



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İN VİTRO FERTİLİZASYON TEDAVİSİNİN
PLAZMA N-TERMİNAL PRO C TİP NATRİÜRETİK PEPTİT
DÜZEYLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

DUYGU ERCAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (TIP FAKÜLTESİ) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. A. Serpil BİLSEL

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

ÖRNEK

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Biyokimya (Tıp)

Tez Sahibi : Duygu ERCAN

Tez Başlığı : In vitro fertilizasyon tedavisinin plazma NTproCNP düzeyleri üzerindeki etkisi

Sınav Yeri : Biyokimya Abd.

Sınav Tarihi : 05.01.2012

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Seydi Bilal

Kurumu

Marmara Üniv.

İmza

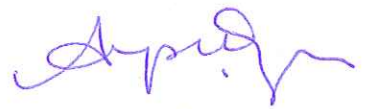


Sınav Jüri Üyeleri (Unvan,

Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Ape Özer

Marmara Üniv.



Prof. Dr. Gonca Gül Habla

Marmara Üniv.



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 09/02/2012 tarih ve 38 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Gülden Z. OMURTAG


Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

Tarih

"Ad Soyadı" (İmza)

Duygu ERCAN


*Tezimi, bu zorlu yolda beni yalnız bırakmayan ve her konuda desteğini
esirgemeyen aęabeyim **Egemen Ercan** 'a ithaf ediyorum*

I. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım da danışmanlığımı yapan, her konuda destek ve bilgilerini paylaşan, değerli hocam Prof. Dr.Serpil Bilsel'e,

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Öğretim Üyeleri, değerli hocalarım; Prof.Dr. Kaya Emerk'e, Prof.Dr. Süha Yalçın'a, Prof.Dr. Goncagül Haklar'a, Prof.Dr. Önder Şirikçi'ye, Prof.Dr. Nesrin Kartal Özer'e, Prof.Dr. Yavuz Taga'ya,

Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi Klinik Şefi Prof.Dr. Erdal Kaya, Op.Dr. Kenan Sofuoğlu, Op.Dr. Tayfun Kutlu, Op. Dr.Doğan Vatansever ve tüm hastane çalışanlarına,

Tüm çalışmalarım sırasında zaman zaman destek aldığım yüksek lisans ve doktora arkadaşlarıma aynı zamanda Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi araştırma görevlisi Dr. Özge Turan'a,

Eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, yanımda olduklarını bildiğim aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

Bu tez çalışması Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı (SAG-C-YLP-110411-0093) no'lu proje tarafından desteklenmiştir.

I. TEŞEKKÜR	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	iii
IV. ŞEKİL, RESİM VE TABLOLARIN LİSTESİ	v
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. Natriüretik Peptitler	4
4.1.1. C-tip Natriüretik Peptit	6
4.1.2. C-tip Natriüretik Peptit Sentezi ve Depolanması	6
4.1.3. C-tip Natriüretik Peptitlerin Vasküler Etkileri	7
4.2. Östrojen	9
4.2.1. Östrojenler ve Reseptörleri	10
4.2.2. Östrojenlerin Kardiyovasküler Etkileri	11
4.3. İnfertilite	17
4.3.1. Üremeye Yardımcı Teknikler	17
4.3.2. Ovulasyon İndüksiyonunda Kullanılan İlaçlar	18
4.3.3. IVF Tedavisinde En Yaygın Kullanılan Protokoller	21
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER	25
5.1. Kullanılan Gereçler	25
5.2. Çözeltiler	25
5.3. Yöntemler	26
5.3.1. Örneklerin Toplanması	26
5.3.2. C-tip Natriüretik Peptit Ölçümü	26
5.3.3. Deneyin Yapılışı	27
5.4.4. İstatistiksel Analiz	27
6. BULGULAR	29
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
8. KAYNAKLAR	34
10. ÖZGEÇMİŞ	48
11. ETİK KURUL ONAYI	49

III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- ACTH: Adrenokortikotropik Hormon
AMP: Siklik Adenozin Monofosfat
ANP: Atrial Natriüretik Peptit
BNP: B Tip Natriüretik Peptit
cGMP: Siklik Guanozinmonofosfat
CNP: C-Tip Natriüretik Peptit
EDHF: Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Faktör
ELISA: Enzim İmmünölçüm Yöntemi
eNOS: Endotel Nitrik Oksit Sentaz
ER: Östrojen Reseptörü
ERK: Ekstrasüler Sinyal Düzenleyici Kinaz
ET: Endotelin
GC: Guanilat Siklaz
GIRK: G Protein Bağımlı Potasyum Kanalları
GPR: G Protein Bağımlı Reseptör
HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
ICAM: İntraselüler Adezyon Molekülü
IL-1: İnterlökin-1
IVF: *İn Vitro* Fertilizasyon
iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein
MAPK: Mitojen Aktive Protein Kinaz
nNOS: Nöral Nitrik Oksit Sentaz
NO: Nitrik Oksit
NP: Natriüretik peptit
NPR-A: Natriüretik Peptit Reseptör–A
NPR-B: Natriüretik Peptit Reseptör–B
NPR-C: Natriüretik Peptit Reseptör–C
NT-proCNP: N Terminal Pro C Tip Natriüretik Peptit
PGI₂: Prostaglandin

PI3K: Fosfatidil İnositol-3-OH kinaz

PKG: Protein Kinaz G

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOD: Süperoksit Dismutaz

TNF: Tümör Nekroz Faktör

VCAM: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

IV. ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTESİ

1.Şekillerin listesi

Şekil 1. Natriüretik Peptitlerin Ailesinin 3 Ana Üyesinin Aminoasit Dizilimleri ve Yapısı	4
Şekil 2. Natriüretik Peptitlerin Homolojisi ve Yapısı	5
Şekil 3. CNP'nin Sentezi	6
Şekil 4. cGMP Aracılı Düz Kas Gevşemesi	7
Şekil 5. Vasküler Düz Kasların Gevşemesinde NPR-C Aracılı Etki	8
Şekil 6. Östrojen Biyosentezi	10
Şekil 7. Östrojenin Genomik Etkisi	13
Şekil 8. Genomik ve Non-Genomik Yollar İle Östrojenin Nitrik Oksit Üretimi Üzerine Etkisi	16
Şekil 9. <i>İn Vitro</i> Fertilizasyon ve Normal Fertilizasyon İşlem Basamakları	18
Şekil 10. Uzun Protokol	21
Şekil 11. Kısa Protokol	22
Şekil 12. Antagonist Protokol	22
Şekil 13. Fertilizasyon Sonrası Embriyo Görüntüleri	23
Şekil 14. Sandviç ELISA Yöntemi	27

2. Tabloların listesi

Tablo 1. Östrojenin Direkt ve İndirekt Etkileri	12
Tablo 2. IVF Tedavisi Alan Kadınların Plazma NT-proCNP ve Östrojen Konsantrasyonlarının Ortalaması, Standart Sapması, Örnek Sayıları ve P Değeri	29
Tablo 3. IVF Tedavisi Alan Kadınların Plazma NT-proCNP ve Östrojen Düzeylerinin Korelasyonu, Örnek Sayıları ve P Değeri	31

1. ÖZET

Östrojenler kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkileri bulunan hormonlardır. Östrojenlerin, endotelden salgılanan bazı vazodilatör ve antiinflamatuvar etkileri olan damar koruyucu kardiyovasküler bir hormondur. Son yıllarda yapılan bazı hayvan deneyleri CNP sentezinin östrojenler tarafından kontrol edilebileceğine dair ipuçları sağlamıştır. Bu çalışmada amacımız östrojen düzeylerinin çok yükseldiği *in vitro* fertilizasyon tedavisi (IVF) alan kadınlarda plazma östrojen ve CNP düzeylerindeki değişiklikleri, aralarındaki ilişkiyi saptamak ve östrojenlerin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin mekanizmasında CNP'nin olası rolünü araştırmaktır.

Bu amaçla IVF tedavisi gören 29 sağlıklı kadından menstruel siklusun 3. günü menstrual siklusun 5. günü ve ovulasyondan önce kan örnekleri alınmıştır. Kontrol grubu olarak sağlıklı kadınlarda menstrual siklusun 3. günü örnekler toplanmıştır. Örneklerde NT-proCNP ve östrojen düzeyleri enzim immünölçüm yöntemiyle belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar plazma östrojen düzeylerinin ovulasyon öncesinde (1676 ± 822 pg/mL), tedavinin 3. (29.7 ± 23 pg/mL) ve 5. (817.3 ± 626 pg/mL) günlerine göre anlamlı derecede ($p < 0.001$ ve $p < 0.01$) arttığını göstermektedir. Plazma NT-proCNP seviyeleri en yüksek düzeyine östrojenin en yüksek olduğu ovulasyon öncesi dönemde ulaşmıştır. Ovulasyon öncesi plazma NT-proCNP düzeyleri (9.9 ± 4.6 pmol/L), 3. güne (7.07 ± 3.2 pmol/L) göre anlamlı ($p < 0.001$) olarak yüksektir. Ayrıca NT-proCNP seviyelerinde, tedavinin 5. gününde 3. güne göre anlamlı ($p < 0.05$) artış saptanmıştır. Üçüncü gün ve 5. gün NT-proCNP ve östradiol düzeyleri arasında kuvvetli bir korrelasyon (0.58 , $p < 0.0023$) bulundu.

Sonuçlarımız IVF sürecinde yükselen östrojenin, CNP salgılanmasında rolü olabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, östrojenlerin kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinin mekanizmasında CNP sentezini artırmasının da yer alabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: C Tip Natriüretik Peptit, Östrojen, IVF.

2. SUMMARY

Effect of *in vitro* fertilisation treatment on plasma C Type Natriuretic Peptide levels

Estrogens have protective effects on the cardiovascular system. It is demonstrated that estrogen induced changes in the synthesis and release of various vasoactive compound from the endothelium have important roles in the mechanism of protection. C type natriuretic peptide is a cardioprotective vascular hormone with its vasodilator and antiinflammatory effects. Evidence from few animal studies indicate that CNP synthesis may be modulated by estrogens.

The aim of our study was to investigate the possible role of C type natriuretic peptide in estrogen's cardioprotective effects. With this aim, we explored the changes in plasma estradiol and C type natriuretic peptide levels and their relations in women who have high levels of estrogens due to *in vitro* fertilization therapy.

In this study three blood samples were collected from 29 woman undergoing *in vitro* fertilisation treatment. The samples were collected on the third and the fifth day of menstrual cycle and just before ovulation. Also as control, blood was collected from healthy women on the 3d day of their menstrual cycle. Blood levels of NT-proCNP and estradiol were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Our results demonstrate that estradiol levels of women in IVF group are significantly ($p < 0.001$ ve $p < 0.01$) higher before ovulation (1676 ± 822 pg/mL) compared to 3d (29.7 ± 23 pg/mL) and the 5th day (817.3 ± 626 pg/mL) of the treatment. Plasma NT-proCNP levels reach highest levels just before ovulation as estradiol. Plasma NT-proCNP levels of IVF group are significantly ($p < 0.05$) higher before ovulation (9.9 ± 4.6 pmol/L) compared to 3d day (7.07 ± 3.2 pmol/L). In this group plasma NT-proCNP levels are also significantly ($p < 0.05$) higher in the 5th day compared to 3d.

Our results indicate that elevations in estradiol may have a role in the increased CNP levels during IVF treatment. This finding also suggest that CNP may be involved in the protective effects of estrogens.

Key words: C type natriuretic peptide, estrogen, IVF.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Natriüretik peptitler kalp damar sisteminde önemli rolleri olan hormonlardır. C-tip natriüretik peptit, (CNP) başlıca endotelyumdan salınan ve vazodilatör etki göstererek kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynayan, ayrıca antienflamatuar, antitrombotik etkileri ile damar sağlığına önemli katkıları olan anti-aterosklerotik bir peptit hormondur.

Östrojenler de damar sağlığında çok önemli koruyucu rolü olan hormonlardır. Östradiolün damar koruyucu etkilerinin önemli bir kısmını endotel hücrelerinde nitrik oksit sentezini artırarak ve bunun sonucunda vazodilatasyona, düz kas hücrelerinin proliferasyonunun baskılanmasına, lökosit adezyonunun inhibisyonuna neden olarak gerçekleştirdiği birçok çalışmada gösterilmiştir.

Son yıllarda yapılan birkaç hayvan deneyi östradiolün, CNP salgılanmasını arttırdığını göstermiştir. Ancak östrojenlerin insanlarda CNP sentezi üzerindeki etkileri konusunda araştırmalar çok kısıtlıdır ve etkileri net olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada amacımız östradiolün damar sağlığı üzerindeki etkilerinde CNP'nin rolü olup olmadığını incelemek ve etki mekanizmasının aydınlatılmasına katkıda bulunmaktır.

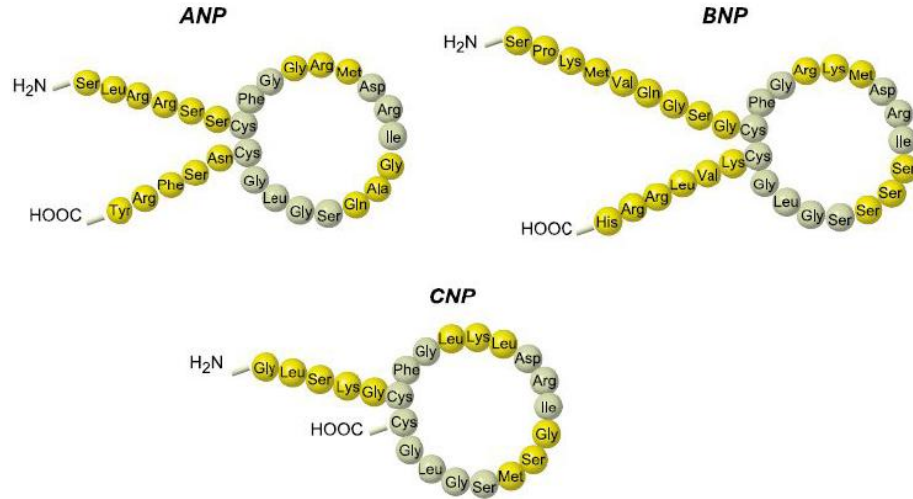
Bu amaçla, östrojen düzeylerinin dramatik artışlar gösterdiği IVF tedavisi gören kadınlarda, tedavinin belirli fazlarında ve kontrol olarak sağlıklı kadınlarda plazma östrojen ve CNP düzeyleri ölçülerek, ilişkiler incelenmiştir. Bulgularımız insanlarda östrojen gibi gonadal hormonların natriüretik peptit sentezi üzerinde etkilerinin ve etki mekanizmasında CNP'nin yerinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Natriüretik Peptitler

Vasküler tonusun, elektrolit ve sıvı dengesinin düzenlenmesinde görev alan natriüretik peptit (NP) ailesi; atrial natriüretik peptit (ANP), B-tip natriüretik peptit (BNP), ve C-tip natriüretik peptit (CNP) üyelerinden oluşur (Vanderheyden et al 2004). Natriüretik peptitler yapıları benzerlik gösterse de sentez yerleri ve etkileri açısından farklılık gösteren kardiyovasküler hormonlardır. Kan volümünü ve basıncını natriürez ve diürez ile ayarladıkları için bu ismi almışlardır (Flickinger et al 1995).

ANP ve BNP başlıca atria ve ventriküllerden sentezlenen ve salınan hormonlardır (Nir 2007, Munagala, Burnett and Redfield 2004). Kronik kalp hastalıklarında bu peptitlerin plazma düzeyleri 200-300 kat artmaktadır (Potter, Abbey-Hosch and Dickey 2006).



Şekil 1. Natriüretik peptit ailesinin 3 ana üyesinin aminoasit dizilimleri ve yapıları:

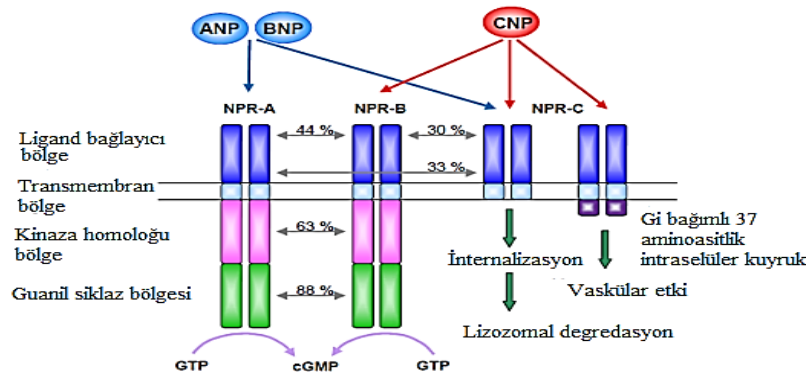
ANP = Atrial natriüretik peptit; **BNP** = B-tip natriüretik peptit; **CNP** = C-tip

natriüretik peptit (Abassi ve ark. *Pharmacology & Therapeutics* 2004; 102:223– 241'den değiştirilerek alınmıştır).

CNP bu ailenin en son bulunan üyesidir. Plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunması ve kısa ömürlü olması nedeni ile etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir ve incelenmeye devam edilmektedir. Ancak CNP etkileri ve etki mekanizmaları açısından diğer natriüretik peptitlerden farklılık gösterdiği ve daha çok parakrin ve otokrin hormon olarak vasküler sistemde, sinir sisteminde, kemik gelişiminde ve inflamasyon sürecinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Casco et al 2002, Del et al 2006, Kellsal et al 2006, Suga 1993).

Natriüretik peptitlerin biyolojik etkileri birçok dokuda lokalize spesifik membran reseptörleri aracılı gerçekleştirilir. Üç tip natriüretik peptit reseptörü (NPR) bulunmaktadır; NPR-A, NPR-B, NPR-C. NPR-A reseptörlerine ANP ve BNP'nin daha fazla afinitesi bulunur. NPR-B reseptörleri ise daha çok CNP'ye spesifiktir. CNP NPR-B'ye ANP ve BNP'ten 3 kat daha fazla afinite ile bağlanır. NPR-A ve NPR-B'nin yapısında ekstraselüler ligand bağlayıcı bölge, küçük menteşe bölgesi, kinaz homolojisi gösteren bölge ve intraselüler guanil siklaz bölgesi bulunur (Anand 2005). NPR-C'nin intraselüler kinaz ve guanil siklaz bölgeleri yoktur. Bunun yerine G_i ile etkileşen 37 aminoasitlik intraselüler kuyruğa sahip olduğu gösterilmiştir (Murthy 1998). NPR-C, temizleme reseptörü olarak düşünülmektedir (Maack and Suzuki 1987, Cohen 1996).

Tüm natriüretik peptitler NPR-C'ye yüksek afinite ile bağlanır. NPR-C natriüretik peptitlerin dolaşımdan uzaklaşmalarına neden olduğu için bir temizleme reseptörü olarak kabul edilmiş olsa da son yıllarda yapılan araştırmalar peptitlerin bazı etkilerine de aracılık ettiği gösterilmiştir.



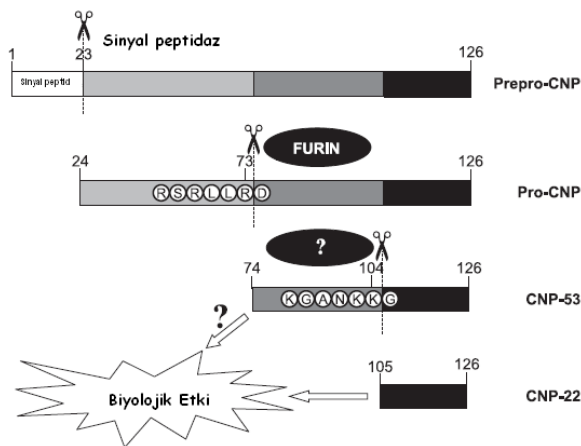
Şekil 2. Natriüretik peptitlerin homolojisi ve yapısı

4.1.1. C-tip natriüretik peptit

C-tip natriüretik peptit ilk olarak domuz beyininden izole edilmiştir (Totsune et al 1994). C-tip natriüretik peptit, başta endotel hücrelerde olmak üzere, beyinde, kondrositlerde, uterus ve ovaryumlarda sentezlenmektedir. Bazı sitokinler, büyüme faktörleri, tümör nekrozis faktör, interlökin 1, CNP salınmasını artırır (Scotland, Ahluwalia and Hobbs 2005, Piechota et al 2007).

4.1.2. CNP sentezi ve depolanması

Kaba endoplazmik retikulumda 126 aminoasitlik prepro-CNP olarak sentezlenen CNP sinyal peptidazın sinyal peptidi uzaklaştırmasından sonra 103 aminoasitlik proCNP'ye dönüşür (Şekil 2) (Ogawa et al 19). Ardından Golgide pro-CNP, CNP-53'ü oluşturmak üzere furin tarafından kesilir. (Wu et al 2003). C-tip natriüretik peptit 53'ten de bilinmeyen bir mekanizma ile CNP 22 oluşmaktadır (Minamino et al 1991, Stingo et al 1992). Yirmi iki aminoasitlik CNP'nin biyolojik olarak daha aktif olduğu düşünülmektedir. Geriye kalan kısım NT-proCNP'dir. NT-proCNP'nin yarı ömrü CNP'den daha uzun olduğu için plazmada daha yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir ve düzeyleri CNP konsantrasyonunu yansıttığı için araştırmalarda NT-proCNP'nin ölçülmesi kolaylık sağlamaktadır (Ry et al 2007, Wu et al 2003).



Şekil 3. CNP'nin sentezi (Scotland ve ark. *Pharmacology & Therapeutics* 2005;105: 85– 93'den değiştirilerek alınmıştır).

Ek olarak, C tip Natriüretik peptit ANP gibi salgı granüllerinde depolanmaz bu yüzden sentezlendikten sonra eksositozla atılmaktadır (Chauhan et al 2003, Villar et al 2007).

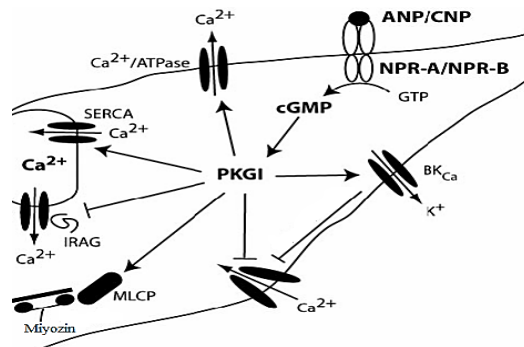
4.1.3. C- Tip natriüretik peptitlerin vasküler etkileri

C-tip natriüretik peptitin, kardiyovasküler sistemde çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır (Clavell et al 1993). Yapılan çalışmalar eksojen CNP'nin insan, sıçan, köpek ve domuzlarda potent vazodilatör olduğunu göstermiştir (Wiley and Davenport 2001, Drewett et al 1995, Brunner and Wolkart 2001, Chauhan et al 2003, Wennberg et al 1999, Madhani et al 2003, Steinmetz et al 2004, Barber et al 1998).

İnsanlarda, primatlarda, köpeklerde ve hipertansif sıçanlar üzerinde yapılan birçok çalışmada eksojen CNP infüzyonunun kan basıncında akut bir düşüşe neden olduğu bildirilmiştir (Seymour et al 1996).

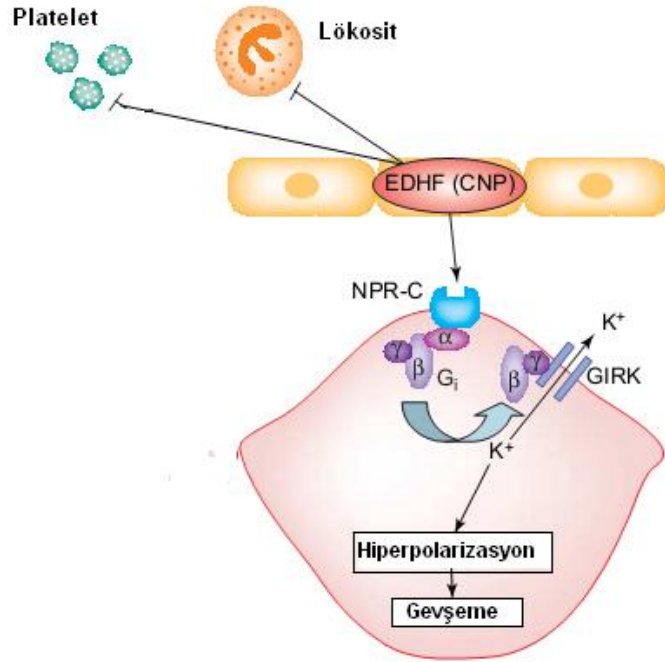
Kısa ömürlü, lokal etkili bir hormon olarak kabul edilen CNP'nin vasküler düz kas hücrelerinde vazodilatör etkisi olduğu bilinmektedir. CNP, düz kaslar üzerindeki bu vazodilatasyon etkisini iki mekanizma ile gerçekleştirmektedir.

Birinci mekanizmada vazodilatasyon CNP'nin damar düz kaslarındaki NPR-B aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu mekanizmada CNP'nin reseptörüne bağlanması ile gerçekleşen pGC aktivasyonu ve cGMP oluşumu biyolojik etkiyi yaratmaktadır. cGMP çeşitli mekanizmalarla damar düz kas hücrelerinin kasılmasını engellemektedir (Şekil 3) (Yamahara et al 2003).



Şekil 4. cGMP aracılı düz kas gevşemesi (Potter et al 2006).

Yapılan bazı çalışmalar CNP'nin NPR-B aracılı kardiyovasküler etkilerinden bağımsız bir mekanizma aracılığıyla da düz kaslar üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. Wei ve ark. izole arterde CNP'nin vazodilatör etkisinin potasyum klorid tarafından inhibe edilebildiğini fakat çözülmüş guanilat siklaz, nitrik oksit sentaz ve prostaglandin sentaz inhibitörlerinden etkilenmediğini bildirmişlerdir. Wei ve ark. diğer bir çalışmada, CNP'nin koroner arterlerin düz kas hücrelerinde potasyum kanal aktivasyonuna böylece membran hiperpolarizasyonuna neden olduğunu göstermiştir (Wei et al 1994). Bu ikinci mekanizmada vazodilatasyon CNP'nin düz kaslarda hiperpolarizasyona neden olması ile gerçekleşmektedir. Hiperpolarizasyon NPR-C aracılı olarak hücrelerde potasyum kanallarının açılması ile oluşmaktadır (Şekil 4). Bu hiperpolarizasyon etkisine bağlı olarak CNP, endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktörlerinden (EDHF) biri olarak kabul edilmektedir (Ahluwalia et al 2004, Pagel et al 2007, Leanid et al 2009).



Şekil 5. Vasküler düz kasların gevşemesinde NPR-C aracılı etki (Amrita and Adrian 2005).

CNP'nin vasküler tonus üzerinde renin anjiyotensin sistemi (RAS) aracılı etkileri de bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada CNP infüzyonunun ACTH, vazopressin ve

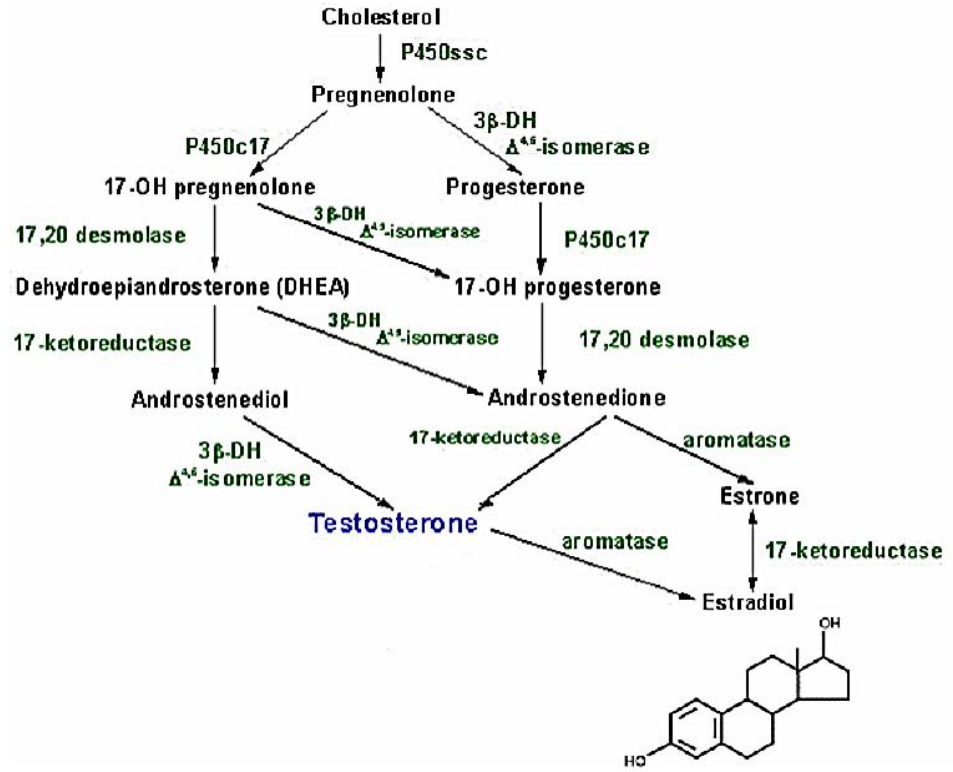
aldosteronun kandaki konsantrasyonlarında azalmalara neden olduğu gözlenmiştir (Han and Hasin 2003).

C-tip natriüretik peptit ayrıca immün sistem hücrelerinin ve trombositlerin aktivitelerini düzenlemektedir. CNP'nin trombosit agregasyonunu ve endotel hücrelerinden sentezlenen adezyon moleküllerinin ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Hasarlı arterlerde yapılan bir çalışmada CNP'nin vasküler adezyon molekülleri olan VCAM-1 ve ICAM-1'in ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (Qian et al 2002, Simoncini et al 1999).

CNP antienflamatuar etkileri ile enflamasyonun kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Enflamasyonu uyaran IL-1 β , TNF ve lipopolisakkaritler gibi ajanların CNP ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir (Scotland et al 2005, Suga 1992). Sepsisli hastalarda dolaşımdaki CNP seviyeleri önemli dercede artmaktadır (Hama et al 1994). CNP'nin ayrıca aterosklerotik lezyonların gelişimine karşı koruyucu etkileri olabileceği belirtilmektedir (Brown and Chen 1995, Casco 2002, Naruko 1996). Yukarıda belirtilen çalışmaların ışığı altında CNP'nin enflamatuar bir hastalık olan ateroskleroza karşı koruyucu bir hormon olduğu kabul edilmiştir (Ross 1999).

4.2. Östrojen

Kolestrolden türeyen 18 karbonlu steroid yapıda bir hormondur (Şekil 5). Kadınlarda sekonder seks karakterlerinin oluşumuna yol açarak, üreme siklusu ve üreme organların büyüme ve gelişiminden sorumludur. 17- β östradiol (E2), östron (E1), and östriol (E3) olmak üzere üç tiptir (Gruber and Wieser 2002). Östrojenler esas olarak ovaryum ve testislerde sentezlenirler ancak daha az olarak adrenal bezler ve periferik dokularda androjenlerin aromatisasyonu ile de sentezlenmektedirler. Gebelikte ise plasenta östriol sentezinden sorumludur (Enmark and Gustafsson 1999, Gray and Sharif 2001). Kadınlarda üreme çağında overlerde sentezlenen ve fizyolojik olarak en güçlü östrojen olan 17- β östradiolün, üreme, farklılaşma, hücre proliferasyonu, apoptozis, inflamasyon, metabolizma, homeostazis ve beyin fonksiyonları gibi birçok biyolojik süreçte önemli düzenleyici rolleri bulunur (Tsai and O' Malley 1994).



Şekil 6. Östrojen biyosentezi

Kadınlarda östrojen düzeyleri menstrual siklus boyunca değişiklikler gösterir. Östrodiolün foliküler düzeyi 100 pg/mL civarında olup ovulasyon dönemlerinde 600 pg/mL civarına kadar yükselir. Hamilelik boyunca ise bu oran 20.000 pg/mL'ye kadar çıkabilir. Menopoz sonrası ise östrojen serum seviyeleri aynı yaştaki erkeklerdekine benzer olabilir (5-20 pg/mL) (Barret and Connor 1997). Reprüdüktif çağındaki sağlıklı bir kadında günlük 17-β östrodiol üretimi 700 µg'dır. Yarılanma ömrü yaklaşık olarak 3 saattir, hızlı ve geri dönüşümsüz olarak östriol ve östron metabolitlerine okside olmaktadır (Ginsburg et al 1998).

4.2.1. Östrojenler ve reseptörleri

Östrojenlerin, uterus, over, meme, prostat, testis, kemik, karaciğer ve beyin gibi birçok dokuda, dağılımları farklı olmakla birlikte reseptörleri bulunmaktadır. Günümüze kadar 3 tip östrojen reseptörü tanımlanmıştır. Östrojen reseptörü alfa (ER-

α) ve östrojen reseptörü beta (ER- β) ve G-protein reseptörü 30 (GPR30) (Speroff L 2000). Östrojen reseptör- α 1960 yılında keşfedilmiştir (Soloffand Szego 1969). 1996'da ise östrojen reseptör β bulunmuştur (Kuiperet al 1996). 1997'de G protein bağımlı üçüncü bir reseptör olan GPR30 tanımlanmıştır (Takada et al 1997).

Östrojen reseptörü α ve β oldukça benzer yapıya sahip olmakla birlikte, farklı genlerle kodlanan, yapıları, ligand afiniteleri ve etkileri farklı olan steroid hormon reseptörleridir. ER- α ve ER- β gibi GPR insanlarda ve hayvanlarda kardiyovasküler sistem boyunca eksprese edilmektedir (Bopassa et al 2010, Broughton et al 2010, Deschamps and Murphy 2009, Ding et Al 2009, Filice et al 2009, Haas et al 2007, Isensee et al 2009, Lindsey et al 2009, Ma et al 2010, Takada et al 1997).

4.2.2. Östrojenin kardiovasküler etkileri

Premenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalıklara yakalanma insidansı erkeklere göre çarpıcı şekilde düşüktür (Grady et al 1992, Meyer et al 2006). Menapoz sonrası ise keskin şekilde artmaktadır. Bu korumadan östrojenler sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çalışmalar östrojen eksikliğinin vasküler disfonksiyonda ve aterosklerozun ilerlemesinde son derece önemli olduğunu göstermiştir. Östrojenlerin damar sistemi üzerindeki koruyuculuklarında endotelyum aracılı etkilerinin önemli yer tuttuğu birçok çalışma ile gösterilmiştir.

Endotelyum kan ve damar düz kas hücreleri arasında fizyolojik bir bariyer görevi alan, hemodinamik durum değişikliklerine ve dolaşımdan gelen sinyallere cevap olarak çeşitli maddeler üreten, pek çok endokrin ve parakrin fonksiyonları olan, vasküler homeostazda önemli rol oynayan bir dokudur (Bauer et al 2002, Vane, Anggard and Botting 1990). Endotelyumun ürettiği biyolojik aktif moleküller vasküler tonusu, lökosit adhezyonunu, vasküler düz kas hücre proliferasyonunu ve plateletlerin agregasyonunu düzenler (Dominik and Peter 2002). Endotel disfonksiyon gelecekteki kardiyovasküler hastalıkların habercisidir.

Östrojenler direkt ve indirekt etkilerle ateroskleroz oluşumunu önlemektedir (Tablo 1). Etki mekanizmaları ise direkt (klasik genomik ve hızlı nongenomik) ve indirekt etkiler olarak sınıflandırılabilir.

Direkt etkileri	İndirekt etkileri
<p>Hızlı, nongenomik etkiler</p> <p>↑ Arteriyal vazodilatasyon</p> <p>↑ NO sentezi</p>	<p>Serum lipoproteinleri üzerindeki etkileri</p> <p>↓ LDL-C</p> <p>↑ HDL-C</p> <p>↑ Trigliserid</p>
<p>Uzun süreli, genomik etkiler</p> <p>↓ Vasküler hasar</p> <p>↑ eNOS sentezi</p> <p>↓ Reaktif oksijen türlerini</p> <p>↑ Vasküler endotelial hücre büyümesi</p> <p>↓ Vasküler düz kas hücre proliferasyonu</p> <p>↑ CNP ?</p>	<p>Koagülasyon ve fibrinoliz üzerindeki etkileri</p> <p>↓ ↑ Net etki östrojenin tipine, dozuna ve tedavinin süresine bağlıdır.</p>

Tablo 1. Östrojenin direkt ve indirekt etkileri.

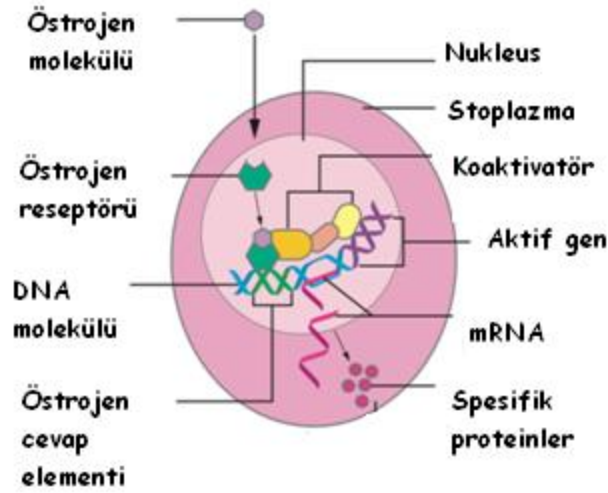
Östrojenin direkt vasküler etkileri

Kardiyovasküler sistemde, östrojenin direkt etkileri hızlı nongenomik ve uzun süreli genomik mekanizmalarla gerçekleşmektedir (Pedram 2002). Direkt etkileri, östrojenin vasküler sistemdeki reseptörleri aracılığıyla meydana gelmektedir.

Uzun süreli genomik etki

Östrojenin kardiyovasküler sistem üzerindeki bazı etkileri, gen ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak gerçekleşen, uzun süre gerektiren genomik etki mekanizmaları ile açıklanmıştır. Östrojenin damardaki genomik etkileri ER- α ve ER- β aracılığıyla meydana gelmektedir. Östrojen reseptörleri, ER- α ve ER- β liganlarına bağlandıklarında ısı şok protein ve immunofilin içeren inaktif komplekslerden ayrılır. Reseptör ve liganları heterodimer veya homodimer şekilde

DNA üzerinde bulunan spesifik östrojen response elemente bağlanır ve çeşitli koaktivatörlerin de etkisiyle transkripsiyon aktivatörleri gibi davranarak belirli genlerin ekspresyonunu tetikler (Şekil 6) (Zhang and Trudeau 2006). Ayrıca östrojen dimer oluşturmadan transkripsiyon faktörüne direk bağlanarak veya onu fosforilleyerek TF'yi aktif hale getirerek etki gösterebilmektedir (Meyer et al 2009). Östrojenlerin bu mekanizma ile vasküler dokuda entotelyal nitrik oksit sentaz, prostosiklin sentaz, prostoglandin siklooksijenaz gibi enzimlerin ekspresyonunu ve sentezini artırdığı gösterilmiştir (Mendelsohn and Karas 1999, Conrad 1993, Wolinsky 1972).



Şekil 7. Östrojenin genomik etkisi

İnsan aortik endotel hücrelerinde yapılan bir çalışmada 8 saat veya daha uzun süreyle östrojene maruz kalma sonrasında NO üretimiyle birlikte eNOS protein miktarında da artış gözlenmiştir (Caulin-Graser et al 1997, Chen et al 1999). Sıçanlarda yapılan bir çalışma da ER- α genetik hasarının vasküler NO seviyelerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

17- β östrodiol, koyun uterus arterleri, fetal pulmoner arter endotel hücreleri, HUVEC, sıçan mesenterik ve serebral kan damarlarında vasodilatör prostosiklin (PGI₂) üretimini uyardığı görülmüştür. PGI₂ seviyesinin artışı PGI₂ üretiminde rol

alan anahtar enzimlerin artması ile ilişkilidir. Yapılan çalışmada 17- β östrodiol uygulaması prostosiklin sentetazı (PGIS) arttırarak PGI2 sentezini arttırdığı görülmüştür (Ospina, Krause and Duckles 2002).

Östrojen aynı zamanda endotel hücre çoğalmasını arttırarak ve vasküler hücre hasarını azaltarak endotel hücre cevabında rol almaktadır. Vasküler hasar meydana geldiğinde reendotelizasyon östrojen tarafından hızlı bir şekilde indüklenmektedir.

Östrojen, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonunu baskılamaktadır.

Östrojen, NADPH oksidaz ve ksantin oksidazın aktivitesini azaltarak veya süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini arttırarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) azalmasına yol açar böylece oksidatif stres azaltmaktadır (Staniek et al 2002, Frey et al 2009).

17- β östrodiol *ex vivo* ve *in vivo* olarak koroner arter kontraksiyonunu indükleyen endotelin 1'in etkisini azaltmaktadır. Ayrıca overyan hormonları olmayan kadınların aortik endotel hücrelerinde prepro-ET-1 mRNA ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur (Salhab et al 2000).

Hızlı nongenomik etkileri

Östrojenin klasik genomik etkilerinin yanı sıra bu mekanizma ile açıklanamayan ani fizyolojik etkileri bulunmaktadır (Simoncini and Genazzani 2003). Örneğin, hem kadın hem de erkek arterlerinde 17- β östrodiolün vazomotor tonus üzerinde akut vazodilatör etkileri gözlenmiştir (Mügge et al 1993, Silva and Meirelles 1977).

Bu etkilerin hücre zarında bulunan reseptörler (mER) aracılığı ile olduğu ispatlanmıştır. Birçok çalışma klasik reseptörlerin veya G protein bağımlı reseptörlerin (GPR30) zar reseptörü olabildiğini ortaya çıkarmıştır (Norfleet et al 1999, Pappas et al 1995, Revankar et al 2005, Thomas et al 2005). Zar reseptörlerine ligandların bağlanması ile çeşitli sinyal kaskadları; mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), protein kinaz A (PKA), protein kinaz C, fosfotidil inositol 3-kinaz aktive olmakta ve biyolojik cevabı yaratmaktadır (Simoncini et al 2000, Simoncini et al 2003). Hatta mER sinyal yolunun üçüncül mesajcılar aracılığıyla gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Zhang and Trudeau 2006, Akarasereenont 2000, Carroll et al. 2005). Östrojenin özellikle kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini GPR

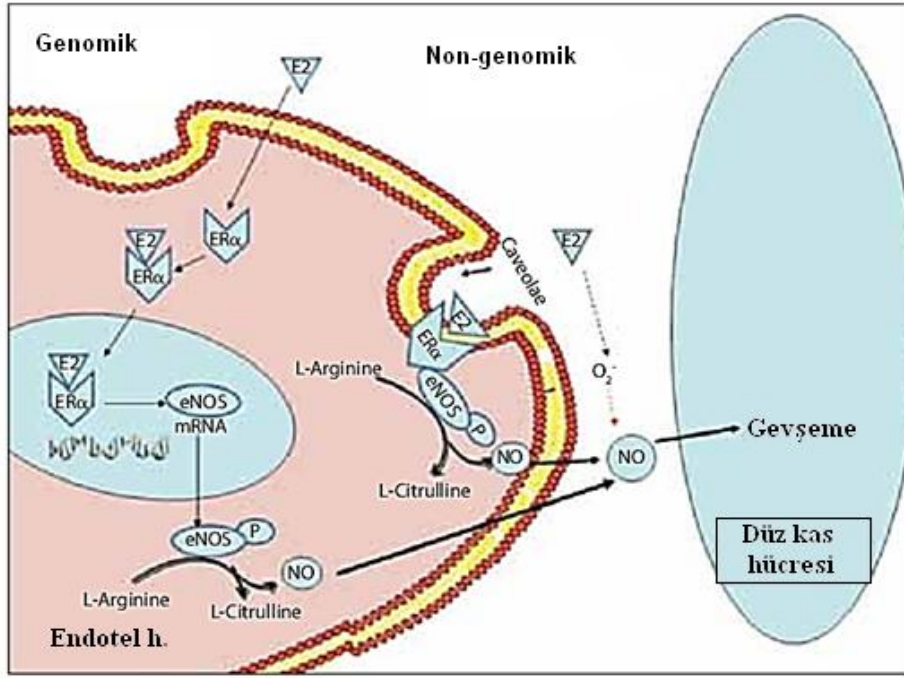
aracılıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Yakın geçmişte GPR30'un ligandına bağlanmasının uyardığı hızlı sinyal kaskadında ekstrasellüler sinyal ilişkili kinaz (ERK) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) oluşumunun rol oynadığı gösterilmiştir (Revankar et al 2005, Thomas et al 2005).

Östrojenin hızlı vazodilatör etkilerinin önemli bir kısmı endotel kaynaklı NO aracılı olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak östrojenlerin damar düz kasları üzerinde direkt vazodilatör etkileri de gösterilmiştir (White 2002). Östrodiolün endotelden bağımsız bu etkisi, kalsiyum ve potasyum kanallarının modifikasyonu ile gerçekleşmektedir (Han et al 2007, White et al 1995).

Östrojen, suprafizyolojik konsantrasyonlarda K^+ kanallarını aktive ederek, Ca^{+} kanallarına etki edip, kalsiyum akışını inhibe ederek hücre içi Ca^{+} konsantrasyonunu azalttığı ve hiperpolarizasyona neden olduğu gösterilmiştir (Griffith 2004).

Östrojen ve nitrik oksit

Endotelyal hücrelerden sürekli sentezlenen lipofilik, radikal yapıda bir sinyal molekülü olan NO kardiyovasküler sistemin sağlığı açısından çok önemlidir (Mendelsohn and Karas 1999). Kadınlardaki NO üretiminin erkeklere kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Damarlarda NO sentezinden sorumlu olan endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesi östrojen tarafından çeşitli mekanizmalar ile kontrol edilir (Haynes et al 2000). Bunlar gen ekspresyonu regülasyonu ve enzim aktivitesinin modifikasyonu ile gerçekleşir. Östrojenin akut etkileri eNOS'un aktivasyonu nedeni ile NO'nun sentezinin ve salınmasının artmasına bağlı olarak ortaya çıkarken, uzun sürede gerçekleşen, kronik etkileri ise eNOS'un gen ekspresyonunun yani enzim miktarının artması sonucunda gerçekleşir (Şekil 8) (Chambliss et al 2002). Östrojenler endotel hücrelerde nitrik oksit sentezini ve salınmasını uyarak vasküler tonüsü düzenlerler (Baker 2003). Endotel hücre kültürlerinde östrojene cevap olarak NO üretiminin arttığı tespit edilmiştir (Caulin et al 1997, Chen et al 1997). $17-\beta$ östrodiol tarafından oluşturulan vazodilatasyon normal damarlarda veya aterosklerotik arterlerde endotel bağımlıdır. Yapılan bazı çalışmalarda östrojen, erkeklerde ve postmenapozal kadınlarda kronik ve brankial arterleri dilate etmiştir (Collins et al 1995).



Şekil 8. Genomik ve non-genomik yollar ile östrojenin nitrik oksit üretimi üzerine etkisi

Östrojenin indirekt etkileri

Östrojen, kardiyovasküler sistemde indirekt etkilerini serum lipid konsantrasyonlarını, koagülasyon ve fibrinoliz yollarını etkileyerek gösterir. Östrojenlerin ayrıca antioksidan olarak damar sağlığı üzerinde etkileri olduğu gösterilmiştir.

Yapılan birçok çalışma östrojenin kanda, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyelerini düşürdüğü, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyelerini arttırdığı ve trigliserid konsantrasyonunu yükselttiği pek çok çalışmayla gösterilmiştir (Mattiasson et al 2002). Dolayısı ile östrojenlerin kardiyovasküler sistemde üzerindeki koruyucu etkilerinin bir kısmı lipid metabolizması üzerindeki olumlu etkilerine bağlıdır (Prossnitz et al 2008). Östrojenler aynı zamanda bazı koagülasyon ve fibrinolitik proteinlerin genlerinin hepatik ekspresyonunu da regüle etmektedir. Sürekli östrojen tedavisiyle plazma fibrinojen, antikoagülan proteinler

olan trombin III ve protein S konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür (The Writing Group, 1996). Ancak yüksek serum östrojen konsantrasyonları da fibrinoliz potansiyelini arttırmaktadır. Östrojenin koagülasyon sistemi üzerindeki etkileri doza ve tedavi süresine bağlı olarak koagülasyon veya fibrinoliz yönünde değişmektedir

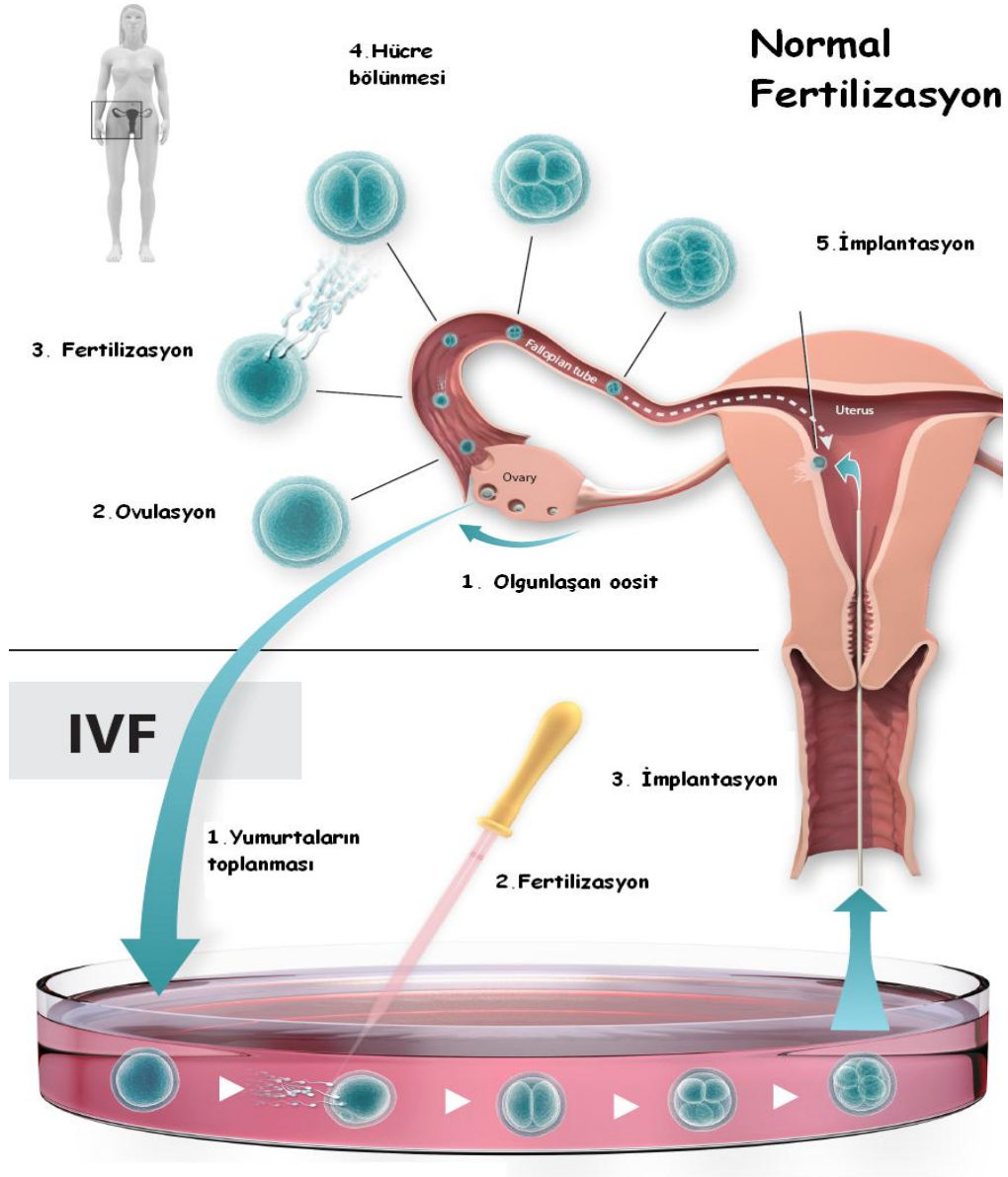
4.3. İnfertilite

İnfertilite, bir yıllık korunmasız ilişki sonrasında gebelik olmaması olarak tanımlanmaktadır. Bir kadının hiç gebe kalamaması durumunda primer infertilite, bir ya da daha fazla gebelik öyküsünün varlığında sekonder infertilite meydana gelir. Fekundabilite, bir adet dönemi içerisinde gebelik elde edebilme ihtimalidir ve bu oran yaklaşık %25'tir. Sağlıklı genç çiftlerin yaklaşık % 85-90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Dolayısıyla infertilite genç çiftlerin % 10-15'ini ilgilendiren bir sorundur (Speroff et al 2007).

İnfertilite tedavisindeki bilimsel ve teknolojik gelişmeler başarı oranlarının artmasını sağlamıştır. Böylece infertil çiftlerin beklentileri ve bu konudaki yardım arayışları artmıştır. Bu nedenle giderek daha fazla çift infertilite nedeniyle hastanelere başvurmaktadır.

4.3.1. Üremeye Yardımcı Teknikler: IVF

Üremeye yardımcı teknikler içinde en yaygın olarak kullanılanlardan biri *in vitro* fertilizasyon (IVF) tekniğidir. Dünyanın birçok yerinde ve birçok merkezde rutin olarak uygulanan *in vitro* fertilizasyon tekniği, overlerin stimülasyonundan sonra overlerden alınan oositlerin, spermle biraraya getirilmesi, döllenmeden sonra da embriyoların kadın rahmine yerleştirilmesi esasına dayanır.



Şekil 9. In Vitro Fertilizasyon ve Normal Fertilizasyon İşlem Basamakları

Çeşitli hormonlar verilerek kadındaki yumurtaların uyarılmasına overlerin stimülasyonu denir ve bu işlem kontrollü şekilde gerçekleştiği için kontrollü overyan stimülasyonu (KOS) olarak adlandırılmıştır. Uygulanan teknikte amaç, kadının bir menstrual siklusunun ovulasyon döneminde gelişen bir tek yumurta kesesinden sadece bir oosit dışarı atılması yerine, birden daha fazla oosit için yumurtalıkları uyarak arttırmaktır.

4.3.2. Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ilaçlar

Ovulasyon indüksiyonunda çeşitli yöntemler ve çeşitli hormonlar kullanılmaktadır.
En yaygın kullanılan ilaçlar:

Klomifen Sitrat (CC), Aromataz İnhibitörleri (AI)

Gonodotropinler

İnsan Menapozal Gonadotropin (HMG) (Merional Menogen)

Saf Üriner Folikül Stimüle Edici Hormon (FSH) (Fostimon)

Rekombinant Folikül Stimüle Edici Hormon (RecFSH) (Puregon, Gonal-F)

Rekombinant Lüteinizan Hormon (LH) (Luveris)

Human Karyonik Gonadotropin (RecHCG) (Ovitrelle)

Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Anologları

Diğer (Dopaminerjik, Glikortikoidler, Metformin) dir.

Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat ile östrojenin yapısal benzerliği nedeni ile kullanılmaktadır. Klomifen hipotalamus, hipofiz, over, endometrium, vajen ve serviks gibi dokularla bulunan östrojen reseptörlerine bağlanır. Hipotalamusta östrojen reseptörlerine uzun süre bağlanarak normal ovarian-hipotalamik feed back yolunu bozar ve esas olarak östrojen reseptör konsantrasyonunu, reseptör yenilenmesini inhibe ederek azaltır.

Klomifene maruz kaldığında hipotalamo hipofizer aks endojen östrojen düzeyine duyarsız kalır. Reseptör kapasitesi azaldığından ve gerçek östrojen sinyali yanıltıcı olarak düşük görüldüğünden negatif “feed back” azalır ve GnRH salınımını sağlayan nöroendokrin mekanizma aktive olur. Artan GnRH hipofizde gonodotropin salınımını uyarır. Bu da steroidogenez ve folikülogenezi başlatır, ovarian folikül gelişimini uyarır ve dolaşımdaki östrodiol seviyesini artırır (Sperof et al 1999). Ancak artık ovulasyon indüksiyonunda daha çok gonadotropinler tercih edilmektedir.

Gonadotropinler

Gonodotropinlerin gelişimi 20 yüzyılda infertilite tedavisi için dikkate değer bir gelişme olmuştur (Rizk, 1993). Overlerin uyarılması için çeşitli gonadotropinler kullanılmaktadır.

İnsan Menapozal Gonodotropin, 1947'de Roma'da Pietro Donini of Serono tarafından geliştirilen yöntem ile menopozal kadınların idrarından izole edilmiştir (Loumaye and Howles 1999). İlk olarak Bruno ve Lunenfeld tarafından hipogonadotropik hipogonadal kadınlarda hamileliği indüklemek için başarılı şekilde kullanılmıştır (Lunenfeld, Sulimovici and Rabau 1962, Lunenfeld 1963).

Rekombinant folikül stimüle edici hormon (rFSH) Çin hamster over hücrelerinde üretilir (McClamrock 2003). Recombinant FSH'ın polipeptid zinciri doğal olanla tamamen aynıdır. Rekombinant FSH, anovulatuvar infertilitede ve *in vitro* fertilizasyonda overyan stimülasyon için 10 yıldan fazla süredir uygulanmaktadır (Donderwinkel, Schoot and Coelingh 1992, Devroey, Mannaerts and Smits OJ 1994).

Gonadotropin serbestleştirici hormon analogları

Gonadotropin serbestleştirici hormon'un (GnRH) sentetik olarak elde edilmiş formudur. GnRH analogları pulsatil ve fizyolojik dozda uygulanırlarsa LH ve FSH salınımında artışa neden olmakla birlikte, suprafizyolojik dozlarda kullanıldıklarında gonadotropin salınımında azalmaya neden olmaktadır (Andreyko 1987).

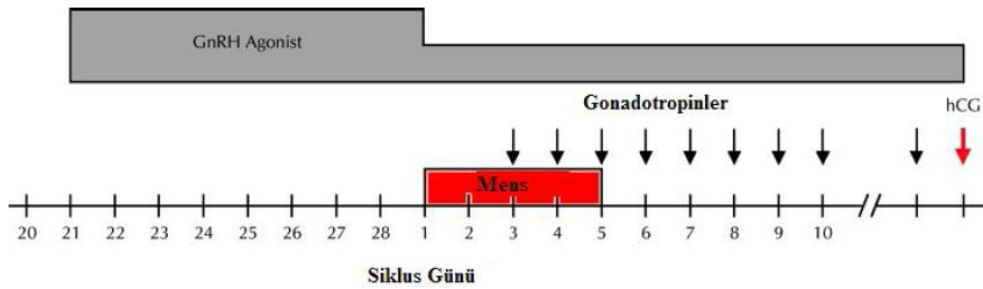
GNRH analoglarının yapısında bulunan aminoasitlerinin bazılarının farklı olmasından dolayı reseptör afiniteleri daha yüksek ve biyolojik yarı ömürleri GnRH'ye göre çok daha uzundur (Steingold 1987, Ixmay 1988).

Yardımcı üreme teknikleri ile tedavide GnRH analogları oositin LH'nin etkisiyle beklenilenden daha önce çatlamasını engellemektir.

4.3.3. IVF tedavisinde en yaygın kullanılan protokoller

Tüp bebek tedavisinde over stimülasyonu için çeşitli protokoller kullanılmaktadır. Bunlar: Uzun protokol, kısa protokol, mikrodoz protokol ve antagonist protokoldür. Bizim araştırmamızda uzun protokol uygulanan kadınlar seçilmiştir.

Uzun protokolde menstruel siklusun 21. günü hastanın overleri, transvaginal ultrasonografik yöntemle gözlenir ve tedaviye uygun olup olmadığı belirlenir. Tedavi için uygun bulunan kadınlara GnRH analogu leuprorelin veya decapeptyl başlanır (Şekil 10). Takip eden menstruel siklusun 3. günü ultrasonografi yapılır ve kan östrojen düzeyine bakılır. E2 değeri 50 pg/ml'nin altındaysa, overlerde kist yoksa ve endometrial kalınlık < 6mm ise yumurtalıkları uyarıcı tedaviye gonadotropin (rFSH veya hMG) uygulanarak başlanır. Gonadotropin dozları hastanın yaşına, hormon değerlerine ve antral folikül sayısına bakılarak belirlenir. Hasta 5. gün tekrar folikül monitorizasyonu (E2 seviyesi, folikül büyüklüğü belirleme) için gelir. Kontrollü overyan stimülasyonu süreci genelde 9-10 gün sürmektedir. Overlerde en az 3 folikül 17 mm boyutlarına erişince, final maturasyon ve ovulasyon için 5000-10000 IU rekHCG (ovitrelle veya pregnyl) uygulanır ve 36 saat sonra oositler toplanır.

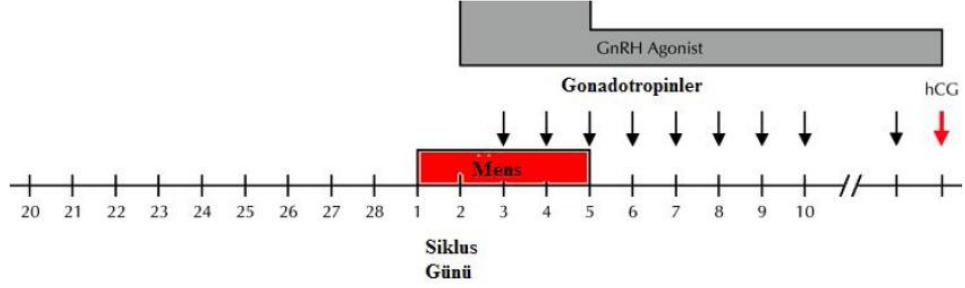


Şekil 10. Uzun protokol

Kısa protokolde hastaya menstrüel siklusun 3. günü gonadotropinlere başlanmaktadır. Ovülasyon öncesine kadar devam edilmektedir (Şekil 11).

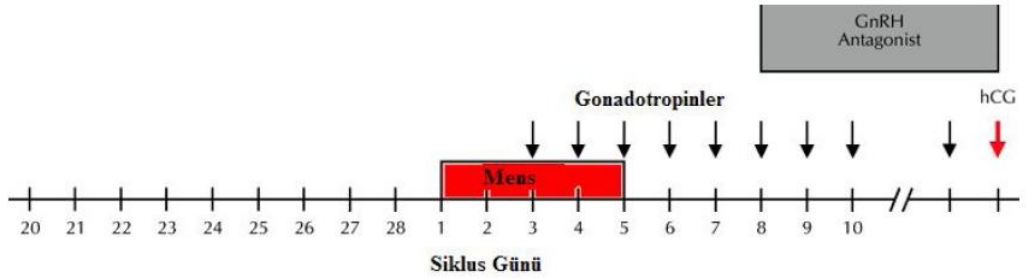
Mikrodoz protokolde ise GnRH analogları düşük dozda uygulanır ve

gonadotropinlere başlanır. Ovulasyon öncesine kadar devam eder.



Şekil 11. Kısa protokol

Antagonist protokolde hastaya 3. gün gonadotropinlere başlanır. Önde giden folikül 13-14 mm olunca GnRH antagonistlere başlanır (Şekil 12).



Şekil 12. Antagonist protokol

Ovulasyon gerçekleştikten sonra oositler toplanır (OPU) ve fertilizasyon işlemi *in vitro* fertilizasyon embriyo transferi (IVF-ET) veya İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyon (ICSI) ile gerçekleştirilir. IVF_ET’de oositler spermle aynı ortamda fertilizasyon için bırakılırken ICSI’da tek bir sperm, enjekte edici bir pipet ile tutulduktan sonra, oosit sitoplazması içine yerleştirilir. Toplanan oositler 2-6 saat inkübe edilir ve ardından Hyase işlemi ile oosit çevresindeki granüloza hücreleri hyalüronidaz ile uzaklaştırılır. Yumurtanın kalite ve maturasyonu belirlenir.



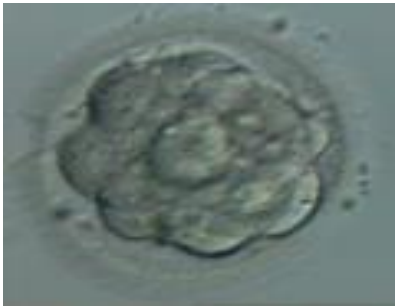
Fertilizasyondan 16-18 saat sonra dölllenme izlenir.



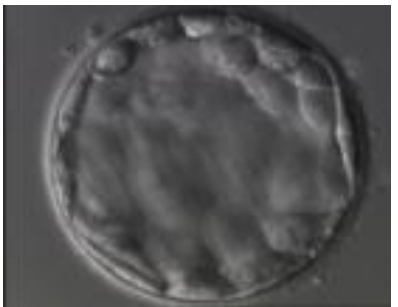
48 saat (2. gün) sonra 3-4 hücreli embriyo izlenir.



72 saat (3. gün) sonra 6-8 hücreli embriyo ve hücreler arası birleşme izlenir.



96 saat (4. gün) sonra 16-20 hücreli morula diye adlandırılan embriyolar izlenir.



5. ve 6. gün blastokist diye adlandırılan hücre sayısı 60'dan daha fazla olan embriyolar izlenir.

Şekil 13. Fertilizasyon sonrası embriyo görüntüleri

Metafaz II (MII) evresindeki oositlere ICSI pipet ile 200-400 büyütmede ters mikroskop yardımı ile sperm mikroenjeksiyon işlemi yapılır. İnkübasyona bırakılan hücrelerin bölünme evreleri takip edilir.

İkinci gün klavaj evresi olup, blastomerler sayı, büyüklük ve eşitlik özellikleri, fragmantasyonları açısından değerlendirilir. Hücreler en az 6-8 hücreli blastokist evresine kadar takip edilir (Şekil 13). Embriyo sayı ve kalite yönünden iyiye uygun şartlarda transservikal yoldan, katater yardımıyla uterin kaviteye yerleştirilir. Transfer sonrası luteal destek için transvajinal veya intramüskular progesteron kullanılmaktadır.

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Kullanılan Gereçler

Distile su cihazı, Kotterman (FRG)

Buzdolabı, Arçelik (Türkiye)

Derin Dondurucu, - 20 °C, Philco (Türkiye)

Soğutmalı Santrifüj, NF400R

Hassas Terazı, Sartorius (Jp)

Elisa Okuyucu

Advia Centaur XP Immunoassay system

-80 °C dondurucu, Thermo Electron Corporation (ABD)

Vortex, Elektro-mag (Türkiye)

Kullanılan Kitle

NT-proCNP EIA kit, Biomedica (Avusturya)

5.2. Çözeltiler:

NT-proCNP ELISA Kiti, Biomedica #BI-20872

Kit Bileşenleri

Antikor kaplı plate

Yıkama tamponu, 20x konsantre

Assay Buffer

Standartlar (0,2.5,5,10,20,40 pmol/l)

Kontrol örneği

Konjugat (anti NT-proCNP-HPRO)

Substrat, (TMB çözeltisi)

Durdurucu çözelti

5.3. Yöntemler

5.3.1. Örneklerin Toplanması

Örnekler, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesine başvuran, ovulasyon indüksiyonu uygulanan 30 infertil kadından ve 13 sağlıklı gönüllü kadından alındı. Ancak hastalardan biri, hormon değerlerindeki tutarsızlık nedeni ile değerlendirilmelere alınmadı. Çalışmaya sağlıklı, kardiyovasküler ve renal hastalığı bulunmayan, diyabetik ve obez olmayan, plazma lipid profilleri, TSH ve prolaktin değerleri normal, düzenli menstruel siklusa sahip 20-35 yaş arasındaki, infertile nedeni tubal faktör veya erkek faktörü olarak belirlenmiş kadınlar seçildi.

IVF protokolünde E₂ düzeyleri takip altında olduğundan IVF grubundaki kadınların E₂ düzeyleri dosyalarından sağlandı. Kontrol grubundaki kadınlarında E₂ düzeylerine aynı laboratuvarında aynı yöntem (Advia Centaur XP İmmünoölçüm) ile bakıldı.

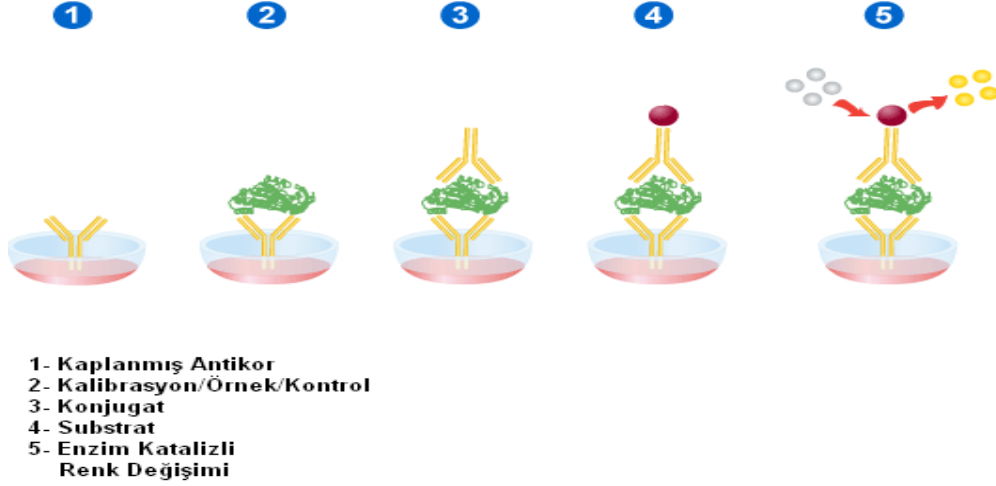
IVF tedavisi gören kadınlardan ilk örnek menstrual siklusun 3. günü, ikinci örnek 5. gün, üçüncü örnek ise E₂ düzeylerinin en yüksek olduğu evrede, ovulasyon indüksiyonundan hemen önce alındı.

Kanlar EDTA'lı tüpe (1mg/ml) olacak şekilde hastalardan toplandı. Tüpler santrifüj edilene kadar soğuk zincir uygulandı. Kanlar soğuk santrifüjde +4 °C'de 2000xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Plazmalar 24 saat -20 °C'de saklandıktan sonra -80 °C'ye aktarıldı ve çalışma yapılana kadar saklandı. Alınan Örneklerde NT-proCNP miktarları ELISA (Enzim Bağlı İmmün Assay) yöntemiyle belirlendi.

5.3.2. NT-proCNP ölçümü

NT-proCNP seviyeleri sandviç ELISA yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. (Şekil. 9). Kullanılan bu yöntemde, antikor kaplı kuyulara standart ve kontrol eklenerek bir antijen antikor etkileşimi sağlanır. Bağlanmayan ürünler yıkama ile uzaklaştırılır ve ikinci antikor antijene bağlanarak sandviç oluşturulur. Kolorimetrik

subtrat ilavesinden sonra oluşan rengin absorbansı ölçülerek standart grafik yardımı ile örneklerdeki NT-proCNP konsantrasyonu pikomolar olarak ifade edilir (Rudolf 2005).



Şekil 14. Sandviç ELISA yöntemi (Enzyme immunoassay for the quantitative determination of NT-proCNP in plasma, serum and cell culture supernatants. Cat. No. 6118-1 Rabmab'tan değiştirilerek alınmıştır).

5.3.3. Deneyin yapılışı

- Antikor kaplı her bir kuyuya, standart, kontrol veya örnekten duplike olarak 50 µl konuldu, fakat kör olarak oluşturulacak kuyuya konulmadı.
- Her bir kuyuya 200 µl Konjugat (anti-proCNP-HRPO) eklendi.
- Kuyuların üzeri sıkıca kapatılarak, oda sıcaklığında ve karanlıkta (18°C-26°C) dört saat inkübasyona bırakıldı.
- Kuyular 300 µl yıkama çözeltisi ile beş kez yıkandı.
- Tüm kuyulara 200 µl Substrat (SUB) eklendi.
- Yarım saat oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Her birine 50 µl durdurma solüsyonu eklendi.
- ELISA okuyucuda A450nm de ve 620nm referans aralığında ölçüldü.

5.3.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler için Windows uyumlu Graphpad Instant Version 3.05 programı kullanılmıştır. Sonuçlar repeated measures ANOVA istatistiksel yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Nonparametrik değişkenler Friedman testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Östradiol ve NT-proCNP düzeylerindeki değişiklikler yüzde olarak ifade edilip, aralarındaki korelasyon t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiş ve gruplar arası istatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır.

6. BULGULAR

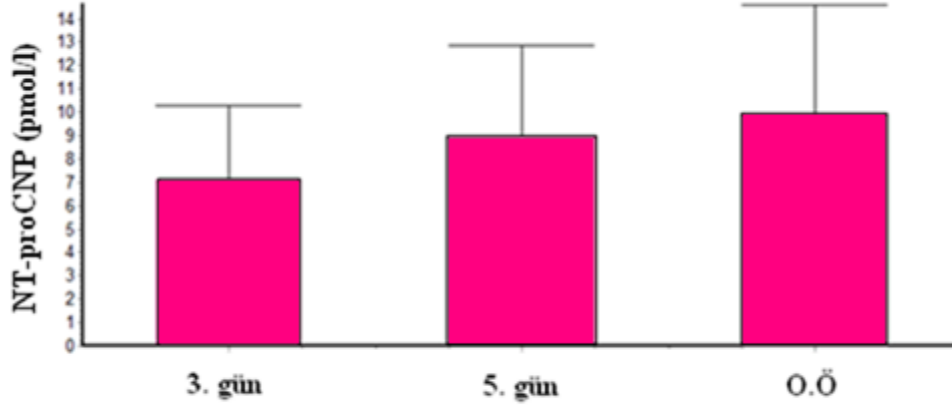
Toplanan kanlarda NT-proCNP ve östrojen düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo-2’de gösterilmiştir.

Yapılan istatistiksel analizde IVF grubunda plazma NT-proCNP seviyelerinin en yüksek düzeylerine ovulasyonun hemen öncesinde ulaştığı, IVF 3. gün düzeylerinin IVF 5. gün ($P<0.05$) ve ovulasyon öncesi düzeylerinden anlamlı ($P<0.001$) olarak düşük olduğu bulundu (Şekil 8).

Kontrol grubu estradiol düzeyleri sağlıklı kişilerden oluşturuldu ve 13 hastada ortalama 59.47 pg/mL olarak bulundu. Sağlıklı kişilerden alınan kontrol grubu NT-proCNP düzeyleri ise ortalama 5.2 pmol/L olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ve IVF 3. gün NT-proCNP düzeyleri arasında anlamlı ($p>0.05$) fark bulunamamıştır. IVF 3. gün östrojen düzeyleri kontrol grubu östrojen düzeylerinden anlamlı ($p<0.001$) olarak düşük bulundu.

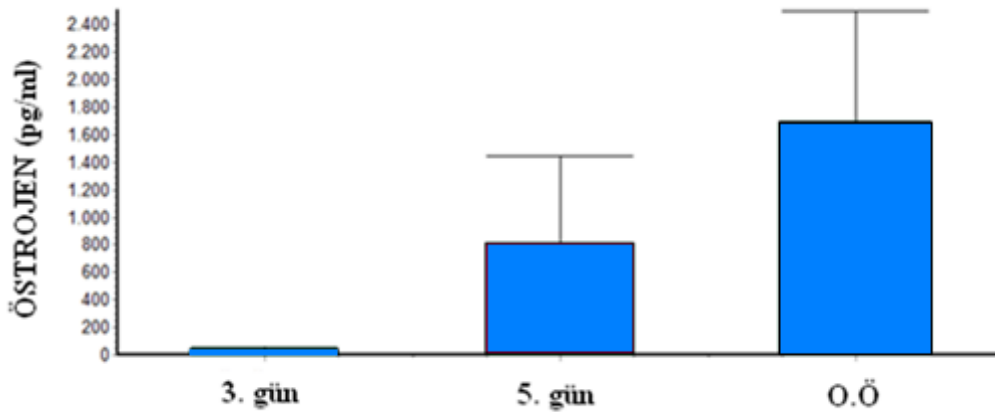
Tablo 2. IVF tedavisi alan kadınların plazma NT-proCNP ve östrojen konsantrasyonlarının ortalaması, standart sapması, örnek sayıları ve p değerleri.

	Kontrol grubu	IVF 3. gün	IVF 5. gün	IVF O.Ö	P değerleri
NT-proCNP (pmol/L)	n=13 5.26±2.2	n=29 7.07±3.2	n=29 8.8±3.9	n=29 9.9±4.6	* p<0.05 ** p<0.001 *** p>0.05 **** p>0.05
Östrojen (pg/mL)	n=13 59.47±12	n=29 29.7±23	n=29 817.3±626	n=29 1676±822	* p<0.001 ** p<0.001 *** p<0.01 **** p<0.001
* IVF 3. gün ve IVF 5. Gün, ** IVF 3. gün ve ovulasyon öncesi, *** IVF 5. gün ve ovulasyon öncesi **** Kontrol grubu ve IVF 3. gün					



Şekil 8. IVF tedavisi gören kadınlarda 3. gün, 5. gün ve ovulasyon öncesi NT-proCNP düzeyleri. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=29.

IVF grubunda plazma östrojen seviyelerinin en yüksek düzeylerine ovulasyonun hemen öncesinde ulaştığı, östrojenin 3. gün düzeylerinin 5. gün ($p<0.001$) ve ovulasyon öncesi düzeylerinden anlamlı ($p<0.001$) olarak düşük olduğu bulundu (Şekil 2). Aynı zamanda 5. gün östrojen düzeyleri de ovulasyon öncesine göre anlamlı ($p<0.01$) olarak düşük bulundu (Şekil 9).



Şekil 9. IVF tedavisi gören kadınlarda 3. gün, 5. gün ve ovulasyon öncesi plazma östrojen düzeyleri. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=29.

Östradiol ve NT-proCNP düzeylerindeki değişiklikler yüzde olarak ifade edilip, aralarındaki ilişki incelendiğinde, 3. gün ve 5. gün NT-proCNP ve östradiol düzeyleri arasında kuvvetli bir korelasyon (0.58, $p<0.0023$) olduğu bulundu. Beşinci gün ile ovulasyon öncesi NT-proCNP ve östradiol düzeyleri arasında ise daha zayıf bir korelasyon (0.40, $p<0.05$) saptandı.

Tablo 3. IVF tedavisi alan kadınların plazma NT-proCNP ve östrojen düzeylerinin korelasyonu, örnek sayıları ve p değerleri.

	t-testi değerlendirme	
3. gün ve 5. gün NT-proCNP ve Östrojen	Sayı	27
	% Korelasyon	%58
	P değeri	0,0023
5. gün ve O.Ö NT-proCNP ve Östrojen	Sayı	27
	% Korelasyon	%40
	P değeri	0,042

7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Östrojenler vasküler tonüsün, kan basıncının düzenlenmesinde önemli rolleri olan steroid hormonlardır. Östrojenlerin bu etkilerini endotelyumdan NO ve prostasiklin gibi vazodilatör maddelerin sentezini arttırarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Ancak kan basıncının kontrolünde önemli rolü olan natriüretik peptidlerin sentez ve salınlmalarının östrojenler tarafından nasıl etkilendikleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Östrojen gibi gonadal hormonların NP sentezi üzerinde etkilerini araştırmak için gerçekleştirilen deneysel çalışmalar daha çok ANP ve BNP üzerinde yoğunlaşmıştır. İnsanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar oldukça çelişkilidir. Ancak, cinsiyet hormonlarının ANP ve BNP düzeylerini etkilediğini, erkeklerde BNP düzeylerinin, kadınlarda ise ANP düzeylerinin daha yüksek olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Clerico, Passino and Emdin 2011, Thomas 2002, Burnett 1992).

Cinsiyete bağlı plazma NP farklılıkların fizyolojik temeli henüz bilinmese de cinsiyet hormonlarının NP gen ekspresyonunu etkileyebileceğini ve bu peptidlerin üreme sistemi, damarlar gibi kalp dışı dokularda da sentezlenebileceğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Gutkowska and Nemer M 1989). Örneğin, sıçanlarda yapılan bir çalışma östrojenin atrial ANP gen ekspresyonunu artırdığını, testosteronun ise baskıladığını göstermiştir (Hong M, Yan and Tao 1992).

CNP de başta sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem olmak üzere yaygın olarak birçok dokuda sentezlenmektedir. Östrojenlerin CNP sentezi üzerindeki etkileri konusunda araştırmalar son derece kısıtlıdır. Jankowski ve arkadaşları erişkin fare uterusunda, östrus siklusunun proöstrus döneminde CNP ve CNP reseptörlerinin ekspresyonunda ve sentezinde artışlar olduğunu göstermişler ve östradiolün CNP sentezinin düzenlenmesinde önemli olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Marek et al 1992).

Cory ve ark, eksojen östradiolün fare uterusunda, CNP gen ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir (Cory et al 1997).

Prickett ve ark, ise kuzu ve koyunlara östrojen verilmesinin plazma CNP düzeylerinde yükselmelere neden olduğunu göstermiş ve overektomize hayvanlarda da aynı yükselmelerin görülmesi nedeni ile de CNP'nin üreme sistemi dışından kaynaklandığını bildirilmiştir (Prickett et al 2008).

İnsanlarda östrojenlerin CNP üretimi üzerindeki etkilerini incelemek amacı taşıyan bu araştırmada, *in vitro* fertilizasyon tedavisi gören kadınların seçilmesinin nedeni, bu tedavinin over stimülasyonuna bağlı olarak endojen östradiol düzeylerinde dramatik artışlara neden olmasıdır. Tedavi alan kadınlardan menstruel siklusun belirli (3. ve 5.) günlerinde ve E2 düzeylerinin en yüksek olduğu dönemde alınan kan örneklerinde NT-proCNP ve östradiol düzeyleri ölçülmüş ve aralarındaki ilişkiler incelenmiştir.

Bulgularımız *in vitro* fertilizasyon tedavisi gören kadınlarda plazma CNP düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir. Ayrıca, tedavinin 3. ve 5. gün NT-proCNP ve östradiol düzeyleri arasında kuvvetli bir korrelasyon (0.58, $p<0.0023$) bulunmaktadır. Beşinci gün ile ovülasyon öncesi değerler arasında daha zayıf bir korrelasyon saptanmıştır (0.40, $p<0.05$). Bunun nedeni ovülasyon öncesinde suprafizyolojik düzeylere erişmekte olan östradiolün aynı oranda CNP artışına neden olamaması veya CNP sentezinin uyarılmasının da bir eşik değere sahip olması olabilir. Araştırmamız, kadınlarda östrojen düzeylerindeki artışın CNP düzeylerinde artışa neden olabileceğini gösteren ilk çalışmadır. Bu bulgu, CNP sentezinin regülasyonunda östrojenlerin önemli rolü olabileceğini göstermektedir.

Bu tedaviyi alan kadınlara ovülasyon indüksiyonu için uygulanan eksojen hormonların CNP düzeylerinin artışında rolleri olması ihtimali bulunmaktadır. Ancak bölümümüzde daha önce yapılan bir *in vitro* araştırmada (Ömer Kaçar 2009), endotel hücre kültürlerine östradiol uygulanmasının CNP gen ekspresyonunu artırdığı

gösterilmiştir Bu *in vitro* araştırmanın sonuçları, *in vitro* fertilizasyon tedavisi gören kadınlarda gözlenen CNP artışlarından östrojenin sorumlu olduğu fikrini desteklemekte ve bir kaynağında endotel olabileceğini göstermektedir.

CNP kardiyovasküler sistem üzerinde vazodilatör ve antiinflamatuvar özellikleri ile antiaterosklerotik, koruyucu etkileri olan bir hormondur. Sonuçlarımız östradiolün CNP sentezinin düzenlenmesinde önemli rolü olabileceğini ve CNP'nin östrojenlerin kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinin mekanizmasında yer alabileceğini göstermektedir.

8. KAYNAKLAR

- Ahluwalia A, Mac Allister RJ, Hobbs AJ. (2004). Vascular actions of natriuretic peptides: cyclic GMP-dependent and-independent mechanism. *Basic Res Cardiol*; 99 (2):83-9.
- Aizawa N, Ishizuka O, Ogawa T, Mizusawa H, Igawa Y, Nishizawa O, Andersson KE. (2008). Effects of natriuretic peptides on intracavernous pressure and blood pressure in conscious rats. *Journal of Sexual Medicine*, 5, 2312-2317.
- Akarasereenont P, Techatraisak K, Thaworn A & Chotewuttakorn S. (2000). The induction of cyclooxygenase-2 by 17beta-estradiol in endothelial cells is mediated through protein kinase C. *Inflammation Research*, 49: 460-465.
- Amrita Ahluwalia and Adrian J. Hobbs (2005). Endothelium derived C-type natriuretic peptide: more than just a hyperpolarizing factor *TRENDS in Pharmac ological Sciences* Vol.26 No.3 March.
- Anand-Srivastava, MB. (2005). Natriuretic peptide receptor-C signaling and regulation. *Peptides*, 26, 1044-1059.
- Andreyko JL, Marshall LA, Dumesic DA, Jaffe RB. (1987). Therapeutic uses of gonadotropin-releasing hormone analogs. *Obstet Gyn Surv Rev*, 42:1.
- Baker L, Meldrum KK, Wang M, Sankula R, Vanam R, Raiesdana A, Tsai B, Hile K, Brown JW and Meldrum DR. (2003). The role of estrogen in cardiovascular disease. *Journal of Surgical Research*, 115:325–344.

- Barber DA, Burnett JC, Fitzpatrick LA, Sieck GC, Miller, VM. (1998). Gender and relaxation to C-type natriuretic peptide in porcine coronary arteries. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*,32, 5-11.
- Barret-Connor E. (1997). Sex differences in coronary hearth disease: why are women so superior? The Ancel keys Lecture. *Circulation*;95: 252-264.
- Bauer E, Sumpio J, Timothy Risey, Alan Dardik. (2002). Cells in Focus: endothelial cell. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34:1508–1512.
- Burley DS, Ferdinandy P and Baxter GF. (2007). Cyclic GMP and protein kinase-G in myocardial ischaemia-reperfusion: opportunities and obstacles for survival signaling. *British Journal of Pharmacology*, 152:855–869.
- Burnett JC. (1992). Presence of C-type natriuretic peptide in cultured human endothelial cells and plasma. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 263,H1318-H1321.
- Caniffi C, Elesgaray R, Gironacci M, Arranz C, Costa MA. (2010). C-type natriuretic peptide effects on cardiovascular nitric oxide system inspontaneously hypertensive rats. *Peptides*; 31(7): 1309-18.
- Carroll JS, Liu XS, Brodsky AS, Li W, Meyer CA, Szary AJ, Eeckhoutte J, Shao W, Hestermann EV, Geistlinger TR, Fox EA, Silver PA, Brown M. (2005). Chromosome-wide mapping of estrogen receptor binding reveals long-range regulation requiring the forkhead protein FoxA1. *Cell* 122: 33–43.
- Casco VH, Veinot JP, de Bold, MLK, Masters RG, Stevenson MM, and de Bold AJ.(2002). Natriuretic Peptide System Gene Expression in Human CoronaryArteries. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*,50,799

- Caulin-Glaser T, Garci-Cardena G, Sarrel P, Sessa WC, Bender JR. (1997). 17β – Estrodiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca^{2+} mobilization. *Circ Res*; 81: 885-892.
- Chambliss KL & PW. (2002). Estrogen modulation of endothelial nitric oxide synthase. *Endocr. Rev.* 23: 665–686.
- Chauhan SD, Nilsson H, Ahluwalia A, Hobbs AJ. (2003). Release of C-type natriuretic peptide accounts for the biological activity of endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Proc Natl Acad Sci USA*; 100(3): 1426-31.
- Chen HH, Burnett JC Jr. (1998). C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol*; 32 (3): S22–S28.
- Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. (1999). Estrogen receptor α mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest*; 103:401-406.
- Clavell AL, Stingo AJ, Wei CM, Heublein DM, and Burnett JC. (1993). C-type natriuretic peptide: a selective cardiovascular peptide. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 264, R290-R295.
- Clerico A, Passino C, Emdin M. (2011). When gonads talk to the heart. *J Am Coll Cardiol.*, 58(6) 627-28.
- Cohen D, Koh GY, Nikonova LN, Porter JG, Maack T. (1996). Molecular Determinants of the Clearance Function of Type C Receptors of Natriuretic Peptides. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 9863-9869.

- Collins P, Rosano GMC, Sarrel PM. (1995). 17β Estradiol attenuates acetylcholine induced coronary arterial constriction in women but not men with coronary heart disease. *Circulation*;92: 24-30.
- Conrad KP, Joffe CM, Kruszyna H, Kruszyna R, Rochelle LC, Smith KP, Chavez JE, and Mosher MD. (1993). Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEBJ.* 7, 566-571.
- Cory G, Acuff, Huaming Huang, and Mark E. Steinhelper. (1997). Estradiol induces C-type natriuretic peptide gene expression in mouse uterus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*,273:2672-2677.
- Del Ry S, Passino C, Emdin M, Giannessi D. (2006). C-type natriuretic peptide and heart failure. *Pharm Res*;54: 326–33.
- Devroey P, Mannaerts B, Smitz OJ. (1994). Clinical outcome of a pilot efficacy study on recombinant human follicle-stimulating hormone (Org.32489) combined with various gonadotrophin-releasing hormone agonist regimens. 9: 1064_9.
- Dominik Behrendt MD and Peter Ganz MD. (2002). Endothelial Function: From vascular Biology to Clinical Applications. *Am J Cardiol*; 90(suppl):40L–48L.
- Donderwinkel PF, Schoot DC, Coelingh Bennink HJ. (1992). Pregnancy after induction of ovulation with recombinant human FSH in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 340:943_5.
- Drewett JG, Fendly BM, Garbers DL, and Lowe DG. (1995). Natriuretic Peptide Receptor-B (Guanylyl Cyclase-B) Mediates C-type Natriuretic Peptide Relaxation of Precontracted Rat Aorta. *Journal of Biological Chemistry*, 270, 4668-4674.

- Enmark E, Gustafsson JA. (1999). Oestrogen receptors - an overview. *J. Intern Med*; 246(2):133-8.
- Flickinger AL, Burnett JC Jr, Turner ST. Atrial natriuretic peptide and blood pressure in a population-based sample. *Mayo Clin Proc* 1995;70: 932–938.M.L.
- Frey RS, M. Ushio-Fukai, A. Malik. (2009). NADPH oxidase dependent signaling in endothelial cells. Role in physiology and pathophysiology, *Antioxid. RedoxSignal*. 11 (4) 791–810.
- Gemzell CA. (1963). The use of human gonadotrophins in gynecological disorders. In (Keller, Ed.), *Modern Trends in Gynecology*. London: Butterworth, p. 133.
- Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, et al. (1992). Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med*; 117:1016-1037.
- Gray GA, Sharif I, Webb DJ, Seckl JR. (2001). Oestrogen and the cardiovascular system: the good, the bad and the puzzling. *Trends Pharmacol Sci*;22(3):152-6.
- Griffith TM. (2004). Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis. *British Journal of Pharmacology*, 141:881–903.
- Gruber CJ, Wieser F, Gruber IM, Ferlitsch K, Gruber DM, Huber JC. (2002). Current concepts in aesthetic endocrinology. *Gynecol Endocrinol*;16(6):431-41.

- Gutkowska J, Nemer M. (1989). Structure, expression, and function of atrial natriuretic factor in extra atrial tissues. *Endocr Rev*; 10:519-536.
- Hagiwara H, Sakaguchi H, Itakura M, Yoshimoto T, Furuya M, Tanaka S, Hirose S. (1994). Autocrine regulation of rat chondrocyte proliferation by natriuretic peptide C and its receptor, natriuretic peptide receptor-B. *J Biol Chem* 269:10729–10733.
- Hama N, Itoh H, Shirakami G, Suga S, Komatsu Y, Yoshimasa T, Tanaka I, Mori K, Nakao K. (1994). Detection of C-Type Natriuretic Peptide in Human Circulation and Marked Increase of Plasma CNP Level in Septic Shock Patients. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 198, 1177-1182.
- Han G, Ma, H, Chintala R, Miyake K, Fulton DJ, Barman SA, White RE. (2007). Nongenomic, endothelium-independent effects of estrogen on human coronary smooth muscle are mediated by type I (neuronal) NOS and PI3-kinase-Akt signaling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H314–H321.
- Hayden CJ, Balen AH & Rutherford AJ. (1999). Recombinant gonadotrophins. *Br J Obstet Gynecol* 5:793_9.
- Haynes MP, Sinha D, Russell KS, Collinge M, Fulton D, Morales-Ruiz M, Sessa WC, Bender JR. (2000). Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase-Akt pathway in human endothelial cells. *Circ. Res.* 87, 677–682.
- Herman JP, Dolgas CM, Rucker D, Langub MC Jr. (1996). Localization of natriuretic peptide-activated guanylate cyclase mRNAs in the rat brain. *J Comp Neurol* 369:165–187.

- Hobbs AJ, Foster P, Prescott C, Scotland RS, & Ahluwalia A. (2004). Natriuretic peptide receptor-C regulates coronary blood flow and prevents myocardial ischemia/reperfusion injury: a novel cardioprotective role for endothelium-derived C-type natriuretic peptide. *Circulation*, 110, 1231 – 1235.
- Hong M, Yan Q, Tao B, et al. (1992). Estradiol, progesterone and testosterone exposure affect the atrial natriuretic peptide gene expression *in vivo* in rats. *BiolChem Hoppe-Seyler*; 373:213-218.
- Hussain MB, MacAllister RJ, & Hobbs AJ. (2001). Reciprocal regulation of cGMP-mediated vasorelaxation by soluble and particulate guanylate cyclases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280(3).
- Ixmay A, Sandow J, Bureau M, Mahcux R, Fontaine J. Merat P. (1988). Prevention of follicular maturation in endometriosis by subcutaneous infusion of luteinising hormone releasing hormone agonist started in the luteal phase. *Fertil Steril*, 49, 410.
- Kelsall CJ, Chester AH, Sarathchandra P, Singer D. (2006). Expression and localization of C-type natriuretic peptide in human vascular smooth muscle cells. *Vasc Pharm*;45: 368–73.
- Kohno M, Yokokawa K, Yasunari K, Kano H, Minami M, Ueda M, et al. (1997). Effect of natriuretic peptide family on the oxidized LDL induced migration of human coronary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 81(4), 585–590.
- Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93,5925–5930.

- Leanid Luksha, Stefan Agewall, Karolina Kublickiene. (2009). Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 202 330-344.
- Loumaye E & Howles C. (1999). Superovulation for assisted conception: the new gonadotrophins. In (Brinsden P, Ed.), *A Textbook of In-vitro Fertilization and Assisted Reproduction*, Second Edition. Carnforth, UK: The Parthenon Publishing Group, Chapter 7, pp. 103_8.
- Lunenfeld B, Sulimovici S, Rabau E et al. (1962). L'induction de l'ovulation dans les amenorrhées hypophysaires par un traitement combiné de gonadotrophins urinaires ménopausiques et de gonadotropins chorioniques. *Comptes Rendis Soc Francaise Gynecol* 5: 30_4.
- Lunenfeld B. (1963). Treatment of anovulation by human gonadotrophins. *J Int Fed Gynecol Obstet* 1: 153_8.
- Maack T, Suzuki M, Almeida FA, Nussenzveig D, Scarborough RM, McEnroe, GA, and Lewicki JA. (1987). Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science*, 238, 675-678.
- Maack T. (1992). Receptors of atrial natriuretic factor. *Annual Review of Physiology*, 54, 11-27.
- Madhani M, Scotland RS, MacAllister RJ and Hobbs AJ. (2003). Vascular natriuretic peptide receptor-linked particulate guanylate cyclases are modulated by nitric oxide-cyclic GMP signalling. *British Journal of Pharmacology*, 139, 1289-1296.
- Marek Jankowski, Adelina M, Reis Suhayla Mukaddam-Daher, Than-Vinh Dam, Riaz Farookhi, and Jolanta Gutkowska. (1997). C-Type Natriuretic Peptide and the Guanylyl Cyclase Receptors in the Rat Ovary Are Modulated

by the Estrous Cycle. *Biology of Reproduction* 56, 59-66.

Mattiasson, Rendell, Törnquist Jeppsson and Hultén UL. (2002). Effect of estrogen replacement therapy on abdominal fat compartments as related to glucose and lipid metabolism in early postmenopausal women. *Horm Metab Res*, 34: 583-588.

McClamrock HD. (2003). Recombinant gonadotropins; *Clin Obs Gynecol*;46(2):298-316.

Mendelsohn ME & RH Karas. (1999). The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.*340: 1801–1811.

Meyer MR, Haas E, Barton M. (2006). Gender differences of cardiovascular disease: new perspectives for estrogen receptor signaling. *Hypertension* 47, 1019–1026.

Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M. (2009). Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol. Cell. Endocrinol.* 308, 9–16.

Minamino N, Makino Y, Tateyama H, Kangawa K, and Matsuo H. (1991). Characterization of immunoreactive human C-type natriuretic peptide in brain and heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 179, 535-542.

Mugge A, Riedel M, Barton M, Kuhn M, Lichtlen PR. (1993). Endothelium independent relaxation of human coronary arteries by 17 beta-oestradiol *in vitro*. *Cardiovasc Res*;27: 1939–42.

Munagala VK, Burnett JC and Redfield MM. (2004). The natriuretic peptides in cardiovascular disease. *Curr Probl Cardiol*, 29: 707-769.

- Naruko T, Ueda M, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh H, Nakao K and Becker AE. (1996). C-Type Natriuretic Peptide in Human Coronary Atherosclerotic Lesions. *Circulation*, 94, 3103-3108.
- Nir A. (2007). ABCs of natriuretic Peptides: *Cardiac Aspects. Hormone Research*, 67: 77-80.
- Norfleet AM, Thomas ML, Gametchu B, Watson CS. (1999). Estrogen receptor-alpha detected on the plasma membrane of aldehyde-fixed GH3/B6/F10 rat pituitary tumor cells by enzymelinked immunocytochemistry. *Endocrinology* 140:3805–3814.
- Ogawa Y, Nakao K, Nakagawa O, Komatsu Y, Hosoda K, Suga S, Arai H, Nagata K, Yoshida N and Imura H. (1992). Human C-type natriuretic peptide. Characterization of the gene and peptide. *Hypertension*, 19, 809-813. Publishing Group, Chapter 7, pp. 103_8.
- Ospina JA, Krause DN & Duckles SP. (2002). 17beta-estradiol increases rat cerebrovascular prostacyclin synthesis by elevating cyclooxygenase-1 and prostacyclin synthase. *Stroke*, 33: 600-605.
- Ömer Kaçar (2009). Endotel Hücrelerde Oksitosinin ve Seks Hormonlarının C-Tip Natriüretik Peptit Sentezi Üzerindeki Etkileri, TC MÜTF Bitokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Prof.Dr. Serpil Bilsel).
- Pappas TC, Gametchu B, Watson CS. (1995). Membrane estrogen receptors identified by multiple antibody labeling and impeded-ligand binding. Regulation and Differential Expression of Neutral Endopeptidase 24.11 in Human *FASEB J* 9: 404–410.

- Pedram A. et al. (2002). Integration of the non-genomic and genomic actions of estrogen. Membrane-initiated signaling by steroid to transcription and cell biology. *J. Biol. Chem.* 277: 50768–50775.
- Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. (2006). Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signalling functions. *Endocrine Rev*;27: 47–72.
- Prickett TCR, Barrel GK, Wellby M, Yandle T, Richards AM, Espiner EA. (2008). Effect of sex steroids on plasma C-type natriuretic peptide forms: stimulation by oestradiol in lambs and adult sheep. *J Endocrinol December 1*, vol. 199 no. 3 481-487.
- Prossnitz, Arterburn, Smith, Oprea, Sklar and Hathaway HJ. (2008). Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPER. *Annu. Rev. Physiol*, 70: 165-90).
- Qian JY, Haruno A, Asada Y, Nishida T, Saito Y, Matsuda T and Ueno H. (2002). Local Expression of C-Type Natriuretic Peptide Suppresses Inflammation, Eliminates Shear Stress-Induced Thrombosis, and Prevents Neointima Formation Through Enhanced Nitric Oxide Production in Rabbit Injured Carotid Arteries. *Circulation Research*, 91, 1063-1069.
- Ramona S. Scotlanda, Amrita Ahluwalia, Adrian J. Hobbs. (2005). C-type natriuretic peptide in vascular physiology and disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 105 85-93.
- Rautureau Y, Gowers I, Wheeler-Jones CPD, Baxter GF. (2004). Guanylate cyclase receptors in human endothelial cells. *Br J Pharmacol*; in press
- Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. (2005). A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell

signaling. *Science* 307:1625–1630.

Risque F. (2003). Induction of follicular growth and ovulation with urinary and recombinant gonadotrophins. In (Edwards R, Risque F, Eds), *Modern Assist Conception Reproductive Biomedicine Online*. Cambridge, UK: *Reproductive Healthcare*, Ltd, Chapter 9, pp. 92_110.

Rizk B. (1993a). Ovarian hyperstimulation syndrome. In (Studd J, Ed.), Edinburgh: Churchill Livingstone, Volume 11, Chapter18. *Progress in Obstetrics and Gynecology*.

Ross R. (1999). Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340(2), 115–126.

Rudolf M. Lequin. (2005). Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) *Clinical Chemistry*;51: 2415-2418.

Ry S. D et al. (2007). Increased levels of C-type natriuretic peptide in patients with idiopathic left ventricular dysfunction. (1993a). *Peptides*, (28), 1068-73.

Salhab WA, Shaul PW, Cox BE, Rosenfeld CR. (2000). Regulation of types I and III NOS in ovine uterine arteries by daily and acute estrogen exposure. *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 278, H2134– H2142.

Sadow SL, Tare M. (2007). C-Type natriuretic peptide: a new endothelium-derived hyperpolarizing factor? *TRENDS in Pharmacological Sciences*, (28) 2, 61-67.

Scotland RS, Ahluwalia A, Hobbs AJ. (2005). C-type natriuretic peptide in vascular physiology and disease. *Pharm Ther*;105: 85–93.

- Scotland RS, Cohen M, Foster P, Lovell M, Mathur A, Ahluwalia A and Hobbs AJ. (2005b). C-type natriuretic peptide inhibits leukocyte recruitment and platelet-leukocyte interactions via suppression of P-selectin expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 14452-14457.
- Seymour AA, Mathers PD, Bova-Offei BE, Asaad MM and Weber H. (1996). Renal and Depressor Activity of C-Natriuretic Peptide in Conscious Monkeys: Effects of Enzyme Inhibitors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 28, 397-401.
- Silva de Sa MF, Meirelles RS. (1977). Vasodilating effect of estrogen on the human umbilical artery. *Gynecol. Invest.* 8, 307-313.
- Simoncini T & AR. Genazzani. (2003). Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur. J. Endocrinol.* 148: 281-292.
- Simoncini T, Hafezi-Moghadam A, Brazil DP, Ley K, Chin WW, Liao JK. (2000). Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Nature* 407, 538-541.
- Simoncini TE, Rabkin & JK, Liao. (2003). Molecular basis of cell membrane estrogen receptor interaction with phosphatidylinositol 3-kinase in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 198-203.
- Simoncini T, R. De Caterina & AR. Genazzani. (1999). Selective estrogen receptor modulators: different actions on vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in human endothelial cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84: 815-818.
- Soloff MS, Szego CM. (1969). Purification of estradiol receptor from rat uterus and blockade of its estrogen-binding function by specific antibody.

Biochem. *Biophys. Res. Commun.* 34, 141–147.

Speroff LA. (2000). Clinical understanding of the estrogen receptor. *Annals Newyork Academy of Science.* 26-39.

Speroff L, Glass NH, Kase RG. (2007). *Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility.* 7nd edition.: 84, 171, 213, 236, 1013, 1026, 1142, 1143, 1075, 1097, 1133.

Staniek KL, Gille AV, Kozlov H, Nohl. (2002). Mitochondrial superoxide radical formation is controlled by electron bifurcation to the high and low potential pathways, *Free Radic. Res.* 36 381–387.

Steingold KA, Cedars M, Lu JK, Randle D, Judd IIL, Mcldrum DR. (1987). Treatment of endometriosis with a long-acting gonadotropin releasing hormone agonist. *Obstct Gynecol*, 69: 403.

Stingo AJ, Clavell AL, Heublein DM, Wei CM, Pittelkow MR, Burnett Jr JC, Schulz S, Singh S, Bellet RA, Singh G, Tubb DJ, Chin H, Garbers DL (1989) The primary structure of a plasma membrane guanylate cyclase demonstrates diversity within this new receptor family. 58:1155–1162.

Suga S, Nakao K, Mukoyama M, Arai H, Hosoda K, Ogawa Y and Imura H. (1992d). Characterization of natriuretic peptide receptors in cultured cells. *Hypertension*, 19, 762-765.

Suga S, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Imura H. (1992). Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor- β . Possible existence of “vascular natriuretic peptide system.” *J Clin Invest* 90: 1145–1149.

- Suga S, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Yoshimasa T, Nakao K. (1993). Cytokine-induced C-type natriuretic peptide (CNP) secretion from vascular endothelial cells—evidence for CNP as a novel autocrine/paracrine regulator from endothelial cells. *Endocrinology* 133:3038–3041.
- Takada Y, Kato C, Kondo S, Korenaga R, Ando J. (1997). Cloning of cDNAs encoding Gprotein-coupled receptor expressed in human endothelial cells exposed to fluid.
- The Writing Group for the PEPI Trial. (1995). Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women *JAMA*;273:199-208.
- Thomas J, Wang MD, Martin G, Larson ScD, Daniel Levy MD, Eric P. Leip, MS, Emelia J, Benjamin MD, ScM, Peter WF, Wilson MD, Patrice Sutherland BS, Torbjorn Omland MD, and Ramachandran S, Vasani MD. (2002). Impact of Age and Sex on Plasma Natriuretic Peptide Levels in Healthy Adults. *Am J Cardiol*; 90: 254–258.
- Thomas P, Pang Y, Filardo EJ, Dong J. (2005). Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. *Endocrinology* 146:624–632.
- Timothy CR, Prickett Graham K, Barrell Martin Wellby, Timothy G Yandle, A Mark Richards and Eric A Espiner. (2008). Effect of sex steroids on plasma CNP forms: stimulation by estradiol in lambs and adult sheep. *Journal of Endocrinology*, 199, 481-487.
- Togashi K, Kameya T, Kurosawa T, Hasegawa N, Kawakami M. (1992). Concentrations and molecular forms of C-type natriuretic peptide in brain and cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 38: 2136–2139.

- Toki S, Morishita Y, Sano T, Matsuda Y, HS-142-1. (1992a). novel nonpeptide ANP antagonist, blocks the cyclic GMP production elicited by natriuretic peptides in PC12 and NG 108-15 cells. *Neurosci. Lett.* 35:117-120.
- Totsune K, Takahashi K, Ohneda M, Itoi K, Murakami O, Mouri T. (1994). C-type natriuretic peptide in the human central nervous system: distribution and molecular form. *Peptides* 15: 37–40.
- Tsai MJ, O'Malley BW. (1994). Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annu Rev Biochem* 63: 451–486.
- Vanderheyden M, Bartunek J, and Goethals M. (2004). Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *European Journal of Heart Failure*, 6, 261-268.
- Vane JR, Anggard EE, Botting RM. (1990). Regulatory functions on the vascular endothelium. *N Eng J Med*;323: 27-36.
- Villar IC, Panayiotou CM, Sheraz A, et al. (2007). Definitive role for natriuretic peptide receptor-C in mediating the vasorelaxant activity of C-type natriuretic peptide and endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Cardiovasc Res*; 74(3): 515-25.
- Wei CM, Aarhus LL, Miller VM, Burnett JC, Jr. (1993). Action of C-type natriuretic peptide in isolated canine arteries and veins. *Am. J. Physiol.* 264:H71-H73.
- Wei CM, Aarhus LL, Miller VM, Hartzell VS, Burnett JC, Jr. (1994). The actions of natriuretic peptides on isolated human saphenous veins and internal mammary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.* 23: 177A (abstract).

- Wei CM, Heublein DM, Peralla MA, et al. (1994). Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 88: 1004-10009.
- Wennberg PW, Miller VM, Rabelink T, and Burnett JC. (1999). Further attenuation of endothelium-dependent relaxation imparted by natriuretic peptidoreceptor antagonism. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 277, H1618-H1621.
- Wennberg PW, Miller VM, Rabelink T, & Burnett Jr, JC. (1999). Further attenuation of endothelium-dependent relaxation imparted natriuretic peptide receptor antagonism. *Am J Physiol* 277 4 Pt 2H1618 – H1621.
- White RE, Darkow DJ, Lang JL. (1995). Estrogen relaxes coronary arteries by opening BKCa channels through a cGMP-dependent mechanism. *Circ. Res.* 77, 936–942.
- White RE. (2002). Estrogen and vascular function. *Vascul. Pharmacol.* 38, 73–80.
- Wiley KE and Davenport AP. (2001). Physiological antagonism of endothelin-1 in human conductance and resistance coronary artery. *British Journal of Pharmacology*, 133, 568-574.
- Wolinsky H. (1972). Effect of estrogen and progesterone treatment on the response of aorta of male rats to hypertension. *Circ. Res.* 30, 341-349.
- Wright RS, Wei CM, Kim CH, Kinoshita M, Matsuda Y, Aarhus LL, et al. (1996). C-type natriuretic peptide-mediated coronary vasodilation: role of the coronary nitric oxide and particulate guanylate cyclase systems. *J Am Coll Cardiol* 28(4), 1031 – 1038.

- Wu C, Wu F, Pan J, Morser J and Wu Q. (2003). Furin-mediated Processing of Pro-C-type Natriuretic Peptide. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 25847-25852.
- Yamahara K, Itoh H, Chun TH, Ogawa Y, Yamashita J, Sawada N, Fukunaga Y, Sone, M, Yurugi-Kobayashi T, Miyashita K, Tsujimoto H, Kook H, Feil R, Garbers DL, Hofmann F, Nakao K. (2003). Significance and therapeutic potential of the natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase pathway in vascular regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 340-3409.
- Yandle TG. (1994). Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med* 235: 561–576.
- Zhang D, Trudeau VL. (2006). Integration of membrane and nuclear estrogen receptor signaling. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 144:306–315.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Duygu	Soyadı	Ercan
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	06.09.1982
Uyruğu	T.C	TC no	34042780682
E-mail	duygu.ercan@windowslive.com	Tel	0535 250 99 44

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	İstanbul Üniversitesi, Fen fakültesi, Biyoloji bölümü	2004
Lise	Üsküdar Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Tıbbi Satış sorumlusu	Jansen Cılag	1
2.		-
3.		-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	orta	orta	orta

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	65	62	63
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows	iyi
Microsoft Office	iyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

ZEYNEP KAMIL KADIN ve ÇOCUK HASTALIKLARI

EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ



BİLİMSEL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL TARİH / NO	2951 / 24.02.2011
	PROTOKOL ADI	"In Vitro Fertilizasyon (IVF) tedavisinin plazma C Tip Natriüretik peptid düzeyleri üzerindeki etkileri."
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ ÜNVANI/ADI	Prof. Dr. Erdal KAYA, Prof. Dr. A. Serpil BİLSEL Duygu ERCAN, Dr. Doğan VATANSEVER,
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi
	BAŞVURULAN BİLİMSEL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU	Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bilimsel Araştırma Değerlendirme Komisyonu
	DESTEKLEYİCİ FIRMA	YOK
	FAZİ	YOK
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Değişiklik No.su	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	OLGU RAPOR FORMU			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 105	Tarih: 25.02.2011
	Kadın Hastalıkları ve Doğum Klinik Şefi Prof. Dr. Erdal KAYA'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tek merkezli araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Bilimsel Araştırma Değerlendirme Komisyonu üyelerinin oy birliği / çokluğu ile karar verilmiştir.	

BİLİMSEL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ

LİŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU
-------------	---------------------------------

ELER

Unvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Başkan Doç. Dr. Ayşenur CELAYİR	Çocuk Sağ. Ve Hast. Kl. Şefi	ZKH	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Aktuğ ERTEKİN	Kadın Hast. ve Doğ. Kl. Şefi	ZKH	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Vedat DAYICIOĞLU	Kadın Hast. ve Doğ. Kl. Şefi	ZKH	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Aysu SAY	Çocuk Sağ. Ve Hast. Kl. Şefi	ZKH	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Suna CESUR	Patoloji Uzmanı	ZKH	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Ayşen ÖZKORAL	Biyokimya Uzmanı	ZKH	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Fulya İlçin GÖNENÇ	Hukuk Uzmanı	Marmara Üniversitesi	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Filiz ONAT	Farmakolog	Marmara Üniversitesi	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Hülya CABADAK	Biyofizik Uzmanı	Marmara Üniversitesi	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Şule DOKUR	Halk Sağlığı Uzmanı	İl Sağlık Müdürlüğü	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Ayten ARIKAN	Tıp Tarihi ve Tıp Etiği Uzmanı	Yeni Yüzyıl Üniversitesi	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Başeczacı Semra KARAKUZU	Başeczacı	Başeczacı	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

Araştırma ile İlişki
Toplantıda Bulunma