayvan deneylerinde uzun süreli östrojen verilmesinin düz kas hücrelerinin NO'ya karşı reaktivitesini artırdığı ve hassas kıldığı gösterilmiştir (94).

d) Östrojen endotel hücrelerinde siklooksijenazı regüle ederek prostasiklin (PGI_2) sentezini kontrol eder (95). Bir araşidonik asit metaboliti olan prostasiklin, endotel hücreleri tarafından sentezlenir ve trombosit kümelenmesini, sekresyonlarını inhibe eder (74).

e) Endotelyal NO'su olmayan koroner arterlerde vazodilatasyon yapar. Bu muhtemelen Ca^{+2} 'ye bağlı mekanizmalarla olur. Bu alternatif yol Ca^{+2} 'ye bağlı potasyum kanallarının aktivasyonu ile olur ve buna endotele bağlı hiperpolarizasyon denir (EDHP) ve dokunun duvarını gevşetir (96).

f) Östrojen vazokonstriktör faktörleri inhibe eder. Şöyle ki; Endotelin I'in vazokonstriktör etkisini inhibe eder (97). Endotelinin artması; vasküler ve myokardial hipertrofi,

vazokonstriksiyon, RAAS (renin-angiotensin-aldosteron) aktivasyonu yapar. Östrojen endotelinin bu etkilerini inhibe eder. Bunu endotelin ve reseptörleri inhibe ederek yapar (83, 98).

Östrojen anjiotensin II' nin konstriktör etkisini inhibe eder. RAAS sisteminin anjiotensin I reseptörleri kardiyovasküler hastalıklarda santral rol oynar. Bu reseptör up-regüle olduğu zaman kardiyovasküler hastalık riski artar. Östrojen bu reseptörü down-regüle eder. Östrojen anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörüdür. Postmenopozal kadınlarda ACE aktivitesinin önemli ölçülerde azaldığı gösterilmiştir (99,100).

g) Östrojen koroner arterlerin kontraksiyonlarını, kontraktıl elementlerin Ca^{+2} 'a karşı hassasiyetlerini değiştirmeden, sadece hücre içine girişini bloke ederek inhibe eder (yani bir çeşit kanal blokeri) (101). Uzun süreli östrojen kullanımında aterosklerotik ooforektomili maymunlarda koroner ateromun azaldığı bildirilmiştir. Koroner hastalığı olan hastalarda, uzun süreli Ca^{+2} antagonisti tedavisi yapıldığında ateromun progresyonunun azaldığı gösterilmiştir (102).

h) Östrojenler otonom nörotransmisyon üzerinden etki ederler. Gerek sempatik gerekse parasempatik sistem üzerine pozitif etki gösterirler. Östrojenik alfa- 2 adrenoreseptör dansite ve fonksiyonunu artırır. Santral sinir sistemindeki kolinergik muskarinik sistemin aktivasyonunu potansiyelize ederler. Asetilkolin konsantrasyonu kolinasetil transferaz aktivitesi menopozda azalır. Östrojenle artar (103).

Genomik Yol :

Vasküler düz kas hücreleri travmaya karşı proliferasyonla cevap verir. Hipertansiyon ve aterosklerozda, vasküler düz kas hücreleri proliferer olur. Bu proliferasyon, arter intimasında kalınlaşmaya neden olur, aterosklerozun erken belirtisidir. Östrojen direkt olarak düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder, böylece ateroskleroza karşı korur (4).

Düz kas hücrelerinde bol miktarda östrojen reseptörü bulunur. Deneysel olarak kadınların aort neointimalarında östrojen reseptörleri azalırken, ateroskleroz gelişiminin arttığı gösterilmiştir (104)

Endotel hücreleri, travmaya karşı pıhtılaşma veya ateroskleroza başlatarak cevap verirler. Damar duvarına travma, endotel hücrelerini aktive eder. Bu hücrelerin proliferasyonuna ve yeni damar teşekkülüne neden olur. Östrojen ve progesteron endotel hücre proliferasyonunu artırır ve yeni damarlar oluşur (105). Östrojen tarafından oluşturulan

anjiogenenez regülasyonunda çeşitli faktörler rol oynar. Bunlardan bir tanesi vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF). Östrojen VEGF'yi ve reseptörlerini artırır (106).

2.7. Tedavi

Klimakterium ve postmenopozal dönemdeki bir kadının tedavisindeki temel prensip, eksik olan östrojen hormonunun yerine konulmasıdır (6).

1950'li yıllarda HRT (hormon replasman tedavisi)'de sadece östrojen kullanılırdı (4). Ancak bu şekildeki tedavide endometrial ve endometrium kanseri riski arttığından 1970'li yıllarda tedaviye progesteron hormonu eklenmiş ve böylece hiperplazi riski önemli ölçüde azalmıştır (6).

Günümüzde HRT'de kullanılan östrojenlerin tipi, dozu ve verilme şekilleri önemlidir. HRT'de amaç fizyolojik hormon seviyelerini taklit etmek olduğundan doğal östrojenler (estradiol, mikronize estradiol, estradiol 17-valerat, estrojen, estron sülfat, estriol, konguge estrojenler) tercih edilmektedir (107,108).

HRT'de amaç klimakterik semptomları ortadan kaldıracak, minimum yan etkisi olan, hedef olmayan dokulardaki östrojen reseptörlerini minimal şekilde uyaran, minimal uterus kanaması yapan, en düşük fakat etkin dozu kullanmaktır. HRT'nin başlangıç yıllarında standart doz östrojenler kullanılmışsa da bugün daha çok düşük doz östrojenler tercih edilmektedir (4).

HRT'de kullanılan östrojenler oral, parenteral, implant ve intranazal sprey şeklinde kullanılabilir (15). Oral yoldan verilenler karaciğer fonksiyonlarında uyarıcı etki yaparak, olumlu etkilerinin yanısıra olumsuz etkilerinin de ortaya çıkmasına neden olurlar. Bu etkilere 'ilk geçiş'(first pass) etkileri denir (4). Hepatik protein ve sex hormonu bağlayan globulin sentezi, pıhtılaşma faktörlerinin yapımı, aldosteron sentezi, trigliserid düzeyleri ve artırır, östrojen metabolitleri (1). Parenteral verilen östrojenlerde ilk geçiş etkisi görülmez (4).

Östrojen replasmanı en hızlı etkisini vazomotor semptomlar üzerinde gösterir ve düşük dozlarda bile başarılı sonuçlar verir. Kardiyovasküler sisteme ait risklerin önlenmesini sağlar. Postmenopozal dönemde kadın ölüm sebepleri arasında ilk sıraya yükselen kardiyovasküler hastalık riskini ve buna bağlı ölümleri %48-50 oranında azaltır (6).

Menopoz döneminde total kolesterol, LDL kolesterol, trigliseridler artmakta ve HDL kolesterol azalmaktadır. HRT ile total kolesterol, LDL (low dansity lipoprotein)

kolesterol azalır, HDL (high density lipoprotein) kolesterolün ise özellikle kardiyoprotektifliği kabul edilen HDL₂ seviyeleri artmaktadır(109).

Östrojen vajinadaki atrofiyi ortadan kaldırır ve mukoza hücrelerinin glikojen düzeylerini artırarak laktobasillerin üremesini hızlandırır. Bu yolla vajina florası ve pH değerlerini düzenleyerek infeksiyöz vajinit riskini azaltır (6).

Östrojen replasman tedavisi, osteoporoza karşı koruyarak kemik kitlesinin ve iskelet bütünlüğünün korunmasını sağlar. Östrojen hem intestinal absorpsiyonun etkinliğini artırarak hem de renal kalsiyum tutulumunu artırarak kalsiyumu korur. Yeni kanıtlar progesteronun da kemik dansitesinin korunmasında rolü olduğunu göstermektedir. Progesteronun, osteoblastlarda glukokortikoid etkiyi inhibe ederek osteobastik aktiviteyi direkt ve indirekt olarak artırarak kemik oluşumunu ilerlettiği görülmektedir (2).

Sebebi belli olmayan ve tekrarlayan tromboembolik ataklar, tromboembolinin akut dönemi, myokard infarktüsü akut dönemi, karaciğer tümörü ve fonksiyon bozuklukları, östrojene duyarlı meme, endometrium kanseri ve melanom durumlarında östrojen kullanımı kontrendikedir (4)

2.7.1 Alternatif tedavi yöntemleri

Östrojenin kontrendike olduğu durumlarda menopoza ilgili bulguları tedavi etmek amacıyla, östrojen preparatları dışında belirli bazı ilaçlar ve yöntemler kullanılmakta, bazen de bunlar östrojen tedavisine eklenmektedir (4).

Tibolon : Zayıf östrojenik, zayıf progestagenik ve zayıf androjenik etkileri olan bir 19-nortestosteron türevidir. Vazodilatasyon yapar, fibrinolitik aktiviteyi artırır, kemik rezorpsiyonunu önler (110).

Kalsitonin: Tiroidin parafoliküler ve C hücreleri tarafından sentez edilir. Osteoklastik aktiviteyi inhibe eder (74).

Bifosfanatlar: Pirofosfat analoglarıdır. Osteoklastların aktivitesini inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu azaltırlar (74).

Kalsiyum: Menopozda verilmesi gereken önemli bir elementtir. Bu dönemde östrojenin azalması ve D vitamini sentezindeki yavaşlamaya bağlı olarak kalsiyum emilimi % 30-40 oranında azalmaktadır. Alınan gıdalardakine ek olarak, HRT alan kadınlarda 500-1000 mg/gün kalsiyum ihtiyacı vardır (4).

Vitamin D: D vitamini ve metabolitleri barsaktan kalsiyum absorpsiyonunu artırır. Barsak mukozasında bulunan kalsiyum bağlayıcı ve transportunu sağlayıcı proteinlerin sentezini regüle ederler. Artan kalsiyum absorpsiyonu ile PTH sekresyonunu inhibe eder. Böylece kemik rezorpsiyonunu engeller (74).

Selektif östrojen reseptör modölatörü (SERM): Antiöstrojenik etkileri nedeniyle özellikle meme tümörlerinde kullanılan bileşiklerdir (4). Tamoksifen ilk bulunanıdır, daha sonra raloksifen geliştirilmiştir ve dokuya selektiftir. Meme ve endometriumda reseptörlere bağlanma açısından östrojenin kompetitif antagonisti, kemiklerde ve lipid metabolizması ile ilgili hedef hücrelerde ise östrojen agonistidir. Klinikte postmenopozal osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için 60 mg/gün dozunda ağızdan kullanılır (107).

Florid tuzları: Kemikte formasyon stimülasyonu yapan bir maddedir. Asit fosfataz aktivitesini stimüle ederek endojen büyüme faktörlerinin sağladığı mitojenik sinyalin etkisini kuvvetlendirir ve osteoblast proliferasyonunu hızlandırır (6). Bugün için tek başına osteoporoz tedavisinde yeri yoktur. Yüksek terapötik dozlarda tek başına kullanılması belirgin mineralizasyon bozukluğu ve osteomalasi oluşturmaktadır (4).

Fitoöstrojenler : Besinler içinde alınan bitkisel kaynaklı doğal östrojenlerdir. Fitoöstrojenlerle ilgili ilk gözlem özel bir yonca çeşidi ile beslenen koyunlarda üreme bozukluğunun meydana gelmesi konusunda yapılmıştır (107). Bugüne kadar 300'den fazla bitkinin 1000'den fazla fitoöstrojen tipi ihtiva ettiği ve östrojenik aktivite gösterdiği bilinmektedir (4). Asya ülkelerinde menopozal sıcak basmasına karşı kullanılması gibi bu bitkiler yüzyıllardır halk ilacı olarak kullanılmaktadır (107). Yine zeytin yağının çok kullanıldığı Güney Fransa ve Yunanistan'ın bazı bölgelerinde menopoz şikayetlerinin daha az olduğunun gözlenmesi fitoöstrojenlere bağlanmıştır. Keza bitkisel beslenmenin ön planda olduğu Japonya'da sıcak basması oranı çok düşüktür (4).

Fitoöstrojenler kimyasal yapıları bakımından flavonoidler (flavon, flavanon, naringenin), isoflavon, coumestan, lignan ve stilben olarak gruplara ayrılırlar (111). Fitoöstrojenlerin çoğu selektif östrojen modölatörleridir (SERM). İntrinsek hücrel farklılıklarına bağlı olarak hem östrojen agonisti hem de antagonisti olarak etki gösterirler. Selektif östrojen modölatörleri kadınlarda östrojenle ilişkili kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, menopozal semptomlar ve postmenopozal osteoporozisin tedavisinde başarılı şekilde kullanılmaktadırlar (112). Bu maddelerin en fazla incelenenleri soya fasülyesi

kaynaklı izoflavonoid yapılı maddelerdir; bunlardan ikisi genistein ve daidzein östrojen benzeri etkinlik gösterir (4). Ancak ilaç olarak kullanılan östrojenlere göre zayıf etkilidirler (107). Flavonoidler isoflavonlara benzerler, lignanlar zayıf östrojenik etkilidirler (4).

2.8. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

CAPE (Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate) immünomodülatuar ve immünostimülatör etkisi daha önce gösterilmiş olan bal arısının ürettiği yapıcı flavonoidlere benzeyen, propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (113). Flavonoidler fenilalaninden sentez edilen bitki pigmentleridir ve genel olarak bitkinin taç yaprağının renklerini yansıttığından harika renklere sahiptirler. Flavonoidler, tıbbi kullanım için hazırlanmış, propolis gibi birçok bitkisel ilacın yapısındaki ana fonksiyonel bileşendir. Antik çağdan beri bilinen propolis başta olmak üzere flavonoidlerin kanıtlanmış spesifik enzim inhibe edici özelliklerinin bulunması, bazı hormon ve nörotransmitterlerin stimülasyonu ve serbest radikalleri temizleme özelliklerinin bulunması nedeniyle günümüz doktorları tarafından bir çok hastalığın tedavisinde gün geçtikçe daha fazla önerilmektedir (114).

Propolis Yunanca bir terimdir. “Pro” önünde-girişinde, “polis” ise topluluk veya şehir anlamında bir kelime olup arı kovanının savunmasında kullanılan bir madde olarak bilinmektedir. Propolis veya bal arısı zambak (Bee glue), işçi arıların huş (betula), kavak, kızılğöbe, söğüt, hurma gibi birçok ağacın yapraklarının tomurcuklarından topladıkları kahverengimsi sakızlı bir maddedir. Bal arıları bu maddeyi elde etmek için bitkilerden aktif olarak sekrete edilen materyali veya bitkilerdeki zedelenmelerden ötürü dışarı sızan maddeleri kullanabilirler (lipophylic materyal, mucilages, cikletler, reçineler vs gibi). Bu materyalleri toplayan arılar daha sonra salya ve enzimatik sekresyonlarla bunu zenginleştirir ve kovanın duvarını örtmek, çatlakları ve boşlukları doldurmak, yuvaya saldıran ve öldürülmüş olan böcekleri mumyalamak için kullanırlar (115).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda propolisin başlıca polifenoller olmak üzere 180 den fazla bileşenden oluştuğu saptanmıştır. Fenolik asit ve esterleri, fenolik aldehytler, ketonların eşlik ettiği flavonoidler başlıca polifenollerdir. Ayrıca % 5-10 uçucu yağlar ve aromatik asitler, % 30-40 balmumu, reçine, balsam, magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko elementlerinden zengin polen içermektedir (116).

Propolisin hepatotoksiteden koruyucu, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immünomodülatör, nöroprotektif ve sitostatik etkileri olduğu bilinmektedir (116,117). İçerdiği CAPE ve galanginden dolayı diğer flavonoidlere göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (113).

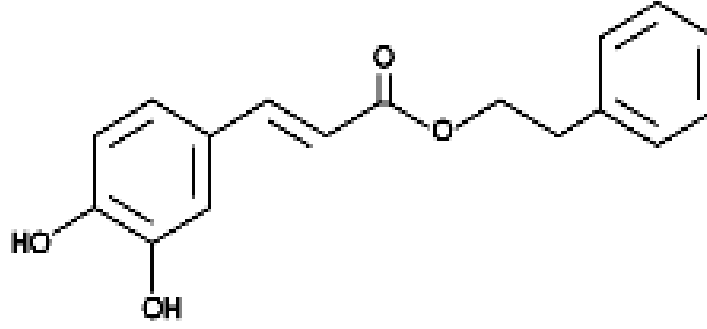
Propolisin antimikrobiyal özellikleri pinocembrin, galangin ve pinobanksin flavonoidlerine bağlı gibi görünmektedir. Diğer bileşikleri kumarik asit ve kafeik asit esterleridir. Bunlardan kafeik asit fenetil ester (CAPE) aynı zamanda tümör hücrelerine karşı sitotoksiktir.

Propolis gram pozitif (Stafilokok ve streptokok) ve gram negatif (E.coli, K. Pneumoniae, P. Vulgaris ve P. auriginosa) bakterilere, H. Pyloriye, protozoalara (T.cruzi), mantarlara (C. Albicans) ve virüslere (HIV, Herpes ve influenza virüs) karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir (117).

Propolisin akut ve kronik infeksiyonlara karşı antiinflamatuvar etkisinin mekanizması hala tam anlaşılamamıştır. Rossi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada propolisin rat akciğer homojenatlarından elde edilen COX (cyclooxygenase)'ın aktivitesini konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiğini, propolis bileşenlerinden CAPE ve galanginin antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunduğunu göstermişlerdir(118).

Propolis düşük dozlarda güvenle kullanılabilir, ancak 15 gr/gün üzerinde alındığında daha çok deri ve müköz membranların irritasyonuna bağlı alerjik reaksiyonlar görülebilir (117).

CAPE'nin iki halkasal yapısı vardır (119). Bu halkasal yapıdan bir tanesi, CAPE molekülünün neredeyse tüm kimyasal özelliklerini gösteren ve fonksiyonel iki OH⁻ grubu taşır (Şekil 5). Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir. Çok uzun aromatik ve alifatik yapıda karbon grupları taşımasına bağlı olarak lipofilik özelliğe sahiptir (120, 121).



Şekil 5: Kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in kimyasal yapısı (119).

CAPE, linoleik asit ve araşidonik asitin 5-lipooksijenaz tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder (113). Yaklaşık olarak 10 µmol/L konsantrasyonda in vitro koşullarda nötrofiller veya ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen bloke ettiği bildirilmiştir (120).

Propolis bileşenlerinden biri olan galanginin ve CAPE'in antioksidan aktivitesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; her iki bileşenin de ortamdaki süperoksit anyon radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini temizlediği gösterilmiştir. Ayrıca CAPE'in süperoksit anyon radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini galanginden daha belirgin temizleyici etkisinin olduğu da bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada CAPE'in ortamdaki MDA (malonildialdehit) seviyesini galanginden daha belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir (121).

Deneysel istestinal iskemi-reperfüzyon hasarında CAPE' in koruyucu etkisini araştırmak amacıyla Yıldız ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, CAPE ile tedavi edilen gruplarda kontrol grubuna göre SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz) ve GSH-Px (glutasyon peroksidaz) antioksidan enzim aktivitelerinin anlamlı derecede arttığını ve CAPE'in barsak dokusunu lipid peroksidasyonuna karşı koruduğunu göstermişlerdir (122).

Ooferektomize ratlarda TNBS (trinitrobenzen sülfonik asit) ile oluşturulan kolit modelinde CAPE'in etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir diğer çalışmada, kolonik MPO (myeloperoksidaz) ve MDA aktivitesinin CAPE ile tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Yine CAPE ile tedavi edilen gruplarda kontrol gruplarına göre CAT, SOD ve GSH (redükte Glutasyon) antioksidan enzim aktivitelerinin belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (123).

Hücrelerin inflamatuvar ve proliferatif cevabında rolü olan çeşitli genlerin ekspresyonu, transkripsiyonel seviyede nukleer faktör- κ B (NF- κ B) tarafından regüle edilir (124). Landry ve arkadaşları rat karotid arterine balon hasarı yaparak NF- κ B aktivasyonunu sağlamışlar ve bu aktivasyonun neointima formasyonu ve NF- κ B ile regüle edilen genlerin ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Hasarlanmış damarda adhezyon moleküllerinin, iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz) ve COX-2 (Siklooksijenaz-2) gibi proinflamatuvar enzimlerin indüklenmesi NF- κ B'nin aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur (125).

Natarajan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CAPE'in NF- κ B aktivasyonunu spesifik bir şekilde inhibe ettiğini göstermişlerdir (126).

Maffia ve arkadaşlarının balon anjioplasti ile vasküler hasar oluşturdukları rat modeli çalışmasında CAPE ile tedavi ettikleri gruplarda, CAPE'in NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederek neointima formasyonunda azalmaya yol açtığını göstermişlerdir. Böylece CAPE kullanımının insanlarda restenozun önlenmesi için tedavide bir seçenek olabileceğini önermişlerdir (127).

Cicala ve arkadaşları izole edilmiş rat torasik aortasında CAPE'in vasküler etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, CAPE'in hem konsantrasyona hem de endotele bağımlı olarak voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından kalsiyum girişini inhibe etmek yoluyla relaksasyon yaptığını göstermişlerdir (128).

Long Yuan ve arkadaşları izole edilmiş domuz koroner arteri üzerine CAPE'in vazorelaktan etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, CAPE'in NO-cGMP ve NO-cAMP yolunu aktive ederek düz kas hücre membranından kalsiyum girişini inhibe etmek yoluyla vazorelaksasyon yaptığını göstermişlerdir (129).

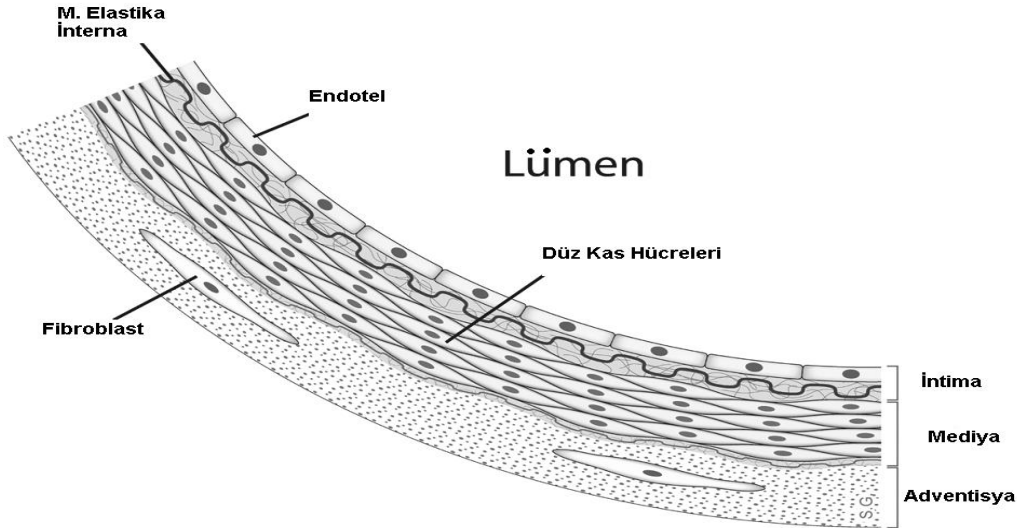
Gökalp ve arkadaşları izoniazid ile ratların eritrositlerinde oksidatif hasar oluşturarak CAPE'nin bu hasarı önlemedeki etkinliğini araştırmışlardır. Ratların eritrositlerinde MDA seviyeleri, GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerini incelemişlerdir. İzoniazid grubunda eritrositlerde MDA seviyesinin kontrol grubuna göre artmış olduğunu, izoniazid+CAPE grubunda ise MDA seviyesinin kontrol grubuyla benzer olduğunu görmüşlerdir. SOD enzim aktivitesini izoniazid grubunda anlamlı artarken izoniazid+CAPE grubunda ise SOD enzim aktivitesinde artış olmamasını, CAPE'nin ksantin oksidaz enzimi inhibisyonu yolu ile süperoksit radikallerini temizlemesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin izoniazid grubunda azalmasının oksidatif stresin

artmasını desteklediğini savunmuşlardır. İzoniazid+CAPE grubunda GSH-Px seviyesinin izoniazid grubundan yüksek tespit edilmesini CAPE'nin antioksidan enzim sistemi üzerine regülatör etkisine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Böylece izoniazid ile ratların eritrositlerinde oluşan oksidatif hasarı CAPE'nin önleyebileceğini savunmuşlardır (130).

2.9. Endotel :

Organizmada tüm kan damarlarının yüzeyini kaplayan endotel tabakası vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş tek sıralı yassı epitel hücrelerinden oluşan bir dokudur (Şekil 6). Erişkin bir insanda endotel hücre kitlesi ortalama bir kg ağırlığında olup, yaklaşık 4000- 7000 m² lik bir yüzey alanı oluşturmaktadır (131).

Endotel tabakası eskiden düşünüldüğü gibi kan damarlarının içini kaplayan, dokularla kan arasında bulunan pasif yarı geçirgen bir hücre tabakası değil, tersine sentezlediği ve salgıladığı mediyatörler ile vasküler homeostazda çok önemli rol oynayan, vücudun her tarafına yayılmış, pek çok yaşamsal faaliyeti yöneten bir organdır (132).



Şekil 6 : Sağlam endotelin yapısı (133)

Endotel tabakasının gaz geçirgenliği oldukça fazla, sıvı geçirgenliği ise azdır. Endotel hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda, difüzyonun endotel hücrelerinde diğer hücre türlerine oranla çok az olduğu ve bariyer oluşturmaının endotele özgü bir özellik olduğu

saptanmıştır. Organizmayı oluşturan hücrelerin beslenme, solunum ve metabolik gereksinimlerini sağlayan kan damarları, fiziksel (ısı, gerim, basınç) ve kimyasal (hormon, nörotransmitter ve otokoid) uyaranlara karşı damar tonusunu ve geçirgenliğini değiştirerek yanıt verirler. Bunun sonucu olarak hücrelerin yaşamsal gereksinimlerinin sağlanması, besleyici damarların negatif ve pozitif geri-besleme mekanizmaları ile ayarlanan damar tonusu sayesinde kontrol edilmektedir (131).

Endotel tabakasının temel fonksiyonları şöyle özetlenebilir (134):

- Dolaşımdan çevre dokulara madde geçişini düzenleyen yarı geçirgen bir bariyerin devamlılığının sağlanması
- Vazodilatatör (nitrik oksit, prostasiklin) ve vazokonstriktör (endotelin, platelet aktive edici faktör) mediyatörlerin salınımı ve vasküler tonusun kontrolü
- Lökosit ve trombositlere nontrombojenik- nonadheziv yüzey sağlanması, tromboz- fibrinoliz arasındaki dengenin idamesi
- Arter duvarındaki lipoproteinlerin farklılaşması (oksidasyon gibi)
- Çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin sentez ve sekresyonu, hücre proliferasyonunun kontrolü
- Değişik fiziksel ve humoral koşullara dinamik cevap verilmesi

Vasküler yatakta tonus kontrolü, vazokonstriktör ve vazodilatatör ajanlar arasındaki denge ile sağlanır. Endotel kaynaklı en önemli vazodilatatör, nitrik oksit'tir

2.10.Nitrik Oksit (NO)

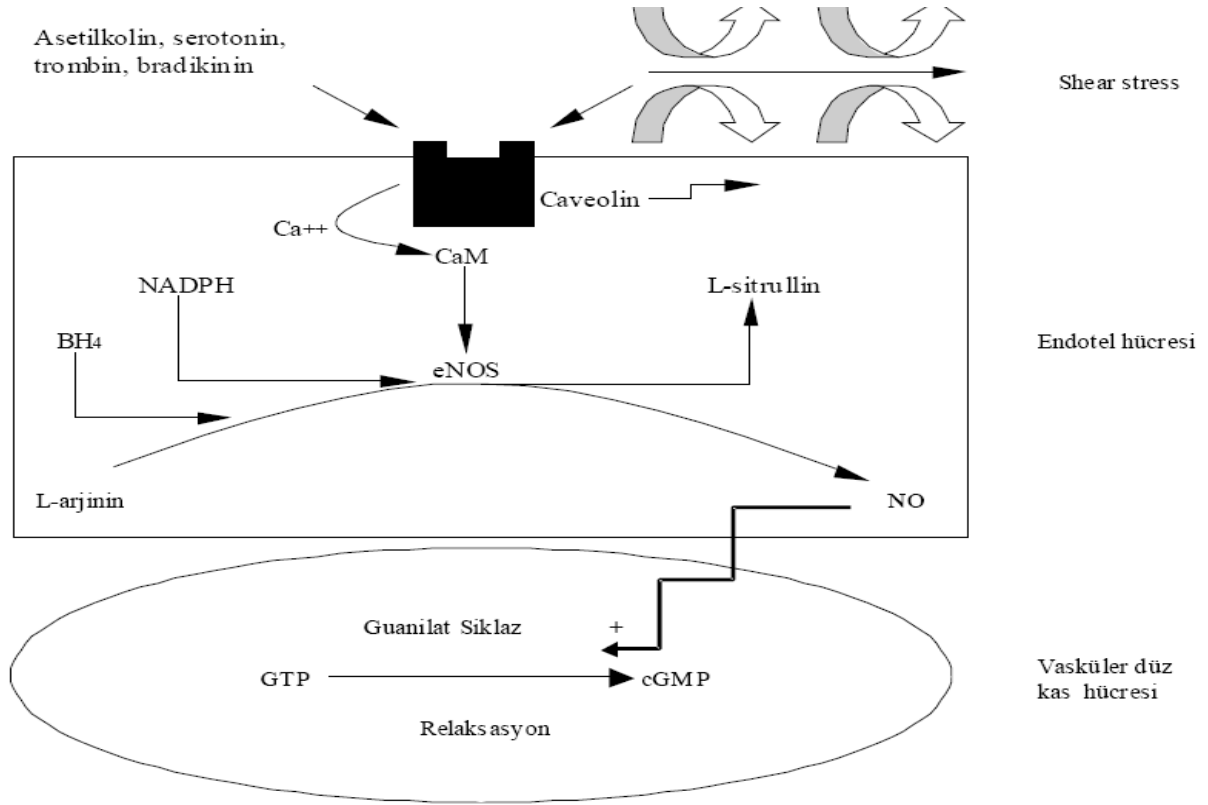
NO'nun canlılardaki rolü ile ilgili ilk bulgular 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki tarafından ortaya konulmuştur. Noradrenalin ile prekontrakte edilmiş tavşan aortasında asetilkolin ile gözlenen gevşeme yanıtlarının endotel tabakasının tahrip edilmesi ile ortadan kalktığı gözlenmiş ve söz konusu etkiye aracılık eden moleküle 'endotel bağımlı gevşetici faktör (EDRF)' adı verilmiştir. Furchgott, endotelli ve endotelsiz dokuları sandviç halinde organ banyosuna asarak EDRF'nin endoteli sağlam donör dokudan endoteli haraplanmış dedektör dokuya transfer edilebilen bir gevşetici faktör olduğunu ortaya koymuştur (135). İlerleyen çalışmalarda EDRF'nin siklik guanozin monofosfat (c GMP) bağımlı olarak gevşeme sağladığı gösterilmiştir (136). EDRF'nin keşfinden önce, NO adlı basit bileşiğin solübl guanilat

siklaz (sGC) enzimini aktive etmek suretiyle c GMP düzeylerini arttırdığı bilinmekteydi (137). Bu bilgiler ışığı altında iki ayrı araştırmacı grubu birbirinden bağımsız olarak endotel hücre kültürü ve izole ven ve arterlerde yürüttükleri çalışmalar ile EDRF'nin NO olduğunu ortaya koymuştur. (138,139)

NO, molekül ağırlığı 30 kDa olan yağda çözünürlüğü yüksek ve biyolojik membranlardan kolaylıkla difüzyonla geçebilen gaz yapısında bir moleküldür (140). Arginin aminoasidinden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenir, sentezlenince hücreden dışarıya çıkar ve komşu hücreleri bölgesel olarak etkileyebilir (141).

Memelilerde bugüne kadar aydınlatılmış üç farklı tip NOS izoformu bulunmaktadır. Bunlar nöronal NOS (nNOS, NOS-1), indüklenebilir NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelial NOS (eNOS, NOS-3) şeklinde tanımlanmıştır. eNOS ve nNOS yapısal NOS (cNOS) olarak adlandırılır. eNOS endotel hücrelerinde, kardiyak miyositlerde ve trombositlerde yer alır. nNOS santral ve periferik nöronlarda eksprese edilirken, iNOS çeşitli inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde, kardiyak miyositlerde ve makrofajlarda eksprese edilir (142).

NO, endotel hücrelerinde prekürsörü olan L-arjinin'den endotelial NO sentaz (eNOS) ile üretilir. eNOS hücre membranının "Caveolae" adı verilen invajinasyonları içinde yerleşmiştir. Kaveolin-1 isimli protein kalmoduline bağlanarak eNOS aktivitesini inhibe eder. Kalsiyumun kalmoduline bağlanması kaveolin-1'in ayrılmasına sebep olur; böylece eNOS üzerindeki inhibisyon kalkarak eNOS aktivasyonu olur ve NO üretimi artar. Tetrahidrobiopterin (BH4) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gibi kofaktörler de NO üretiminde rol alırlar (Şekil 2.3) (143). Bir kez sentezlenince, NO hücreden dışarıya çıkar ve komşu hücreleri bölgesel olarak etkileyebilir. NO'nin etkisi, çok kararsız olması ve yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle bu gibi lokal etkiler ile sınırlıdır. NO'nin ana hücre içi hedefi guanil siklazdır. Bu enzimin aktif merkezindeki hem grubuna bağlanır, ikinci mesajcı olan siklik GMP sentezini uyarır (141).

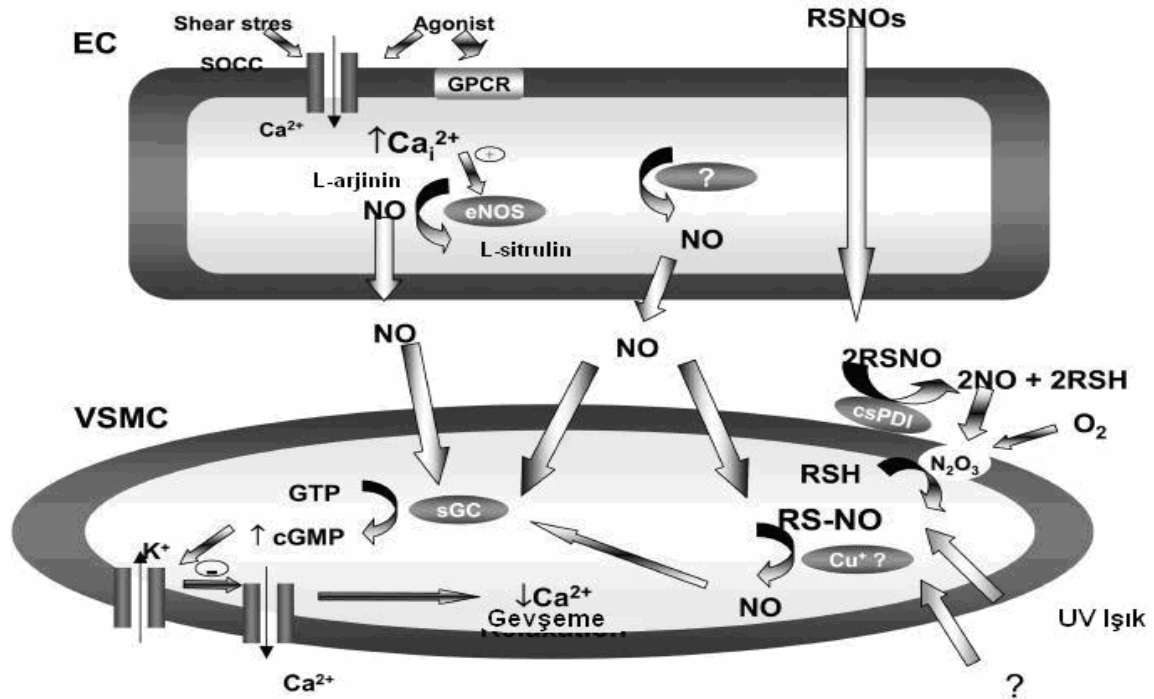


Şekil 7 : Endotelden salınan nitrik oksitin etki mekanizması (143)

Serbest oksijen radikali olan NO oldukça reaktiftir ve hemoglobin ile hızla etkileşiminden dolayı in vivo olarak oldukça kısa yarılanma ömrüne (1- 5 sn) sahiptir. NO, kanda hemoglobinin hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrata metabolize olur. Nitrat, NO'nun kandaki stabil biyoreaksiyon ürünüdür. Hemoglobin içermeyen doku kültüründe esas stabil ürün nitrittir. NO ayrıca, hem ve demir içeren diğer moleküller ile (örneğin DNA) ve proteinlerin tiyol (-SH) grupları ile de reaksiyona girer. Bu değişiklik organizmada kritik rol oynayan enzim ve iyon kanallarının fonksiyonlarını etkiler (140). NO'nin etkisini tanımlayan en iyi örneklerden birisi, kan damarlarının genişlemesi için sinyal iletimidir. Bu olayda ilk olarak kan damarlarının duvarındaki sinir hücrelerinin sonlarından asetilkolin gibi bir nörotransmitterin salınımıdır. Bu nörotransmitterler endotel hücreleri üzerinde NO sentezini uyarıcı etki yapar. Daha sonra oluşan NO guanil siklazı aktive edeceği yer olan komşu düz kas hücrelerine difüze olur ve sonuçta kas hücrelerinin gevşemesini ve kan damarlarının genişlemesini uyaran siklik GMP sentezlenir (Şekil 7) (141).

NO sentezi damarlarda başlıca 'shear stres' ile tetiklenir. Bu fenomen, kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endoteli yüzeyinde oluşturduğu mekanik

etki, “damar çeperine sürtünme stresi” olarak ifade edilebilir. Shear stres endotel hücrelerinin hayatta kalınımını, kemokinez (kimyasal maddelerin organizmanın metabolizasyonunu hızlandırması), gen ekspresyonu ve hücre iskeletinin yeniden yapılanmasını regüle eder. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken hücre iskeleti aracılığı ile hücre içine sinyaller gönderir. Damar endotelinden NO üretimine neden olan en önemli fizyolojik stimulus bu fenomendir (Şekil 8). Tüm bu hücresel cevaplılıkların mekanotransdüksiyona sekonder olarak gelişmesi, endotel hücrelerin fiziksel uyarımları hücreler arası sinyalizasyon olaylarına çevirme yeteneği olduğunu göstermektedir (132). Bazal NO aktivitesinin türe ve incelenen damar yatağına göre farklılık gösterdiği ve venlerde arterlere oranla daha düşük olduğu bildirilmektedir (144).



Şekil 8 : Endotel hücresinde (EC) ve vasküler düz kas hücresinde (VSMC) NO’nun ve/veya S-nitrozotiyollerin (RSNO) sentezi, depolanması ve salınımı ile ilgili mekanizmalar – Kone (145)’den değiştirilerek.

(SOCC: ‘Store operated’ kalsiyum kanalları, GPCR: G-proteini kenetli reseptörler, Ca^{2+} i: intraselüler kalsiyum)

NO'nun ilk olarak endotelde varlığının gösterilmesinin ardından, vücutta pek çok hücre tarafından sentezlenip salıverildiği ortaya konmuştur.

2.10.1 NO'in kardiyovasküler sistem üzerine etkileri :

Vasküler tonüsün regülesyonu :

Damar endoteli kaynaklı NO, hem bazal koşullarda hem de çeşitli endojen ve ekzojen uyaranlar ile salınmakta ve damar tonusunu düzenlemektedir. Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NMMA (N^G monometil-L-arginin)' nin endoteli sağlam izole arterlerde kasılma yanıtı oluşturmaması, *in vivo* koşullarda ise doza bağımlı olarak sistolik basınçta artışa neden olması ve bu etkilerin NO'in öncül maddesi olan L-arjinin ile geriye dönmesi endotelde bazal NO salınımının olduğunu ortaya koyan bulgulardır (146). Bazal NO salınımının yanı sıra, endoteli intakt damarlarda asetilkolin, bradikinin, serotonin, kalsiyum iyonofor A23187, P maddesi gibi maddeler de NO salınımını uyarak gevşemeye neden olurlar. Endoteli hasarlanmış damarlarda ise bu etkenlerin gevşetici etkileri ortadan kalkmakta ve çoğu, damar düz kasına doğrudan etkileri nedeni ile vazokonstriktör etki göstermektedirler (147).

Antitrombotik Etki:

Trombositler vasküler hemostazda önemli rol oynarlar Trombositlerin agregasyonu hemostatik tıkaç oluşturma etkileri ile fizyolojik koşullardaki kan akışı üzerine olan etkileri arasındaki hassas denge çok önemlidir. Trombositlerin hiperaktivitesi sonucu tromboz oluşumu ve bunu takip eden miyokard infarktüsü ve felç gelişimi hayatı tehdit eden kardiyovasküler komplikasyonlardır. NO ve NO donörleri, trombositlerde cGMP aracılığı ile PKG (protein kinaz G) 'yi stimüle ederler ve intraselüler kalsiyum düzeylerini arttırmak suretiyle trombosit agregasyonu sağlayan agonistlerin (trombin gibi) etkilerini inhibe ederler (148).

Antiproliferatif Etki:

Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, koroner arter hastalıkları ve restenoz durumlarında damar lümenindeki söz konusu daralmaya aracılık eden temel mekanizmadır. Miyofibril kaybı ve matriks proteinlerinin oluşumuna bağlı olarak vasküler düz kas kasılma yeteneğinde bir azalma söz konusudur. Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)

gibi proliferasyon uyaranlarına karşı hassasiyet artmış durumdadır. Prolifere olan düz kas hücreleri intima'ya göç ederler ve intimal hiperplaziye aracılık ederler. Bu olay anjiyotensin II, TNF- α ve çeşitli büyüme faktörleri (TGF- β , FGF, PDGF) ile kontrol edilir (149). NO ve NO donörlerinin vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (150).

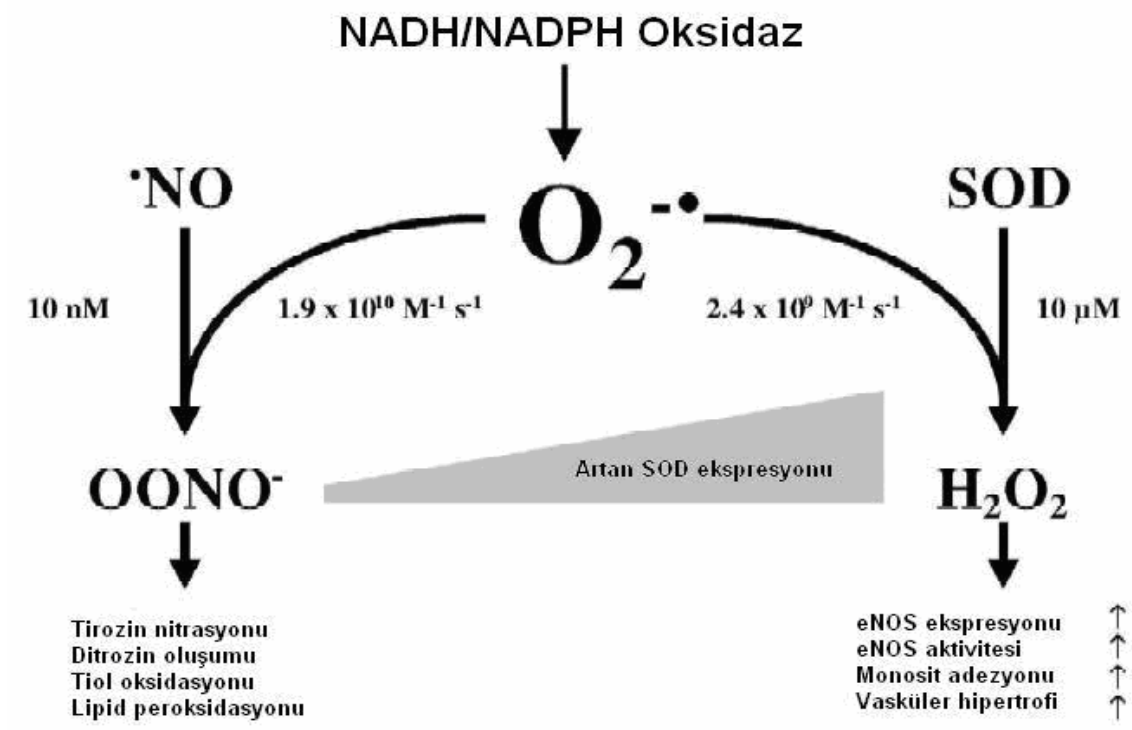
Antioksidan Etki:

Vasküler oksidatif stres kardiyovasküler hastalıkların patogenezi açısından önemli bir faktördür. NO, antioksidan etkisiyle vasküler yapıda koruyucu bir rol üstlenmektedir. NO, serbest yağ asitleri, fosfatidilkolon ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe eder ve okside lipidlerin proaterojenik etkilerini engeller (151).

NO, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ile hızlı bir şekilde etkileşir ve süperoksitten daha potent bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$) oluşumuna neden olur. Peroksinitrit lipid peroksidasyonu, tirozin nitrasyonu, ditiyozin oluşumu ve tiyol oksidasyonu ile protein hasarını artırırken, serbest tiyollerin hızlı oksidasyonu ile vasküler hücrelerin antioksidatif kapasitesini azaltır. Süperoksit radikalinden peroksinitrit oluşumu ile süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile H_2O_2 (hidrojen peroksit) oluşumu arasında bir yarışma söz konusudur. Süperoksit radikalinin NO ile reaksiyona girme yeteneğinin SOD ile reaksiyona girme yeteneğine göre 3-6 kat daha fazla olmasına rağmen SOD düzeylerinin NO düzeylerine göre daha fazla olduğu fizyolojik koşullarda peroksinitrit oluşumu ihmal edilebilir düzeydedir (Şekil 2.1). Dolayısıyla eNOS'tan fizyolojik koşullarda üretilen NO, SOD'un fizyolojik konsantrasyonlarının varlığında antioksidan etki gösterirken, iNOS aracılığı ile üretilen çok yüksek konsantrasyonlardaki NO, peroksinitrit oluşumuna neden olur (152, 151).

NO'nin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda SOD'ı indüklediği gösterilmiştir. SOD ekspresyonundaki artışın egzersize yanıt olarak gelişen bir vasküler adaptasyon olduğu, normal farelerde üç hafta süreyle uygulanan egzersiz programının SOD ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (153).

Özetle, NO antioksidan etkinliğini, hem oksijenaz I, ferritin ve SOD ekspresyonunu indüklemek ve böylece süperoksit düzeylerini ve peroksinitrit oluşumunu azaltmak suretiyle gerçekleştirir.



Şekil 9 : Süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) iyonunun Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Nitrik oksit (NO) ile oluşturduğu reaksiyonlar – Gewaltig (154)’ten değiştirilerek.

3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamız, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen 50 adet genç sağlıklı dişi Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak ADÜ Tıp Fakültesi Elektrofizyoloji Laboratuvarı'nda, temmuz 2009 tarihinde gerçekleştirildi. Sıçanlar, deney öncesi tel kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve sıcaklığı 20-25 °C olacak şekilde kontrollü odada tutuldular. Sıçanlar, standart sıçan yemiyle serbest olarak beslendi ve suluktan serbestçe su içmeleri sağlandı. Deney öncesi Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak etik kurul onayı alındı.

3.2. Ooferektomi

Kullanılacak sıçanların 50 tanesine cerrahi menopoz oluşturmak amacıyla ooferektomi yapıldı. Sıçanlara standart intraperitoneal ketamin 50 mg/kg + ksilasin 5 mg/kg anestezisi uygulandı ve cerrahi işlem öncesi ayak geri çekme refleksi ile anestezisi oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Cerrahi işlem için öncelikle sıçanlar lateral pozisyonda yatırılarak batının her iki tarafındaki tüyler tıraş edildi. Tıraş edilen bölge batticon ile temizlendi. Orta axiller çizginin beşinci lumbar vertebra ile kesiştiği bölgeye 0,5 cm lik kesi yapıldı. Cilt, cilt altı, kas dokusu kesilerek ovaryuma ulaşıldı. Ovaryum dikkatlice dışarıya çıkartıldı, cornu uteriye bağlandığı yerden 3/0 ipek iplikle bağlandı ve kesilerek çıkartıldı. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra cornu uteri dikkatlice tekrar yerine yerleştirildi. Önce kas dokusu, sonra deri altı ve deri primer sütür ile kapatıldı. Sütür atılan yer batticon ile temizlendi. Diğer taraftaki ovaryum da aynı işlemler uygulanarak çıkartıldı. Ooferektomi işleminden sonra sıçanların menopoza girmeleri için iki ay beklendi.



Resim 1: Ooferektomi işlemi



Resim 2 : Ooferektomi sonrası çıkartılan ovaryumlar

3.3.Gruplar

Deney hayvanları randomize olarak řu gruplara ayrıldı :

Grup I : 10 μ M CAPE grubu

Grup II : 100 μ M CAPE grubu

Grup III : 300 μ M CAPE grubu

Grup IV : Vehicle (% 30 luk ethanol grubu)

3.4.Organ Banyosu

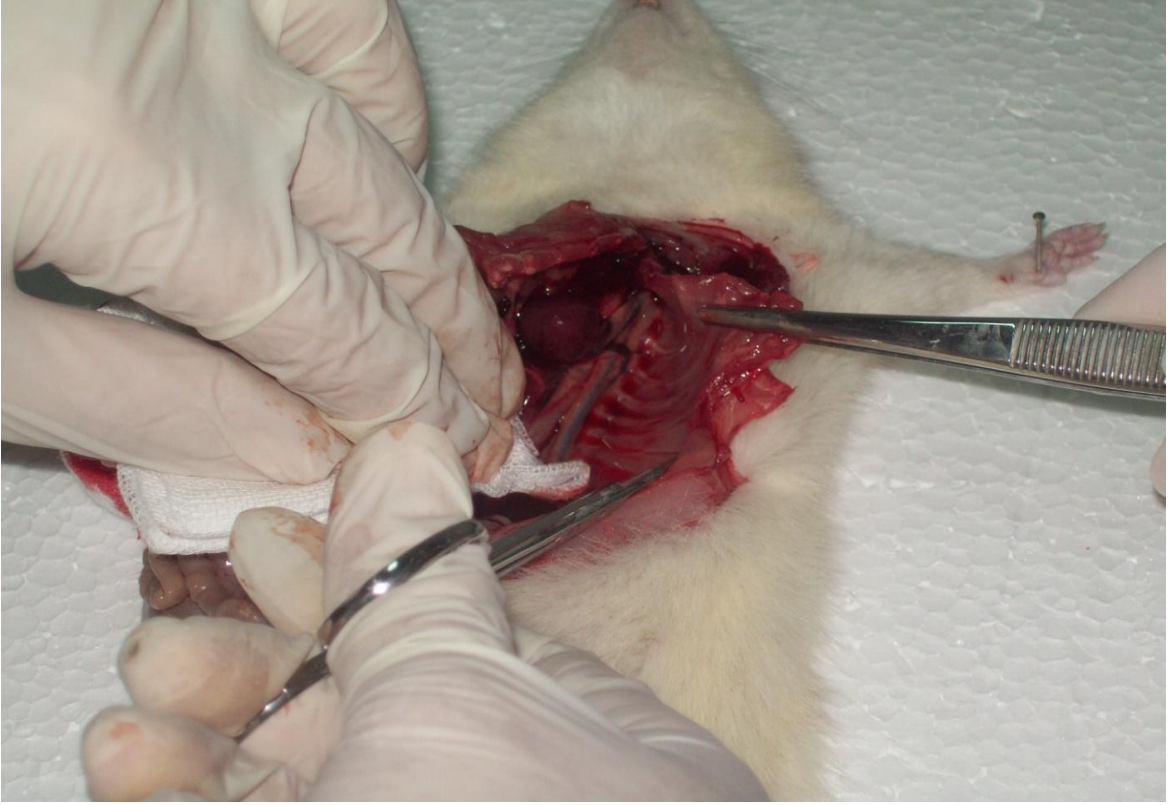
İntraperitoneal ketamin (50mg/kg) +ksilasin (5mg/kg) anestezisi ile sıçanlar uyutuldu. Göğüs kafesi sternumun altından başlanarak sternumun sol tarafı boyunca yukarıya boyuna doğru hızlı bir şekilde dikkatlice açıldı. Kalp ve akciğerler sol yana çekilerek torakal aortaya ulaşıldı. Torakal vertebra ile aynı seviyede duran torasik aorta, arkus aorta ile birlikte dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Hızlı bir şekilde, Krebs- henseleit solüsyonu içeren petri kabına konuldu. Aorta, üzerindeki yağ vs. dokulardan temizlendikten sonra düzgün kesi ile kesilerek eşit uzunlukta izole aort halkaları elde edildi. Bu işlem sırasında endotel dokusuna zarar verilmemeye çalışıldı. Her bir aort segmenti yaklaşık 3-5 mm'lik bir ring halinde kesildi. Bu ringler 37°C'de ısıtılan ve sirküle edilen (Isıtıcı ve Sirkulatuar sistem – May WBC 3044V3) , karbojenize (%95 oksijen, %5 karbondioksit) Krebs Henseleit solusyonuna (118.3 mM NaCl , 4.7 mM KCl, 1.2 mM MgSO₄, 1.22 mM KH₂PO₄, 2.5 mM CaCl₂, 25.0 mM NaHCO₃ ve 11.1.mM glukoz , Sigma-Aldrich) zaman geçirilmeden asıldı. Her bir aort ringi iki adet paslanmaz çelik kancadan geçirilerek 25 ml krebs henseleit solusyonu ile dolu organ banyosuna (May IOBS 99 Ankara-Türkiye) havuzlarına asıldı. İki çengelin üstte olanı transducer'a (May GTA0303 ve Biopac Systemes Inc. Model MP 100) bağlanarak mg olarak kasılmaları ölçüldü. Bilgisayar programı olarak Acq Knowledge 3.8.2 kullanıldı. Daha sonra her bir aort ringi için 'standart equilibrium evresi' uygulandı. Burada önce aort ringleri 1 gr ile gerildikten sonra 10 dk beklendi, sonra gerilim 2 gr'a çıkıldı, 10 dk beklendi, ardından 3 gr'a çıkıldı ve 10 dk beklendi.Daha sonra Norepinefrin 10⁻⁴ M (Molar konsantrasyon) derişiminde mikropipet yardımı ile 0,1 ml banyoya verilerek kasılma yanıtları alındı. Kasılma eğrileri düz seyredince banyo iki kez krebs henseleit solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra aort ringleri 4 gr'a kadar gerildi ve stabil oluncaya kadar beklendi. Önce Norepinefrin 10⁻⁴ M derişiminden 0,1 ml ile kasılma eğrisi alındı, ardından Asetilkolin 10⁻⁴ M derişiminden 0,1ml ile gevşeme yanıtları alındı. Son olarak banyo tekrar iki kez Krebs Henseleit solüsyonu

ile yıkandı ve deneye başlamak için 45 dakika beklendi. Bu evrelerde kasılma ve gevşeme yanıtları alınmayan banyolar deney safhasına alınmadı.

Daha sonra deney safhasına geçildi. Önce norepinefrin 10^{-4} M 0,1 ml her bir banyoya verildi. Banyolarda oluşan kasılma yanıtları gözlemlendi. Oluşan kasılma eğrisinde plato düzeyi oluşup stabil seyretmeye başlayınca hazırlanan CAPE 10 μ M bir grup, 100 μ M diğer grup ve 300 μ M olarak üçüncü grup olarak üç ayrı dozda banyolara 0.1 ml olarak verildi. CAPE'i çözmek için kullanılan %30 luk ethanol de ayrı bir grup olarak (vehicle) planlandı. %30 luk ethanol solüsyonundan 0.1ml banyolara verilerek yanıtları gözlemlendi.



Resim 3: Organ banyosu seti



Resim 4: Torasik aortanın çıkartılması



Resim5 : Çıkartılan torasik aorta (Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde)



Resim 6 : Çıkartılan torasik aortanın halkalara ayrılması

3.5.İstatistiksel Analiz :

Gevşeme yüzdelerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Her bir grup için gevşeme yüzdeleri normal dağılım gösterdiği için gruplara göre gevşeme yüzdelerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. Varyanslar homojen olmadığı için çoklu karşılaştırma testi olarak Tamhene testi kullanıldı, $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

3.6. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- 1- Organ banyosu seti (May IOBS 99 Ankara-Türkiye)
- 2- Isıtıcı ve Sirkulatuar sistem (May WBC 3044V3)
- 3- Karbojen tüpü (%95 oksijen, %5 karbondioksit)
- 4- Transducer (May GTA0303) ve Biopac Systemes Inc. Model (MP 100)
- 5- Vorteks (IKA® MS2 Minishaker, U.S.A)
- 6- Derin dondurucu (Nuaire; -85 °C Ultralow Freezer, U.S.A)
- 7- Ultra saf su cihazı (Krosclinic KRS 8000BT, Türkiye)
- 8- Hassas terazi (Mettler Toledo, AL 204, Çin)
- 9- Otomatik pipet (Eppendorf, Almanya)
- 10- Pipet uçları (mavi ve sarı renkli): Sarf malzemesi

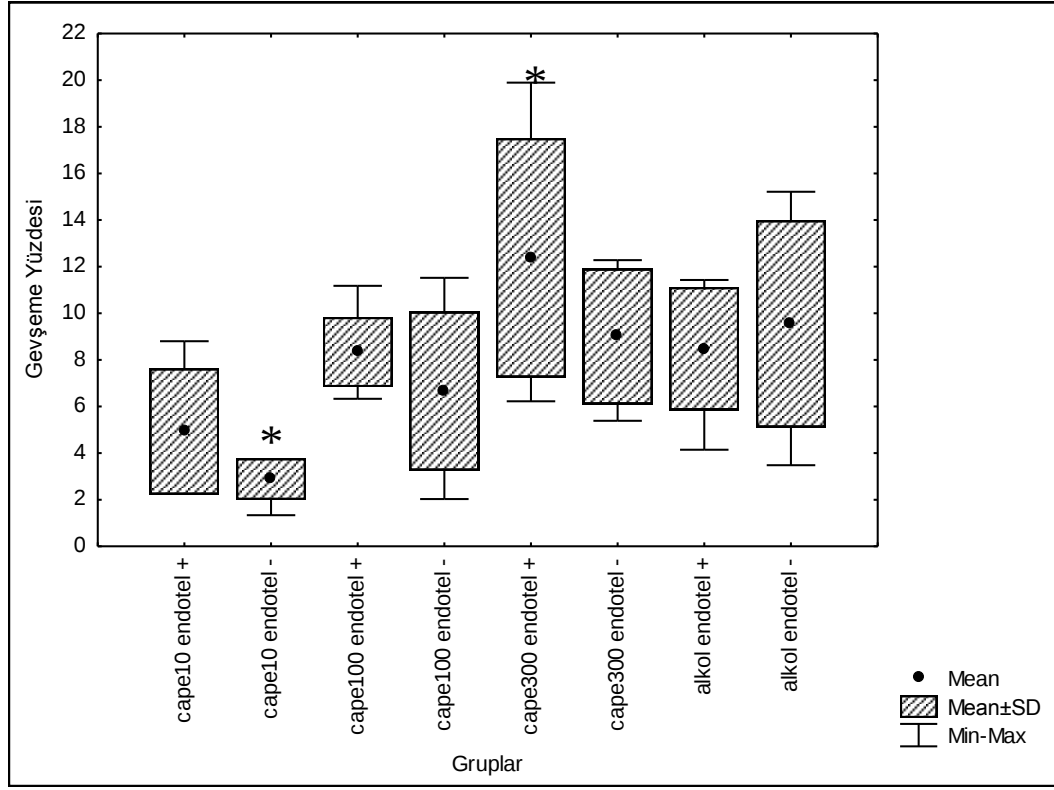
4- BULGULAR:

Tablo III : Torasik aort gevşeme yüzdelerinin ortalama, standart sapma, standart hata ve minimum-maksimum değerlerinin tablo olarak gösterilmesi.

Tanımlayıcılar gevşeme yüzdeleri								
Grup Adı	N(Grup Sayısı)	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalama için 95% Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt sınır	Üst Sınır		
cape10 endotel +	7	4,9274	2,69606	1,01901	2,4339	7,4208	2,27	8,80
* cape10 endotel -	6	2,8853	,88172	,35996	1,9600	3,8106	1,33	3,65
cape100 endotel +	7	8,3349	1,49394	,56466	6,9533	9,7166	6,33	11,18
cape100 endotel -	6	6,6610	3,39882	1,38756	3,0942	10,2279	2,03	11,52
* cape300 endotel +	6	12,3810	5,12183	2,09098	7,0060	17,7561	6,22	19,89
cape300 endotel -	6	9,0028	2,89954	1,18373	5,9600	12,0457	5,39	12,28
alkol endotel +	6	8,4780	2,63256	1,07474	5,7153	11,2407	4,15	11,43
alkol endotel -	6	9,5434	4,43327	1,80988	4,8910	14,1959	3,48	15,21
Total	50	7,7309	4,02188	,56878	6,5879	8,8739	1,33	19,89

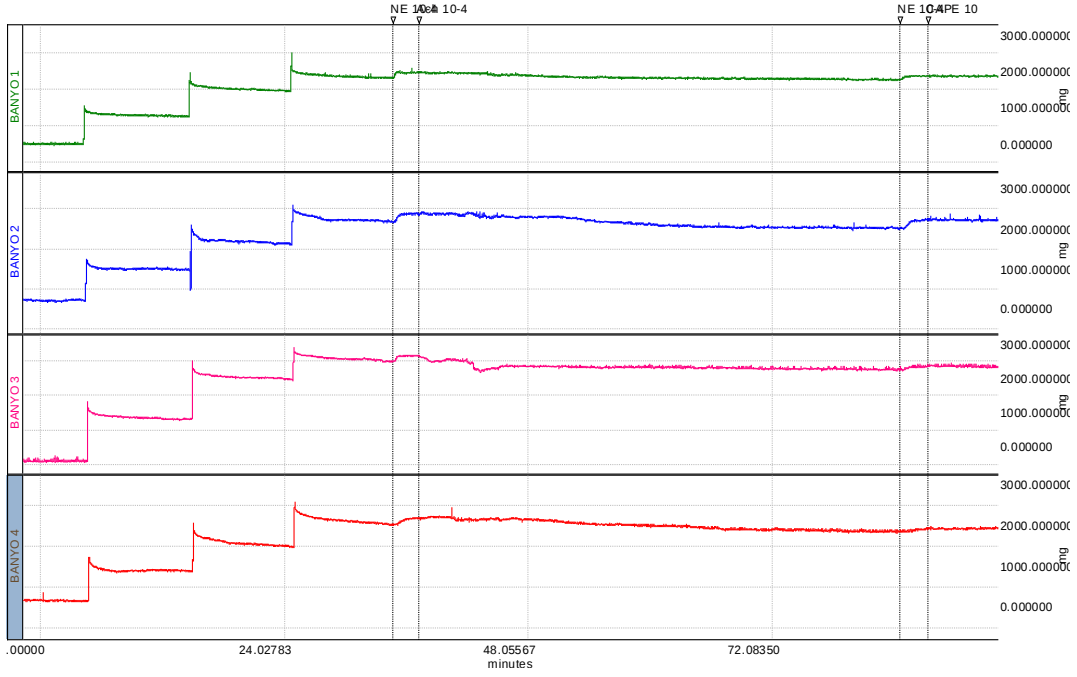
Yukarıdaki tablo, endotel hasarı olmayan (endotel +) ve endotel hasarı olan (endotel-) gruplara 10, 100, 300 µM olarak üç ayrı dozda CAPE verilen ve CAPE'i çözmek için kullanılan alkol gruplarında oluşan torasik aort gevşeme yüzdelerinin tanımlayıcı istatistiklerini göstermektedir.

Gruplara göre gevşeme yüzdelerinin anlamlı düzeyde farklı olduğu bulundu ($p < 0,001$). Endotel hasarı (endotel -) oluşturulan gruba verilen 10 µM dozundaki CAPE ($2,88 \pm 0,88$) ile endotel hasarı oluşturulmayan (endotel +) gruba verilen 300 µM dozundaki CAPE ($12,38 \pm 5,12$) arasında anlamlı düzeyde farklılık bulundu ($p < 0,001$). Diğer gruplarda anlamlı düzeyde farklılık bulunmadı.

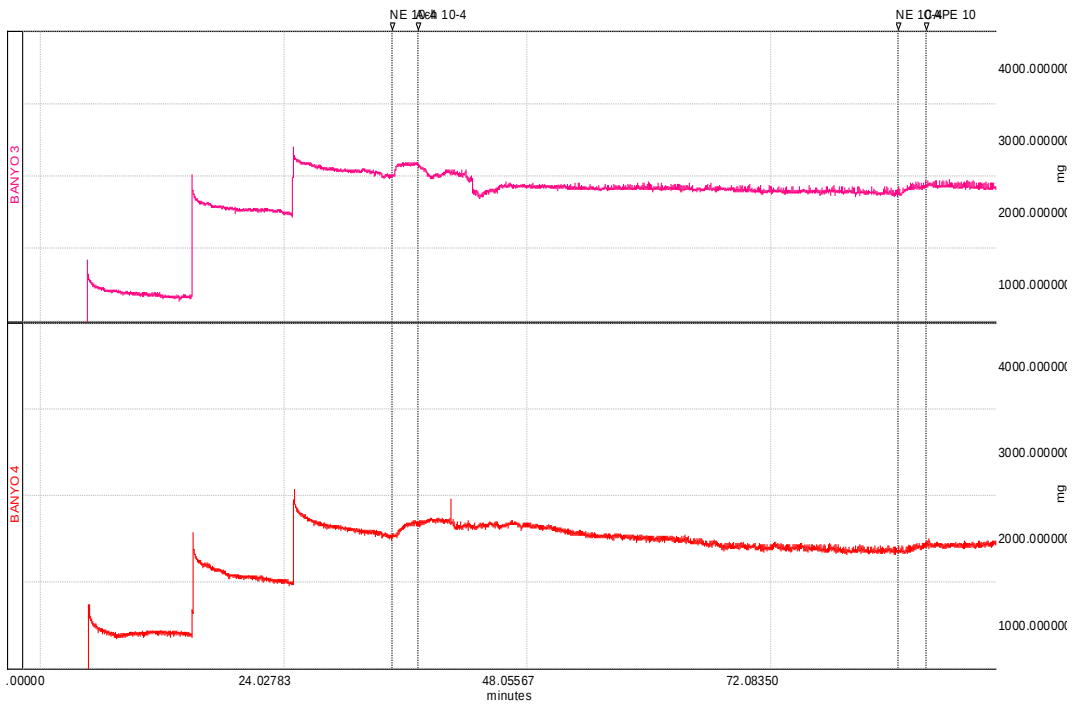


*: $p < 0,001$

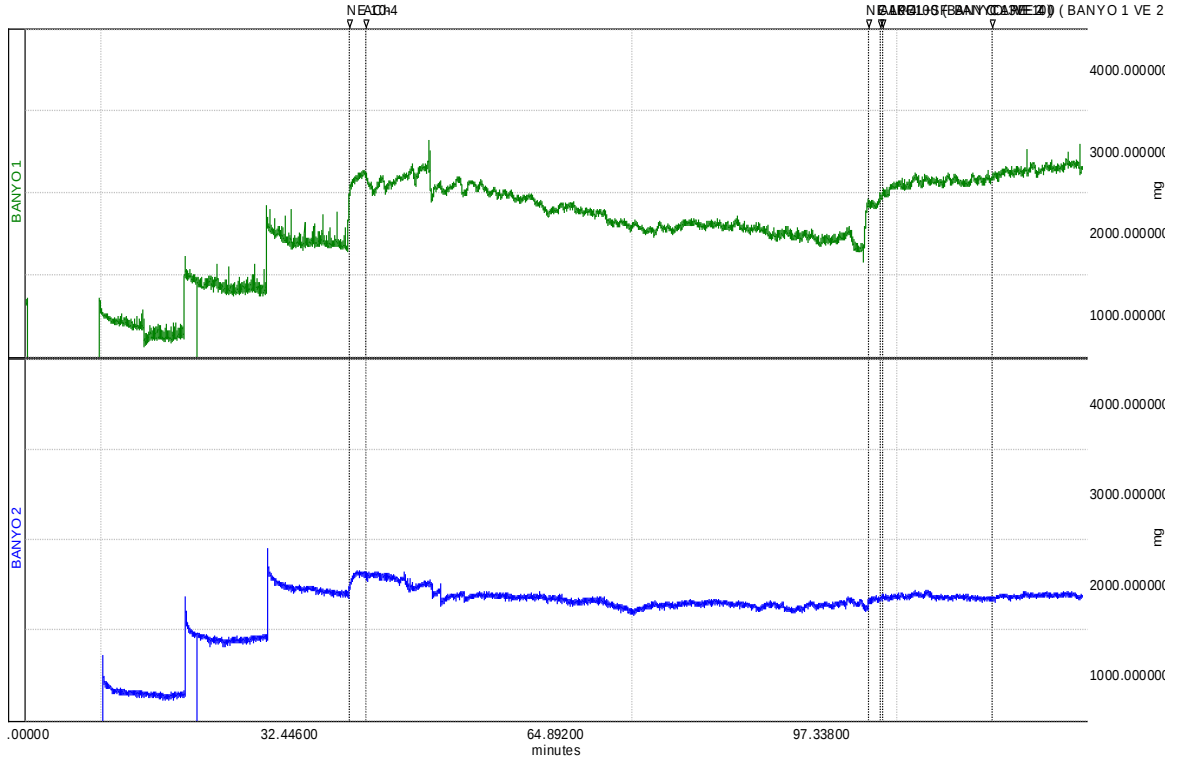
Şekil 10 : Torasik aort gevşeme yüzdelерinin ortalama, standart hata ve minimum-maksimum değерlerine göre grupların karşılaştırılmasının grafiksel olarak gösterilmesi.



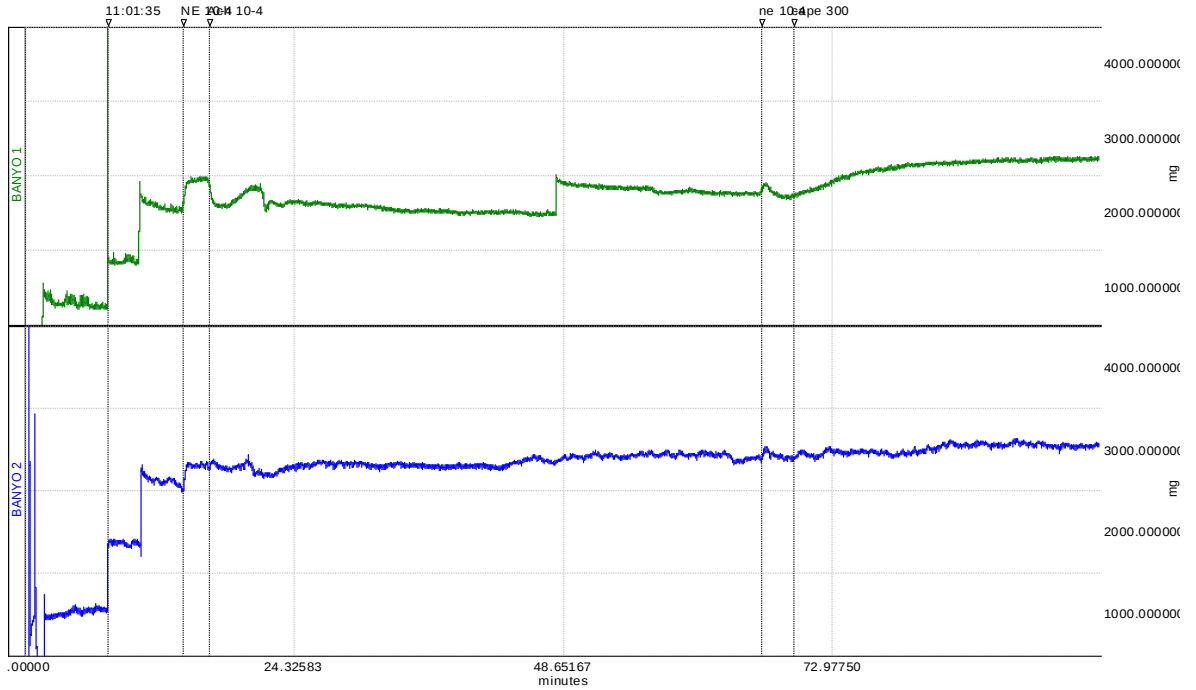
Şekil 11 : Organ banyosu çalışmasının tamamını gösteren grafik (CAPE 10 μ Mol ile)



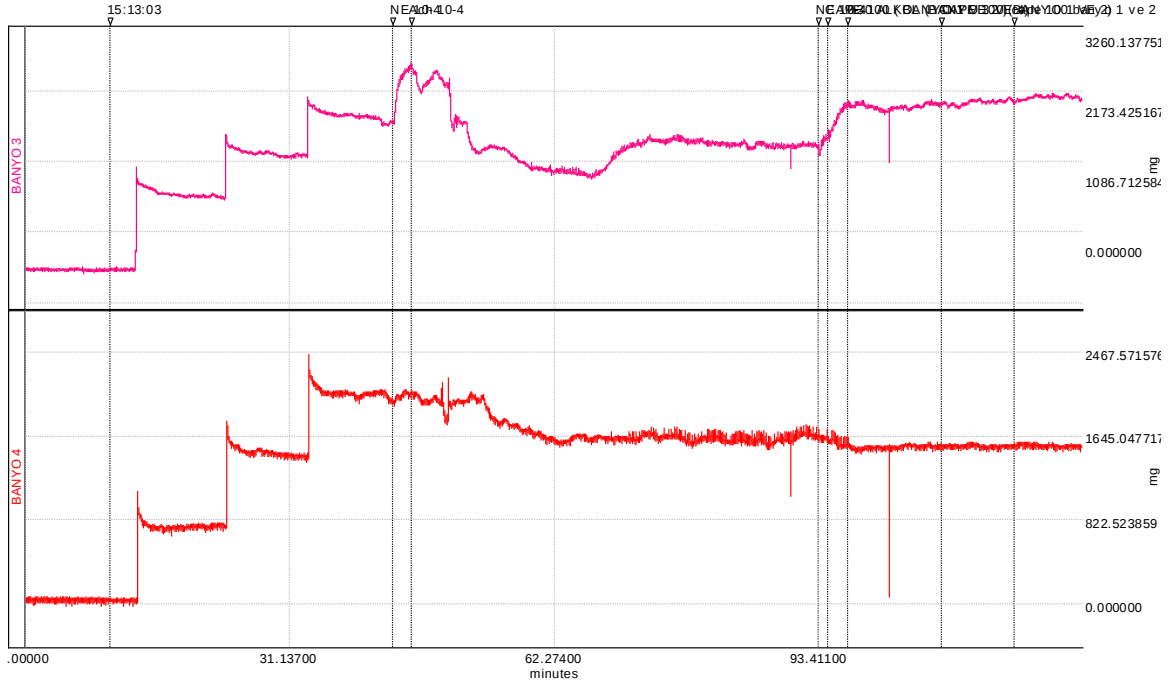
Şekil 12 : Banyo 3’ de endoteli sağlam, banyo 4’de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 10 μ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 13: Banyo 1’ de endoteli sağlam, banyo 2’de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 100 µ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 14 : Banyo 1’ de endoteli sağlam, banyo 2’de endotel hasarı oluşturulmuş aort halkaları üzerine 300 µ Mol CAPE verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 15 : Banyo 3’de endoteli sağlam, banyo 4’de endotel hasarı oluşturulmuş aortada vehicle (%30 luk ethanol) verildiğinde oluşan gevşeme yanıtları

5- TARTIŞMA

Çalışmamızda, ooferektomi yaparak menopoz modeli oluşturduğumuz sıçanlardan izole edilen torasik aort halkalarını organ banyosu havuzlarına asarak, CAPE’i üç ayrı dozda (10 μ M, 100 μ M, 300 μ M) doğrudan organ banyosu havuzlarına vermek suretiyle endoteli sağlam ve endotel hasarı oluşturulan aort halkaları üzerine olan etkisi araştırıldı.

Bugüne kadar yapılan moleküler, hücresel ve hayvan çalışmalarında vasküler hücreler üzerine östrojenin olumlu etkileri ve bu etkilerinin hızlı, membran östrojen reseptörlerine bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir. Estradiol, östrojen reseptörleri ve nitrik oksit bağımlı mekanizmalarla hızlı aortik vazodilatasyon sağlar. Östrojen etkisiyle endotelial nitrik oksitin hızlı salınımı vasküler homeostazisin sağlanmasında anahtar bir rol oynar (155). Östrojen damar duvarı üzerine direkt etki ederek kardiyovasküler sistemde koruyucu etki göstermektedir. Vasküler düz kaslarda iyonik permeabiliteyi değiştirerek veya indirect olarak da nitrik oksitin aktivitesini ve prostasiklin sentezini regüle ederek vazodilatasyona neden olmaktadır. Aynı zamanda bir anjiogenik faktördür ve vasküler düz kas hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonunu inhibe etmek suretiyle vasküler hasara karşı koruyucu etki göstermektedir (156).

Rahimian ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada östrojenin hem hücre içine Ca^{+2} girişini artırarak hem de NO sentezini artırmak suretiyle endotelial hücrelerini hiperpolarize ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada erkek, dişi, ovariectomize ve ovariectomize+17 β -estradiol tedavi grubu olmak üzere dört grup oluşturulmuş, her grubun torasik aortaları çıkartılıp organ banyosu havuzlarına asılmış fenilefrin ile kontraksiyon oluşturulduktan sonra cyclopiazonic acid verilerek relaksasyon cevabına bakılmıştır. Cyclopiazonic acid, endoplazmik retikulum Ca^{+2} - ATP az inhibitörüdür, endoplazmik retikuluma Ca^{+2} geri-alınımını inhibe ederek endoplazmik retikulum Ca^{+2} unu azaltır, bu durum Ca^{+2} un hücre içine akışını aktive eder. Ayrıca cGMP üretimi üzerinden endotele bağlı relaksasyon oluşturur. Dişi ve ovariectomize+17 β -estradiol tedavisi alan gruplardaki relaksasyonun diğer gruplara göre daha anlamlı olduğunu görmüşlerdir. Bu çalışma östrojen tedavisi alan grupta kan damarlarındaki dilatasyonun endotelial hücrelerdeki endoplazmik retikuluma Ca^{+2} alınımının inhibisyonuna ve NO salınımına bağlı olduğunu göstermektedir (157). Bizim çalışmamızda endoteli sağlam olan aort halkalarında CAPE’in neden olduğu relaksasyonun daha anlamlı olduğunu gördük.

Wong M. arkadaşları menopoz döneminde oluşan endotel disfonksiyonunu araştırmak amacıyla ovaryumları çıkartarak sıçanlarda menopoz modeli oluşturmuşlar, gruplardan birine üç ay boyunca gavaj yoluyla 2,5 mg/kg/gün raloksifen tedavisi uygulamışlardır (158). Raloksifen selektif östrojen reseptör modulatorüdür. Raloksifenin menopoz dönemindeki kadınlarda lipid profilini iyileştirdiği Delmas ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (159). Simoncini ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada raloksifenin endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (160). Wong ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kontrol, ovariectomize ve ovariectomize+raloksifen tedavisi alan grup olarak ayırmışlar, her bir grubun torasik aort halkalarının organ banyosu havuzlarında fenilefrin ve kalsiyum klorür varlığındaki kontraksiyon cevabına bakmışlar, fenilefrinin oluşturduğu kontraksiyon cevabında gruplar arasında fark bulunmamış, endotel kaldırıldığında oluşan cevapta ise ovariectomize olan gruba göre kontrol ve ovariectomi+raloksifen tedavisi alan grupta anlamlı derecede artma görülmüştür, kalsiyum klorüre verilen cevapta her üç grupta bir farklılık görülmemiştir. Ach'e karşı oluşan gevşeme cevabına baktıklarında kontrol ve ovariectomize olan grupta bir farklılık olmazken raloksifen tedavisi alan grupta daha iyi cevap almışlardır. Bu da yaşlanmış, östrojen eksikliği olan sıçanlarda raloksifen tedavisinin bazal NO salınımını düzenlediğini göstermektedir. Kalsiyum klorüre karşı oluşan kasılma yanıtında gruplar arasında herhangi bir fark olmaması östrojen eksikliğinin vasküler düz kaslardaki bazal kontraktıl mekanizmayı değiştirmedikini düşündürmektedir. Bu çalışma, sağlam endotel varlığında kronik raloksifen tedavisi alan ovariectomize sıçanlarda NO'nin aracılığı ile oluşan relaksasyonun geliştiğini, östrojen eksikliği gelişen durumlarda kan damarlarının fenilefrine karşı gösterdiği büyük kontraktıl cevabın endoteli sağlam olan damarlarda raloksifen tedavisi ile önlendiğini göstermiştir. Böylece raloksifenin bazal NO salınımını düzenleyerek hipertansiyon ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisinin olabileceğini göstermesi açısından önemlidir (158). Çalışmamızda CAPE'in endoteli sağlam olan aort halkalarında daha iyi gevşeme yanıtı oluşturması NO salınımına aracılık ettiğini, bu etkisinin menopoz döneminde oluşabilecek kardiyovasküler hastalıklardan korunma açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Cicala ve arkadaşları *in vitro* olarak ilk kez CAPE'in vasküler etkilerini göstermişlerdir. Bu çalışmada torasik aort halkaları organ banyosu havuzlarına asılarak hem endoteli sağlam hem de endoteli kaldırılmış halkalarda CAPE'in relaksasyon etkisi

araştırılmıştır. Endoteli sağlam olan dokularda fenilefrinin oluşturduğu kasılmayı inhibe edici etkisi konsantrasyona bağımlı iken, KCl (potasyum klorür) ile kontraksiyon oluşturulduğunda ise kontraksiyonu inhibe edici etkisi sadece yüksek konsantrasyonlarda görülmüştür (100µM). Bu durum NO salınımının fenilefrinin oluşturduğu kasılmaya etki ettiğini ve onu değiştirdiğini göstermektedir, fakat KCl'ün oluşturduğu kasılmaya etkisizdir. En yüksek konsantrasyondaki etkisi CAPE'in zehirleyici etkisine bağlı değildir çünkü doku yıkandıktan sonra hala fenilefrin uyarısına cevap vermektedir (128). Fenilefrin, Ca^{+2} bulunan ortamda kontraksiyon oluşturur. Bu durum Ca^{+2} un reseptör bağımlı kanallardan içeri akımını artırarak veya intrasellüler havuzdan salınımını artırarak olur. Yüksek konsantrasyondaki KCl ile oluşturulan kontraksiyon voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} 'un içeriye akmasının artmasından dolayıdır (161). CAPE'in yüksek konsantrasyonlarda kontraksiyonu inhibe edici etkisi Ca^{+2} reseptörleri veya voltaj bağımlı kanallar üzerinden olabilir. İlginç olarak CAPE ayrıca, Ca^{+2} suz ortamdaki fenilefrinin oluşturduğu kasılmayı da inhibe etmiştir (128) Çalışmamızda norepinefrin ile kontraksiyon oluşturduk. Norepinefrin direkt olarak damar düz kası üzerindeki α - reseptörlere bağlanarak vazokonstriksiyon oluşturur (9). Endoteli sağlam olan aort halkalarında en yüksek kullandığımız CAPE dozunda en iyi yanıt aldık ancak daha düşük dozlarda da yanıt aldık. Bu da bize bu çalışmada olduğu gibi CAPE'in NO salınımı üzerinden etki ettiğini düşündürdü. Yine domuz koroner arter segmentleri üzerinde CAPE ile yapılan bir çalışmada endoteli kaldırılmış segmentlerde alınan relaksasyon cevabının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Bu da domuz koroner arter üzerine CAPE'in relaksasyon etkisinin endotel-NO-cGMP yolu üzerinden olabileceğinin diğer bir kanıtıdır (129). Vasküler tonusun ayarlanmasında nitrik oksit en önemli düzenleyicidir. Nitrik oksit vasküler endotelial hücrelerde L-Arginin'den nitrik oksit sentaz enzimi aracılığı ile sentez edilir. Endotelden üretilen relaksasyon faktörü olarak vasküler tonusu düzenlediği bildirilmiştir (139). Nitrik oksit endotelial hücrelerden salındıktan sonra guanilat siklazı stimüle eder ve vasküler düz kas hücrelerinde cGMP seviyesini artırır. cGMP, cGMP- bağımlı protein kinazı aktive eder. cGMP bağımlı protein kinazın troponin-I'yı fosforile ederek kontraksiyonun gücünü ve hızını azalttığı gösterilmiştir (162).

Kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde β -adrenerjik reseptörlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. β -adrenerjik reseptörlerin stimülasyonunun vasküler düz kas hücrelerinde adenilat siklaz aktivasyonu yoluyla vazorelaksasyona neden olduğu gösterilmiştir (163). Long Y. ve arkadaşları domuz koroner arteri üzerinde yaptıkları

çalışmada β -adrenerjik reseptörleri selektif olarak bloke eden propranolol ve adenilat siklaz enzimini inhibe eden SQ22536 maddesini kullanmışlar, CAPE' neden olduğu relaksasyonun azaldığını, böylece CAPE'in β -adrenerjik reseptörler ve cAMP aktivasyonu üzerinden de etkisi olabileceğini düşünmüşlerdir (129). Xu ve arkadaşları yine domuz koroner arteri üzerinde curcumin ile yaptıkları bir çalışmada curcuminin NO ve β -adrenerjik reseptörler üzerinden vazorelaksasyon etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Curcumin, curcuma longa'dan izole edilen fenolik yapıda bir bileşiktir. Çeşitli baharat ve yiyeceklerde renklendirici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinogenik etkilerinin olduğu daha önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Curcumin ve CAPE kimyasal yapıları bakımından birbirine benzeyen polifenol yapısında doğal olarak oluşan bileşiklerdir (164). Mazumder ve arkadaşları curcumin ve CAPE kullanarak yaptıkları bir çalışmada ikisinde HIV-I integras aktivitesi üzerine inhibitör etki göstererek antiviral etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (165). Curcumin ve CAPE, katekol halkalarında taşıdıkları fonksiyonel olarak aktif orto-hidroksi gruplarından dolayı β -adrenerjik agonist özellik göstermektedirler (129). İskikawa ve arkadaşları tavşan portal venini kullanarak yaptıkları çalışmada NO salınımının cGMP'yi ve β -adrenoreseptör stimülasyonunun cAMP'yi artırarak vasküler düz kas hücre membranlarında Ca^{+2} kanallarını inhibe ettiğini göstermişlerdir (166). Long Y. arkadaşlarının yaptıkları çalışmada domuz koroner arterinde KCI (2.5-100m M) ile kontraksiyon oluşturmuşlar ve bunu kontrol grubu olarak almışlar daha sonra banyoyu Krebs solusyonu ile yıkayıp aort halkalarını dinlenme durumuna getirmişler bu durumda iken banyoya CAPE (10^{-5} M) vererek 20 dakika beklemişler ardından tekrar KCI vererek CAPE'in yanıtına bakmışlar ancak CAPE'in kontraksiyonu inhibe etmediğini görmüşlerdir. Ca^{+2} için konsantrasyona bağlı kontraksiyon cevabına baktıklarında, aynı şekilde KCI bulunan ortamda Ca^{+2} 'un konsantrasyonuna bağlı kontraksiyon cevap eğrisini kontrol grubu olarak almışlar, daha sonra dokuyu yıkamışlar ve CAPE ($10^{-5}, 10^{-6}$ M) vererek 20 dakika beklemişler ardından kalsiyumun konsantrasyonuna bağlı kontraksiyon cevap eğrisini tekrar almışlar, Ca^{+2} 'a bağlı oluşan kontraksiyonu CAPE'in azattığını göstermişlerdir (129). Bu sonuçlar Cicala arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da bildirdikleri gibi CAPE'in voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} un içeriye akmasını inhibe etmek suretiyle bir kalsiyum antagonisti özelliğinin olabileceğini desteklemektedir.

Cicala ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endoteli L-NAME (N-nitro-L- arginine methyl ester) ile inkübe ederek veya çalışmamızda yaptığımız gibi mekanik hasarla endoteli

kaldırdıktan sonra CAPE (1-100 μ M) uygulamışlar, düşük konsantrasyondaki CAPE'in relaksasyon cevabı oluşturmadığını ancak CAPE konsantrasyonu yükseldikçe alınan relaksasyon cevabının arttığını gözlemişlerdir. Endoteli kaldırılmış dokuda KCI ile kontraksiyon oluşturulduğunda CAPE NO bağımlı ve bağımsız olarak etki gösterir ve bu durum kasılma için başka ajanlar kullanılsa da geçerlidir. Cicala ve arkadaşları yaptıkları bu deneylerde, endoteli kaldırılmış damarlarda CAPE ile oluşturulan relaksasyonun adenilat siklaz inhibisyonu üzerinden olmadığını ve bu etki de cAMP'nin rolü olmadığını düşünmüşlerdir (128). Bu da çalışmamızda gösterdiğimiz endotel hasarı oluşturduğumuz grupta en düşük CAPE dozunda (10 μ M) aldığımız minimal gevşeme yanıtı ve daha yüksek konsantrasyonlarda (100 μ M, 300 μ M) aldığımız daha fazla gevşeme yanıtıyla uyumlu görülmektedir.

Long Y. arkadaşları yaptıkları çalışmada CAPE'in neden olduğu vazodilatasyonun hem vasküler endotel üzerinden hem de vasküler düz kas hücreleri üzerinde çoğunlukla lokalize olan adreno reseptörler üzerinden olabileceğini düşünmektedirler (129). Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre CAPE'in endoteli sağlam olan aort halkalarında daha iyi gevşemeye neden olması endotel-NO-cGMP yolu üzerinden daha iyi etki gösterdiğini, endotel hasarı oluşturduğumuz oart halkalarında daha az gevşeme yanıtı almış olmamız vasküler düz kas hücreleri üzerinden etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Cicala ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada elde ettikleri veriler CAPE'in endoteli sağlam olan aort halkalarında kontraksiyonu inhibe edici etkisinin ikili bir mekanizma ile olabileceğini göstermektedir. Birincisi, düşük konsantrasyonlardaki CAPE'in NO salınımına sebep olması, yüksek konsantrasyonlarda ise Ca^{+2} girişini ve intrasellüler havuzdan Ca^{+2} salınımını inhibe etmesine bağlıdır. Bu hipotez, aortik düz kas hücrelerinde fenilefrin ve KCI ile intrasellüler Ca^{+2} artışına bağlı olarak oluşturulan kontraksiyonu yüksek konsantrasyonlardaki CAPE'in durdurabileceğini kuvvetle desteklemektedir. Bu etki ekstrasellüler Ca^{+2} ortadan kaldırılrsa bile devam etmektedir. Yani CAPE hem Ca^{+2} un hücre içine girişine hem de intrasellüler havuzdan serbestleşmesine etki etmektedir. Bu çalışma endoteli sağlam olan damarlarda yüksek konsantrasyondaki CAPE'in hücre membranından vasküler düz kas hücreleri içine Ca^{+2} hareketini durdurmak suretiyle relaksasyon yaptığını gösteren ilk çalışma olması bakımından önemlidir (128). Çalışmamızda, endoteli sağlam olan grupta en yüksek CAPE dozunda (300 μ M) en iyi gevşeme yanıtını almış olmamız Cicala

grubunu destekler şekilde hem NO salınımı hem de düz kas hücreleri için Ca^{+2} girişini inhibe etmesi özelliğine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

CAPE, immünomodülatuar ve immüностimülatör etkisi daha önce gösterilmiş, bal arısının ürettiği, yapıcı flavonoidlere benzeyen, propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (70). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda normal sıçanlarda CAPE'in vasküler etkileri çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda ovariectomi yaparak menopoz modeli oluşturduğumuz sıçanlarda CAPE'in vasküler etkilerini inceledik. CAPE'in endoteli sağlam aort halkaları üzerinde düşük dozda verildiğinde oluşan relaksasyon etkisinin NO salınımı üzerinden olabileceğini ,doz yükseldikçe daha iyi relaksasyon etkisinin görülmesi, yanısıra vasküler düz kas hücre membranından Ca^{+2} un hücre içine girmesini inhibe etmesi özelliğine bağlı olabileceğini düşündürmektedir ve bu durum Cicala grubunun yaptıkları çalışmada olduğu gibi CAPE'in ikili bir mekanizma üzerinden relaksasyon etkisinin olabileceğini desteklemektedir. Endoteli kaldırılmış aort halkaları üzerinde en düşük CAPE dozunda an az gevşeme yanıtı, CAPE dozu yükseldikçe aldığımız gevşeme yanıtlarının artmış olması CAPE'in β -adrenerjik reseptörleri etkileyerek cAMP üzerinden vasküler düz kas hücrelerini gevşetici etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Böylece CAPE'in NO salınımı uyarması ve diğer etkilerinin sonucunda, menopoz döneminde oluşabilecek kardiyovasküler hastalıklardan korunmada alternatif bir tedavi seçimi olabileceğini düşünmekteyiz.

6- SONUÇ

Menopoz, adet kanamalarının kalıcı olarak sonlanması durumu olup, klimakterium dönemi ile birlikte kadın hayatının önemli bir dönüm noktasını oluşturmaktadır. Teknolojik gelişmeler ve ortalama yaşam süresinin uzamasıyla birlikte menopoz döneminde geçen süre uzamıştır. Bu sürede karşılaşılan sağlık problemlerine yönelik çalışmalar gün geçtikçe daha çok artmaktadır. Ortalama 50 yıl boyunca östrojenin etkilerine maruz kalan kadın vücudu birdenbire bu hormonun eksikliğiyle tanışmaktadır.

Menopozun tedavisinde temel amaç eksik olan östrojen hormonunun yerine konmasıdır. Çünkü oluşan bulgular bu hormonun eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Bugüne kadar östrojenin dozu, veriliş yolu ya da östrojen kullanımının kontrendike olduğu durumlarda onun yerini alabilecek başka maddelerin kullanımı konusunda çok fazla çalışmalar yapılmıştır ve hala da yapılmaktadır.

Çalışmamızda, sıçanlara ooferektomi uygulayarak deneysel menopoz modeli oluşturduk. Bu sıçanlardan elde ettiğimiz torasik aort halkalarını organ banyosu havuzlarına astık. Üç ayrı dozda CAPE kullanarak 300 µM CAPE dozunda endoteli sağlam grupta aort halkalarında maksimum gevşeme elde ettik.

CAPE’i organ banyosu havuzlarına doğrudan vermek suretiyle menopoz dönemindeki vasküler etkilerinin araştırılması, menopoz döneminin tedavisine yönelik bundan sonraki çalışmalarda yol göstereceği inancındayız. CAPE’in klinikte bu endikasyonda uygulanabilirliği açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu da bir gerçektir

7- ÖZET :

Ooforektomize Dişi Sıçanlardan İzole Edilmiş Torasik Aort Üzerine CAPE(Caffeic Acid Phenethyl Ester)'in Vasküler Etkileri

Amaç : Bu çalışmanın amacı, ooforektomi yaparak menopoz modeli oluşturduğumuz dişi sıçanlardan izole edilen torasik aortaya CAPE'in etkilerini araştırmaktır.

Yöntem : 50 adet ooforektomi yapılmış dişi Wistar-Albino cinsi sıçan (200-250 gr) randomize olarak (n= 6-7) sekiz gruba ayrıldı ; CAPE 10 μ M Endotel (+) (grup I), CAPE 10 μ M Endotel (-) (grup II), CAPE 100 μ M Endotel (+) (grup III), CAPE 100 μ M Endotel (-) (grup IV), CAPE 300 μ M Endotel (+) (grup V), CAPE 300 μ M Endotel (-) (grup VI), Ethanol Endotel (+) (grup VII), ethanol endotel (-) (grup VIII). Sıçanlara, intraperitoneal olarak ketamin (50mg/kg) + ksilasin (5mg/kg) anestezi uygulandı. Göğüs kafesi sternumun altından başlanarak sternumun sol tarafı boyunca yukarıya boyuna doğru hızlı bir şekilde dikkatlice açıldı. Kalp ve akciğerler sol yana çekilerek torakal aortaya ulaşıldı. Torakal aorta dikkatli bir şekilde arcus aorta ile birlikte çıkartıldı, Krebs-Henseleit solüsyonu içeren petri kabı içine bırakıldı. Aorta üzerindeki yağ vs. gibi dokulardan temizlendikten sonra 3-5 mm'lik halkalar halinde kesildi. Kesilen halkalar zaman geçirilmeden Krebs- Henseleit solüsyonu içeren, karbojenize ve ısıtılan organ banyosu havuzlarına asıldı. Aort halkaları önce 1 gr gerildi, 10 dk beklendi, daha sonra 10 dk aralarla 1'er gr artırılarak 4 gr'a kadar gerildi, bilgisayardan izlenen kasılma eğrileri stabil seyredince NE 10^{-4} derişiminden 0,1 ml ile kasılma yanıtı alındı, ardından Asetilkolin 10^{-4} M derişiminden 0,1ml ile gevşeme yanıtları alındı. Son olarak banyo tekrar iki kez Krebs Henseleit solüsyonu ile yıkandı ve deneye başlamak için 45 dakika beklendi. Daha sonra deney safhasına geçildi. Önce norepinefrin 10^{-4} M 0,1 ml her bir banyoya verildi. Banyolarda oluşan kasılma yanıtları gözlemlendi. Oluşan kasılma eğrisinde plato düzeyi oluşup stabil seyretmeye başlayınca hazırlanan CAPE 10 μ M bir grup, 100 μ M diğer grup ve 300 μ M olarak üçüncü grup olarak üç ayrı dozda banyolara 0.1 ml olarak verildi. CAPE'i çözmek için kullanılan %30 luk ethanol de ayrı bir grup olarak (vehicle) planlandı. %30 luk ethanol solüsyonundan 0.1 ml banyolara verilerek yanıtları gözlemlendi.

Bulgular : Endoteli sağlam aort halkaları üzerinde CAPE en düşük dozda en az olmak üzere doz yükseldikçe artan gevşeme yanıtları oluşturdu. Endoteli kaldırılmış aort halkalarında düşük dozdan yüksek doza doğru artan gevşeme yanıtları oluşturdu. Gruplara göre gevşeme yüzdelerinin anlamlı düzeyde farklı olduğu bulundu ($p < 0,001$). Endotel hasarı (endotel -) oluşturulan gruba verilen 10 μM dozundaki CAPE ($2,88 \pm 0,88$) ile endotel hasarı oluşturulmayan (endotel +) gruba verilen 300 μM dozundaki CAPE ($12,38 \pm 5,12$) arasında anlamlı düzeyde farklılık bulundu ($p < 0,001$). Diğer gruplarda anlamlı düzeyde farklılık bulunmadı.

Sonuç : CAPE'in menopoz modeli oluşturulmuş sıçanlarda 300 μM dozunda endoteli sağlam aort halkalarında en iyi gevşeme yanıtı oluşturduğu görülmüştür. Menopoz modeli üzerinde CAPE'in aort halkalarında gevşeme etkisinin ilk defa gösterilmiş olması bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız.

Anahtar Kelimeler : CAPE, izole organ banyosu, aort, gevşeme yanıtları, menopoz

İletişim Adresi: drserce@ gmail.com

8- SUMMARY :

Vascular effects of CAPE on isolated thoracic aorta of ovariectomized rats

Aim: The aim of the study investigate the effect of CAPE on isolated thoracic aorta of menopausal model.

Methods : Fifty ovariectomized Wistar- Albino rats randomly divided into eight groups (n=6-7) ; CAPE 10 μ M endothelium + group (I), CAPE 10 μ M endothelium - group (II), CAPE 100 μ M endothelium + group (III), CAPE 100 μ M endothelium - group (IV), CAPE 300 μ M endothelium + group (V), CAPE 300 μ M endothelium - group (VI), ethanol endothelium + group (VII), ethanol endothelium - group (VIII) [n.b., negative – indicates groups with damaged endothelium]. Rats were anaesthetized using ketamin (50 mg /kg) + ksilasin (5mg/kg). Chest cavity was surgically exposed from the bottom left side of the sternum. The heart and the lungs were moved to left side to expose the thoracic aorta. The thoracic aorta and aortic arch were carefully extirpated and placed in dish that had Krebs-Henseleit solution. After the dissection of fatty and other tissues around the aorta, it was sliced into 3-5 mm rings. The rings were quickly hung into a heated organ bath that contained carbonated Krebs- Henseleit solution. Aorta rings were first stretched by 1 gram and then stretched to 4 gm in 1 gm increments in 10 minutes episodes. When the tension records on a computer monitor were stable, contraction response using NE 10^{-4} M and relaxation response using 0.1 ml Ach (10^{-4}) were obtained. Finally the preparation was washed twice using Krebs-Henseleit solution and the experiment was initiated 45 minutes later. During the experiment 0.1 ml NE 10^{-4} M was delivered into each of the baths and contraction responses of the aorta were observed. Once stable plateau contraction level was reached, 0.1 ml of CAPE of in 10 μ M, 100 μ M, 300 μ M doses were delivered into each of the three groups of the baths (3x4). Thirty percent of ethanol that is used to dissolve CAPE was prepared as a vehicle group and delivered in 0.1 ml volumes into the baths.

Results: There was a significant dose dependant increase in the relaxation response of the aorta rings with healthy and damaged endothelium. The response of the group that had damaged endothelium and received 10 μ M CAPE was significantly different from the response of the group that had healthy endothelium and received 300 μ M CAPE ($p < 0.001$). Other groups did not however display any significance.

Conclusions: In aorta rings with healthy endothelium that was taken from menopause model rats the best relaxation response was obtained using 300 μ M CAPE. We believe that this novel study will shed light into the next generation of studies in this field of study.

Key words: CAPE, isolated organ baths, aorta, relaxation responses, menopause

Address for correspondence: drserce@gmail.com

9- KAYNAKLAR

- 1- Yıldırım M. Klinik Jinekoloji, Üçüncü Baskı, Çağdaş Medikal Kitabevi ve Yayıncılık Hizmetleri, 2002: 187-215
- 2- Berek J, Novak Jinekoloji, 13.Baskı, Nobel Tıp Kitabevi,2004:1109-1133
- 3-Wu J.M, Zelinski M.B, Ingram DK, Ottinger MA : Ovarian Aging and Menopause : Current Theories, Hypotheses and Research Models.Exp Biol Med,2005, 230: 818-828
- 4- Turfanda A, Turfanda T. Menopoz ve Güncel Tedavi Prensipleri,2008:1-44
- 5- Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, İkinci Baskı, Güneş Kitabevi, 2006:1523-1546
- 6- Kışnişçi H, Gökşin E, Durukan T, Üstay K,Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu L.Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, Güneş Kitabevi, 1996: 1319-1350
- 7- Scott J, Discaria P, Spellay W, Hammond C. Danforth's Obstetrics and Gynecology, Yedinci baskı,1994:771-789
- 8- Carey J, Rayburn W. Obstetrik ve Jinekoloji, Dördüncü Baskı, Güneş Kitabevi, 2006:328-331
- 9- Guyton H. TıbbiFizyoloji, 11. Basım, Nobel Tıp Kitabevi,2007:1012-1015,1022
- 10- Ganong F. Tıbbi Fizyoloji, 20. Baskı.,Nobel Tıp Kitabevi,2001:419-425
- 11- Drife J, MagowanM . Clinical Obstetrics and Gynaecology, 2004:233-238
- 12- Arısan K. Propedotik Kadın- Doğum, 1. Baskı, 1993:97-140
- 13- Berne R, Levy M, Koeppen B, Stanton B. Fizyoloji, Beşinci Baskı, Öncü Basımevi 2008: :947-964
- 14-Speroff L, Fritz M. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Yedinci Baskı, 2005: 621-636
- 15- Atasü T, Şahmay S. Jinekoloji, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 357-361
- 16- Benson R. Current Obstetric& Gynecologic Diagnosis & Treatment , Beşinci Baskı, Middle East Edition, 1984: 137-144
- 17- Adashi E, Rock J, Rosenwaks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology, Volume 2, 1996:1745-1756
- 18-Mishell D, Davajan V, Lobo R. Infertility, Contraception & Reproductive Endocrinology Üçüncü Baskı,1981:241
- 19-Luis MG, Silvia T. Glia in the aging brain. Climacteric ,2005,Vol 8 supp.,2 sy 11

- 20- Bechmann I, Mor G. FasL (CD95L,APD IL) is expressed in the normal rat and human brain evidence for the existence of an immunological brain barrier. *GLIA* 1999; 27 (1) 62-74
- 21- Murphy DGM, DeCarli C. Sex differences in human brain morphometry and metabolism. *Arch. Gen. Psychiatry* 1996; 53: 585-94
- 22- Gould E, Wooley CS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J. Neuro. Sci.* 1990;10 : 1286
- 23- Genannzzani AR, Petraglia F. The brain. Source and target for sex steroid hormones. Carnforth UK. Parthenon publishing group 1996
- 24- Fure K, Gustafsson JA . Steroid hormone regulation of the brain. Oxford Pergamon 1981; 27-56
- 25- Fuxe K, Harfstarnd A, Eneroth P. Neuro peptid Y mechanism in neuroendocrine regulation In : Genazzani A., Retc.Eds. The brain and reproductive function. CarnForth UK.Parthenon publishing group 1988; 45
- 26- Genannzzani AR, Petraglia F. Steroid replacement increases B- endorphin and B-lipoprotein plasma levels in post menopausal women.*Gynecol Obst. Invest* 1988; 26: 153
- 27- Luine VN, McEwen BS. Effects of estradiol on turnover type A monoaminooxidase in brain. *J. Neuro.chem.* 1977; 28 : 1221-7
- 28- Luine VN. Estradiol increases cholin acetyl transferase activity in specific basal forebrain nucleus and projection areas of female rats. *Exp. Neurol.* 1985; 89: 484
- 29-Frith CD,Dowdy J.Selective impairment of paired associate learning *Psychopharmacology* 1985; 87: 490
- 30- Kugler J, Seus R. Differences in psychic performance with guanfacine Br. *J.Clin.Pharmacol.*1980; 10 :15
- 31- Etgen AM, Karkanias GB . Estrogen regulation of noradrenergic signaling in the hypothalamus. *Psychoneuroendocrine.* 1994; 19: 603
- 32- Dickerson SL. 5 OH – tryptamine mediated behaviour in male and female rats.*Neuropharmacology* 1986 25: 771
- 33- Panay N, Sands RH. Estrogen and behaviour.In. Genazzani AR.,etc. Ed. The Brain:Source and target for sex steroid hormones Carnforth UK parthenon publishing group 1996 ,257
- 34- Biegon A, McEwen BS. Modulation by estradiol of serotoninreceptor in brain.*J.Neurosci.*1982 2 : 199-205

- 35- Chiodo LA, Caggiula AK. Substantia Nigra dopamin neurons. *Neuropharmacology* 1983; 22: 593
- 36- Ecqan AM, Karkanian GB. Estrogen regulation of noradrenergic signaling in the hypothalamus. *Psychoneuro endoc.* 1994; 19:603
- 37- Vacas MJ. Effects of estradiol on α and β adrenoceptor density . *Neurosci.Lett.* 1980 b17:73
- 38- Thase ME, Howland RH. Biological processes in depression In. Beckham E.E, Lober WR, Ed. *Hand book of depression*. 2nd ed. NY. The Guilford press 1995; 213
- 39- Barbieri RC, Cohen LS. Depressive disorder in women .APGO Educational series on women health issues 1997
- 40- Klabire EL, Browermann DM. Estrogen therapy for severe persistent depression in woman. *Arch.Gen.Psychiatr.* 1979; 36 550
- 41- Maggi A, Perez J. Estrogen induced up regulation of γ -amino butyric receptors in the CNS of rodents. *J. Neurochem.* 1986; 47 : 1793
- 42- Blum I., Vered Y.: The effect of HRT on plasma serotonin and catecholamins of postmenopausal woman *Isr. J.Med. Sci.* 1996; 32: 1158
- 43- Petraglia F. : B-endorphin in human reproduction in. Herz A. Ed. *Opioids* Berlin Springer-Verlag 1993; 763-80
- 44- Stomati M, Bersil. Neuroendocrine effects of different estradiol progestin regimens in postmenopausal women. *Maturitas* in press
- 45- Behl C, Shults T. Neuroprotection against oxidative stress by estrogens. *Mol. Pharmacol* 1997; 51:535
- 46- Toran CD : The estrogen / neurotrophin connection during neuronal development *Rev. Neurosci* 1996 18 : 36
- 47- Ohkura T, Ise K, Akazawa K. Evolution of estrogen treatment in female patients with dementia of the Alzheimer type *Endoc. J.* 1994 41 : 31
- 48- Mizoguchi K, Tatsumi T. Stress induces neuronal death in the hippocampus of castrated rats. *Neurosci.Lett.* 1992; 238 : 157
- 49- Qu H., Guoras GK.: Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer β -amyloid peptides. *Nature Med.* 1998; 4 : 447

- 50- Lugaresi E, Cirignotta F, Zucconi M. Good and poor sleepers. An epidemiological survey of San Marino population. In : Sleep/ Wake Disorders: Natural History, Epidemiology and Long-term evolution. Guilleminault C., Lugaresi E. (Eds.) Raven Press: New York 1983
- 51- Owens J.F, Mathews K.A. Sleep disturbance in healthy middle aged women. *Maturitas* 1998; 30 (1): 41-50
- 52- Sateu B, Anderer P. Insomnia related to postmenopausal syndrome *Drugs of today* 2001; 37 (sup G: 39)
- 53- Schiff L, Regestein Q, Tulchinsky D, et al. Effect of estrogen on sleep and psychological state of hypogonadal women *JAMA* 1979; 242: 2405-7
- 54- Schulz H, Jobert M, Gee M.W. Effect of the neurosteroid pregnanolone in relation to the substance's plasma level: A pilot study. *Neuropsychobiology* 1996; 34 (2): 106-12
- 55- Meltzer H.Y. Role of serotonin in depression. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1990; 600: 486
- 56- Shermin B.B. Menopause early aging and elderly women In: Jensen Vold, Halbreich E. *Psychopharmacology and women, sex, gender, hormones* Washington DC Am. Psychiatric 1996; 225
- 57- Mashood S, Steward G. Gender and estrone cycle effects on 5-HTA agonist on hypothalamic serotonin. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1995; 51: 807
- 58- Guiceheny P, Leger D. Platelet serotonin content and plasma tryptophan in pre and postmenopausal women. *En J. Clin. Invest.* 1988; 18: 297
- 59- Gonzales G.F. Blood levels of 5-OH triptamin in human beings under several physiological situations. *Life Sci.* 1980; 27: 647
- 60- Gonzales G.F. Blood serotonin levels in post menopausal women *Maturitas* 1993; 17: 23
- 61- Hruska R.E, Ludmer L.M. Effects of estrogens on striatal dopamine receptor function in male and female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982 16: 285
- 62- Bitar M.S, Ota M, Linolia M. Modification of gonadectomy induced increases in brain monoamine metabolism by steroid hormone in male and female rat. *Psychoneuroendocrinology* 1991; 16: 547
- 63- Wooley C.S, Weiland N.G. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA₁ Pyramidal cells to NMDA mediated synaptic input. *Neurosci.* 1997; 17: 1848
- 64- Gould E. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J. Neurosci.* 1990; 10: 1286
- 65- Luine V. Estradiol increases cholinergic activity in specific basal forebrain nuclei. *Exp. Neurol.* 1985; 89: 484

- 66- Panay N., Sands RH. : Estrogen and behaviour in : Gonazzani AR Ed.The Brain. Source and target for sex steroid hormones. Carnforth UK Parthenon publishing group 1996; 257
- 67- Oriba HA . Vulvar transepidermal water loss delay curves effect of occulision Acta Derm Venerol 1989; 69: 461
- 68- Molender U, Milson I. Effect of oral estrogens on vaginal flora and cytology and urogenital symptoms in the post menopause. Maturitas 1990, 12 : 113
- 69- Erel T. Menopozda genito üriner trofik bozukluklar. In.Menopoz osteoporoz Eds Ertungealp, Seyisoğlu H. Form Rek. Hiz. 2000 p.42
- 70- Barber HR, Graber EA. The PMPO syndrom. Obstet. Gynecol Survey 1973 28: 357
- 71- Wilson CE, Leopord J, Selective type IV colegen defects. J.Urol 1995; 154 : 1222-26
- 72- Lund C. The advanced years In. Romney Gray Ed. Gynecology and Obstetrics . The health care of women Mcgraw Book Co 1975; p.172
- 73- Brinkat M. Sex hormones and collagen content. Br. M.j.1983; 287: 1337
- 74- Goodman& Gilman.Tedavinin Farmakolojik Temeli, Nobel Tıp Kitabevi,2009,1541-1558
- 75- Horowitz M. Cytokines and estrogens in bone; anti osteoportic effects. Scie. 1993 260: 626-7
- 76- Hormon Replacement Therapy Schering, 2002
- 77- Liel Y, Kraus S. Evidence that estrogens modulate activity and increases the number of 1,25 de OH-Vit D receptors in osteoblast like cells End. 1992 130 (5) 2597
- 78- WHI. JAMA 2002; 228. 321
- 79- HERS Circulation 2002; 105 1962
- 80- HERS II JAMA 2002 288: 59-57
- 81- Mendelson ME. The protective effects of estrogen on CV system N.Eng.J.Med 1999; 340: 1801
- 82- Mendelson ME. Mechasism of estrogen actio in the CV system. J.Steroid Biochem Mol Biol 2000; 74:337
- 83- Mendelson ME. Protective effects of estrogen on the CVS Am.J.Card. 2002 89 suppl.12 E
- 84- Weiner CP.,Lizosoain I.Induction of Ca-dependent NO-synthase by sexhormons Proc.Nat.Acad Sci. USA 1994; 91: 5212
- 85- Collins P, Shay J. NO accounts for dose dependant estrogen mediated coronary relaxation after acute estrogen withdrawal Circulation 1994; 90 : 1964

- 86- Hayashi T, Fukato JM. Basal release of NO from aortic rings in greater female rabbits. Proc. Nat. Acad. Scie. USA 1992 89: 11259
- 87- Russel KS, Haynes P. Human vascular endothelial cells contain membrane binding site for estradiol. Proc. Nat. Scie. USA 2000; 97 : 5930
- 88- Chen Z, Yuhanna IS Galcheva – Gargova Z, Karas RH, Mendelson ME, Shaul PW. Estrogen receptor alpha mediates the genomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. J Clin Invest 1999; 103: 401- 406
- 89- McCabe TJ, Fulton D, Roman LJ, Sessa WC. Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain ‘Calcium- independent’ e NOS activation by phosphorylation. J Biol Chem 2000; 275 : 6123-6128
- 90- Garcia-Cardena G, Fan R, Shah V, Sorrentina R, Cirino G, Papapetropoulos A, et al.: Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. Nature 1998; 392: 821-824
- 91- Rubanyi GM, Johns A, Kauser K. Effects of estrogen on endothelial function and angiogenesis. Vascular Pharmacology 2002; 38: 89-98
- 92- Reis SE, Gloth ST, Bluemental RS. Ethinyl estradiol acutely attenuate abnormal secondary vasomotor responses to acetylcholine in post menopausal women . Circulation 1994; 89:52
- 93- Ylikorkala O, Cacciatore B, Paakkari I, Tikkanen MJ Viinikka L, Toivonen J. The long-term effects of oral and transdermal postmenopausal hormone replacement therapy on nitric oxide, endothelin 1, prostacyclin and thromboxane. Fertil Steril 1998; 69: 883
- 94- Egami R, Tanaka Y, Nozaki M, Koera K, Odkuma A, Nakano H: Chronic treatment with 17 beta estradiol increases susceptibility of smooth muscle cells to nitric oxide. Eur J Pharmacol 2005; 520(1-3) : 142-149
- 95- Mendelson ME. Karas RH . Estrogen and blood vessel wall. Cur. Opin. Cardio. 1994;9: 619
- 96- Collins P, Rosano GM, Jiang C, Lindsay D, Sarrel PM, Poole-Wilson PA. Cardiovascular protection by estrogen-a calcium antagonism effects? Lancet 1993; 341: 264
- 97- Shay J, Badrow N. Estrogen antagonises endothelin-1 vasoconstriction in rabbit basilar artery. Anesth. Anal. 1993 A 561
- 98- Mendelsohn ME. Genomic and nongenomic effects of estrogen on vasculature. AM. J. Cardio. 2002; 90:3

- 99- Xia Xu, Jing-Chuan Xiao, Li-Fang Luo Shan Wang, Jie-Ping Zhang, Jian-Jun Huang, Mei-Lian Liu , Chen-Geng Liu , Ke-Qian Xu , Yuan-Jian Li , Hui-Ping Song. Effects of ovariectomy and 17 β -estradiol treatment on the renin–angiotensin system,blood pressure, and endothelial ultrastructure. *International Journal of Cardiology* 130 2008; 196–204
- 100- Proudler AJ,Hasip Ahmet AL. HRT and serum angiotensin converting enzyme activity in post menopausal women. *Lancet* 1995; 346:89
- 101- Han SZ, Karaki H. 17-B estradiol inhibit Ca +2 influx. *Circulation* 1995; 91:2619-26
- 102- Waters D. A controlled clinical trial to assess the effects of calcium channel blocker on the progression of coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1990; 82 : 1940-53
- 103- Mc Ewen BS., Parsons B. : Gonadal steroid action on the brain *Ann.Rev. Pharmacol Toxicol* 1982; 22 555- 98
- 104- Nakamura Y, Suzuki T, Miki C, Senzaki T,Moriya C, Tazawa H, Saito H, Ishibashi T, Takahashi S,Yamada S, Sasano H. Estrogen receptors in atherosclerotic human aorta: inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation by estrogens.*Mol Cell Endocrinol* 2004; 219: 17-26
- 105-Kayışlı UA,Luk J,Guzeloglu Kayışlı O,Seval Y,Demir R,Arici A.Regulation of angiogenic activity of human endometrial endothelial cells in culture by ovarian steroids. *J. Clin. Endocrinol Metab* 2004;89. 5794-5802
- 106- Smith SK. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and the endometrium. *Hum Reprod Update* 1998; 4 : 509- 519
- 107-Tıbbi Farmakoloji Prof. Dr. Oğuz Kayaalp 11. Baskı, Hacettepe –Taş Ankara, 2005,1166-1171
- 108- Brown NS. Aldosterone modulates PAI-I and glomerulosclerosis in vivo *Kid. Int.* 2000; 58: 1219-27
- 109-Nabulski AA, Fontom A.R. :No Association of Menopause and Hormone Replacement Therapy With Carotid Artery Intima-Media Thickness. *N.Engl J.Med.* 328 1069-75
- 110-Rymen J Chapmen MG. A study of the effect of tibolone on the vagina in post menopausal women. *Maturitas* 1994;18: 127
- 111-Rice S, Mason HD,Whitehead SA.Phytoestrogens and their low dose combinations inhibit mRNA expression and activity of aromatase in human granulosa-luteal cells. *Steroid Biochem Mol Biol.* 2006; Nov;101(4-5):216-25. Epub 2006 Sep 11.

- 112-Smith CL, O'Malley BW. Coregulator function. A key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. *Endocrine Reviews* 25 (1): 45-71
- 113- Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 2002;73: 53-63
- 114- Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther.* 2002; Nov-Dec;96(2-3):67-202. Review
- 115- Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000; 31, 3-15
- 116- Dobrowolski JW, Wohoraq SB, Sharma K, Shah SH, Naqvi SAH, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991;35: 77-82.
- 117- Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002;73: 1-6
- 118- Antonietta Rossia, Rocco Longob, Alessandra Russo, Francesca Borrellia, Lidia Sauterin. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia* 73 Suppl. 1 (2002) S30–S37
- 119- Wang X, Bowman PD, Kerwin SM, Stavchansky S. Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed Chromatogr* 2007; 21: 343-350
- 120- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329: 21-24
- 121- Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 73: 21-29
- 122- Yıldız Y, Serter M, Ek RO, Ergin K, Çeçen S, Demir E.M, Yenisey C. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on intestinal ischemia-reperfusion injury. *Dig. Dis. Sci.* 2009; Apr;54(4):738-44. Epub 2008 Aug 6
- 123- Ek R.O, Serter M, Ergin K, Yıldız Y, Çeçen S, Kavak T, Yenisey C.; The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on TNBS-induced colitis in ovariectomized rats *Dig. Dis. Sci.* 2008; Jun;53(6):1609-17
- 124- Baeuerle PA. The inducible transcription activator NF-kappa B: regulation by distinct protein subunits *Biochim Biophys Acta.* 1991; Apr 16;1072(1):63-80. Review

- 125- Landry DB, Couper LL, Bryant SR, Lindner V. : Activation of the NF- κ and κ B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. Induction of vascular cell adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1. *Am J Pathol.* 1997; Oct;151(4):1085-95
- 126- Natarajan K, Singh S, Burke T.R, Grunberger D. Aggarwal B.B. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B. *Proc Natl Acad USA* 1996; August 20; 93(17): 9090-9095
- 127- Maffia P, Ianaro A, Pisano B, Borrelli F, Capasso F, Pinto A, Ialenti A. Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester in a rat model of vascular injury. *Br J Pharmacol.* 2002 Jun;136(3):353-60.
- 128- Cicala C, Morello S, Iorio C, Capasso R, Borrelli F, Mascolo N. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life Sci.* 2003 May 23;73(1):73-80
- 129- Long Yuan-Long Y, Han M, Chen J, Tian XZ, Chen Q, Wang R. The vasorelaxant effect of caffeic acid phenethyl ester on porcine coronary artery ring segments. *Vascul.Pharmacol.*2009; Aug-Sep; 51 (2-3): 78-83. Epub 2009 Apr 5
- 130- Gökalp O, Uz E, Çiçek E, Yılmaz HR, Ozer MK, Altunbaş A, Özçelik N. Ameliorating role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against isoniazid-induced oxidative damage in red blood cells. *Mol Cell Biochem* 2006; 290: 55-59
- 131- Aird WC. Endothelium as an organ system. *Crit Care Med.* 2004; 32: (5): 271-279
- 132- Petty RG, Pearson JD. Endothelium-the axis of vascular health and disease. *J R Coll Physicians* 1989;23:92-101
- 133-<http://en.wikipedia.org/wiki/Endothelium-07-04-2009>
- 134- Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, Pober JS, Wick TM, Konkle BA, Schwartz BS, Barnathan ES, McCrae KR, Hug BA, Schmidt AM, Stern DM. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood.* 1998; 91: (10): 3527-3561
- 135- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980; 288: (5789): 373-376.
- 136- Rapoport RM, Draznin MB, Murad F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature.* 1983; 306: (5939): 174-176.

- 137- Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977; 74: (8): 3203-3207.
- 138- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; 327: (6122): 524-526.
- 139- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: (24): 9265-9269
- 140- Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329: (27): 2002-2012.
- 141- Cooper G, Hausman R. *Hücre Moleküler Yaklaşım, Üçüncü Baskı, İzmir Tıp Kitabevi*, 545-46
- 142- Stuehr DJ. Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1997; 37: 339-359.
- 143- Jon O. Lundberg, Eddie Weitzberg. NO Generation From Nitrite and Its Role in Vascular Control. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25;915-922
- 144- Collins P, Chappell SP, Griffith TM, Lewis MJ, Henderson AH. Differences in basal endothelium-derived relaxing factor activity in different artery types. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1986; 8: (6): 1158-1162.
- 145- Kone BC, Kunczewicz T, Zhang W, Yu ZY. Protein interactions with nitric oxide synthases: controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003; 285: 178-190
- 146- Vallance P, Collier J, Moncada S. Nitric oxide synthesised from L-arginine mediates endothelium dependent dilatation in human veins in vivo. *Cardiovasc Res*. 1989; 23: (12): 1053-1057.
- 147- Vanhoutte PM, Scott-Burden T. The endothelium in health and disease. *Tex Heart Inst J*. 1994; 21: (1): 62-67.
- 148- Busse R, Luckhoff A, Bassenge E. Endothelium-derived relaxant factor inhibits platelet activation. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 1987; 336: (5): 566-571.
- 149- Berk BC. Vascular smooth muscle growth: autocrine growth mechanisms. *Physiol Rev*. 2001; 81: (3): 999-1030.

- 150- Nakaki T, Nakayama M, Kato R.: Inhibition by nitric oxide and nitric oxide producing vasodilators of DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1990; 189: (6): 347-353
- 151- Patel RP, Levonen A, Crawford JH, Darley-USmar VM. Mechanisms of the pro and anti-oxidant actions of the nitric oxide in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: (3): 465-474
- 152- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996
- 153- Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Cheng Y, Kojda G, Harrison DG. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J Clin Invest.* 2000; 105: (11): 1631-1639
- 154- Gewaltig MT, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanism and therapeutic potential. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 250-260
- 155- Kim KH, Moriarty K, Bender JR. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors *Steroids.* 2008; Oct;73(9-10):864-9. Epub 2008 Jan 18. Review
- 156- Farhat M.Y, Lavigne M.C., Ramwell P.W. The vascular protective effects of estrogen. *Faseb J.* 1996 Apr;10(5):615-24
- 157- Rahimian R, Van Breemen C, Karkan D, Dube G, Laher I. Estrogen augment cyclopiazonic acid-mediated, endothelium dependent vasodilation. *Eur J Pharmacol* 1997; 327:143-9. 222 F. Moien-Afshari et al. / *Maturitas* 45 (2003) 213-223
- 158- Wong CM, Yao X, Au CL, Tsang SY, Fung KP, Laher I, Vanhoutte PM, Huang Y. Raloxifene prevents endothelial dysfunction in aging ovariectomized female rats. *Vascul Pharmacol.* 2006 ; May 44(5):290-8. Epub 2006 Mar 15
- 159- Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH, Ravoux AC, Shah AS, Huster WJ, Draper M, Christiansen C. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1997 Dec 4;337(23):1641-7
- 160- Simoncini T, Genazzani AR, Liao JK. Nongenomic mechanisms of endothelial nitric oxide synthase activation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene. *Circulation.* 2002; Mar 19;105(11):1368-73
- 161- Godfraind M, Miller R, Wibo M. Calcium antagonism and calcium entry blockade. *Pharmacological Reviews* 1986; 38:324-416

- 162- Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001, Aug 1;357(Pt 3):593-615. Review
- 163- Kuriyama H, Ito Y, Suzuki H, Kitamura K, Itoh T. Factors modifying contraction-relaxation cycle in vascular smooth muscles. *Am J Physiol*. 1982 Nov;243(5): H641-62. Review
- 164- Xu PH, Long Y, Dai F, Liu ZL. The relaxant effect of curcumin on porcine coronary arterial ring segments. *Vascul Pharmacol*. 2007 Jul; 47(1):25-30. Epub 2007 Mar 27
- 165- Mazumder A, Gazit A, Levitzki A, Nicklaus M, Yung J, Kohlhagen G, Pommier Y. Effects of tyrphostins, protein kinase inhibitors, on human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Biochemistry*. 1995; Nov 21;34(46):15111-22
- 166- Ishikawa T, Hume JR, Keef KD. Regulation of Ca^{2+} channels by cAMP and cGMP in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1993 Dec;73(6):1128-37