

T.C.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
Bölüm Başkanı: Prof. Dr. Uçar ASENA

**POSTMENAPOZAL HORMON REPLASMAN TEDAVİSİNİN SERUM
HOMOSİSTEİN, MALONDİALDEHİD, VİTAMİN B12, FOLİK ASİT,
APOLİPOPROTEİN-A1, APOLİPOPROTEİN-B VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Aysel YILMAZ

YÖNETEN
Doç. Dr. Kemal ÖZTEKİN

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İzmir, 2000

103587

İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	3
II. GİRİŞ	4
III. GENEL BİLGİLER	6
IV. MATERYAL METOD	22
V. BULGULAR	24
VI. TARTIŞMA	32
VII. SONUÇLAR	37
VIII. ÖZET	38
IX. KAYNAKLAR	40

I.ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca, bana mesleki disiplin ve çalışma sevgisi aşıl原因an, bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Uçar ASENA olmak üzere tüm değerli hocalarıma, tez çalışmamı yöneten ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Kemal ÖZTEKİN'e, tezimin gerçekleşmesinde büyük katkıları olan Biokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Oya BAYINDIR'a ve asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Ayşalı YILMAZ

İzmir, 2000

II.GİRİŞ

Kardiovasküler hastalık nedeniyle ölüm, kadınlardaki ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Ancak kadınlarda erkeklere göre, premenapozdaki kadınlarda ise postmenapozdakilere göre daha az oranda kalp hastalığına rastlanmaktadır.

Son yıllarda yapılan çok miktardaki çalışmalar göstermiştir ki, östrojen kullanan kadınlarda kardiovasküler hastalık riski %50' ye varan oranlarda azalmaktadır (1,2,3).

Östrojenin kardiovasküler hastalıklardan koruma mekanizmaları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1)Plazma lipid ve lipoprotein profilinde yaptığı olumlu değişiklikler: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL) ve apolipoprotein AI düzeylerinde artma; Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL), total kolesterol (TK), trigliserid (TG), apolipoprotein B düzeylerindeki azalmaya neden olması.

2) Arterlere direkt antiaterojenik etki.

3) Endotelyum üzerine etki ile vazodilatasyonun sağlanması ve trombosit agregasyonunun önlenmesi (Nitrik Oksit (NO) ve prostasiklin sayesinde)

4) Endotelyumdan bağımsız mekanizma ile vazodilatasyon.

5) Kalp ve büyük damarlar üzerine direkt inotropik etki.

6) Glikoz metabolizması üzerine olumlu etkiler.

7) Antioksidan aktivitesi.

8) Fibrinolizis yapıcı etki (NO ve prostasiklin sayesinde)

9) Damar intimasında kalınlaşmayı önleyici etki.

10) Endotelial hücrelerin hasarının önlenmesi.

11) Makrofaj köpük hücrelerinin oluşumunun önlenmesi.

12) Angiotensin-konverting enzim ve renin düzeylerini azaltması.

13) P-selektin düzeylerini azaltması.

14) Homosistein düzeylerini azaltması.

Serumda artan homosistein düzeyi atheroskleroz ve trombozis ile ilişkilidir. Menapoz sonrasında homosistein düzeyleri artmaktadır. Postmenapozal hormon replasman tedavisinin

plazma homosistein düzeyine etkileri tartışılmaktadır. Vitamin B 12 metabolizmasındaki bozuklukların metionin sentaz aktivitesini azalttığı ve homosisteinemiye neden olduğu iyi bilinmektedir. Ayrıca folat eksikliğinin homosisteinden metioyinine remetilasyonda bozukluklara yol açtığı, böylece homosistein metabolizmasının azalmasına neden olduğu bilinmektedir. Hormon replasman tedavisinin vitamin B 12 ve folik asit düzeylerine etkisi araştırılmaktadır.

LDL' nin oksidasyonu sonucunda modifiye LDL oluşur. Bu yeni LDL makrofaj motilitesini önleyerek, damar intimasında birikmesine ve böylece endotelium hücrelerinin hasarına neden olan sirkulatuar monositlerin kemotaksisine neden olur. Östrojen bir antioksidandır. Östradiol fizyolojik kan düzeylerinde LDL oksidasyonunu önleyici etki gösterdiğine dair yayınlar bulunmaktadır (6). Malondialdehid (MDA) kanda lipid peroksidasyonunu gösteren parametrelerden biridir.

Özellikle ateroskleroz gelişiminde yüksek kan LDL ve düşük kan HDL düzeylerinin önemli olduğu bir çok araştırmacı tarafından deneysel olarak gösterilmiştir (7,8). Ayrıca koroner kalp hastalığı (KKH) tanısı konmuş kişilerde, apoprotein AI (Apo AI)'in düşük ve apoprotein B (ApoB)' nin yüksek olduğu saptanmıştır (7,9).

Bu çalışmadaki amacımız kombine östrojen- progesteron tedavisi uygulanan postmenapozal kadınlarda, bu tedavinin, serum homosistein, folik asit, vitamin B 12. MDA, HDL-kolesterol, LDL- kolesterol, TK, TG, Apo AI, Apo B düzeylerine etkisini araştırmaktır.

III.GENEL BİLGİLER

KADINLARDA KARDİOVASKÜLER HASTALIK

ABD' de kardiovasküler hastalık kadınlardaki en sık ölüm nedenidir. Bunu malign neoplazımlar, serebrovasküler hastalıklar ve motorlu taşıt kazaları takip eder (10). Kadınlarda koroner kalp hastalıklarından ölüm oranı, akciğer ve meme kanserinden ölüm oranından 3 kat fazladır.

Kardiovasküler hastalıkların çoğu önemli damarlardaki aterosklerozdan kaynaklanır. Risk faktörleri kadınlar ve erkekler için aynıdır. Bunlar: Tansiyon yüksekliği, sigara kullanma, diabetes mellitus ve obesitedir. Ancak erkekler kadınlara göre 3.5 kez daha yüksek oranda koroner kalp hastalığına yakalanmaktadır. Bununla birlikte yaş ilerledikçe, bu oran kadınlar lehine düşmektedir.

Reproduktif yıllar süresince kadınlar koroner kalp hastalıklarına karşı korunurlar. Bu nedenle kadınlar, koroner kalp hastalığına erkeklere göre 10 yıl geç yakalanırlar: myokard enfarktüsü ve ani ölüm açısından ise 20 yıllık bir avantajları vardır. Bu durumun nedenleri komplekstir ancak, en önemli koruyucu faktör, kadınlarda yüksek olan HDL düzeyleri ve östrojen etkileridir. Erişkinlik yılları boyunca kadınlarda, HDL kolessterol düzeyi 10 mg/dl daha yüksektir. Total LDL düzeyleri, premenapozdaki kadınlarda erkeklere göre daha azdır, ancak, menapoz sonrasında aniden yükselir. Postmenapozal dönemde, kadınlardaki koroner kalp hastalığı riski 2 kat artar. 60 yaşında kadınlardaki aterojenik lipidler erkeklere göre daha fazladır. Kadınlarda östrojenin HDL'yi artırıcı, erkeklerde ise androjenin HDL'yi azaltıcı etkisi bulunmaktadır. HDL'nin koruyucu mekanizmasının, kolesterolün makrofaj ve damar intimasından uzaklaştırılması yoluyla olduğuna inanılmakla birlikte kesin mekanizma bilinmemektedir.

Postmenopozal olarak kullanılan östrojenin farmakolojik etkileri yeni yeni anlaşılmaya başlamıştır. Östrojen TG düzeylerini ve LDL katabolizmasını artırır. Östrojen etkisi ile LDL partikülleri daha küçük boyutlara gelir. Aslında küçük boyutlardaki LDL daha aterojenik olmasına rağmen, östrojenin direkt antioksidan etkisinin kompensatuar etki gösterdiğine inanılmaktadır (11).

Östrojenin antiaterojenik etkisinin lipoprotein metabolizmasından bağımsız direkt yollarla da olduğunu kanıtlayan hayvan çalışmaları bulunmaktadır(5). Damar endotelinde

ve düz kaslarında östrojen ve progesteron reseptörlerinin saptanması bu teoriyi desteklemektedir (12). Pek çok çalışma bu reseptörlerin, kolesterol değişimini, trombosit agregasyonunu, düz kas proliferasyonunu ve prostaglandin sisteminin etkilerini değiştirerek etkili olduğunu desteklemektedir.

Östrojen arterial duvar üzerinde, doğrudan koruyucu etkilere sahiptir. Son dönemdeki yayınlar östrojenin, insan umbilikal ven endotelial hücrelerindeki, tümör nekrosis faktörün indüklediği, apoptosis veya programlanmış hücre ölümünü önlediğini göstermiştir (13).

Östrojen arterial endotelium ve düz kaslarda seks steroidleri reseptörleri aracıılığı ile kontraksiyon şiddetini ve çevredeki düz kasların işlevlerini ayarlar. Bunu temel olarak endoteliumdan türeyen gevşetici ve kasıcı faktörlerin (Endotelium derived relaksing faktörs (EDRFs) ve Endotelium derived kontrakting faktörs (EDCFs)) salınımı ile gerçekleştirir. Hipertansiyon ve diğer kardiovasküler hastalıklarda EDRFs (Muhtemelen NO) salınımı azalmıştır; öte yandan EDCFs (En önemlisi endotelin-1) salınımı artmıştır(14). NO aynı zamanda trombositlerin adezyon ve agregasyonunu prostasiklinle sinerjistik olarak engeller(15).

Ayrıca östrojen endoteliumdan bağımsız yollarla da vazodilatasyon yapar. Bu büyük olasılıkla kalsiyuma bağlı olarak oluşturulan bir etkidir(16).

Menapozun ardından faktör 7, fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri artar (17). Postmenapozal östrojen tedavisinin, bu faktörlerdeki artmaya engel olduğu gösterilmiştir(18).

Hipertansiyon ve ateroskleroz, vaskular düz kas hücrelerinde artan proliferasyon ile ilişkilidir. İnsan aortik düz kas hücrelerindeki proliferasyon, östrojen tarafından inhibe edilmektedir ve bu etkiyi progesteron etkilememektedir(19)

P-selektin, lökositlerin ve trombositlerin endoteliuma yapışmasını sağlayan bir glikoproteindir. Trombositlerden salgılanır ve depolanır. Aterosklerotik endotelial hücrelerde artan miktarlarda saptanmıştır. Östrojen tedavisi ile dolaşımda daha az P-selectin maddesine rastlanmıştır(20).

Dolaşımdaki artmış miktardaki homosistein, artmış oranlarda ateroskleroz ve tromboz ile ilişkilidir. Epidemiyolojik, genetik ve deneysel çalışmalar serum homosistein düzeylerinin iskemik kalp hastalıklarının nedeni olduğu konusunda kuvvetli kanıtlar sunmaktadır. Folik asit ve vitamin B 12'nin artmış tüketiminin (bu vitaminlerin homosistein

düzeylerini düşürdüğü düşünülmektedir) iskemik kalp hastalıklarından ölümü azaltacağı düşünülmektedir (21).

HOMOSİSTEİN:

Homosistein, 1932 yılında De Vigneaud tarafından metioninin demetilasyonu sonucu oluşan bir ürün olarak keşfedilmiştir. Daha sonraki yıllarda homosisteinin, transsülfürasyon yoluyla, metioyininin, sistatyon ve sisteine dönüşümündeki rolü araştırılmıştır. Sonraki deneysel çalışmalar homosisteinin, sistein, metioyonin veya kolinden eksik diet uygulanan kobaylarda büyümeyi desteklediğini göstermiştir(23).

1962 yılında Carson ve Neill Kuzey İrlanda da yaşları 4 ile 6 arasında değişen metal retarde hastalarda homosistinüri bulunduğunu yayınlamışlardır. Aynı zamanlarda Gerritsen ve Waisman. Konjenital anomalileri bulunan mental retarde infantların idrarlarında homosisteini izole etmişlerdir. Bu değerli keşifler, homosisteinin klinik özellikleri ve biyokimyasal yapısı hakkında pekçok çalışmanın başlatılmasına neden olmuştur. 1964 yılında Mudd ve arkadaşları tipik bir hastada, karaciğer biyopsi materyalinde sistationin β -sentetaz enziminin eksikliğini göstermişlerdir. Sonradan homosistinüriye neden olan diğer enzim defektleri ortaya çıkarılmıştır. Homosistinürinin klinikteki önemi, homosistenin hücresel fonksiyondaki rolünün araştırılmasını stimüle etmiştir. Bu tip hastaların semptomları tromboemboli, prematür aterosklerozis ve metal retardasyondur (23). Ayrıca homosisteinin vasküler lezyonları artırıcı etkisi ve epilepsideki ve sinirsel fonksiyonlardaki rolü geniş olarak araştırılmıştır (24). 1974'den beri transforme hücrelerdeki homosistein metabolizması çalışmaların genişlediği bir alan olmuştur (25). Geçtiğimiz 10 yıl içinde homosisteini, biyolojik materyalden ayırtmada kullanılan tekniklerde büyük gelişme olmuştur. Homosistein fizyolojik olarak insan plazma ve dokularında tespit edilemezken bu gelişmeler sayesinde, çeşitli ilaçlara maruz kalındığında, homosistinüride, değişik yetmezlik durumlarında ve son olarak normal kişilerin plazmasında izole edilmiştir (26). Plazma homosistein düzeyinin orta derecede artışının olası bir sonucu olan prematür vasküler hastalıklardaki artış, dikkatlerin daha da artmasına neden olmuştur (23).

Homosistein metabolizmasıyla ve orta derecede homosisteinemi ile ilgili kanıtları içeren makaleler incelendiğinde aterosklerozis için risk faktörü olabileceği ortaya konmuştur.

Sistation, γ -sistatyonaz enzimi tarafından sistein ve α -ketobütirata parçalanır. Bu enzim ayrıca piridoksal 5 fosfata ihtiyaç gösterir. γ -sistatyonaz metiyoninden sisteine dönüşümü tamamlar buna 'transsülfürasyon' yolu denir.

Homosisteinin metionine dönüştürülmesini betain-homosistein metiltransferaz veya 5-metiltetrahidrofolathomosistein metil transferaz (metionin sentetaz) enzimleri de katalize eder. İlk enzim karaciğerde bulunur. Böbrekte de minör aktivitesi vardır. Sonraki ise, tüm dokularda yaygın olarak bulunur. Metionin sentetaz, 5-metiltetrahidrofolatı metil donörü olarak ve vitamin B12'yi de ko-faktör olarak kullanır. Bakteriyel enzimle ilgili çalışmalar metil kobalaminin, homosisteini metillediği ve 5-metiltetrahidrofolatın kobalamini yeniden metillediğini kanıtlamaktadır (27). 5-metiltetrahidrofolat bu reaksiyonla tetrahidrofolata dönüşür. 5-metiltetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz, homosistein metabolizmasına folat ve vitamin B12 ile girer ve L-metilmalonil-CoA mutaz ile birlikte memelilerdeki tek kobalamin bağımlı enzim olarak çalışır.

Homosisteinin folat ve B12 bağımlı remetilasyonu klinik olarak iyi kanıtlanmış vitamin B12 ve folat arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır. Vitamin B12 yetmezliğinde görülen megaloblastozisin folat eklenmesiyle bir ölçüde düzelmesi buna bağlıdır.

Bu metabolik ilişkiler 25 yıl önce metil folat tuzak teorisi olarak adlandırılmıştır (29). Bu teoriye göre homosistein veya vitamin B12 eksikliği sonucu metionin sentetaz reaksiyonu inhibe olur, 5-metiltetrahidrofolatın tetrahidrofolata dönüşümü bloke olur ve azalan folatlar 5-metiltetrahidrofolat olarak kalır. Bu yüzden azalan folatlar pürin ve pirimidin sentezinde kullanılamaz ve bunun sonucunda deoksiribonükleikasit (DNA) sentezi ve hücre proliferasyonu gerçekleşemez. Homosisteinin metiyonine çevrilmesini ayrıca betainhomosistein metil transferaz enzimi de katalize eder. Bu enzim betaini metil donörü olarak kullanır. Karaciğerde ve böbrekte bulunur. Önceden beri betainhomosistein metil transferazın kolin katabolizması ve homosistein metabolizmasında rol oynadığına inanılırdı. Fakat bugünkü bulgular enzimin memelilerdeki metionin dengesinde rol oynadığını kanıtlamaktadır (30).

Günümüzde dokulardaki az (1-5 nmol/gr) ama stabil miktardaki homosistein saptanabilmektedir. İzole hücrelerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki intraselüler homosisteinin kısa yarı ömrü bulunmaktadır ve hücre dışı alana kolaylıkla taşınabilmektedir. Bu taşınma homosisteinin artmış üretiminde artmaktadır. Bu da homosisteinin hücre dışına çıkışının, hücre içinde belli seviyede kalması gerektiği için olduğu hipotezini

desteklemektedir. Bu izole hücrelerdeki gözlemler, plazma ve idrar gibi ekstraselüler alanlardaki miktarın intraselüler homosistein üretimi ve tüketimi arasındaki dengeyi göstermesi bakımından önemlidir. Bu metabolik ilişkiler şekil.1'de gösterilmiştir.

Homosistein ve Kardiyovasküler Hastalıklar:

Pek çok çalışma göstermiştir ki, artmış homosistein konsantrasyonu, koroner arter hastalıkları için bağımsız bir risk faktörüdür (31,32,33). Serebrovasküler, koroner ve periferik atherosklerozis bulunan hastaların %40'ından fazlasında homosisteinemi saptanmıştır (34). Daha ileri çalışmalar folat, piridoksin ve kobalamin gibi homosistein metabolizmasında gerekli ko-faktörlerin hiperhomosisteinematik atherotrombozadaki rollerini araştırmışlardır. Selhub ve arkadaşları, plazmalarında homosistein artmış kişilerde bu vitaminlerin yetersiz miktarlarda olduğunu saptamışlardır (35). Vitamin eklenmesinin plazma homosistein seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (36).

Sonraki çalışmalarda hiperhomosisteineminin vasküler fonksiyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Lentz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada homosisteineminin vasküler fonksiyon üzerine kötü etkilerini göstermişlerdir (32).

Homosisteinin vasküler hasar yapıcı etkisinin oksidatif mekanizmalara bağlı olduğu gösterilmiştir (37). Sülfidril grubunun oksidasyonu sırasında süperoksit anyon radikal ve hidrojen peroksit oluşur. Bu oksijenden oluşan moleküllerin, homosisteinin endotelial sitotoksik etkisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Homosistein oksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller lipid peroksidasyonunu başlatarak endotelial hücre yüzeylerini etkilerler ve hasara neden olurlar.

Homosistein ayrıca normal antitrombotik endotelin, faktör 5, 12 aktivitesini artırarak ve protein C aktivitesini azaltarak, protrombotik yapıya dönüşmesine neden olmaktadır. Bütün bu değişikliklerin sonunda trombin oluşumu artmaktadır.

Normal endotelial hücrelerin vazodilatatör özellikleri homosistein tarafından değiştirilmektedir. Özellikle de endotelial nitrik oksit inaktivasyonu sayesinde endotelial disfonksiyona neden olmaktadır. Bunun yanında nitrik oksit vasküler düz kas hücre migrasyon ve proliferasyonu üzerine olan inhibe edici etkisini de azaltmaktadır.

Bütün bu bulgular ışığında homosisteinin artmasının koroner kalp hastalıkları oluşumunda risk faktörü olduğu ve diagnostik öneminin bulunduğu kabul edilmektedir (33).

Vitamin B 12 (Kobalamin)

İyi bilinmektedir ki kobalamin metabolizmasındaki bozukluklar metionin sentetaz aktivitesini azaltarak homosisteinemiye neden olmaktadır. Bazı çalışmalar göstermiştir ki,

plazma serbest homosistein düzeyi vitamin B 12 düzeyiyle ters orantılıdır (39). Güncel bir çalışmada Brattström ve arkadaşları (40), açlık total homosistein düzeyinin vitamin B 12 eksikliği bulunan hastalarda sağlıklı kontrollere göre ve heterozigot sistasyon β -sentetaz eksikliği bulunanlara göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Hidroksikobalaminin verilmesinden 14 gün sonra plazma homosistein seviyesi normale dönmüştür. Otörler homosisteinin serum düzeyinin vitamin B 12 eksikliği bulunan hastaların tedavisinin takibinde kullanışlı bir parametre olduğunu bildirmektedirler.

Folat

Folat homosistenin, metionine remetilasyonu için gereklidir. Bu da intraselüler homosistein tüketiminin önemli bir kısmını teşkil eder. Folat eksikliğinde homosistein belirgin düzeyde artar, serum folat düzeyiyle homosistein düzeyi ters ilişkilidir. Folik asit alınımlı homosisteinin remetilasyonunu arttırarak düzeyin düşürülmesine yardımcı olur (41).

LİPİD PEROKSİDASYONU:

Yağların korunmaları ve depolanmaları, uzun yıllardır bilim adamlarının kafalarını meşgul etmektedir. Yağlar okside olurken yapıları, kokuları, renk ve tatları karakteristik değişikliklere uğrar. Biyolojik sistemlerdeki poliansatüre yağ asitlerinin, serbest radikal oksidasyonu, lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir.

Lipid peroksidlerinin ölçümü pek çok hastalığın ve toksikolojik olayın açıklanmasında önem kazanmaktadır. Lipid peroksidasyonunun ölçülmesinde, pek çok teknik kullanılmaktadır, ancak hiçbirisi tam olarak lipid peroksidasyonunun tüm basamaklarını ölçmede yeterli değildir.

Peroksidasyon silsilesinin ilk zincir reaksiyonu, bazı maddelerce metilen grubundan hidrojen atomunun çıkarılması ile başlamaktadır. Hidrojen atomu sadece bir elektron içerdiği için, metilendeki karbon atomunda eşlenmemiş bir elektron kalır. Yağ asitleri arasında çift bağlar olması, bu bağların yanındaki karbon atomunun C—H bağının zayıflamasına neden olmakta ve böylece hidrojen atomunun ayrılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu yüzden membran lipidlerinin poliansatüre yağ asidi yüzü, peroksidasyona özellikle yatkındır. Oluşan karbon merkezli radikal, oksijen ile birleşerek peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali başka yağ asidinin yan zinciri ile tepkimeye girerek hidroperoksidleri meydana getirebilmektedir. Peroksidasyon ortama vitamin E gibi bir antioksidan koyuluncaya kadar devam etmektedir. Lipid peroksidasyonunun diğer zincir reaksiyonları gibi, üç aşaması

bulunmaktadır: başlangıç, yayılma ve sonlanma. “Başlangıç” terimi literatürde, yanlış olarak lipid peroksidasyonunun oranını arttıran reaksiyonlar için de kullanılmaktadır. Oysaki başlangıç terimi, hidrojen atomunun zincirden ilk çıkması olayını tanımlar. İlk hidrojen atomunun çıkarılmasını sağlayan maddeler: hidroksil radikal ($^{\bullet}\text{OH}$), alkoksil radikal (RO^{\bullet}), peroksil radikal (ROO^{\bullet}) ve olasılıkla hidroperoksildir (HO_2^{\bullet}). Zincir reaksiyonunun son ürünleri hidroperoksitlerin ve siklik peroksitlerin çeşitleridir.

Lipid peroksidleri fizyolojik sıcaklıklarda oldukça stabil moleküllerdir, ancak bunların stabilitesi geçiş metalleri ve metal kompleksleri tarafından katalize edilir. Örneğin Fenton reaksiyonunu hızlandıran redoks-aktif demir kompleksleri, lipid peroksit dekompozisyonunu da başlatabilir. Hemoglobin ve sitokrom gibi moleküller Fenton kimyasında direkt katalizör olmadıkları halde, peroksit dekompozisyonunu arttırabilirler. Ferritin ve hemosiderin lipid peroksidasyonunu sitümüle etmede yüksek etkinliğe sahipken, katalaz daha zayıf bir etkiye sahiptir. Bunun tersine transferrinde ve laktoferrinde, demir, yüksek affinitesi bulunan bölgelere bağlandığı için peroksit dekompozisyonu üzerine etkisi yoktur.

Redüklenmiş metal kompleksleri (demirII veya bakırI) lipid peroksidleri ile reaksiyona girerek radikalleri meydana getirirler. Oysaki okside metal kompleksler (demirIII veya bakırII) peroksil ve alkoksil radikallerini oluşturmada daha yavaş reaksiyona girerler. Bütün bu alkoksil ve peroksil radikalleri lipid peroksidasyonunu sitümüle ederler.

Demir iyonları kendileri serbest radikaldir ve ferröz iyonlar moleküler oksijenle birlikte elektron transferi zincirinde yer alır. Yüksek enerjili radyasyon çalışmaları $^{\bullet}\text{OH}$ radikallerinin hidrojen çıkarılması ile lipid peroksidasyonunu arttırdığını göstermişlerdir

Ayrıca demir kompleksleri, perokside materyaller içeren ortamlara konulduklarında, alkoksil ve peroksil radikalleri meydana getirerek peroksidasyonu sitümüle ederler.

Biolojik Lipid Peroksidasyon Tipleri:

Nonenzimatik Lipid Peroksidasyon:

Daha önce de belirtildiği gibi, serbest radikaller doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomu alacak enerjiye sahiptirler ve böylece lipid kitlesinde zincir reaksiyonu başlatabilirler. Lipid peroksidasyonu, iki serbest radikal birbirini yok edinceye kadar devam eder. Nonenzimatik lipid peroksidasyonunda, peroksil radikalleri, yeni yağ asidi molekülleri serbestleştirerek kadar uzun yaşarlar, bunlar ancak antioksidanlar tarafından yok edilirler.

Enzimatik Peroksidasyon:

Enzimatik peroksidasyon, sadece enzimlerin aktif merkezlerinde oluşan lipid peroksidleri için söz konusudur. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz bu tanımlamaya uyar. Serbest radikallerin reaksiyonda aracı olarak yer almaları mümkündür ancak, proteinlerin aktif bölgelerinde lokalize olurlar. Siklooksijenaz yolunda endoperoksitler oluşurken çok güçlü bir oksidan madde meydana gelir ve bu madde, bazı antioksidanların yok edilmesinden sorumludur.

Nonenzimatik Peroksidasyonda Demirin Enzimatik Redoks Çemberi:

Daha önce de bahsedildiği gibi demir lipid peroksidasyon reaksiyonlarında önemlidir. Demirin redoks çemberi, lipid peroksidasyonunu ilerletici etkiye sahiptir ve NADPH varlığında sitokrom P-450 redüktaz demir komplekslerini redükte edebilir. Böylece enzim, askorbik asid gibi bir kimyasal redüktant gibi davranmış olur.

Lipid Peroksidasyonunun Biyolojik Ortamlardaki Sonuçları:

Biyolojik membranlardaki yaygın lipid peroksidasyonu sonucunda; akışkanlık kaybolur. membran potansiyeli azalır, hidrojen ve diğer iyonlar için permeabilite artar ve sonuçta rüptür ile hücre ve organel içerikleri dışarı salınır. Lipid peroksidasyon ürünlerinin sadece bazıları sitotoksiktir. Bir kısmının araşidonik asit yolu ve yara cevabında yararlı etkileri bulunmaktadır. Hasarlı bölgelere giren bakteri ve mantarların öldürülmesinde lipid peroksidasyonunun ve onların karbonil kısımlarının parçalanmasının yardımı büyüktür.

Çok çeşitli teknikler, lipid peroksidasyonunun pek çok hastalıkta ve toksinlerle zehirlenmiş dokularda gösterilmesini sağlamıştır. Hasarlanmış dokular lipid peroksidasyonuna, sağlam dokulara göre daha hızlı girerler. Bunun nedeni: bazı antioksidanların inaktivasyonu, hücreden antioksidanların kaybı, depolardan ve hasarlı lizozomlardan çıkan enzimlerce hidrolize edilen metalloproteinlerden salınan metal iyonlarının artması şeklinde sıralanabilir. Böylece hastalıklarda ve toksikolojide artan lipid peroksidasyonunu açıklayan pek çok kanıt ortaya sunulmaktadır (42). Bu yüzden lipid peroksidasyonunun ölçülmesi, doku hasarını göstermede mükemmel bir belirteç olabilir.

Lipoprotein Peroksidasyonu ve Aterosklerozdaki Yeri:

Makrofajlar kültüre edilip, yüksek konsantrasyonlarda doğal LDL ile inkübe edildiklerinde, kolesterol esterlerini biriktirmezler; böylece, bu yöntem hücreye kolesterol alınmasının nasıl olduğunu açıklayamaz. Daha sonraki çalışmalar, kimyasal olarak modifiye olmuş LDL ve kolesterolün makrofajdaki özel reseptörlere bağlanarak hücre içine alındığını göstermişlerdir. Bu spesifik makrofaj reseptörleri çöpçü veya asetil-LDL reseptör ismini alır.

Bu reseptör, ortamda bulunan lokal kolesterol düzeyleri ile down regüle olmadığı için, makrofajlar oksidatif olarak modifiye LDL ile karşılaştıklarında, kolesterolün masif akümülyasyonu meydana gelir. Bu bulgu, LDL, kolesterol, köpük hücreleri oluşumu ve ateroskleroz arasındaki ilk moleküler bağın kurulmasını sağlamıştır. Arteriyel damarlarda yağ birikmesi, klinik olarak önemli lezyonların prekürsörüdür. Damardaki yağlı lezyon, fibroz plak oluşmasından önceki lezyondur ve endotelial yüzeyin altındaki yağ yüklü makrofajlar (köpük hücreleri) tarafından oluşturulur. Bu olay sirkulatuar monositlerin, arterial endotelium bölgesine agregasyonu ve yapışması ile başlar. Monositler endoteli penetre edip, intimaya ulaştıklarında lipidlerle yüklü hale gelirler ve köpük hücrelerine dönüşürler. Bu dönüşümde, modifiye olmuş LDL'nin (özellikle oksidasyona uğramış) önemi büyüktür. Başlangıç adımı, yani monositlerin endotele yapışması, sirkülasyondaki yükselmiş kolesterol ve LDL-kolesterol tarafından indüklenebilir.

LDL normal insan plazmasından izole edilip, mikromolar miktardaki bakır tuzu ile karıştırıldığında, lipid peroksidasyonu başlamadan önce bir miktar bekleme periyodu olur. Bu bekleme periyodu, LDL'in antioksidan potansiyeli için bir işaret olarak alınır. Vitamin E, β -karoten gibi antioksidan maddeler tükendiğinde bekleme fazı biter ve peroksidasyon hızlanarak ilerler. Sonuçta aldenidler gibi peroksidasyon ürünleri ortaya çıkar. LDL'de bulunan tüm vitamin E, bekleme fazının ilk 10 dakikasında tükenir. Diğer lipidte çözünen antioksidanlarsa sonraki 40-50 dakikada tükenir. LDL'de en fazla bulunan antioksidan vitamin E'dir, her LDL partikülünde ~ 6 molekül bulunur. Diğer lipidte çözünen antioksidanlar ise <1 molekül olarak bulunurlar.

Çalışmalar göstermiştir ki, sigara içen kadın ve erkeklerde düşük karoten miktarı ile myokard enfarktüsü fazla görülmektedir, diyetle vitamin E eklenmesi koroner kalp hastalığı riskini azaltmaktadır (43,44). Hemşirelerin sağlığı çalışmasında yüksek karoten düzeyi olanlarda koroner kalp hastalığı riskinde azalma saptanmıştır (45). Böylece antioksidanlar ile tedavinin kalp hastalığı riskini azalttığı söylenebilir.

HDL METABOLİZMASI:

HDL dokulardaki kolesterolün karaciğere taşınmasında rol alır. 70-120 Angstrom çapında ve $d=1.063-1.21$ g/ml olan küçük partiküllerdir. Yaklaşık %50 lipid (%25 fosfolipid, %15 ester kolesterol, %5 serbest kolesterol ve %5 trigliserid) ve %50 protein (%65 apo AI, %25 apo AII ve daha düşük miktarlarda apo C ve apo E) içerir. Alfa elektroforetik mobilite gösterir ve çapı 8-12 nm'dir.

HDL'nin major apolipoproteini olan apo AI, başlıca trigliseridlerden zengin lipoproteinlerle gevşek bağlı halde, karaciğer ve barsaklardan sekrete edilir. Daha sonra apo AI lipolizden bağımsız olarak hızla ayrılır. Lipidten fakir apo AI, fosfolipid ve serbest kolesterol ile hızla reaksiyona girer. Bu lipidlerin eklenmesinin sürmesi, diskoidal HDL'nin oluşmasına yol açar. Diskoidal HDL fosfolipid çift tabakasına sahiptir (47). Diskoidal HDL'deki serbest kolesterol ve lesitin, lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) ile reaksiyonu sonucunda, ester kolesterol ve lizolesitin oluşur. Oluşan lizolesitin, albümine bağlanarak, yeniden açillenmek üzere çeşitli dokulara taşınır. Kolesterol esterleri ise lipoprotein çekirdeğini meydana getirmeye başlar, böylece olgun sferik HDL ortaya çıkar. Olgun HDL'nin plazmada iki major alt sınıfı bulunur. Bunlardan ilk oluşan HDL₃'tür. HDL₃ dansite 1125-1210'da izole edilen, ortalama partikül büyüklüğü 6.5 nm olan ve elektroforezde α bandına göç eden, HDL'nin büyük olan subfraksiyonudur. Yapısında kolesterol ester, fosfolipid ve apo AI bulunur. Alınan ve esterleştirilen serbest kolesterol miktarı arttıkça partikülün boyutu büyür ve HDL₂ meydana gelir. HDL₂ dansite 1063-1125'te izole edilen, ortalama büyüklüğü 9.5 nm olan ve elektroforezde α bandına göç eden, HDL'nin büyük olan subfraksiyonudur. Yapısında kolesterol, kolesterol esteri, fosfolipid ve apo AI bulunur. HDL₂ konsantrasyonları ile ateroskleroz insidansı ters ilişkilidir. HDL₂'nin plazmadaki konsantrasyonu ve içerdiği protein, HDL₃'den daha azdır. Trigliseridden zengin lipoproteinlerin lipolizi sırasında, yüzey elemanlarının serbest bırakılması HDL₃'ün HDL₂'ye dönüşümünü hızlandırır.

LDL METABOLİZMASI:

LDL plazmadaki major kolesterol taşıyıcı partiküldür. Kolesteronun karaciğerden dokulara dağıtılmasında görev alır. Partikül büyüklüğü 20-25 nm, dansitesi 1019-1063 g/ml arasında olup, elektroforezde β mobilitesi gösterirler. Yapısında eser miktarda Apo E dışında, sadece Apo B₁₀₀ bulundurur. LDL partikül başına düşen mutlak Apo B miktarının değişmediği ve VLDL'ye benzediği görülünce, LDL'nin VLDL katabolizması sonucu oluştuğu anlaşılmıştır.

Fibroblast, lenfosit ve arteriel düz kas hücre kültürleri ve karaciğerde yapılan çalışmalar, LDL için spesifik bağlanma yerlerinin ya da reseptörlerin, B₁₀₀, E reseptörünün varlığını göstermiştir. Dolaşımdaki LDL, Apo B₁₀₀ ile doku reseptörlerine bağlanır ve endositoz olayı ile hücre içine alınır. Hücre içine alınan bu vezikül lizozom ile birleşir.

Burada LDL'deki apoproteinler, hücre içi hidrolitik enzimler tarafından yıkılır ve aminoasitlerine ayrılır. Ester kolesterol ise lipaz enzimi ile serbest kolesterol ve yağ asitlerine parçalanır. Oluşan serbest kolesterol, hücre içerisinde değişik şekillerde kullanılır. Fazla miktarda serbest kolesterol bulunması halinde ise, Açıl KoA kolesterol transferaz (ACAT) enzimi aktive edilerek ester kolesterole çevrilir ve depo edilir (48). Plazma LDL kolesterol konsantrasyonu yükselirse, retikuloendotelial sisteme (RES) ait makrofajlar tarafından dolaşımdan alınabilir. Makrofajdaki kolesterol esterlerinin yükselmesi sonucunda köpük hücresi olarak adlandırılan hücreler oluşur. Aterosklerotik plakların oluşmasında bu hücrelerin rolü büyüktür. Serum LDL kolesterol düzeyi 130 mg/dl üzerinde olduğu zaman ateroskleroz için yüksek risk kabul edilir.

KOLESTEROL METABOLİZMASI:

Kolesterol, siklopentanoperhidrofenantren (steran) halkasına sahip, A halkasındaki 3. Karbonda hidroksil grubu bulunan, 27 karbonlu bir bileşiktir ve lipid sınıfı içerisinde incelenen steroid alt grubunun bir üyesidir.

Kolesterol, dokularda ve plazma lipoproteinlerinde ya serbest kolesterol halinde veya uzun zincirli yağ asidi ile birleşmiş olarak ester kolesterol halinde bulunur. Kolesterolün serbest formu, bütün hücre membranlarının komponenti olduğu gibi, bir çok dokuda da başlıca bulunuş şeklidir. Ancak adrenal korteks, plazma ve atheromatöz plaklarda kolesterolün önemli bir bölümü esterleşmiştir. Kolesterol organizmanın temel maddelerinden biridir ve başlıca fonksiyonları;

- a) Hücre membranı ve hücre içi organellerinin membranında başlıca yapı taşı olup, plazma lipoproteinlerinin dış tabakasının gerekli yapısal bileşenidir.
- b) Safra asitleri yapımında prekürsördür ve safra taşlarının temel yapı taşıdır.
- c) Vücutta kortikosteroidler, seks hormonları, D vitamini gibi steroidlerin ön maddesidir.

Vücut kolesterolünün yarısı sentez yoluyla meydana gelirken, geri kalanı normal diyetten sağlanır. Total sentezin %50'sinden karaciğer, %15'inden barsaklar ve geri kalan büyük bir bölümünden deri sorumludur. Kolesterol hayvan metabolizmasının tipik bir ürünü olduğundan yumurta sarısı, et, karaciğer ve beyin gibi hayvansal kökenli besin maddelerinde bulunur. Bitkiler kolesterol üretmez. Hücrenin mikrozomal ve sitozol fraksiyonu kolesterol sentezinden sorumludur.

İnsan dahil memelilerin bir çoğunda karaciğer toplam kolesterol sentezinin %10-20'sini gerçekleştirmektedir. 70 kg ağırlığında yetişkin bir insanda, toplam 140 gr. kadar kolesterol vardır. Bunun 8 gr. kadarı plazmada bulunmaktadır. Dokularda bulunan kolesterol, plazma kolesterolü ile değişim içindedir. Her ne kadar bir çok dokunun kolesterol sentezleme yeteneği varsa da, normal şartlarda vücutta yeni sentezlenmiş kolesterolün hepsi karaciğerde ve ince barsağın distal bölümünde oluşur. Kolesterol sentezinin başlangıç basamağı, asetatın mevalonik asite dönüşümüdür. Bu basamağın hızını sınırlayan enzim: β -hidroksi β -metil glutaril- koenzim A redüktazdır (HMG-CoA redüktaz). Bu enzim son ürün olan kolesterol tarafından "feed back" mekanizma ile kontrol edilir. Safra asitlerinin sentezi sadece karaciğerdedir ve bu sentezde hız kısıtlayan enzim $7-\alpha$ hidroksilazdır.

Vücutta kolesterol metabolizmasının son ürünü safra asitleridir. İnce barsağa salgılanan bu safra asitlerinin %90'ı geri emilerek dolaşım ile karaciğere gelir. Buna enterohepatik dolaşım denir. Kolesterolün bir bölümü de steroid hormonların yapımında kullanılır. Normalde bir günde feçesle atılan kolesterol miktarı 1.1 gr. kadardır. Kolesterolün normal serum düzeyi, genetik, yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite ve hormonlar gibi faktörlere göre farklılık göstermekle birlikte, ortalama 140-250 mg/dl arasında değişmektedir. Bir çok çalışmada, yüksek serum kolesterol düzeylerinin KKH için büyük bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Serum kolesterol düzeyinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması KKH için risk faktörü olarak kabul edilir.

TRİGLİSERİD METABOLİZMASI:

Trigliseridler (TG), gliserolün yağ asidi esterleridir ve yağ dokusu içinde saklanarak hücre içi enerji deposu olarak işlev görürler. TG'lerde en çok rastlanan uzun zincirli yağ asitlerinin sterospesifik analizleri sonucu, molekülde palmitik asidin 1. Pozisyonu, linoleik asidin 2. Pozisyonu, oleik asidin 3. Pozisyonu tercih ettiğini göstermektedir. TG sentezi karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yolu ile, ince barsakta yağ absorpsiyonu sırasında monogliserid yolu ile meydana gelir. Diyetle alınan TG'ler şilomikronlar şeklinde absorbe edildikten sonra, intestinal lenf kanalcıkları ve daha sonra da torasik kanal yolu ile sistemik dolaşıma girerler. TG'ler plazmada lipoproteinler içerisinde taşınırlar. Tüm lipoprotein fraksiyonlarında bulunmakla birlikte, daha çok şilomikronlar ve VLDL'ler içerisinde yer alırlar. Endojen yağ asitlerinden köken alan TG'lerin asıl sentez yeri karaciğerdir ve buradan kana VLDL olarak salgılanırlar. TG'lerin plazmadaki yarı

ömrü kısadır ve hidrolizin yanı sıra başta yağ dokusu olmak üzere diğer doku ve organlar tarafından alınarak plazmadan ayrılırlar. TG'lerin plazmadan alınması endotel yüzeyinde bulunan lipoprotein lipaz enzimi ile olur. Lipoprotein lipaz kapiller damar duvarında yerleşmiştir ve heparan sülfatın proteoglikan zincirleri tarafından tutulur. Lipoprotein lipaz enziminin kofaktörleri, fosfolipidler ve Apolipoprotein C II'dir. Bu enzim TG'leri yağ asidi ve monogliseridlere ayırır. Oluşan monogliserid, monogliserid hidrolaz aracılığı ile yağ asidi ve gliserole çevrilir. Kan TG düzeyleri, yağlı bir yemek sonrası saatlerce yüksek kalsa da, normalde plazmanın bütün şilomikron trigliseridlerinden 12 saat içinde temizlendiği belirlenmiştir. Bu nedenle açlık plazmasındaki ölçümler, dolaşımdaki endojen TG'lerin düzeyini gösterir. Normal plazma konsantrasyonu yaşa ve cinsiyete göre değişmekle birlikte, 50-170 mg arasında bulunur.

APOPROTEİNLER:

Apoproteinlerin başlıca üç fonksiyonu vardır. Fosfolipidler ile reaksiyona girerek, kolesterol esterlerinin ve TG'lerin mobilize edilmesine yardım ederler. Bu lipidlerin LCAT, lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz gibi enzimlerle olan reaksiyonlarını düzenlerler. Hücre yüzey reseptörlerine bağlanır ve böylece diğer lipoprotein içeriklerinin, özellikle de kolesterolün reseptör aracılığı ile alınıp katabolize edilmesini sağlarlar. Apoproteinlerin lipidleri bağlama mekanizması, primer olarak fosfolipidlerin yağ açıl zincirleri ve apoproteinlerin nonpolar bölgeleri arasındaki hidrofobik bağ ve sekonder olarak, fosfolipidlerin polar baş grupları ile apoproteinlerin α sarmal bölgelerinde bulunan zıt yüklü aminoasit çiftleri arasındaki iyonik etkileşme ile açıklanır. Apoproteinler A,B,C,D ve E olmak üzere beş ana grupta incelenir.

APOPROTEİN A:

Apoprotein A (Apo A), HDL'nin başlıca proteindir ve Apo AI ve Apo AII olmak üzere başlıca iki alt sınıfı vardır. Apo AI 'in molekül ağırlığı: 28300 D; Apo AII'nin ise, 17000 D'dur. Apo AI/ Apo AII oranı 3/1'dir. Apo A karaciğer ve ince barsakta sentezlenir. Apo AI, karaciğer dışı dokulardan serbest kolesterol alınması ve LCAT enziminin inaktivasyonunda görev alır. Apo AII'nin tam fonksiyonu bilinmemekle birlikte, LCAT enzimini inhibe ettiği düşünülmektedir. Bununla birlikte hepatik lipazı da aktive ederek, HDL

metabolizmasında görev alır. Ayrıca bu iki apoprotein yanyana bulunduğunda, Apo AII, Apo AI'in lipid bağlama yeteneğini artırır.

APOPROTEİN B:

HDL dışındaki lipoproteinlerin önemli fonksiyonel grubudur. LDL'nin protein yapısının önemli kısmını oluşturur. Apo B100 ve Apo B48 olmak üzere iki alt grubu vardır. Apo B100'ün molekül ağırlığı 512000 D'dur ve başlıca şilomikron, VLDL, LDL yapısında bulunur. Karaciğerde, Apo B100 sentezlenmekte ve VLDL'nin yapısına sokulmakta, ince barsakta ise Apo B48 sentezlenmekte ve şilomikronların yapısına sokulmaktadır. Apo B, ilgili bulunduğu lipoproteinin sentezlediği organlardan salınmasında rol almakta ve bunların diğer dokulara dağıtılmasını sağlamaktadır. Apo B100, LDL reseptörü ile bağlanmak için gerekli iken, Apo B48 gerekli değildir. Serum LDL konsantrasyonu yükseldiğinde, buna bağlı olarak Apo B oranının da yükseldiği saptanmıştır.

APOPROTEİN C:

Düşük moleküler ağırlıklı apoproteinlerin oluşturduğu bir gruptur. Apo CI, Apo CII VE Apo CIII olmak üzere üç alt grubu vardır. Başlıca karaciğerde sentezlendiği düşünülmektedir. Açlık durumunda apoprotein büyük bir kısmı VLDL ve HDL yapısında bulunmaktadır. Apo CII'nin lipoprotein lipaz (LPL) enziminin aktivasyonuna da görev aldığı saptanmıştır. Apo CIII'ün ise, LPL enzimi üzerinde inhibitör etkisinin bulunduğu düşünülmektedir.

APOPROTEİN D:

Bu apoprotein ilk defa HDL3 alt grubundan izole edilmiştir. Lipoproteinler arasında kolesterol ester ve trigliserid transferinde rol oynadığı düşünülmektedir.

APOPROTEİN E:

Apo EI, Apo EII, Apo EIII ve Apo EIV olmak üzere toplam 4 alt grubu vardır. Karaciğerde sentezlenir ve plazmaya olgunlaşmamış HDL içerisinde girer. Daha sonra şilomikronlar ve VLDL'ye transver edilir. Apo E, şilomikron kalıntıları ve orta dansiteli lipoproteinlerin (IDL), ilgili reseptörler tarafından tanınmasında rol alır. Özellikle, Apo EIII ve Apo EIV izoformları hepatik reseptörler ile kolayca etkileşime girebilir. Apo EII'nin Apo B reseptörleri tarafından da tanınabildiği saptanmıştır.

LİPOPROTEİN (a):

Lp (a), apolipoprotein varlığında tanımlanan ve Apo B100 ile disülfid bağları yapan bir makromoleküler yapıdır. İlk kez 1961 yılında, multipl kan transfüzyonları yapılan hastaların serumunda β lipoproteinlerin presipitat oluşturması, bunların antijenik değişimine dikkat çekmiştir.

1963 yılında Berg immunize tavşan ve insan LDL'sini kullanarak insan β lipoproteinlerin, antijenik farklılıklar içerdiğini gösterdi. Bu sıralarda 1019-1063 g/dl dansitede Lp(a) antijeni bulundu. Yapılan gen çalışmaları ile Lp(a) antijeninin LDL'nin genetik varyantı olduğu ve genetik geçişi olduğu belirlendi.

1970'lerde yapılan çalışmalarda, Lp(a)'nın içeriğinin LDL'ye benzer olmasına karşın, Lp(a) antijeni taşıyan lipoproteinlerin daha çok karbonhidrat içerdiği ve bu nedenle LDL'den farklı olduğu ve pre β mobilitesi gösterdiği bulundu. Ayrıca serum ultrasantrifugasyonunda VLDL (pre- β lipoproteinler) yüzerken, Lp(a)'nın batması üzerine, Lp(a) batan pre- β lipoprotein olarak adlandırıldı. Bunu takiben "a" antijeni taşıyan lipoproteinler 1060-1120 g/l dansite aralığındaki HDL fraksiyonunda gösterildi. Daha sonra da 1050-1060 g/l dansite aralığındaki dar bölgede HDL-LDL dışındaki proteinlerin Lp(a) olduğu anlaşıldı.

Plazma Lp(a) düzeyi 300 mg/l üzerine çıktığında myokard infarktüsü riski iki kat. LDL ve Lp(a) birlikte yükseldiği zaman ise beş kat arttığı bildirilmiştir. Lp(a)'nın major sentez yeri karaciğerdir. Yıkım yeri ve mekanizması henüz belli değildir. Genellikle Lp(a)'nın LDL reseptörlerine, LDL'ye eşdeğer bir affinite ile bağlandığı ve LDL reseptörlerinin arttığı durumlarda klirensin arttığı söylenebilir.

IV.MATERYAL METOD

Çalışmamızı, Eylül 1999 ve Mayıs 2000 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Menapoz polikliniğine başvuran olgular ile gerçekleştirdik. Olguların tüm laboratuvar çalışmaları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Çalışma randomize ve kontrollü olarak düzenlendi. Yaşları 42 ile 62 arasında değişen ve aşağıda belirtilen kriterlere uyan 40 adet sağlıklı postmenapozal hasta çalışmaya dahil edilmiştir:

1. Bir yıldan daha uzun süren sekonder amenore,
2. Yüksek FSH (>20 mIU/ml) ve düşük östrodiol düzeyleri (<50pg/ml)
3. Postmenapozal hormon replasman tedavisi kullanmaması,
4. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, endokrinopati ve diabetes mellitusu olmaması,
5. Çalışmadan 24 saat itibaren alkol, kafein ve sigara alınmamış, düzenli olarak vitamin B 12 ve folik asid kullanmamış olması.
6. Hastaların histerektomi geçirmemiş olması.

Çalışmaya katılan bütün hastalar tedaviden önce, jinekolojik muayene, meme muayenesi, pelvik ultrasonografi, vaginal sitoloji ve mammografi ile değerlendirildi, herhangi bir patolojiye rastlanmadı.

İlk gruba 2mg/gün östrodiol-17-valerat ardışık olarak, 1mg/gün (Son 10 gün) siproteronasetat ile kombine olarak uygulandı.

İkinci gruba HRT uygulanmadı.

Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben ilaç tedavisi başlanmadan hemen önce ve 3 ay sonra alındı. Alınan kan örnekleri 2 saat içinde santrifüj edilip, -80 derecede analize kadar saklandı. Bu kan örneklerinde homosistein, malondialdehit, total kolesterol, trigliserid, HDL kolesterol, LDL kolesterol, APO A1, APO B, vitamin B12, folik asit, östrojen ve FSH düzeyleri bakıldı.

Parametre Çalışmaları

1. Homosistein Tayini :

EDTA'lı plazmada total homosistein düzeyi, yüksek performanslı lipid kromatografide (HPLC), floresan deteksiyon yöntemiyle Poole-Pothaff yöntemi modifiye edilerek ölçüldü

(49). Kullanılan cihaz Shimadzu LC10A , HPLC cihazı olup 4,6mm × 25cm × 5mm özelliğinde C18 kolon ile kromatografik ayırım sağlandı.

2. MDA Tayini :

EDTA'lı plazmada lipid peroksit düzeyleri tiyobarbitürik asit tepkimesine dayanarak MDA cinsinden HPLC'de UV-visible dedektör ile, homosisteinde kullanılan cihaz ve kolon ile ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ MDA olarak verildi (50).

3. Serum Total Kolesterol, HDL, LDL ve Trigliserid Düzeyleri:

Enzimatik, kolorimetrik yöntem ile Randox firmasına ait kitler kullanılarak Dax 48 otomatik analizatöründe, HDL kolesterol Wako firmasının kitleri ve immuno inhibitör metodu ile Hitachi 704 otomatik analizatöründe ölçülmüştür. LDL kolesterol Friedewald formülü ile aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

$$\text{LDL kolesterol(mg/dl)} = \text{TK} - (\text{TG}/5 + \text{HDL})$$

TK=total kolesterol, TG=trigliserid

4. APO A1 ve APO B Düzeyleri :

İmmüno turbidimetrik yöntem ile, Boehringer-Maynheim firmasına ait kitler kullanılarak Hitachi 704 analizatöründe ölçüldü.

5. Östrodiol ve FSH Ölçümleri :

'Automated Chemiluminescence system' ile tayin edildi.

6. Vitamin B 12 ve Folik Asid düzeyleri:

Kemilüminesan immünassay metodu ile Access cihazında ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme E.Ü. Bilgisayar Araştırma ve Uygulama Merkez'inde yapılmıştır. Gruplar arasındaki analizlerin bir kısmı 'Mann-Whitney U' testiyle yapılırken, bir kısmında 'Variance Analizi' kullanılmıştır. Kovaryans analizinde iki grubun tedavi sonrası karşılaştırmalarında, tedavi öncesi değerlere göre düzeltme yapılarak analiz gerçekleştirildi. Tedavi öncesi ve sonrası değerler karşılaştırılırken 'Student T test' kullanıldı.

V. BULGULAR

Çalışmaya kabul edilen hastaların yaş ortalaması kontrol grubu için 51,3 çalışma grubu içinse 50,2 dir. İki grup arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır ($p=0,583$). Hastaların ortalama doğum ve düşük sayıları arasında da istatistiksel fark bulunmamıştır ($p=0,3174$, $p=0,9232$).

Postmenapozda olma süresi kontrol grubunda 5 yıl, çalışma grubunda ise 2,07 yıldır ($p=0,040$). Östrodiolin ortalama başlangıç değeri kontrol grubu için 14,4 pg/ml, çalışma grubu için 21,65 pg/ml'dir ($p=0,165$). FSH için ise kontrol grubunda ortalama 66 mIU/ml, çalışma, grubunda 73 mIU/ml' dir ($p=0,438$). Hastaların özellikleri tablo 1'de gösterilmiştir.

	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
Yaş	51,3 ± 4,73	50,2 ± 3,78
Doğum	2,35 ± 1,31	2,55 ± 1,15
Düşük	2,75 ± 3,54	2,05 ± 1,7
Östrodiol	14,4 ± 11,7	21,65 ± 19,67
FSH	66,1 ± 28,4	73,7 ± 32,69
Vücut Ağırlığı	69,45 ± 10,59	68,05 ± 10,23

Tablo.1

Homosisteinin kontrol grubu için başlangıçta ortalama değeri 9,54 $\mu\text{mol/l}$, 3. ayda 9.61 $\mu\text{mol/l}$ bulunmuştur ($p=0,868$).İstatistiksel anlamı bulunmamaktadır. Çalışma grubunda ise başlangıç değeri 9,33 $\mu\text{mol/l}$, tedavi sonrası ise 8,58 $\mu\text{mol/l}$ bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,000$).

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	9,54	9,61	0,868
Grubu	SD	2,1	2,6	
Çalışma	Ortalama	9,33	8,58	0,000
Grubu	SD	2,6	2,4	

Tablo.2. Kontrol ve Çalışma Grubundaki Hastaların Serum Homosistein Düzeylerinin Ortalama Standart Sapma ve P Değerleri.

MDA'nın kontrol grubundaki başlangıç değeri ortalaması 0,82 $\mu\text{mol/ml}$ iken, 3 ay sonraki değer 0,93 $\mu\text{mol/ml}$ 'dir ($p=0,411$). Çalışma grubunda ise başlangıç değeri 0,87 $\mu\text{mol/ml}$ iken, tedavi sonrası 0,89 $\mu\text{mol/ml}$ olmuştur ($p=0,805$). Her iki gruptaki değerlerin istatistiksel anlamı yoktur.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	0,82	0,93	0,013
Grubu	SD	0,3	0,22	
Çalışma	Ortalama	0,87	0,89	0,805
Grubu	SD	0,25	0,21	

Tablo.3. Her İki Grubun Serum MDA Değerlerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

Vitamin B12'nin kontrol grubundaki ortalama başlangıç değeri 240,33 $\mu\text{mol/ml}$, 3 ay sonraki değer 264,46 $\mu\text{mol/ml}$ 'dir ($p=0,211$). Çalışma grubunda ortalama başlangıç değeri 288,10 $\mu\text{mol/ml}$, tedavi sonrası 305,60 $\mu\text{mol/ml}$ 'dir ($p=0,0332$). Çalışma grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	240,33	364,66	0,211
Grubu	SD	82,3	77,25	
Çalışma	Ortalama	288,1	305,6	0,0332
Grubu	SD	148,8	139	

Tablo.4. Her İki Grubun Serum Vitamin B12 Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

Folat için kontrol grubu başlangıç ortalaması 7,37 ng/ml , 3 ay sonraki değer ise 8,29 ng/ml 'dir ($p=0,128$). Çalışma grubunda ise başlangıç ortalaması 7,22 ng/ml , tedavi sonrası değer 9,06 ng/ml 'dir ($p=0,10$). İki grupta da istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	7,37	8,29	0,128
Grubu	SD	1,78	2,44	
Çalışma	Ortalama	7,22	9,06	0,10
Grubu	SD	1,64	3,23	

Tablo.5. Her İki Grubun Serum Folat Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

TG'in kontrol grubundaki başlangıç değeri 128,76 mg/dl, 3 ay sonraki değeri 114,82 mg/dl'dir (p=0,210). Çalışma grubunun başlangıç değeri ortalaması 109,75 mg/dl tedavi sonrası ise 115,55 mg/dl dir (p=0,447). İki grupta da istatistiksel fark yoktur.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	128,76	114,82	0,210
Grubu	SD	64,19	58,55	
Çalışma	Ortalama	109,7	115,5	0,447
Grubu	SD	41,4	54,2	

Tablo.5. Her İki Grubun Serum TG Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

Total kolesterolün (TK) kontrol grubundaki başlangıç ortalaması 204,47 mg/dl, 3 ay sonraki değeri 216,00 mg/dl'dir (p=0,123). Çalışma grubunun ise başlangıç ortalaması değeri 196,25 mg/dl, tedavi sonrası değeri 189,70 mg/dl'dir (p=0,440). Anlamlı bir fark bulunamamıştır.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	204,47	216,00	0,123
Grubu	SD	39,09	33,88	
Çalışma	Ortalama	196,2	189,7	0,440
Grubu	SD	46,3	56,0	

Tablo.6. Her İki Grubun Serum TK Düzeyinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

HDL'nin kontrol grubu başlangıç ortalaması 63,64 mg/dl, 3 ay sonraki değeri 57,23 mg/dl'dir (p=0,012). Bu grupta HDL anlamlı biçimde düşmüştür. Çalışma grubunda ise başlangıç değeri 63,30 mg/dl iken tedavi sonrası ortalama değer 73,30 mgr/dl olmuştur (p=0,017). Bu grupta ise anlamlı bir yükselme olmuştur.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	63,64	57,25	0,012
Grubu	SD	16	9	
Çalışma	Ortalama	63,5	73,3	0,017
Grubu	SD	15	24	

Tablo.7. Her İki Grubun Serum HDL Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

LDL'nin kontrol grubundaki başlangıç ortalama değeri 126,94 mg/dl, 3 ay sonraki değeri 135,76 mg/dl'dir (p=0,014). Anlamlı olarak artmıştır. Çalışma grubunda ise başlangıç ortalaması 113,40 mg/dl iken, tedavi sonrası 106,75 mg/dl olmuştur (p=0,013). Bu grupta ise anlamlı bir düşüş olmuştur.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	126,94	135,76	0,014
Grubu	SD	29,99	29	
Çalışma	Ortalama	113,40	106,35	0,013
Grubu	SD	37,07	26	

Tablo.8. Her İki Grubun Serum LDL Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

APO A1'in kontrol grubundaki ortalama başlangıç değeri 148,23 mg/dl iken, 3 ay sonraki değeri 145,58 mg/dl olmuştur (p=0,300). Çalışma grubunda ise başlangıç değeri 147,2 mg/dl iken, tedavi sonrası değeri 155,7 mg/dl olmuştur (p=0,49). Kontrol grubunda istatistiksel bir fark saptanmazken çalışma grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir.

		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	148,23	145,58	0,300
Grubu	SD	23,58	24,07	
Çalışma	Ortalama	147,25	155,70	0,049
Grubu	SD	28,76	28,58	

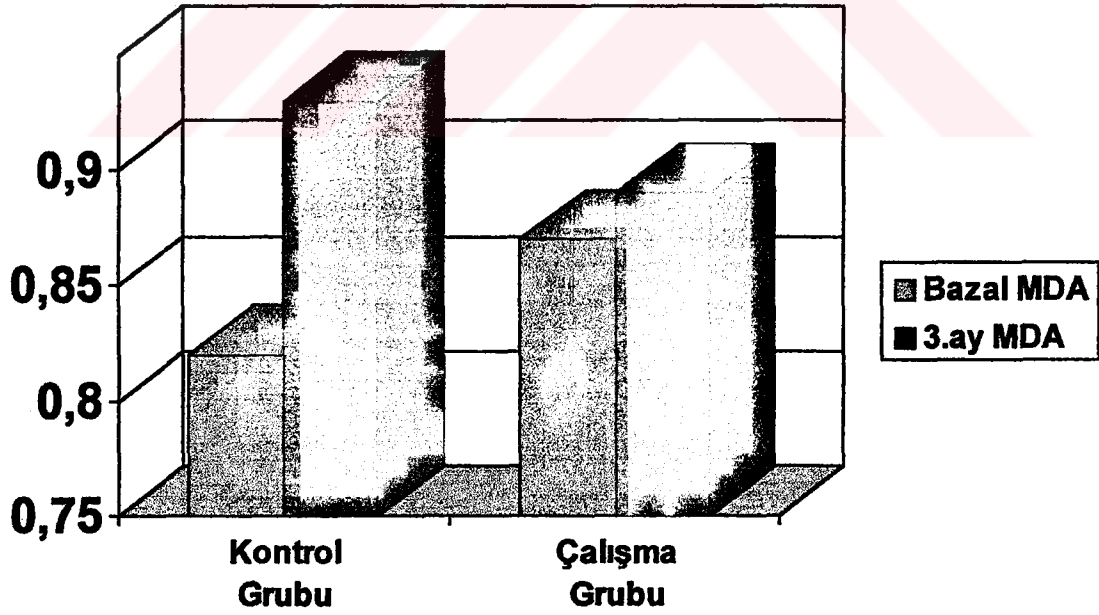
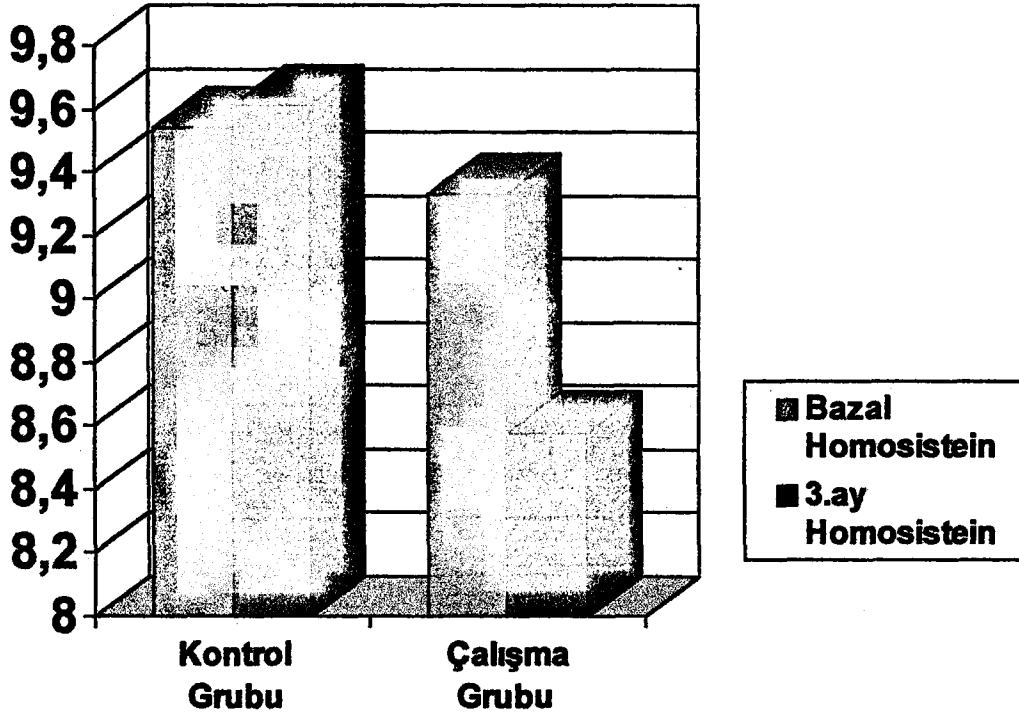
Tablo.9. Her İki Grubun Serum APO A1 Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

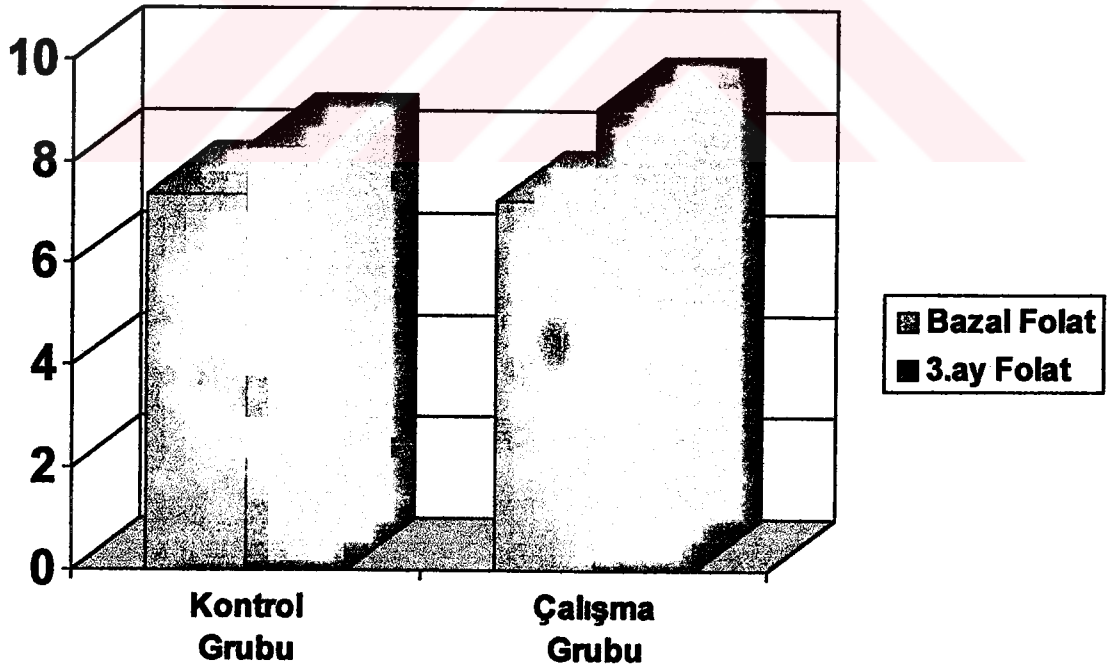
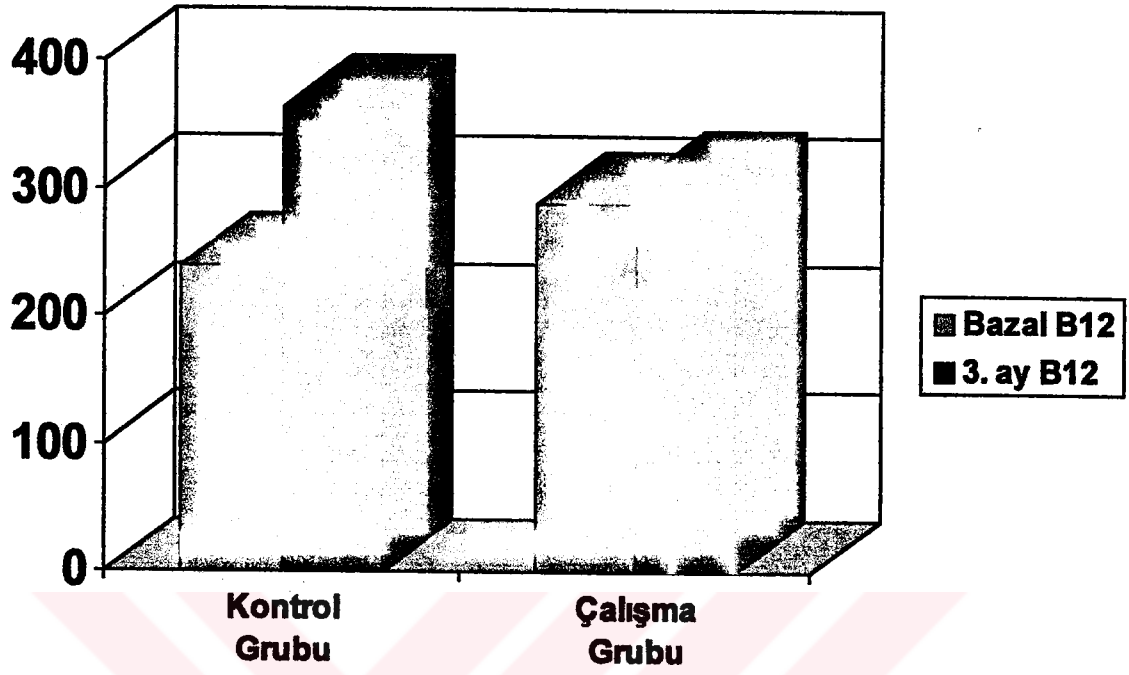
APO B kontrol grubunda başlangıç ortalama değeri 112,00 mg/dl iken, 3 ay sonraki değeri 111,00 mg/dl olmuştur (p=0,542). Çalışma grubunda ise başlangıç değeri 97,10 mg/dl iken, tedavi sonrası değeri 91,90 mg/dl olmuştur (p=0,002). Kontrol grubunda anlamlı bir değişiklik olmazken çalışma grubunda anlamlı bir düşüş meydana gelmiştir.

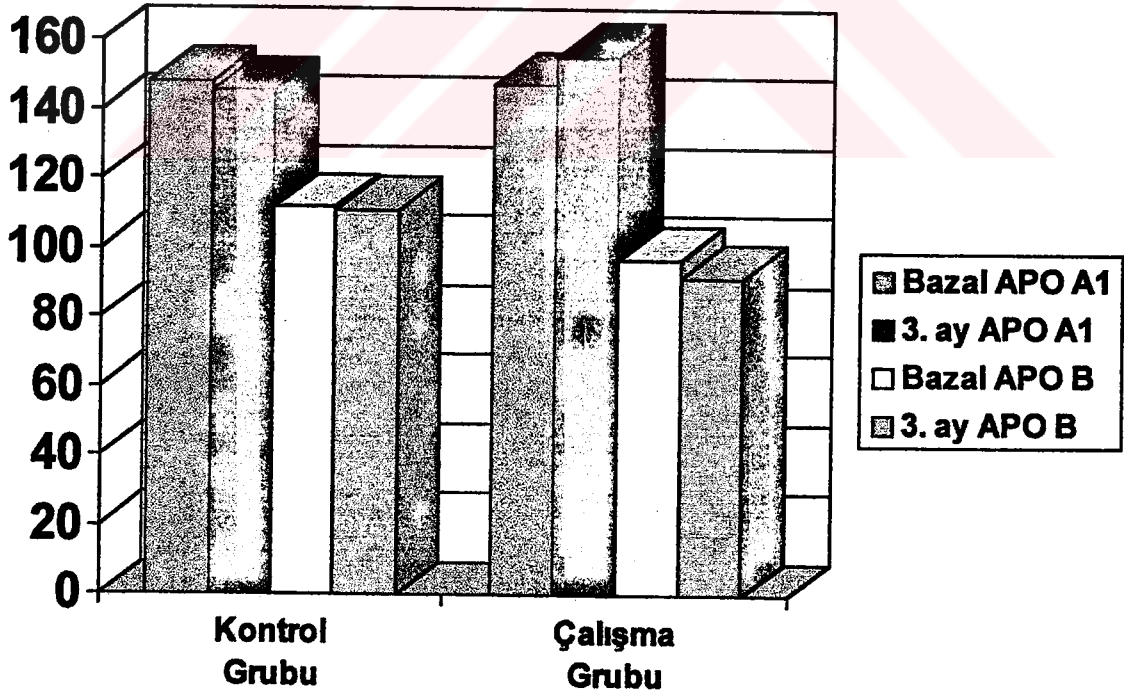
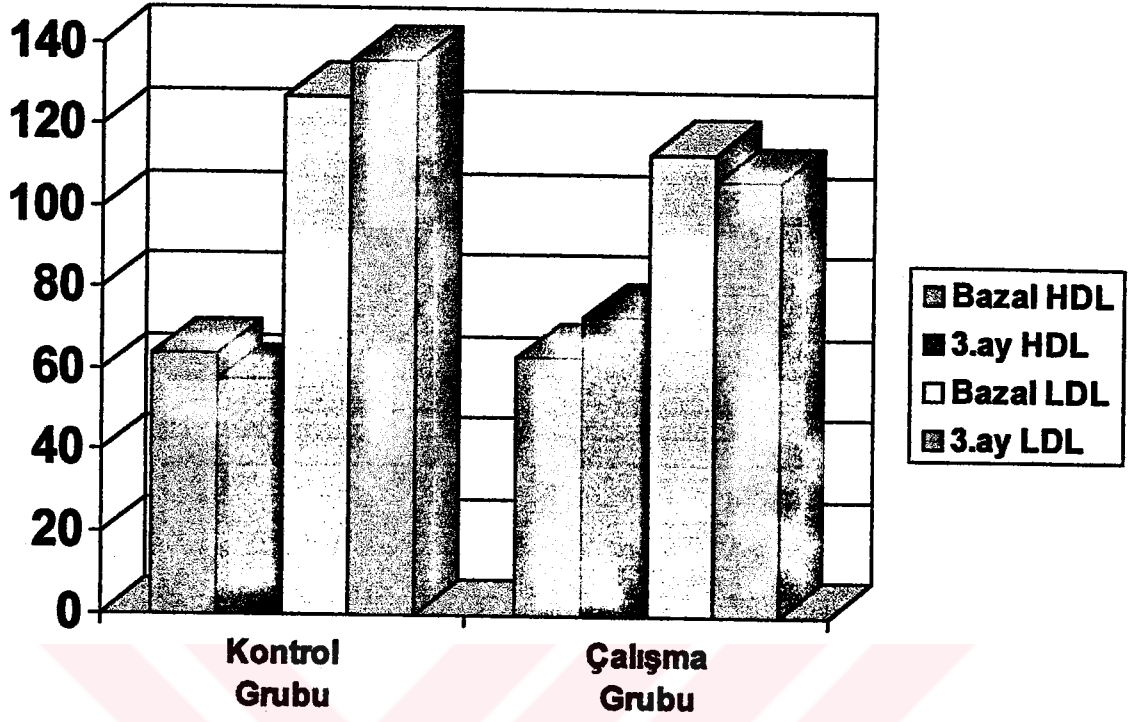
		Bazal	3. ay	P
Kontrol	Ortalama	112,0	111,0	0,542
Grubu	SD	20,7	19,31	
Çalışma	Ortalama	97,1	91,90	0,002
Grubu	SD	26,29	29,75	

Tablo.9. Her İki Grubun Serum APO B Düzeylerinin Ortalama, Standart Sapma ve P Değerleri.

İki grup arasında yapılan variance analizlerinin sonucunda kolesterol (p=0,08), APO B2 (p=0,117), homosistein (p=0,052), MDA (p=0,346), vitamin B12 (p=0,53) ve folat (p=0,328) düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. HDL (p=0,001), LDL (p=0,010), APO A2 (p=0,029) ise istatistiksel olarak farklı bulunmuştur.







VI. TARTIŞMA

Homosistein, esas olarak genetik nedenlerle yüksek bulunmakla birlikte; beslenme, bozulmuş böbrek ve karaciğer fonksiyonları ve reproduktif hormonlar gibi nongenetik faktörlerin de homosistein metabolizmasını etkilediğine dair kanıtlar bulunmaktadır.

Postmenapozal kadınlarda homosistein düzeyinin arttığını gösteren yayınlar mevcuttur (51). Bu postmenapozal dönemde artan homosistein seviyelerinin, hormon replasman tedavisi sonucunda azaldığını iddia eden yayınlar bulunmaktadır (52,53). Ancak bu çalışmalarda kontrol grubu mevcut değildir. Van der Mooren ve arkadaşları (52), postmenapozal kadınlarda 6 ay boyunca verilen ardışık kombine estradiol-dydrogesterone tedavisinin, açlık homosistein düzeylerini %11 oranında azalttığını bulmuşlardır. Bu etki özellikle başlangıçta yüksek homosistein düzeyleri bulunan kadınlarda görülmüştür.

Günümüzde kardiovasküler mortaliteyi azalttığı düşünülen, tamoksifen üzerine yapılan çalışmalar da tamoksifenin, homosistein düzeyini azalttığını göstermiştir(54). Tamoksifenle tedaviden 9-12 ay sonra %30, 13-18 ay sonra %24,5 oranında düşüş saptanmıştır.

Pek çok çalışmada postmenapozal hormon replasman tedavisinin, kardiovasküler hastalık riskini azalttığı gösterilmiştir. Bu etkinin nedenlerinden birinin de östrojenin homosisteini azaltıcı mekanizmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Son yapılan çalışmalar, açlık homosistein düzeylerinin $>14\mu\text{mol/l}$ olduğu durumlarda, kardiovasküler hastalık riskinin oldukça arttığını göstermişlerdir(55). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda bir adet 14'den yüksek değer bulunurken, çalışma grubunda yüksek homosistein düzeyine rastlanmadı.

Homosistein, klasik homosistinürideki konsantrasyonlarına göre, çok az düzeyde olsa bile atherojenik etki gösteren bir maddedir. Bu etkisini vasküler endotelial hücreleri hasarlıyarak gösterir. Bu hasarlama sonrasında kan pıhtılaşma faktörleri etkilenerek ve vasküler düz kas hücre proliferasyonu tetiklenerek, hasarlanmış bölgelere trombosit yapışması artar. Tüm bunların sonucunda trombosise eğilim oluşur.

Farthan ve arkadaşları (56), ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada 17- β -estrodilün, homosistein tarafından ratların torasik aortalarında oluşturulan vasküler hasara karşı koruyucu etkisi bulunduğunu göstermişlerdir. Bu etkinin özellikle vasküler düz kas üzerine direkt etki ile olduğunu iddia etmişlerdir.

Hormon replasman tedavisinin homosistein metabolizması üzerine etki mekanizması henüz tam olarak netlik kazanmamıştır. Blam ve arkadaşları (57), premenapozdaki kadınların homosistein düzeylerinin postmenapozdakilere göre daha düşük olmasını, yüksek metionin transaminasyonuna bağlamışlardır. Ancak hormon replasman tedavisinin metionin tüketimini artırarak homosistein miktarını azalttığı tezi tam olarak kanıtlanabilmiş değildir. Hala spekülatif bir değer taşımaktadır.

Alternatif olarak seks hormonlarının serum folik asit ve vitamin B12 homeostazını değiştirerek etki ettiğini düşünenler bulunmaktadır. Postmenapozal kadınlarda, açlık ve metionin yüklemesi sonrası homosistein konsantrasyonları, serum folat düzeyleriyle ters orantılı olarak bulunmuştur (58). Anker ve arkadaşları (54), postmenapozal hastalara verilen tamoksifen tedavisi sırasında homosisteinde azalma saptarken, folat düzeylerinin arttığını bulmuşlardır.

Çalışmamızda, yukarıdaki verilere uygun olarak, 3 ay boyunca ardışık kombine östrodiol-17-valerat ve sipreteronasetat kullanan hastalarda açlık homosistein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşme saptanmıştır ($p=0,000$). Kontrol grubunda ise her hangi bir düşme saptanmamıştır.

Vitamin B12 düzeyi, çalışma grubunda anlamlı olarak artarken ($p=0,0332$), kontrol grubunda değişmemiştir.

Serum folik asit düzeyi her iki grupta da istatistiksel anlamda herhangi bir değişikliğe uğramamıştır.

Sonuç olarak, kullanılan hormon replasman tedavisi (HRT) homosistein düzeylerinin düşmesini sağlamıştır. Ancak bu çalışmada kısa süreli tedavinin, homosistein düzeyine etkisi araştırılmıştır. HRT'nin vitamin metabolizması üzerine etkilerinin ve uzun süreli HRT sonrası homosistein metabolizması üzerine etkiler daha ileri araştırmaları gerektirmektedir.

Lipoproteinlerin peroksidasyonunun, okside LDL'nin makrofajlar tarafından aşırı tutulumuna neden olduğu için atherosklerozise yol açtığına inanılmaktadır (59). LDL'nin oksidasyonu, malonaldehit ve yağ asitlerinin diğer derivatlarının, modifiye proteinlerinin ve kolesterolün bölünmesiyle oluşan sitotoksik oksiterollerin oluşmasına neden olur. Laboratuvar hayvanlarında yapılan deneyler probukol ve vitamin E gibi antioksidanlar ile atherosklerozis oluşumunun önlendiğini göstermiştir (60).

17- β -estradiol, lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek, hücre membran fosfolipid oksidasyonunu önler (61). Bu etkisini göstere bilmek için seks hormon bağlayıcı

globuline bağılı bulunmayan, serbest veya albumine bağılı östradiolün arterial duvarda etki göstermesi gerekmektedir. İnsan büyük damarlarının intimasında östrojen reseptörü ile ilgili protein bulunmuştur (13).

Östradiol ayrıca LDL partikülleriyle de ilgilenir. Serumda östradiolün yağ asiti esterleri bulunmuştur. Bu östradiol esterleri VLDL'ye transfer olabilir, ayrıca LDL fraksiyonlarında ortaya çıkabilirler. LDL'de bulunan esterifiye östradiol, lipidleri stabilize ederek oksidasyona karşı korurlar.

Progesteronlar, hormon replasman tedavisine uterusu korumak amacıyla eklenirler. Bazı çalışmalar, progesteronların plazma lipid lipoprotein konsantrasyonları üzerine ters etkilerinin bulunduğunu ileri sürmüşlerdir (62).

Mc Kinney ve arkadaşları (63), maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada östradiolün lipoprotein oksidasyonunu azalttığını ancak progesteronun östrojenin bu etkisini zayıflattığını ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda, kombine ardışık östradiol-17-valerat, siproteron-asetat tedavisi lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehiti (MDA), istatistiksel anlamda değiştirmemiştir ($p=0,805$). Ancak kontrol grubunda MDA anlamlı olarak artmıştır ($p=0,013$). Hormon replasman tedavisinin MDA'yı azaltıcı etkisinin saptanması, progesteronun ters etki yapmasına bağlanabilir. Bu konuyu aydınlatmak için değişik progesteron preparatlarıyla yapılacak daha geniş araştırmalara ihtiyaç vardır.

Hormon tedavisinin HDL kolesterol üzerine yaptığı etki araştırıldığında tek başına östradiol uygulandığında 3 aylık süre sonunda HDL kolesterol düzeylerinde %9-13'lük bir artış olduğu saptanmıştır. Tedaviye progesteron ilave edildiğinde HDL düzeyinde %14-17 azalma saptanmıştır (64).

Yine Mogriani ve arkadaşları (65), yaptıkları bir çalışmada oral veya transdermal 17- β -östradiolün tek başlarına veya progesteron ile kombine kullanımlarının lipoproteinler üzerine etkisini araştırmışlardır. Tek başına oral östrojen uygulananlarda, HDL kolesterol düzeylerinde artış saptamışlardır. Eş zamanlı ultragestan uygulanması durumunda transdermal östrojenin tek başına HDL kolesterolde meydana getirdiği artış geriye dönmektedir.

Başka bir çalışmada ise östrojen kombine tedavisinin HDL düzeyini %8 oranında arttırdığı bildirilmiştir(66). Bunun gibi kombine tedavilerin HDL düzeylerini arttırdığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (67, 68).

Çalışmamızda, kombine östrojen progesteron tedavisinin, HDL kolesterol üzerine etkisi olumlu yönde olmuş ve HDL düzeyi olumlu yönde artmıştır ($p=0,017$). Kontrol grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir düşme mevcuttur. Literatürde progesteronun, HDL kolesterol üzerine ters etkisi bulunduğu ya da östrojen etkisini değiştirmedigine dair değişik yorumlarda bulunan pek çok yayın bulunmaktadır. Örneğin bir çalışmada MPA, norethindron, levonorgesterel ile çalışılmış; sadece levonorgesterelin HDL üzerinde olumsuz etkisi saptanmıştır (67). Yaptığımız çalışmada siproteron asetat, östradiol-17-valeratın HDL üzerine olumlu etkisini değiştirmemiştir.

APO A1, HDL kolesterolün major apoproteinidir. HDL metabozlomasında da önemli rol oynamaktadır. Koroner kalp hastalığı ve aterosklerozu bulunan kişilerde yapılan çalışmalarda APO A1 düzeylerinde azalma saptanmıştır. LDL kolesterolün major apoproteini olan APO B, ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı ile ilişkilidir. Yükselmiş LDL ve APO B düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardır.

Bu konuda yapılan bir çalışmada koroner kalp hastalığı bulunan erkek hastalarda APO A düzeyi kontrollere göre azalmışken, APO B düzeyinin artmış olduğu saptanmıştır. Aynı sonuçlara kadın hastalarda da rastlanmıştır(69). Yine aynı çalışmada koroner kalp hastalığı risk faktörlerinin belirlenmesinde APO A1 ve APO B'nin öneminden bahsedilmiştir. Yüksek APO A1 ve HDL kombinasyonunun, düşük koroner arter hastalığı prevalansı ile birlikte olduğu vurgulanmıştır. Yüksek APO B düzeylerinin ise atherojenik ortam yarattığı belirtilmiştir.

Oral konjuge östrojen ve transdermal 17- β -estradiol'ün apolipoproteinlere etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, oral tedavinin APO A1 düzeylerinin arttığı, APO B düzeylerini etkilemediği saptanırken; transdermal uygulamanın apoproteinlere etkisi gösterilememiştir (65).

Başka bir çalışmada 3 ay süreyle oral konjuge östrojen uygulanması sonucunda APO A1 düzeylerinde %9-18'lik bir artış saptanırken, tedaviye progesteron eklendiğinde konjuge östrojen ile elde edilen değerde %11-15'lik bir azalma olmuştur (64).

Çalışmamızda 3 aylık tedavi sonrası APO A1 düzeylerinde anlamlı bir artış oldu ($p=0,049$). Kontrol grubunda ise anlamlı bir değişiklik olmadı. APO B düzeyleri kontrol grubunda anlamlı olarak değişmezken, çalışma grubunda düşüş gösterdi ($p=0,002$).

Östrojenin kardioprotektif etki mekanizmasının ortaya konulmasında uzun yıllardır üzerinde çalışılan serum lipidleri: TK, LDL ve TG'lerdir. Postmenapozal dönemde serum TK, LDL ve TG düzeylerinde anlamlı bir artış, HDL düzeylerinde ise azalma olmaktadır.

Vanrell ve arkadaşları, benign endikasyonlarla histerektomi ve bilateral salpingo-ooferektomi uygulanarak menapoza girmiş kadınlara 1 yıl süreyle transdermal östrojen ve son 12 gün 2,5mg/gün MPA uygulamasını takiben plazma LDL, APO B düzeylerinin düşerken, HDL ve APO A1 düzeylerinin arttığını saptanmışlardır (70). Plazma lipid ve lipoprotein düzeyleri MPA alınan dönemde, sadece östrojen alınan dönem ile kıyaslanabilir düzeydedir. Düşük doz MPA ilavesi transdermal östrojen replasman tedavisinin lipid profili üzerine etkisinde olumsuzluk yaratmamaktadır(72).

50 yaşın üzerindeki kadınlarda artmış serum trigliserid düzeyleri, artmış kardio vasküler risk ile birliktedir. Oral östrojenler, özellikle kojuge östrojen serum trigliserid düzeyini arttırırken, transdermal sistemler TG konsantrasyonlarını azaltmaktadır (71). Blummel ve arkadaşları (67), 183 postmenapozal hasta ile yaptıkları çalışmada etinil-estradiol veya konjuge östrojenlerin tek başına veya MPA, noretindron veya levonorgestrel ile değişik dozlarda ardışık veya devamlı uygulanmasının serum TK, LDL, HDL ve TG üzerine etkilerini araştırmışlardır. 4 hafta sonrasında TK düzeylerinde anlamlı bir azalma, HDL düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır. TK/HDL oranı 4,8'den 4,2'ye düşmüştür. Oral östrojen tedavisi tek başına veya MPA ile birlikte verildiğinde TG düzeyinde orta derecede artışa neden olmuştur. Diğer bir çalışmada, 0,625 mg/gün oral kojuge östrojen, 14-27. Günlerde 10mg/gün MPA ile birlikte 12 ay süreyle uygulandığında TK ve LDL düzeylerinde değişiklik meydana gelmediği, HDL2 kolesterol düzeylerinde ise anlamlı artış olduğu saptanmıştır (68).

Çalışmamızda TG ve TK düzeyleri her iki grupta anlamlı bir değişikliğe uğramamıştır. LDL ise kontrol grubunda anlamlı olarak artarken ($p=0,014$), çalışma grubunda ise anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,013$). Çalışma 3 ay gibi çok kısa bir periodu kapsadığından TG ve TK düzeylerinde olacak değişiklikleri 12 ay sonra ki değerlendirmelerle ele almanın daha kesin sonuçlar sağlayacağına inanmaktayız.

VII.SONUÇLAR

Çalışmamızda, 2mg/gün östradiol-17-valerat ve son 10 günde 1 mg/gün siproteronasetat tedavisinin ardışık verildiği hastalarda, 3 ay sonunda serum homosistein, vitamin B12, folik asit, MDA, HDL, LDL, APO A1, APO B, TK, TG düzeylerinin durumuna bakılmıştır. Aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1.Verilen tedavi sonucunda homosistein kan düzeyleri, anlamlı ölçüde azalmıştır. Tedavi verilmeyen kontrol grubunda ise değişiklik olmamıştır.

2.Homosistein metabolizmasında önemli olduğu düşünülen vitamin B12 ve folat düzeylerine bakılmıştır. Tedavi verilen grupta, vitamin B12 anlamlı biçimde artarken, kontrol grubunda herhangi bir değişikliğe uğramamıştır. Folat ise çalışma ve kontrol grubunda anlamlı bir değişikliğe uğramamıştır.

3.Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, verilen kombine tedavi sonucunda istatistiksel anlamda bir değişikliğe uğramamıştır. Ancak kontrol grubunda belirgin bir artış mevcuttur.

4.Çalışmanın plazma lipid profili üzerine etkileri ise olumlu yönde olmuştur.

HDL kolesterol ve APO A1 düzeyleri, tedavi grubunda anlamlı biçimde artmıştır. Kontrol grubunda ise HDL'de anlamlı bir düşüş mevcutken APO A1'de değişiklik oluşmamıştır.

LDL düzeyleri tedavi verilen grupta anlamlı olarak düşerken kontrol grubunda belirgin biçimde artmıştır. Yine APO B düzeyleri çalışma grubunda düşerken, kontrol grubunda herhangi bir değişikliğe uğramamıştır.

Trigliserid ve total kolesterol ise, kontrol ve çalışma gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime uğramamışlardır.

VIII.ÖZET

Kardiovasküler hastalık riski, premenapozal kadınlarda postmenapozdakilere ve erkeklere göre daha düşüktür. Bu fark seks hormonlarını, özellikle östrojenin kardioprotektif etkisine bağlı olabilir. Ancak, bu etkinin sadece kısıtlı bir kısmı östrojenin indüklediği metabolik değişikliklerle ilgilidir. Östrojenin olası kardioprotektif etki mekanizmalarından bazıları aşağıdaki gibidir:

- 1.Serum homosistein miktarının azaltılması
- 2.Lipid peroksidasyonunun önlenmesi
- 3.Lipid profilinde yaptığı olumlu değişiklikler

Homosistein, atheroskleroz ile ilişkisi iyi bilinen bir maddedir ve postmenapozal dönemde artmaktadır (51). Homosisteinin postmenapozal hormon replasman tedavisi sonrası azaldığına yönelik yayınlar bulunmaktadır (52,53). Homosistein metabolizması ile vitamin B12 ve folik asit arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Vitamin B12 eksikliğinde metionin sentetaz aktivitesi azalır, folik asit eksikliğinde ise homosisteinden metionine remetilasyonda bozukluk oluşur. Her iki durumda da homosistein artar. Bu vitaminlerin kan düzeyleri homosistein ile ters orantılı olarak bulunmuştur. Seks hormonlarının homosistein üzerindeki etkisini vitamin B12 ve folik asit üzerinden yaptığına dair iddialar bulunmakla birlikte, netlik kazanmamıştır.

LDL'nin oksidasyonu sonucunda oluşan modifiye LDL, makrofaj motilitesini önleyerek makrofajların damar intimasında birikmesine neden olur. Biriken makrofajlar endotel hücrelerinin hasarına yol açan sirkülatuar monositlerin kemotaksisine neden olur. Östrojenin fizyolojik kan düzeylerinde, LDL oksidasyonunu önleyici etkisi bulunduğu dair yayınlar mevcuttur (6). Bunun yanında progesteronun östrojenin etkisini azaltıcı yönde davrandığını bildiren yayınlar da bulunmaktadır (63).

Östrojenin, atheroskleroz gelişimini geciktirici etkisinin %20-50'si lipid profilinde meydana getirdiği değişikliklere bağlanmaktadır (72).

Birçok epidemiyolojik çalışmada, koroner kalp hastalıklarının serum lipidleri, lipoproteinleri ve apolipoproteinleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (8,9,10). Atheroskleroz gelişiminde, yüksek LDL ve düşük HDL ile yakın ilişki bulunduğu bilinmektedir (8). Ayrıca APO A1 ve APO B'nin koroner kalp hastalığı gelişimindeki rolünü belirlemek üzere yapılan

çalışmalarda, anjiyografik olarak kalp hastalığı tanısı konulmuş hastalarda, bulunmayanlara göre daha yüksek APO B ve daha düşük APO A1 düzeyleri saptanmıştır (9).

Çalışmamız Eylül 1999-Mayıs 2000 tarihleri arasında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Menapoz Polikliniğine başvuran hastalar ile gerçekleştirildi. Laboratuvar çalışmaları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biokimya Anabilim Dalı laboratuvarların da gerçekleştirildi.

Çalışma randomize ve kontrollü olarak düzenlenmiştir. Hastalara 2mg/gün östradiol-17-valerat, son 10 günde 1mg/gün siproteronasetat ile kombine, ardışık olarak verilmiştir. 3 ay sonrasında tedavi verilen ve verilmeyen hastalarda serum homosistein, folik asit, vitamin B12, MDA, HDL, LDL, APO A1, APO B, TK ve TG seviyeleri bakılmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda homosistein ve vitamin B12 üzerinde olumlu etki oluşmuş, homosistein düzeyi tedavi sonrası belirgin olarak düşerken, vitamin B12 anlamlı olarak artmıştır. Ancak folik asit üzerine herhangi bir etki tespit edilmemiştir.

MDA, lipid peroksidasyonunu gösteren belirteçlerden biridir. Bizim çalışmamızda verilen tedavinin MDA düzeyine belirgin bir etkisi olmamıştır. Bunun nedeninin progesteronun, östrojenin lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisini zayıflatıcı özelliğinden kaynaklandığı düşünüldü.

Uyguladığımız tedavi lipid profilinde trigliserid ve total kolesterol üzerine belirgin bir etkide bulunmazken, diğer lipidler üzerinde olumlu etki yapmıştır. HDL kolesterol ve APO A1 artarken, LDL ve APO B azalmıştır. Çalışmamızda, siproteron asetatin lipid profili üzerine fazla bir olumsuz etkisi bulunmamıştır.

IX.KAYNAKLAR

1.Ross RK, Paganini Hill A, Mack TM, Artur M, Henderson BE: Menopausal östrogen therapy and protection from death from ischemic heart disease. *Lancet* 1:858-65, 1981.

2.Sullivan JM, Vander Zwaag R, Lemp GF, Hughes JP, Maddock V, Kreetz FW, Ramanothern KB, Mirvis DM. Postmenapausal östrogen use and coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med* 108: 358-456, 1998.

3.Stampfer MD, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE: Postmenapausal estrogen therapy and cardiovascular disease ten year follow up from the nurses health study. *N Eng J Med.* 325: 756-62, 1991.

4.Furchgot PF, Zawadski JV: The obliqatory role of endotelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by asetlycholine. *Nature* 88: 373-6, 1980.

5.Hayashi T, Fukuto JM, Ignorro LD, Choudhurris: Basal release of NO from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbits implication for atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 89: 1259-63, 1992.

6.Sack MN, Rader DJ, Cannon RO: Estrogen and inhibition of oxidation of LDL in postmenapausal women. *Lancet* 343: 265-72, 1994.

7.Roherim PS, Asztalos BF: Clinical significans of lipoprotein size and risk for coronary atherosclerosis. *Clinical chemistry* 41: 147-52, 1995

8.Hoff FH, Heidmann CL, Sackson RL: Localization patterns of plasma apolipoproteins in human atherosclerotic lesions circulation. *Research* 37: 72-9, 1975.

9.Schmidt SB, Wasserman AG, Muesing RA: Lipoprotein and apoprotein levels in angiographically defined coronary atherosclerosis. *American Journal of Cardilogy* 55:1459-62, Jun 1988.

10.Wallace RB, Anderson RA: Blood lipids, lipid related measures and the risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *Epidemiol Rev*129: 98-105, 1987.

11.Rifici VA, Khachedurian AK: The inhibition of LDL oxidation by estradiol. *Metabolism* 41: 1110-9, 1992.

12.Ingegno MD, Money SR, Thelmo W, Greene GI, Pavidian M, Jaffe BM: Progesteron receptors in the human great vessels. *Lab vest*59:353-41, 1988.

13.Spryridopoulos I, Sullivan A, Kearney M, Losardo DW: Estrogen receptor mediated inhibition of human endothelial cell apoptosis estradiol as a survival. *Circulation* 85: 1505-14. 1987.

14.Vanhoutle PM: Endothelium derived relaxing and contracting factors. *DAV Nephrol* 193: 145-8, 1990.

15.Lind T, Cameron EC, Thunter WM, Leon C, Oxley A, Gerard J, Ling UCG: A prospective controlled trial of HRT given to postmenopausal women. *BRJ Obstetric Suppl* 31: 86-91, 1979.

16.Collins P, Rosana GM, Jiang C, Lindsay P, Poole, Wilson PA: Cardiovascular protection by estrogen, a calcium antagonism effect?. *Lancet* 341:264-73,1993.

17.Meade TW, Dyer S, Howarth DJ, Imeson SD: Antitrombin III and procoagulant activity; sex differences and effects of the menopause. *BRJ Haematol*: 74-7, 1990.

18.Conard J, Gomped A, Pelissier C, Mirabel C, Basdevent A: Fibrinogen and plasminogen modifications during oral estradiol. *Fertil steril* 68:449-58, 1997.

19.Suzuki A, Mizuno K, Ino Y, Okada M, Kikkavef N, Tomado Y: Effects of 17 B-estradiol and progesterone on growth factor induced proliferation and migration in human female aortic smooth muscle cells in vitro. *Cardiovasc Res* 32:916-24, 1996.

20.Jilma B, Hildebrant S, Kapiotis S, Wagner O, Kitzweger E, Müller C, Monitzer B: Effects of E2 circulating blood selection. *Endocrinol Metabl* 81: 2350-9, 1996.

21.Nicholass W, Watt C, Scott S, Joseph MC, Bartlin J: Homocystein and ischemic heart disease.*Arch Intern Med* Vol 158:862-7, 1998.

22.Mudd SH, Levy H: Disorders of transsulfurations in standbury metabolic basis of inherited disease. Newyork Mc Graw Publications: 522-59, 1983.

23.McCully KS,: Homocysteinemia theory of atherosclerosis development and current status. *Atherosclerosis Review* 11: 157-246, 1983.

24.Walton NY, Treiman DM: Experimental secondarily generalized convulsive status epilepticus induced by homocystein thiolactone. *Epilepsy Res.* 2: 79-86, 1988.

25.Hoffman RM: Altered methionize metabolism methylation and oncogene expression in carcinogenesis. *Biochim biophys Actc* 738: 49-87, 1984.

26.Veland PM, Refsum H, Suardal AM, Holland S: Perturbation of homocysteine metabolism by pharmacological agents in experimental and clinical use in tumor cell differentium. *Biology ang pharmacology* New Jersey human Press: 269-78, 1987

27. Frasia V, Dunham WR, Sands RH, Matthews RG: Cobalamin dependent methionine synthase from e.coli. *Biochemistry* 27: 8448-68, 1988
28. Shane B: Vitamin B12 folate interrelations. *Ann Rev Nutr* 5:115-41, 1985.
29. Herbert V, Zahusky R: Interrelations of vitamin B12 and folic acid metabolism, folic acid clearance study. *J Clin West* 41: 1263-76, 1962.
30. Finkelstein JD, Martin JJ, Harris BS: Methionine metabolism in mammals. The methionine effect of cysteine. *J Biol Chem* 263:11750-4, 1988.
31. Nicholas J, Wald DS, Hilary C, Watt R, Donald G, Jonh M: Homocystein and ischemic heart disease. *Arch Inren Med* vol 158: 862-7, 1998.
32. Steven R, Lentz C, Sobey G, Donald J, Piegors M, Monica Y, Frank D, Rene M: Vascular dysfunction in monkeys with diet induced hyperhomocysteinemia. *The Journal of Clinical Investigation* Vol 98 1: 24-9, 1996.
33. Jutta D, Emmanuel B, Matthes N, Hort M, Claus L, Heinrich W: The diagnostic value of serum homocystein concentration as a risk factor for coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med* 36(7): 453-87, 1998.
34. Clarke RL, Daily KR, Naughten S, Chalane B, Fowler I, Grahan B: Hyperhomocysteinemia an independent risk factor for vasculer disease. *N. Engl J Med* 324: 1149-55, 1996.
35. Sejhuh J, Jacques PW, Rush D, Rosenberg LH: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *J Am Med Assoc* 270: 2693-8. 1993.
36. Uppink JB, Nermaak WJ, Vonder A, Meruwe PS, Becker J: Vitamin B12 Vit B6 and folate nutritiend status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 57:47-53, 1993.
37. Stakebaum G, Harlon JM: Endothelial cell injury due to copper catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Chn Ivest* 77: 1370-6, 1986.
38. Tsai JC, Yoshizumi CM, Hsieh E, Haber R, Schlegel ME: Promotion of vasculer smooth muscle cell growth by homocysteine to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6369-73, 1994.
39. Swift ME, Shultz TD: Relationship of vitamin B6 and B12 to homocysteine levels risk for coronary heart disease. *Nutr Rep Int* 34: 1-14, 1986.
40. Brattströmt A, Israelson B, Lindgarbe F, Hultberg B: Higher total plasma homocysteine in vit B12 deficiency. *Metabolism* 37: 175-8, 1988.

41. Stabler SP, Macell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG. Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected. *Metabolism* 36: 458-62, 1987.
42. Hallwell B, Gutteridge MC: Lipid peroxidation oxygen radicals cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* :1396-8, 1984.
43. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O: Autoxidation of human LDL lipoprotein loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *Lipid Res* 28:495-509, 1987.
44. Kardinaal A, Kok F, Ringstad J, Gomec S, Mazaev V, Martin M: Antioxidants in adipose tissue and risk of myocardial infarction the evramic study. *Lancet* 342:1379-87, 1993.
45. Stampfer MJ, Hennekens CH, Mason JE, Colditz GA, Rosner B, Willet WC: Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *New Engl J Med* 328: 1444-58, 1993.
46. Maziere C, Avolair M, Roveaux MC, Salmon S, Santus R: Estrogens inhibit copper and cell mediated modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*: 89-101, 1991.
47. Tietz N: Lipid transport and storage. *Textbook of clinical chemistry*: 51-67, 1994.
48. Tietz W.N. *Textbook of Clinical Chemistry*. WB. Saunders company Philadelphia 1994: 51-67
49. Poole-pothoff MTWB, Van Deunberg M, Franken DG: Three different methods for the determination of total homocysteine in plasma. *Ann Clin Biochem* 32 :218-20, 1998.
50. Nielsen F, Mikkelsen BB, Wielsen JB, Andersen TR, Grandjean P: Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress reference interval and effects of life style factors. *Clinical Chemistry* 43:1205-14, 1997.
51. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Matics M, Hennekens CH: Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *Jama* vol 19: 281-9, 1999.
52. Van der Mooren MJ, Wouters MGAS, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TK, Rolland R: Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* 24: 733-6, 1994.
53. Van der Mooren MJ, Wouter MGAS, Blom HJ, Eskes TK: Homocysteine concentrations may decrease during postmenopausal hormone replacement therapy. *J Med Sci* 164: 15-21, 1995.

54. Anker G, Lonning PE, Veland PM, Refsum H, Lia EA: Plasma levels of the atherogenic amino acid homocysteine in postmenopausal women with breast cancer treated with tamoxifen. *Int J Cancer* 60: 365-8, 1995.

55. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, Van Lefle F, Gupta A: Hyperhomocysteinemic and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 92: 2825-30, 1995.

56. Farhot MY, Dingaan B, Fader ME: Estradiol 17- β -protects against homocysteine induced vascular injury in rat thoracic aorta. *J Am Coll Cardiol*: 72-9, 1995.

57. Blom HJ, Boers GHS, Van der Elzen PA, Van Roessel JJM, Tangerman A: Differences between premenopausal women and young men in the transamination pathway of methionine catabolism and the protection against vascular disease. *Eur J Clin Invest* 18: 633-8, 1988.

58. Wauters MGAJ, Moorees M, Van der Mooren MJ, Bloom HJ, Boers GH, Schellekens LA: Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 25: 801-5, 1995.

59. Heinecke SW: Free radical modification of LDL mechanism and biological consequences free radical. *Biol Med* 3: 65-73, 1991.

60. Verlagier AS, Bush MJ: Effects of alpha-tocopherol supplementation on experimentally induced primate atherosclerosis. *J Am Coll Nutr* 11: 131-8, 1992.

61. Mukai K, Daifuku K, Yokoyama S, Nakoto M: Stopped flow investigation of antioxidant activity of estrogen in solution. *Biochim Biophys Acta* 1035: 348-52, 1990.

62. Hirnoven E, Malkonen M, Manninen V: Effects of different progestagens on lipoproteins during postmenopausal replacement therapy. *N Engl J Med* 304: 560-3, 1981.

63. McKinney KA, Duell PB, Spies HG, Burry KA: Differential effects of subcutaneous estrogen and progesterone on low density lipoprotein size and susceptibility to oxidation in postmenopausal rhesus monkeys. *Fertility and Sterility* vol 68: 525-530, 1997.

64. Miller VT, Muesing RA, Larose JC, Stoy DB, Philips EA, Stillman RJ: Effects of conjugated equine estrogen with or without three different progestogens on lipoproteins HDL subfractions and apolipoprotein A1. *Obstet Gynecol* 77: 2235-40, 1991.

65. Mogriani S, Cusan I: Changes in plasma lipoprotein and apolipoprotein composition in relation to oral versus percutaneous administration with ultrogestron in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 73: 373-9, 1991

66.Hulley MD, Grady D, Bush T, Fulberg C, Harrington D: Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *Jama* 19: 280-7, 1998.

67.Blummel JE, Brandt A, Grabagno A, Cubillos M, Lozano A: Postmenopausal women changes in plasma lipids with different estrogen replacement therapies. *Rev Med Chil* 118(4): 382-7, 1990.

68.Khoo SK, Coplan MJ, Wright MJ, Pevoss KN, Battistutta D: Hormone therapy in women in the menopause transition randomized double blind placebo controlled trial of effects on body weight blood pressure lipoprotein levels antitrombin II activity and the endometrium. *Med J Aust* 168(5): 216-20, 1998.

69.Kwiterovich PO, Sniderman AJ: Atherosclerosis and apoproteins B and A1. *Prev Med* 2: 815-34, 1983.

70.Castelo-Bronco C, Casals E, Duran M, Fortuny A, Vanrell JA: Effects of progestagen on lipids lipoproteins during transdermal estrogen replacement therapy with or without medroxyprogesterone acetate. *J Repro CI Med* 41: 833-8, 1996.

71.Somsione G: Cardioprotection by estrogens mechanism of action the lipids menopausal stud. *Int J Fertil* 39(1): 43-9, 1984.

72.Bush TL, Barret-Connor E, Cowon LP, Criqui MH, Wallace BM, Tyroler HA, Rifkind BM: Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women results of the lipol research clinics program follow-up study. *Circulation* 75: 1102-9, 1987.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
DUE TO THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY