

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA SENTETİK SEKS STEROİDLERİNİN LİPİD
METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Pakize DOĞAN

Kader KÖSE
Biyokimya Uzmanı

KAYSERİ — 1991



Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir
(Proje No:90-11/1).

KISALTMALAR

AcAc-KoA	: Asetoasetil-Koenzim A
ACAT	: Açil-KoA: kolesterol açil transferaz
Apo A ₁	: Apolipoprotein A ₁
Apo B	: Apolipoprotein B
Apolp	: Apolipoprotein
BSA	: Bovine serum albumin
CETP	: Kolesterol ester transfer protein
D; kD	: Dalton; kilo Dalton
DD	: Düşük doz
EE	: Etil estradiol
E/P	: Estrojen/projestin
ER	: Endoplazmik retikulum
FL	: Fosfolipid
FSH	: Folikülü stimüle edici hormon
Hb	: Hemoglobin
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HMG-KoA	: Hidroksi metilglutaril-Koenzim A
HL	: Hepatik lipaz
IDL	: Intermediate dansiteli lipoprotein
KC	: Karaciğer
KVH	: Kardiovasküler hastalık
LCAT	: Lesitin kolesterol açil transferaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LH	: Luteinize edici hormon
LNG	: Levonorjestrel
Lp	: Lipoprotein
LpL	: Lipoprotein lipaz
MDA	: Malondialdehit
NEA	: Noretisteron asetat
NET	: Noretisteron
NG	: Norjestrel
O ₂ ⁻	: Süperoksit anyonu
¹ O ₂	: Singlet oksijen
OD	: Optik dansite
OH·	: Hidroksil radikali
PL	: Pankreatik lipaz
SHBG	: Seks hormonu bağlayan globulin
T-kol	: Total kolesterol
TG	: Trigliserid
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
YD	: Yüksek doz

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. LİPİDLER	3
2.1.1. KOLESTEROL	4
2.1.2. SİTOPLAZMİK ASETOASETİL-KOA TİYOLAZ	4
2.1.3. SİTOPLAZMİK HİDROKSİ-METİLGLUTARİL-KOA SENTAZ	5
2.1.4. KOLESTEROL BİYOSENTEZİNİN DÜZENLENMESİ	7
2.1.5. ASETOASETAT	7
2.2. LİPOPROTEİNLER	9
2.2.1. APOLİPOPROTEİNLER	10
2.2.2. APOLİPOPROTEİN A ₁	11
2.2.3. APOLİPOPROTEİN B	12
2.3. LİPOPROTEİN METABOLİZMASI	13
2.3.1. ŞİLOMİKRONLAR VE VLDL	13
2.3.2. LDL METABOLİZMASI	15
2.3.3. HDL METABOLİZMASI	17
2.3.4. HEPATİK LİPAZ	19
2.4. LİPİD PEROKSİDASYONU	23
2.5. SEKS STEROİDLERİ	27
2.5.1. ESTROJENLER	28
2.5.2. PROJESTERON	30
2.5.3. ESTROJEN VE PROJESTERONUN ETKİ MEKANİZMASI	31
2.6. SENTETİK SEKS STEROİDLERİ	31
2.6.1. ESTROJEN TÜREVLERİ	32
2.6.2. PROJESTERON TÜREVLERİ	33
2.6.3. NORETİSTERON ASETAT	34
2.6.4. LEVONORJESTREL	35
2.6.5. SENTETİK SEKS STEROİDLERİNİN LİPİD METABOLİZMASI ÜZERİ- NE ETKİLERİ	36
3. MATERYAL VE METOD	41
3.1. MATERYAL	41
3.2. METOD	44
3.2.1. LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ	44
3.2.2. ASETOASETAT TAYİNİ	47
3.2.3. FOSFOLİPİD TAYİNİ	49
3.2.4. TOTAL KOLESTEROL TAYİNİ	53
3.2.5. TOTAL HDL-KOLESTEROL İLE HDL ₂ - VE HDL ₃ -KOLESTEROL TA- YİNLERİ	54
3.2.6. TRİGLİSERİD VE LDL-KOLESTEROL TAYİNİ	58
3.2.7. APOLİPOPROTEİN A ₁ VE B TAYİNİ	59
3.2.8. HEPATİK LİPAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	60
3.2.9. HMG-KOA SENTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	62
3.2.10. ASETOASETİL-KOA TİYOLAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	64
4. BULGULAR	67
5. TARTIŞMA	106
6. ÖZET	138
7. SUMMARY	140
8. KAYNAKLAR	142
9. EK TABLOLAR	158

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sentetik steroidler, günlük hayatta, çeşitli amaçlarla ilaç olarak kullanılmaktadır. Kontrasepsiyonu sağlamak için, oral olarak kullanılan sentetik seks steroidleri, bazı estrogen ve projestin türevleridir. Bunlar ayrı ayrı uygulanabildikleri gibi, estrogen/projestin(E/P) kombinasyonu şeklinde de kullanılabilir (83,136,166).

Çok sayıda epidemiyolojik çalışmalar, sentetik seks steroidleri ile tromboembolik bozukluklar, iskemik hastalıklar, felç ve miyokard infarktüsü gibi kardiyovasküler hastalık (KVH)'ların frekansının arttığını göstermiştir(55,93, 96,113,182,192). Epidemiyolojik çalışmaların bir kısmı ise, E/P kombinasyonlarının, KVH için, muhtemelen bağımsız bir risk faktörü olmadığını, fakat mevcut risk faktörlerini indükleyebildiklerini ileri sürmektedir(41,60,63). Ancak, son yıllarda REALINI ve GOLDZIEHER(146), KVH riski ile kombine preparatların kullanımı arasındaki ilişkiyi vurgulayan epidemiyolojik çalışmaların bir kritiğini yaparak, KVH ve seks steroidlerinin kullanımı arasında, sebep-sonuç ilişkisinin varlığını gösteren, bilimsel bir kanıt olmadığı kanaatine varmışlardır.

Bununla beraber, lipidler ve lipoproteinler üzerine kontraseptif steroid kombinasyonlarının etkilerini açıklayan literatür bilgisi tam olarak birbirine uygun, tutarlı değildir(63,160,179). Kombinasyonlarda kullanılan estrogen ve projestin komponentlerinin tipi, dozu ve birbirine oranı; ayrıca, kombinasyonları kullanma süresi ve uygulama şekli lipid metabolizmasını farklı şekilde etkileyebilmektedir(15,55,57,60,63,133). Hatta aynı E/P kombinasyonları kullanılmış olmasına rağmen, çalışma süresi, kan örneklerinin alınma programı, laboratuvar metodları gibi çalışma protokolündeki değişiklikler, farklı sonuçlara yol açmaktadır(57,60,103,110,179).

Son yıllarda düşük dozda estrogen ve projestin içeren kontraseptif steroidlerle bile, minimal düzeyde de olsa, lipid metabolizmasında bazı değişiklikler göz-

lenmiştir(41,69,180). Bu değişiklikler, kısmen metodolojik farklılıklara bağlan-
sa da, lipoprotein ve alt fraksiyonları ile apolipoprotein bileşiminde görülebilen
daha ince değişikliklerin, indüklenmiş olabileceğini açıkça göstermektedir
(60,69). Dolaşımda bulunan lipoproteinlerdeki biyokimyasal değişiklikler, hepatic
lipoprotein sentezini, kolesterolün periferel hücrelere verilmesini veya
tersine karaciğere taşınmasını etkileyebilir(69).

Lipid ve lipoprotein metabolizması üzerine, estrojenlerin ve projestinlerin etkileşme mekanizmaları hakkında çok az bilgi mevcuttur. Bu nedenle, daha detaylı metabolik çalışmaların gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Örneğin, kontraseptif steroidlerin hepatic kolesterol metabolizması ve bilhassa hücresele kolesterol sentezi ve hücresele metabolizma üzerine etkilerinin enzim seviyesinde incelenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Bu çalışmada amacımız, yaygın olarak kullanılan yüksek ve düşük dozda projestin içeren, estrojenle kombine iki kontraseptif preparatın lipoproteinler, hepatic kolesterol metabolizması ve özellikle hücresele kolesterol sentezi üzerine, doza, tipe ve süreye bağlı etkilerini enzim seviyesinde incelemek üzere; seçilen rat modeli üzerinde meydana gelebilecek değişikliklerin, mümkün olabilen sebeplerini değerlendirmek, estrojen-projestin etkileşme mekanizmalarını hücresele seviyede açıklayabilmektir. Ayrıca, bu konuyla ilgili daha önceden yapılan çalışmalara temel araştırma yönünden katkıda bulunmak, rutin uygulamada ortaya çıkabilecek riskleri azaltmaya yardımcı olmaktır.

Bu nedenle kısa (15 gün) ve uzun (120 gün) süre, düşük ve yüksek dozda projestin içeren iki farklı kombine preparat uygulanan ratların plazmasında asetoasetat, trigliserid, fosfolipid, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve alt fraksiyonları, Apo A₁ ve Apo B seviyeleri; eritrosit zarlarında lipid peroksidasyonu ve karaciğerlerinde HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz ve hepatic lipaz aktiviteleri ölçülmüş, bu parametrelerin birbirleriyle olan ilişkileri tartışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LİPİDLER

Vücut dokularında yaygın olarak bulunan lipidler, biyolojik yaşamın her safhasında önemli rol oynayan organik bileşiklerdir. Lipidler, vücudun enerji deposu ve metabolik yakıtı olmalarının yanısıra, biyomembranların fonksiyonel ve yapısal bileşenleridir. Bazı hormon, vitamin ve biyolojik regülatörlerin öncül maddeleri olmaları, sinir sisteminde izolasyonu sağlamaları ve ısı kaybını önlemeleri, diğer önemli fonksiyonları arasındadır. Organizmada bulunan metabolik bakımdan önemli başlıca lipidler; kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitleridir(116,125,145,171).

Yağ Asitleri: Doğada bulunan doymuş ya da doymamış yağ asitleri, genellikle uzun bir hidrokarbon zinciri ve terminal bir karboksilat grubu içerir. Lipidler içinde en basit yapıya sahip olan yağ asitleri, daha kompleks lipidlerin bileşenleridir(116,164).

Trigliseridler: Organizmada yağ asitlerinin depolanması, büyük ölçüde trigliserid (TG) şeklinde olmaktadır. TG'ler gliserol ve yağ asitlerinin triesterleridir. Yağ dokusunun önemli bir kısmını oluştururlar(116,145).

Fosfolipidler: Biyomembranların başlıca bileşenleri olan fosfolipidler (FL), gliserolün 3.karbon atomunda yağ asidi yerine, fosfat ve buna bağlı bir baz içeren gliserol esterleridir(145,171).

2.1.1. KOLESTEROL

Kolesterol, vücut doku ve sıvılarında en çok bulunan ve siklopentanoperhidrofenantren halkası içeren 27 karbonlu bir steroldür.Hayvansal hücre membranlarının yapısal bileşeni olduğu gibi, tüm steroid hormonların, safra asitlerinin ve vitamin D₃'ün de öncül maddesidir(116,164,171).

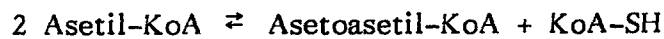
Kolesterol, diyetle alınmasının yanısıra, başta karaciğer (KC) olmak üzere, hemen hemen tüm dokularda sentezlenebilmektedir. Kolesterol biyosentezi, hücrenin sitozolünde gerçekleşir. Karbohidratların, yağ asitlerinin ve bazı amino asitlerin yıkılmasıyla açığa çıkan asetil-KoA, kolesterolün tüm karbon atomlarının kaynağını teşkil eder(116,164).

Kolesterol sentezi; mevalonat oluşumu, mevalonatin skualene dönüşümü ve skualenden kolesterol yapımı şeklinde, üç ana safhada değerlendirilebilir(116, 145).

Mevalonat oluşumu, kolesterol sentezinde, birleştirici bir basamaktır. Asetil-KoA ünitelerinden 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG-KoA) teşekkülü ve bunu takiben mevalonat oluşumu; Asetoasetil-KoA tiyolaz, HMG-KoA sentaz ve HMG-KoA redüktaz enzimlerinin katalitik etkisiyle gerçekleşmektedir(116, 145,164).

2.1.2. SİTOPLAZMİK ASETOASETİL-KoA TİYOLAZ

Sitoplazmik asetoasetil-KoA (AcAc-KoA) tiyolaz (EC 2.3.1.9), kolesterol biyosentezinin ilk basamağını katalizleyen enzimdir:



Asetoasetil-KoA oluşturmak üzere, 2 molekül asetil-KoA'nın reversibl kondenzasyonunu sağlayan sitoplazmik tiyolaz, çözünebilir sitozolik bir enzimdir (33,34).

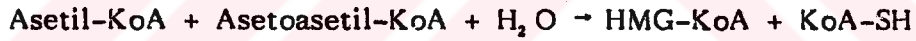
Tavuk KC'inde tiyolazın intraselüler dağılımının incelenmesi, aktivitenin yaklaşık % 70'inin sitoplazmik fraksiyonda bulunduğunu göstermiştir(32). Buna karşılık, rat KC'inden ve sığırdan elde edilen total tiyolaz aktivitelerinin, sırayla % 44'ü ve % 14'ü sitoplazmik fraksiyona aittir(32,33).

Tavuk KC'inden ve domuz kalbinden saflaştırılan sitozolik AcAc-KoA tiyolazın moleküler özellikleri birbirine çok benzemektedir(34). Tiyolaz, aynı ya da benzer polipeptid zincirlerinden oluşan tetramerik bir proteindir. Enzimin molekül ağırlığı, jel filtrasyonu metoduyla 188.000 Dalton (D) ve sedimentasyon denge metoduyla 169.000 D olarak bulunmuştur. Alt ünitelerin ağırlığı ise, 41.000 D'dir(32,34).

Sitoplazmik tiyolaz için, optimum pH aralığı 8.0-9.0'dur. Enzimin izoelektrik noktası (pI) 7.1 ve sedimentasyon katsayısı 7.94 S'dir. Kondenzasyon reaksiyonunda, enzimin K_m değeri, asetil-KoA için 270 μ M'dir(32,34).

2.1.3. SİTOPLAZMİK HİDROKSİ-METİLGLUTARİL-KoA SENTAZ

Sitoplazmik 3- β -hidroksi-3- β -metilglutaril-KoA (HMG-KoA) sentaz, kolesterol biyosentezinin ikinci basamağını katalizleyen enzimdir (EC 4.1.3.5).



HMG-KoA sentaz, denklemde görüldüğü gibi, HMG-KoA oluşturmak üzere, asetoasetil-KoA ile asetil-KoA'nın termodinamik olarak irreversibl kondenzasyonunu katalizler(34).

Kinetik ve irreversibl inhibitörlerle yapılan çalışmalar, HMG-KoA sentaz için, "iki basamaklı" bir reaksiyon mekanizması öne sürmektedir. Buna göre, ilk aşamada, asetil-KoA'nın enzime bağlanmasıyla, kovalent asetil-enzim ara bileşiği oluşmaktadır. Daha sonra, asetil grubunun enzimden asetoasetil-KoA ya aktarılmasıyla, HMG-KoA meydana gelmektedir(34).

Kuş (tavuk,güvercin,hindî) KC'inin sitoplazmik fraksiyonunda birbirinden farklı özellikleri olan, 4 HMG-KoA sentaz enzimi tayin edilmiştir. Bunlardan sentaz I ve sentaz II, total sitoplazmik aktivitenin, sırayla % 22 ve % 62'sini temsil eder. Sentaz III ve IV ise, aktivitenin geri kalan kısmından sorumlu, minör formlardır(35).

Tavuk KC'inden saflaştırılan sitoplazmik sentaz enzimlerinin herbirinin, dimerik bir protein olduğu bulunmuştur. Alt ünitelerin molekül ağırlığı birbirinin aynıdır. Enzimin molekül ağırlığı ise, yaklaşık 100.000 D'dir(34,35). Bu yapısal benzerliğe rağmen, HMG-KoA sentaz enzimleri birbirinden farklı özelliklere de sahiptir (Tablo I)(35).

HMG-KoA sentazın çeşitli formlarını içeren kuş KC'inden farklı olarak, rat KC'inde tek bir sitoplazmik sentaz enzimi bulunmuştur. Bu sentaz, kuşlara ait enzimler içinde, en çok sentaz II'ye benzeyen moleküler ve kinetik özelliklere sahiptir. Her ikisi de, asetoasetil-KoA için düşük K_m değerlerini ($< 10 \mu M$) içerir, $MgCl_2$ tarafından aktive edilebilir ve pI değerleri 5.4'tür (35).

Son yıllarda, MEHRABIAN ve ark(120) rat KC'inden saflaştırdıkları sitozolik HMG-KoA sentazın molekül ağırlığını 120.000 D ve alt ünitelerinin ağırlığını 53.000 D olarak buldular. Ayrıca, saflaştırılmış enzim üzerinde çalışarak, amino asit bileşimini ve N-terminal amino asit dizisini tespit ettiler: NH_2 -Pro-Gly-Ser -Leu-Ala-(Glu)-Ala-X-X-Pro-Lys-Asp-Val-Gly-Ile-Val-Ala-Leu-X-Ile-Tyr-Phe(120).

Tablo I. Tavuk KC'inden Elde Edilen HMG-KoA Sentaz Enzimlerinin Bazı Moleküler ve Katalitik Özellikleri

ÖZELLİKLER	Sitoplazmik HMG-KoA Sentaz Enzimleri				Mitokondriyel HMG-KoA sentaz
	I	II	III	IV	
Molekül ağırlığı(D)	90.000	94-100.000	100.000		96-105.000
Alt ünitelerin ağırlığı(D)	52.000	55.000	58.000	58.000	52.000
Optimum pH	9.3	9.2	9.4		
K_m :(Asetil-KoA)	290 μM	310 μM	310 μM		1000 μM
K_m :(asetoasetil-KoA)	$< 2 \mu M$	$< 2 \mu M$	$< 2 \mu M$		$< 5 \mu M$
İzoelektrik nokta	6.6	5.4	5.2		7.2
Elektroforetik mobilite		0.21	0.31	0.29	0.10
KCl ile ayrışma	(+)	(-)	(-)		(+)
$MgCl_2$ 'nin etkisi	↓	↑	↑		↓

Sitozolik sentaz, HMG-KoA sentezinin yanısıra, asetil defosfo-KoA oluşturmak üzere, defosfo-KoA ile asetil-KoA'nın transasetilasyonunu da katalizlemektedir(34).

HMG-KoA sentaz, p.kloromerküri benzoat gibi, tiyol grubu taşıyan reaktiflerle irreversibl şekilde inhibe olmaktadır. Ayrıca 3.0 μ M'ın üzerindeki konsantrasyonlarda, asetoasetil-KoA, enzimin güçlü bir inhibitörüdür(34).

2.1.4. KOLESTEROL BİYOSENTEZİNİN DÜZENLENMESİ

Kolesterol sentezindeki düzenlemenin, izoprenoid biyosentetik yolda görev alan birçok enzimin koordine regulasyonu aracılığı ile meydana geldiği öne sürülmektedir(120,147). Bununla beraber, başlıca kontrolün, HMG-KoA seviyesinde olduğu da bilinen bir gerçektir(116,147,164).

Sentez sırasında, HMG-KoA'dan mevalonat oluşumunu katalizleyen HMG-KoA redüktaz aktivitesi, bizzat kolesterol tarafından düzenlenmektedir(116,164). Kolesterol; redüktaz geninin transkripsiyonunu etkileyerek, redüktaz mRNA seviyelerinin ve buna bağlı enzim sentezinin azalmasına; mevcut enzimin parçalanma hızının artmasına neden olarak, redüktaz aktivitesini değiştirmektedir (120,147).

Hayvan modeli kullanılan çalışmaların sonuçlarına göre, açlık durumu ve besinle kolesterol alınması, redüktaz aktivitesini olduğu kadar, sitozolik HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktivitelerini de baskılayarak, endojen kolesterol sentezini azaltmaktadır. Buna karşılık, kolestiraminle beslenme, her üç enzimin aktivitesini de artırmaktadır. İnce bağırsakta, safra tuzlarını bağlayıp reabsorbsiyonlarını önleyen kolestiramin gibi ajanlar, doku kolesterolünün ya da metabolik kolesterol havuzunun azalmasına yol açarak, hepatik kolesterojenezi artırmaktadırlar(35,120,147).

2.1.5. ASETOASETAT

Asetoasetat, asetil ünitelerinin suda çözünebilen ve taşınabilen bir formu olarak kabul edilebilir(164).

Organizmada, asetil-KoA ya sitrik asit siklusuna girerek CO₂ 'e oksitlenmekte ya da yağ asitlerinin sentezine katılmaktadır(116). Asetil-KoA ünitelerinin birikmesine yol açan bazı metabolik durumlarda ise; asetil-KoA üniteleri, KC'de keton cisimlerinin sentezinde kullanılır(125).

Karbohidrat ve yağların yıkımı arasında bir denge olduğu sürece, β-oksidasyondan oluşan asetil-KoA üniteleri sitrik asit siklusuna girmektedir(164). Bununla beraber, asetil-KoA'nın siklusa girmesi, oksalasetatın yeterli düzeyde olmasına bağlıdır. Karbohidratların yetersiz olduğu veya öncelikle kullanılmadığı durumlarda, örneğin açlık ya da diyabette, oksalasetat glukoneojeneze katıldığından, asetil-KoA ile kondense olabilecek düzeylerde değildir. Bu şekilde, ya da β-oksidasyon hızının artmasıyla biriken asetil-KoA üniteleri, KC'de ketojenizde kullanılır(116). Asetoasetat, B-hidroksi bütirat ve aseton, keton cisimleri adını alır(125,145).

KC mitokondrilerinde asetasetat, asetil-KoA'dan 3 basamakta sentezlenir. Asetoasetat ve kolesterol sentezine ait ilk iki reaksiyon, birbirinden farklı mitokondriyel ve sitoplazmik enzimler (HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz) tarafından katalizlenmesine rağmen, kimyasal olarak birbirinin aynıdır ve HMG-KoA senteziyle sonuçlanmaktadır(35).

HMG-KoA, daha sonra, HMG-KoA liyazla katalizlenen bir reaksiyonla, asetasetat ve asetil-KoA'ya ayrılır. Toplam reaksiyon:



şeklindedir(164).

KC mitokondrilerinden kan dolaşımına difüze olan asetasetat, periferik dokulara taşınmaktadır(164). Asetoasetatın enerji metabolizmasında, kantitatif olarak önemi büyüktür. Asetoasetat, solunumun normal yakıtıdır. Kalp kası ve renal korteks; enerji eldesi için, asetasetatı, glukozu tercih etmektedir. Bununla beraber, yakıt olarak glukoz kullanan beyin, açlık ve diyabette, asetasetat kullanımına adapte olmaktadır(116,164).

Asetoasetat, spesifik bir KoA transferazın katalizlediği reaksiyonda, süksinil-KoA'dan KoA-SH grubunu alarak, yeniden aktive edilebilmektedir. Asetoasetil-

KoA ise, tiyolazla asetil-KoA'ya dönüştükten sonra, sitrik asit siklusuna girebilmektedir. KC'de transferaz enzimi olmadığı için, asetoasetatın kullanımı, ekstrahepatik dokularda gerçekleşmektedir(145). Enerji eldesinin yanısıra, asetoasetatın düzenleyici bir rolü de vardır. Kanda bulunan yüksek asetoasetat seviyeleri, asetil ünitelerinin çokluğuna işaret eder ve yağ dokusunda lipolizin azalmasına yol açar(164).

2.2. LIPOPROTEİNLER

Lipoproteinler, sulu ortamda çözünemeyen lipidlerin, vücut sıvılarında taşınmasını sağlayan lipid-protein kompleksleridir(80,164).

Lipoproteinlerle taşınan lipidleri apolar ve amfipatik lipidler olarak ayırmak mümkündür: TG ve kolesterol esterleri apolar özellik gösteren lipidlerdir. Buna karşılık, polar ve apolar grupları içeren FL ve serbest kolesterol, amfipatik lipidlerdir(80,160).

Bir lipoprotein (Lp), basit olarak, dış yüzünde çözünebilir protein kılıfı ve FL, çekirdeğinde TG ve kolesterol içeren bir küredir(116,145). Çekirdekdeki lipidlerin protein ve FL'e bağlanması hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetleri ile olur. Bu bağlanma, Lp'lerin kendi aralarında ve plazma ile doku Lp'leri arasında, lipidlerin değiş-tokuşuna izin verecek kadar gevşek; Lp'lerin bütünlüğünü bozmayacak kadar sıkıdır(104).

Lp'lerin yapısında, lipid/protein oranı arttıkça, yoğunluğun azaldığı, buna karşılık molekülün büyüdüğü görülür(116,125). Bu önemli özellik, Lp'lerin hidrate yoğunluk ve elektroforetik hareketlerine göre, ayrılmalarını sağlar(18).

Lp'ler, dansitelerine göre, 4 büyük sınıfa ayrılır (standart sınıflandırma):

- Şilomikronlar,
- VLDL (çok düşük dansiteli lipoproteinler)
- LDL (düşük dansiteli lipoproteinler)
- HDL (yüksek dansiteli lipoproteinler).

Şilomikron ve VLDL, TG'lerin; LDL, kolesterolün; ve HDL, FL'lerin başlıca transport üniteleri olmakla beraber, her bir Lp sınıfı, diğer lipidleri de belli miktarlarda taşımaktadır(116,145).

2.2.1. APOLİPOPROTEİNLER

Apolipoproteinler (apolp.), Lp'lerin yapısında bulunan, lipid taşıyıcı protein ya da polipeptidlerdir. Günümüze kadar farklı özelliklere sahip A, B, C, D, E, F, G, H apolp'leri tanımlanmıştır(18).

Yaklaşık 60-250 amino asit içeren apolp'ler, diğer plazma proteinlerinden daha küçük yapıda olmakla beraber, kendi aralarında da hidrate yoğunluk ve molekül ağırlığı bakımından farklılaşırlar. Apolp'lerin en büyüğü Apo B ve en küçüğü Apo C'dir(2).

Apolp'lerin yapısında amfipatik heliks denilen lipid bağlayıcı bölgeler mevcuttur. Amfipatik heliksin dış polar yüzü serin, glutamin gibi suda çözünebilen amino asitlerden zengindir. Heliksin karşı ucunda bulunan ve tirozin, lösin, valin, triptofan amino asitlerini içeren hidrofobik yüz, FL'lerin yağ açıl zincirleriyle iyonik olmayan bir etkileşim içindedir(11,126). Apolp'lerin yapısında antijenik bölgeler de vardır. Bazı apolp'ler karbohidrat artıkları içerebilmektedir(2).

Apolp'lerin çoğu, birden fazla Lp sınıfında bulunmaktadır. Bununla beraber, apolp'ler, Lp'lerle olan ilişkileri dikkate alınarak sınıflandırıldığında, iki gruba ayrılabilir: Apo A₁, A₂ ve B gibi partikülün yapısal bütünlüğü için gerekli olanlar; Apo C, E gibi Lp'ler arasında değişim ya da net akış ile gidebilenler(126).

Lp'lerin yapısal bütünlük ve fonksiyonel özelliğinin başlıca belirleyicisi olan apolp'lerin, en az üç büyük fonksiyonu vardır(18,116,164):

- Apolp'ler, Lp'lerin yapısal bileşeni olup, lipidlerin bağlanmasını ve çözülmesini sağlar,
- Lipid-Lp metabolizmasıyla ilgili bazı enzimlerin kofaktörü veya aktivatörleridir,
- Lp'lerin hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlerle etkileşmesini sağlamak için, tanınma bölgeleri ya da bağlayıcı protein olarak görev yaparlar. Böylece, Lp'ler dolaşımdan çıkarılabilmekte ve katabolize edilmektedir.

Apolp'lere ait bazı özellikler Tablo II'de gösterilmiştir(18,116,164,171).

Tablo II. İnsan Plazma Apolipoproteinleri

Apolp'ler	Kaynak	Bulunduğu Lp Sınıfı	Molekül Ağırlığı(D)	Fonksiyon
A ₁	KC,bağırsak	HDL,şilomikron	28.000	LCAT aktivatörü HDL-reseptörünün bağlayıcı proteini
A ₂	KC	HDL	17.380	Hepatik lipaz aktivatörü?
A ₄	Bağırsak	Şilomikron	45.000	TG-transportu LCAT inhibitörü?
B-100	KC,bağırsak	Şilomikron,VLDL IDL,LDL	500.000	TG-transportu LDL reseptörünün bağlayıcı proteini
B-48	Bağırsak	Şilomikron-VLDL IDL	250.000	TG-transportu
C-I	KC	Şilomikron, VLDL,HDL	70.000	LCAT aktivatörü
C-II			10.000	LPL aktivatörü
C-III			10.000	Lp hücre etkileşiminin düzenleyicisi LPL inhibitörü
D	KC	HDL	20.000	Kolesterol esterinin transfer proteini
E ₂₋₄	KC	Şilomikron VLDL-HDL	34.000	LDL-ve artık-reseptörünün bağlayıcı proteini LPL inhibitörü?
F	?	HDL	30.000	
G	?	VLDL	75.000	
H	?	Şilomikron	45.000	
Apo(a)	KC	LDL, HDL	500.000	

2.2.2. APOLİPOPROTEİN A₁ (Apo A₁)

HDL'nin başlıca protein bileşeni olan Apo A₁, KC ve bağırsakta sentezlenir. Normal insan plazmasında bulunan Apo A₁'in % 90'ı HDL fraksiyonundadır (18,171).

Apo A₁ proteini 245 amino asit içeren, tek bir polipeptid zincirdir. Zincirin N-terminal ucunda aspartik asit; C-terminal ucunda ise glutamin bulunmaktadır. Apo A₁'in yapısında, amino asit artıklarının % 70'ini kapsayan 13 amfi-patik heliks bölgesi mevcuttur. Amino asitlerin bu yapısal düzenlenmesi ile, heliksin hidrofobik yüzü, fosfolipidin açıl grubuyla birleşerek, lipidin bağlanmasına yardımcı olur(11).

Apo A₁'in C- ve N-terminal yarısında bulunan en az iki antijenik bölge içerdiği gösterilmiştir. HDL yapısında N-terminal zincir, lipidler ve diğer apolp'lerle maskelendiğinden, sadece C-terminal zincir antikorlarla etkileşebilmektedir(2).

Apo A₁, HDL'nin yapısal bütünlüğünü koruduğu gibi, HDL'nin hücreler tarafından tanınmasını ve varolduğu sanılan artık-reseptörüyle etkileşmesini de sağlar(18,125,171). Ayrıca LCAT (lesitin-kolesterol açıltransferaz) enziminin aktivatörü olduğundan, dolaşımda bulunan kolesterolün esterleşmesini kolaylaştırır(18,125,126).

2.2.3. APOLİPOPROTEİN B (Apo B)

Apolp'ler içinde en büyük molekül kütesine sahip olan Apo B, sulu ortamda kümeleşmeye meyilli olduğundan, moleküler özelliği en az bilinen proteindir. Bununla beraber, HDL'nin dışında, tüm Lp'lerin başlıca protein bileşenidir (116,155,171).

Apo B'nin B-100 ve B-48 olmak üzere iki izoproteini vardır(2,18,155):

Apo B-100: KC'de sentezlenen Lp'lerin yapısında bulunur. 4536 amino asitten oluşmuştur. Sadece bir veya iki tane Apo B molekülü bu Lp'lerin yapısına katılmakta ve onların transformasyonları sırasında korunmaktadır.

Apo B-48: Bağırsakta sentezlenen, 2152 amino asit içeren küçük bir Apo B proteindir. Rat KC'inin B-100'ün yanında, B-48'i de sentezlediği gösterilmiştir.

Uzun süredir B-100 ve B-48'in ayrı genetik kontrol altında olduğu bilinirken; son görüşlere göre, her ikisinin de aynı gen tarafından kodlandığı, farklılığın mRNA seviyesinde ortaya çıktığı öne sürülmektedir(18,38).

Membrana bağlı poliribozomlarda sentezlenen Apo B, daha sonra endoplazmik retikulum (ER) boşluğuna salınır(171). MannoZ, galaktoz, fukoZ, glukoz, glukozamin ve sialik asit gibi karbohidratlar, Apo B'nin % 5-9'unu oluşturur. Oligosakkarit üniteleri proteine N-glikozidik bağla, asparajin artığından bağlıdır(125,126). Apo B'nin yapısında bulunan ve türlere göre farklılık gösteren antijenik bölgeler, bir hayli immunojeniktir(171).

Lp metabolizmasında Apo B'nin rolü büyüktür. VLDL ve şilomikron oluşumu ve dolaşıma salınımı; Apo B'nin sentezlenip bu Lp'lerin yapısına girmesiyle gerçekteşir(155). Apo B, LDL-reseptörü için, tanınma bölgесidir. Sinir sistemi ve eritrositlerin dışında, tüm dokularda LDL-Apo B reseptörü bulunmaktadırdır(18,155).

Apo B'nin katabolizması, başlıca LDL'nin metabolik sonu ile ilişkilidir. Bir kısım Apo B'de VLDL ve IDL ile birlikte dolaşımdan çıkarılmaktadır(155).

2.3. LIPOPROTEİN METABOLİZMASI

2.3.1. şİLOMİKRONLAR VE VLDL

Ekzojen TG'nin Taşınması: Diyetle alınan TG, kolesterol ve diğer lipidler, şilomikronlar aracılığı ile ince bağırsaklardan diğer dokulara ve KC'e taşınırlar. Bağırsak mukoza hücrelerinde sentezlenen şilomikronlar, hücreler arası boşluğa salgılanarak, bağırsağı drene eden lenf sistemine geçerler. Daha sonra duktus torasikus yoluyla dolaşıma katılırlar(125,164).

Endojen TG'nin Taşınması: KC'de, yağ asitleri, gliserol, karbohidratlar gibi diyetten gelen prekürsörler, endojen TG'nin kaynağını teşkil eder(80,171). Endojen TG, KC'de sentezlenen VLDL'ler tarafından taşınmaktadır. Hepatik parankima hücrelerinden disse boşluğuna salgılanan VLDL, hepatic sinusoidlere açılarak, dolaşıma karışır(125).

Bu Lp'lerin plazmada taşınmasına gelince; Apo A₁ ve B-48'i içeren yeni oluşmuş şilomikronlar ile Apo A₁ ve B-100'ü içeren VLDL'ler, dolaşıma katıldıklarında, hızla Apo C ve E ile birleşerek, olgun partiküllere dönüşürler. HDL, TG'den zengin bu partiküller için, Apo C ve E kaynağıdır(18,126).

Dolaşımda bulunan şilomikronlar ve VLDL, vücut dokularının kapiller duvarlarına bağlanır(145). Hücrenin endotelial yüzeyine polisakkarit zinciri ile tutunmuş olan Lipoprotein lipaz (LpL), bu bağlanmaya yardımcı olmaktadır (116). Bu Lp'lerin yapısında bulunan Apo C-II ile LpL arasındaki etkileşme, VLDL ve şilomikronların çekirdeğinde bulunan TG'lerin % 80-90'ının hidroliziyle sonuçlanır(116,145).

VLDL ve şilomikronlar, lipoliz sırasında, sadece gliserol ve yağ asitlerine ayrılan TG'lerini değil, yüzeylerini çevreleyen protein (A₁,C) ve lipid bileşenlerinin bir kısmını da kaybederler. HDL, bu lipoliz ürünlerinin toplayıcısıdır (65,126,155).

TG'lerini kaybettiği için, kolesterol ve esterlerinden zenginleşen şilomikron artıkları, Apo E-hepatik reseptör aracılığıyla KC tarafından alınıp ortadan kaldırılır(18,156). Bazı estrogen preparatlarının bu hepatik reseptörleri uyardığı ve remnant klirensini kolaylaştırdığı bilinmektedir(75).

Lipoliz sonucu kolesterol esterlerince zenginleşen, Apo B-100, E ve az miktarda Apo C içeren VLDL artıklarına IDL (intermediate-density lipoprotein) denilmektedir(164). IDL partiküllerinin bir kısmı, Apo E'ye afinitesi olan LDL- ve artık-reseptörleri aracılığıyla, KC tarafından alınmakta; bir kısmı da LDL'ye çevrilmektedir(155,164). VLDL artıklarının klirensinin azalması, daha çok LDL üretimine yol açar ki, bu da yüksek plazma LDL seviyeleri ile sonuçlanır(38).

IDL, hızlı bir şekilde LDL'ye çevrilirken, Apo C-II ve Apo E proteinlerini HDL'ye vermektedir(18). VLDL metabolizmasının son ürünü olan LDL, protein bileşeni olarak, sadece Apo B-100 içerir(155,164). Ratlarda ise, VLDL-Apo B'nin büyük bir kısmı KC'e geri taşınırken, küçük bir yüzdesi LDL fraksiyonunda kalmaktadır. Bu durum, rat VLDL'sinin Apo B-100 kadar Apo B-48 içermesine de bağlanabilir. Ratlarda hepatik Apo E reseptörlerinin B-100'den çok, B-48 için spesifik oldukları varsayılırsa, ratta IDL'nin hepatik alımının neden daha çok olduğu ve plazma LDL seviyelerinin neden çok düşük bulunduğu açıklanabilir(16,125).

2.3.2. LDL METABOLİZMASI

Dolaşımda bulunan kolesterol ve kolesterol esterlerinin başlıca taşıyıcısı olan LDL, ekstrahepatik dokularda kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinden sorumludur(116,164).

VLDL ve HDL'ye göre daha homojen yapıda olan LDL partikülü, merkezinde 1500 kolesterol esteri içeren bir küredir. Bu esterler, yağ açıl zinciri olarak, en çok linoleat ihtiva eder. LDL'nin hidrofobik çekirdeği, FL ve serbest kolesterolden oluşan bir kabukla çevrilidir. LDL'nin tek proteini olan Apo B-100 de bu kabukta yer almaktadır(116,160,164).

Fibroblastlar, düz kas ve damar endotel hücreleri, KC ve adrenal hücreleri gibi bir çok doku hücresi, lipid ve protein bileşenleri ile birlikte LDL partiküllerini alma kabiliyetindedir(126,171). BROWN ve GOLDSTEIN'in yaptıkları çalışmaların sonuçlarına göre, periferik dokular tarafından, LDL partikülünün alınması, spesifik bir proteinin (LDL-reseptörü) varlığını gerektirmekte ve "reseptör aracılı endositoz" denilen bir mekanizma ile gerçekleşmektedir(20, 21).

Reseptör-Aracılı Endositoz: LDL'nin Apo B-100 proteini, ekstrahepatik hücrelerin plazma membranında bulunan spesifik bir reseptör proteine bağlanır. Bu LDL-reseptörleri, membranda üzeri klatrinle kaplı özel çukurlarda lokalize olmuşlardır. LDL'yi bağlayan reseptör, endositozla hücre içine alınır. Bu kompleksi saran plazma membranının bir cep oluşturacak şekilde birleşmesi, endositotik vezikülleri meydana getirir. Daha sonra bu veziküller, klatrin örtülerini kaybederek, endozom denilen düz yüzeyle veziküllere dönüşür. Hatta, bir çok endositotik vezikülün biraraya gelerek endozomları oluşturduğu öne sürülmektedir. Endozom membranında bulunan proton pompasının pH'yı düşürmesi, reseptörün LDL partikülünden ayrılmasına yol açar. Serbestleşen reseptörler, endozomdan türeyen diğer bir küçük vezikül içinde, membrana geri taşınır. LDL'yi içeren veziküller, pek çok hidrolitik enzim ihtiva eden lizozomlarla kaynaşarak, sekonder lizozomları oluştururlar. Burada, LDL'nin protein bileşeni, proteazlarla amino asitlerine yıkılırken; lipid bileşenleri, asid lipazlarla (asidik kolesterol esteraz) hidroliz edilir. Böylece serbestleşen kolesterol, lizozom dışına yayılarak, membranların biosentezinde kullanılabilir

ya da hücrede depolanmak üzere yeniden esterleşebilir(116,145,164).

LDL partikülü, reseptör-aracılı endositoz yoluyla katabolize edilmesinin yanı sıra, feed-back regülasyona uğramayan, nonspesifik bazı yollarla da yıkılmaktadır(38,80,160,171). Bu yollardan birisi, "büyük hacimli endositoz" dur. Retiküloendotelial sistemin toplayıcı hücrelerinde ya da makrofajlarında meydana gelir(50,80,171). LDL-reseptörlerinin iyice doyurulduğu veya eksik olduğu, yani plazma LDL seviyelerinin çok yükseldiği durumlarda, toplayıcı hücreler dolaşımdan LDL'nin büyük bir kısmını alır. Kolesterol esterleriyle aşırı yüklenen bu hücreler, aterosklerotik plağın klasik komponenti olan "köpük hücre" görünümündedir. Bu yüzden, aterosklerotik plak için, kaynak teşkil edebilirler(50,80,160,171).

Sonuç olarak, LDL'nin % 60-70'i yüksek afinite reseptör yoluyla yıkılırken; geri kalanı, toplayıcı hücre sistemi tarafından dolaşımdan alınmaktadır(38, 171).

Hücre içinde serbestleşen kolesterolün başlıca üç düzenleyici fonksiyonu vardır(116,145,164):

- HMG-KoA redüktazın inhibisyonu,
- ACAT (açıl-KoA: kolesterol açıl transferaz) enziminin aktivasyonu,
- LDL-reseptör afinitesinin engellenmesi.

Kolesterol, düşük HMG-KoA redüktaz aktiviteleriyle yansıtıldığı gibi, redüktaz geninin transkripsiyonunu baskılayarak ve enzim proteinin yıkılmasını hızlandırarak, de novo kolesterol sentezini inhibe eder(120).

Fazla miktardaki serbest kolesterol, hücrede depolanmak üzere esterleşmesini sağlayan ACAT enzimini aktive etmektedir. ACAT'ın etkisiyle, uzun zincirli açıl-KoA molekülünün açıl grubu, kolesterole aktarılır. Bu reaksiyon irreversibldir. Çünkü yüksek enerjili tiyoester bağı (açıl-KoA), kolesterolün düşük enerjili karboksilat esterine çevrilmektedir. Hücrede yeniden esterleşen kolesterol, oleat, palmitoleat gibi monoansature yağ asitlerini içermesine rağmen; LDL'deki kolesterol esterleri, linoleattan zengindir(145).

Hücre yüzeyi üzerindeki LDL-reseptörlerinin sayısı, steroid hormonlar ve hücre için gerekli kolesterol miktarıyla düzenlenmektedir(50,75,160). Serbest kolesterol, mRNA seviyesinde, LDL-reseptör sentezini kontrol etmektedir. Re-septör sentezinin azalması, ekstraselüler kolesterol seviyeleri çok yüksek olduğunda bile, hücreye gerekenden fazla kolesterol alınmasını önleyecektir (116).

Normal kolesterol metabolizması için gerekli olan LDL-reseptörleri, 115 kD ağırlığında, bir glikoproteindir. 839 amino asit artığından oluşan polipeptid zinciri ve bu zincire O-glikozidik bağla bağlanmış 18 oligosakkarit ünitesinden meydana gelir. LDL-reseptörü kendi yapısı içinde 5 farklı bölgeye ayrılır. Hücre membranının dışında bulunan N-terminal bölgesi, LDL'yi bağlamaktadır. Hiperkolesterolemi ya da ateroskleroza yol açan pek çok LDL-reseptör mutasyonları tanımlanmıştır. En yaygın olarak bilinen mutasyon, reseptörün yeterli düzeyde sentezlenememesidir(21,160,164).

2.3.3. HDL METABOLİZMASI

HDL, Lp'ler içinde hem en küçük hem de en heterojen partiküldür. Lipid ve protein oranı hemen hemen birbirine eşit olan HDL'nin başlıca lipid bileşenleri; FL (lesitin ve sifingomiyelin), kolesterol ve kolesterol esteridir. Protein bileşenleri ise, Apo A₁, A₂, Apo C'ler ve daha az miktarlarda Apo D ve E'dir. Apo A₁, HDL'nin total protein kütlesinin % 60-70'ini teşkil eder(62,125, 126,155).

HDL, ultrasantrifüjde, iki alt gruba ayrılmaktadır(65,126):

HDL₂: 1.063-1.125 g/ml

HDL₃: 1.125-1.210 g/ml

HDL₃'e göre, lipid içeriği daha fazla olan HDL₂ alt grubu, Apo A₁ ve C' den de daha zengindir(171).

HDL'nin heterojenitesi, sentez yerlerinin çokluğuyla, kısmen açıklanabilir. HDL; KC, bağırsak ve lenf sisteminde sentezlenmektedir. Ayrıca şilomikron ve VLDL'lerin hidrolizi, HDL'nin diğer kaynaklarıdır(18,65).

Apo E, lesitin ve serbest kolesterolden zengin, Apo A₁'den fakir, henüz oluşmakta bulunan HDL partikülü, KC'den dolaşıma salgılanır. Bağırsakta sentezlenen HDL'lerin ise, başlıca proteini Apo A'dır(65,126,145).

Apoprotein-lesitin-kolesterol çift tabakalarını içeren, disk şeklindeki bu partiküller, LCAT reaksiyonunun en iyi substratlarıdır. Çünkü, bu HDL partikülünün, tam HDL'ye dönüşmesi için; kolesterolün, kolesterol esterine çevrilmesi gerekir(80,137). KC'de sentezlenerek dolaşıma salınan ve Apo A₁ ile aktive edilen LCAT; HDL'nin yüzeyinde, lesitin yağ açıl grubunu kolesterolle aktararak, sağlam küresel HDL partikülünün oluşumunu kolaylaştırır(116, 145). Apolar özellikte olan kolesterol esteri, kendisine hidrofobik bir çevre aradığından, lesitin-kolesterol çift tabakasını ayırıp, molekülün çekirdeğine doğru hareket eder. Disk şeklindeki HDL partikülü, küre halini alıncaya kadar LCAT reaksiyonu devam etmekte ve sonuçta HDL₂ oluşmaktadır(18,60, 125).

Yeni sentezlenen kolesterol esterinin HDL'nin çekirdeğine taşınması, Apo D'nin yardımıyla olur. Apo D kolesterol esterini transfer eden protein olarak bilinir(145,171). Ayrıca HDL'nin kolesterol esteri, lipid taşıyıcı protein (muhtemelen Apo D) aracılığıyla, LDL, VLDL, şilomikron gibi daha düşük dansiteli Lp'lere taşınabilmekte ve hatta HDL ile bu Lp'ler arasında değiş-tokuş edilebilmektedir(18,74,125).

TG'den zengin Lp'lerin hidrolizi ile açığa çıkan lipoliz ürünleri, HDL₂ tarafından toplandığı için, partikül giderek büyümekte ve lipidden zenginleşmektedir. LCAT reaksiyonunun katkısıyla da HDL₂ partikülleri oluşmaktadır(137).

HDL, Lp metabolizması sırasında, apolp'lerin kaynağı olduğu gibi, lipoliz ürünlerinin de toplayıcısıdır. Bununla beraber, HDL'nin en önemli fonksiyonu hâlâ hipotetik seviyede olan, kolesterolün geri taşınma mekanizması ile ilgilidir(18,171). HDL'nin var olduğu sanılan HDL-reseptörü (Apo A₁'e karşı afinitesi yüksek) ile etkileşerek; periferik hücrelerden (fibroblast, aortun düz kas hücreleri, damar endotel hücreleri, makrofaj), kolesterolü aldığı ve KC'e geri taşıdığı öne sürülmektedir. HDL'nin hepatik tanınması, Apo E reseptörleri aracılığıyla olur(18,156).

HDL tarafından alınan kolesterol LCAT reaksiyonuyla esterleştirildikten sonra, ya HDL ile ya da HDL ve diğer Lp'ler arasında gerçekleşen ester transferini takiben, VLDL ve şilomikron artıklarıyla KC'e taşınmaktadır(18,74,171).

Ayrıca HDL, "toplayıcı hücre sistemi" aracılığıyla kolesterol esterleriyle aşırı yüklenen toplayıcı hücrelerden, kolesterolü alarak, bu hücreleri kendi normal lipid seviyelerine geri çevirmektedir. Bu şekilde Apo E ve lipidden zenginleşen HDL, "HDL_c" olarak tanımlanır. HDL_c, Apo E aracılığıyla hepatic reseptörlere bağlanabilmektedir(160,171).

Sonuç olarak HDL, iki farklı şekilde topladığı kolesterolü, steroid üreten hücrelere ya da KC'e bırakmak suretiyle dolaşımdan uzaklaştırmaktadır(160).

KC'de kolesterolün başlıca metabolik sonu, safra asitlerine dönüşmesidir(38, 116). Kolesterolün safraya boşaltılmasında da HDL'nin rol oynadığına kuvvetle inanılmaktadır. Endotelial hepatic lipaz tarafından HDL₂-FL'lerinin hepatic hidrolizi, bu yola iştirak ediyor olabilir. Hepatic lipaz, HDL₂ katabolizmasını aktive ederek ve/veya potansiyel olarak bir kısım HDL₃ partiküllerini oluşturarak bu yola katılabilir(60,78,170).

Bağırsağa boşaltılan safra asitleri, en sonunda vücuttan tamamen atılmaktadır (38,116).

2.3.4. HEPATİK LİPAZ

Hepatic lipaz (HL; triaçilglisero-protein açilhidrolaz; EC 3.1.1.3) postheparin plazma aktivitesine katılan, plazma Lp'lerinin metabolizmasında ve birbirine dönüşümünde önemli rol oynayan lipolitik bir enzimdir(76,98,159,170).

Enzimin heparine bağlanma kabiliyeti, temel özelliklerinden olup LpL'ın ekstrahepatik dokulardaki yerleşimine benzer şekilde, HL'ın KC'deki konumunu açıklamaktadır(170). KC'in parankima hücrelerinde sentezlenip salınan HL, normal şartlarda, heparin-benzeri makromoleküllere bağlı olarak, KC sinusoidlerinin endotel hücreleri üzerinde bulunur(77,81,167,170). HL, bu yerleşim yerinden, heparin enjeksiyonuyla, vasküler bölümde serbestleşebilir(81,159,173). Konkanavalin A'ya olan afinitesinden dolayı, enzimin glikoprotein yapıda olduğu bilinmektedir(98,159,170).

Postheparin insan plazmasından ve rat, köpek gibi türlerin postheparin KC perfuzatlarından saflaştırılan HL'in molekül ağırlığı, 57.000-65.000 D sınırları içinde bulunmuştur. Buna karşılık, KC homojenatlarından saflaştırılan HL ise, 53.000 D molekül ağırlığındadır(29,98,159,170).

HL'in molekül ağırlığındaki bu farklılıklar, enzimin glikoprotein yapıda olmasına dayanarak açıklanabilmektedir. Son yıllarda rat hepatositlerinde yapılan mRNA çalışmalarına göre, HL, post-translasyonel modifikasyona uğramaktadır. HL'in 47.000 D ağırlığındaki proenzim formu, ER'da mannoz üniteleri ile N-glikozidik bağ yaparak glikozillenmektedir. 53.000 D ağırlığındaki kısmen glikozillenmiş olan bu peptid, HL'in hücre içindeki başlıca öncülü ve depo şeklidir. Daha sonra bu glikopeptid, Golgi kompleksinde bir takım değişikliklere uğramakta ve mannoz ünitelerini kaybedip daha kompleks oligosakkaritlerle glikozillenmektedir. Enzimin 59.000 D ağırlığındaki olgun formu, sialik asitten zengindir. Olgun HL depolanmadığı için salınmakta ve hemen hepatik endotelial bölgeye ulaşarak kuvvetli bir şekilde bağlanmaktadır. Dolayısıyla aktif ya da inaktif formların yokluğu, bu bağlanmanın spesifik oluşunu gösterir(29,98,159,170).

Denatüre edilmeyen şartlarda, rat KC homojenatlarında HL'in molekül ağırlığı 150.000-200.000 D sınırları içinde bulunmuştur. Bu, olgun HL'in bir oligomer olduğunu ve trimer ya da tetramer şeklinde fonksiyon yaptığını göstermektedir(159).

Ratta HL'in primer yapısı 472 amino asitten oluşmaktadır. Ayrıca zincirin başında 22 amino asit artığını içeren hidrofobik peptid bölgesi vardır. Polipeptid zinciri üzerindeki 57-59 ve 376-379. artıklar glikozillenme bölgelerini; 169-233.artıklar homolog santral bölgeyi; 140-149 ve 261-270.artıklar lipid bağlanma bölgelerini temsil eder(89).

İnsanlarda ise HL, 22 ya da 23 amino asit artığını içeren bir sinyal peptid ve 476 amino asitten oluşan polipeptid zincirinden meydana gelmektedir. Rat HL'ından farklı olarak, 3 veya 4 tane glikozillenme bölgesi içermektedir(5, 159).

Son yıllarda HL'in LpL/pankreatik lipaz (PL) gen familyasının bir üyesi olduğu gösterilmiştir(39). HL'in yapısındaki santral bölge, aynı şekilde PL ve LpL'da da bulunmaktadır(5,39,159). Enzimin lipolitik aktivitesinden sorumlu olan ve serin artığı içeren katalitik yer, bu homolog bölge içinde yer almaktadır(5). Rat HL'ında katalitik yerde bulunduğu tespit edilen Ser¹⁴⁷, katalitik yerin yapısal bütünlüğünün sürdürülmesi için gereklidir. Ser¹⁴⁷'nin diğer bir fonksiyonu da, HL'da esteraz katalitik yerin dışında bulunan lipid arayüzey bağlanma bölgesini aktive etmesidir(39). Lipaz enzimlerinin birbirinden farklı substrat spesifiteleri, arayüzey özellikleri ile belirlenir(76).

Lipaz enzimlerinin yapısal benzerliğine rağmen, HL'ı LpL'dan ayıran birçok özellik de mevcuttur. Maksimum aktivite için Apo C-II'ye gerek duyan LpL, 1 M NaCl gibi tuz konsantrasyonlarında inhibe olmaktadır(76,170). Apo A₂'nin HL aktivitesini stimüle ettiği bildirilmiş olmasına rağmen(156), HL'in aktivasyonu için bir kofaktöre gerek yoktur. HL yüksek tuz konsantrasyonlarında aktivitesini korumakta, NaCl ve protamin (SO₄)'le inhibe olmamaktadır (76,159,170). HL'in optimum pH'sı 8.9 olup, 8.5-9.5 sınırları içindedir(159).

Günümüzde HL'in yapısal özellikleri daha iyi belirlenmekle beraber, in vivo fonksiyonları henüz tam bir kesinlik kazanmamıştır(159,170,173). Fosfolipaz ve TG-lipaz aktivitelerine sahip olan HL, bir açilesterhidrolazdır(159). İn vitro olarak, HL'in triaçilgliserol-, monoaçilgliserol-hidrolaz ve fosfolipaz A₁ aktiviteleri hem yapay emülsiyonlar hem de Lp substratları üzerinde gösterilmiştir(29). HL'in VLDL-TG, HDL₂-TG, HDL₂-FL ve HDL₃-FL için K_m değerleri sırayla 1.57; 0.18; 0.32 ve 0.43 mM olarak bulunmuştur(159). HL, açil-KoA tiyoesterlerini, FL'leri, mono-, di-, trigliseridleri ve açilester bağı içeren diğer birçok lipidin hidrolizini katalizlemektedir. Yağ asitlerinin zincir uzunluğu HL aktivitesini etkilememekte fakat yapıdaki doymamışlık aktiviteyi artırmaktadır(159).

HL'in lipid metabolizmasındaki rolü, HL eksikliği olan kişilerde plazma Lp bileşenlerinin ölçülmesiyle anlaşılmaya çalışılmıştır(40,170). Ayrıca, HL'in in vivo inhibisyonunun, Lp metabolizmasına etkileri değerlendirilerek, HL'in fonksiyonlarına yaklaşımda bulunulmuştur(81,167,170).

HL'in in vivo fonksiyonları

- HL'in, LpL reaksiyonuyla üretilen şilomikron ve VLDL artıklarının katabolizmasına iştirak ettiği; ayrıca IDL'nin LDL'ye dönüşmesi için IDL-TG'lerin hidrolizini katalizlediği öne sürülmektedir(40,66,76,167). Böylece HL, LDL partiküllerinin düzenleyici bir elemanı olacaktır(159,170).

- IDL-Apo E reseptör etkileşmesinde HL'in rolü olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca HL-fosfolipaz aktivitesinin Apo E metabolizması ile de ilgili olduğu sanılmaktadır(170). Apo E'nin VLDL'den HDL'ye taşınması, HL'in varlığını gerektirmektedir(66,170). Böylece HL'in diğer Lp substratları üzerindeki etkisiyle, dolaşımda HDL₂ oluşturulabilmektedir(159).

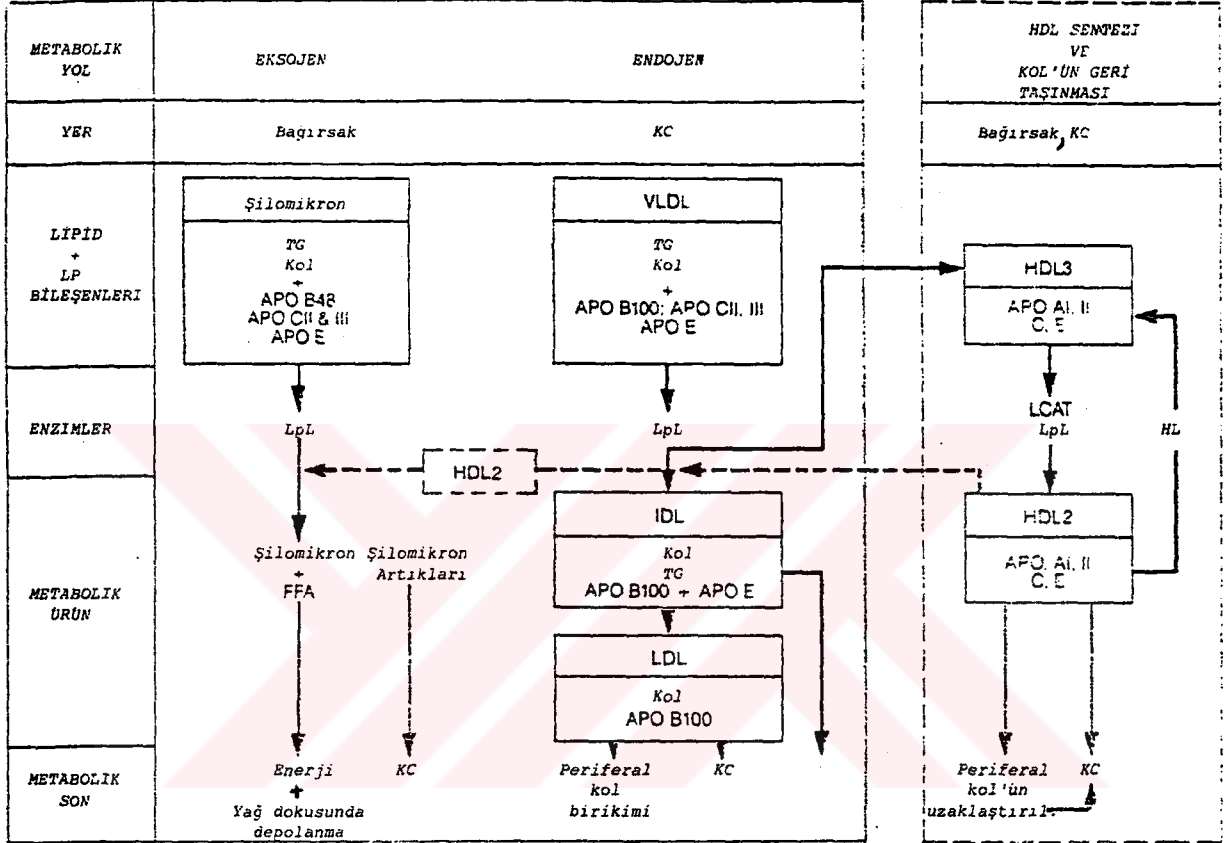
- HDL metabolizmasında ise, LpL'a zıt bir şekilde, HDL₂'nin degradasyonunda rol oynadığı; HDL₂'yi HDL₃'e çevirmek için, HDL-FL'leri ve VLDL'den HDL'ye aktarılan HDL-TG'lerini hidrolizlediği varsayılmaktadır. Böylece, HL, HDL'nin iki alt gruba ayrılmasını düzenleyen bir enzim olmaktadır(30,77, 78,170).

- HDL-kol'ün KC tarafından alınmasında ve KC'deki HDL siklusunda, HL'in rol oynadığı öne sürülmektedir(78). HL, HDL'yi modifiye eden bir fosfolipaz olarak görev yapmakta; yani, serbest kolesterol/fosfolipid oranını değiştirmektedir. Böylece, HDL tarafından kolesterolün KC'e bırakılması kolaylaşmaktadır. HDL₂-kol'ün KC'e taşınmasına ilaveten, KC'de HDL₂-FL ve -TG'lerin HL tarafından hidroliz edilmesi, diğer bir delipidasyon yoludur ve daha küçük HDL partiküllerinin (HDL₃) dolaşıma salınmasıyla sonuçlanır(78, 170).

HL sentezi hormonal kontrol altındadır(174). HL aktivitesi genelde, bayanlara göre erkeklerde daha yüksektir(75,174). Hem endojen hem de ekzojen seks steroidlerinin HL'ı modüle ettiği bilinmektedir(173,174). Doğal ve sentetik estrogenler, HL aktivitesinin azalmasına bağlı olarak, HDL₂'nin selektif akümülyasyonuna yol açar. Buna karşılık stanozolol gibi anabolik androjenlerin uygulanması, HL'ı indüklemekte ve HDL₂ seviyelerini düşürmektedir(159,170).

Hipotiroidizm de postheparin HL aktivitesinin bastırıldığı diğer bir durumdur (170).

Lipoprotein metabolizması, şematik olarak Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Lipoprotein Metabolizması

2.4. LİPID PEROKSİDASYONU

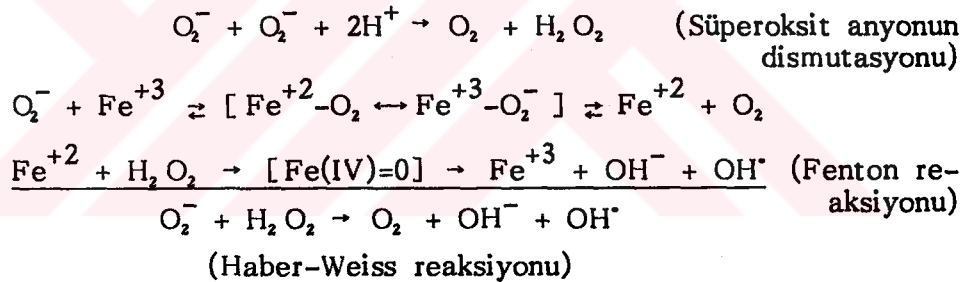
Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan (fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan) poliansatüre yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından, peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur(58,67).

Serbest radikaller, bir ya da daha çok eşleşmemiş elektronları içeren moleküllerdir(58). Eşleşmemiş iki elektronu nedeniyle, kararsız yapıda olan moleküler oksijenin (O_2) redüklenmesi, süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^\cdot), singlet oksijen (1O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi, serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır(24,143,189). Lipid peroksidasyonuna yol açan bu

radikaller, hem ekzojen, hem de endojen kaynaklı olabilirler(90). Antibiyotikler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar, fotokimyasal maddeler, sigara dumanı, iskemi, hiperoksi durumu, inflamasyon ve radyasyon gibi çevresel faktörler, serbest radikallerin ekzojen kaynaklarıdır(58). Biyolojik sistemlerde, normal metabolizma sırasında da oksijen radikalleri üretilmektedir. Mitokondriyal elektron transport zinciri, mikrozomal sistem, fagositoz olayı, peroksisomlar ve çeşitli sitozolik enzimler, bu radikallerin endojen kaynaklarıdır(58,90).

Süperoksit anyonu, nispeten inert bir ajan olmasına rağmen, geçiş elementlerinin katalitik etkisiyle, son derece aktif hidroksil radikallerine çevrilebilir (Haber-Weiss reaksiyonu)(24,189). Süperoksit radikallerinin enzimatik ya da spontan dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit de, hidroksil radikallerinin üretilmesine olanak sağlamaktadır (Fenton reaksiyonu)(24,143,189).

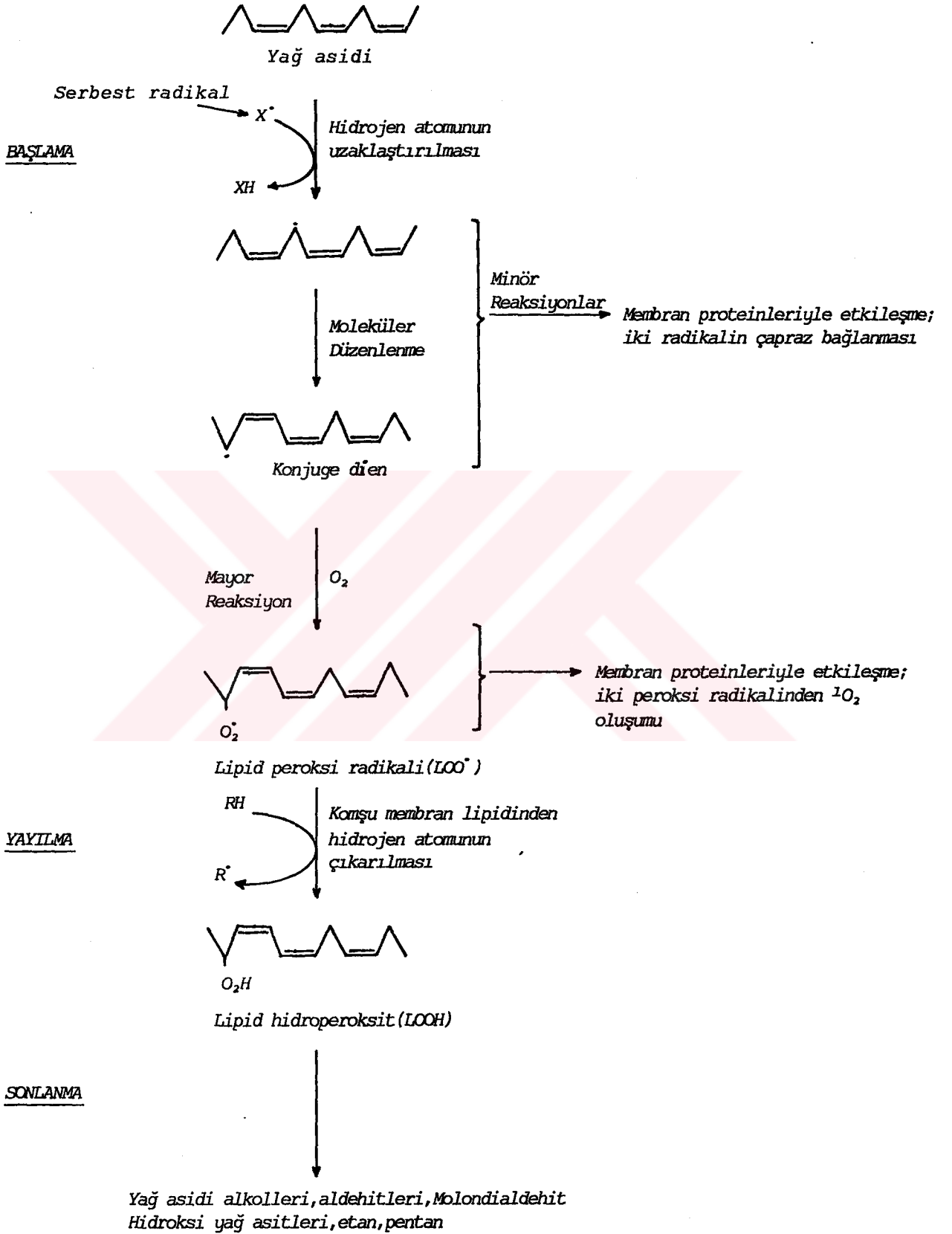
Bu reaksiyonlar, aşağıda gösterildiği gibi formüle edilebilir:



Lipid Peroksidasyonunun Mekanizması: Biyolojik membranlarda serbest radikallerle indüklenen lipid peroksidasyonu, başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları şeklinde değerlendirilebilir(Şekil 2)(31,67,90).

Peroksidasyon; serbest radikallerin, poliansature yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar(67). Fe ve Cu gibi eşleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş metal iyonlarının varlığı, peroksidasyonun başlaması için gereklidir(24,58,67).

Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bıraktığından, karbon-merkezli radikal (L) oluşumuna yol açar. Bu lipid radikali konjuge dien şekline çevrildikten sonra, moleküler oksijenle



Şekil 2. Biyomembranlarda, Serbest Radikallerle İndüklenen Lipid Peroksidasyonu

reaksiyona girerek, peroksi radikalini (LOO^*) üretir(67,90). Bu radikaller, diğ er bir peroksi radikaliyle birleşebilirler, ya da membran proteinleriyle etkileşebilirler. Fakat en önemlisi, peroksi radikallerinin membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece, yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılmasıyla, her defasında lipid hidroperoksitleri ($LOOH$) ve yeni bir peroksi radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon, bir kere başladıktan sonra, otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zincirleri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir(31,58,67,90).

Yayıma zincirinin uzunluğu, membrandaki lipid/protein oranı, yağ asidi bileşimi, oksijen konsantrasyonu, zincir reaksiyonunu kesen antioksidanların (vitamin E gibi) varlığı gibi pek çok faktöre bağlıdır(67). Örneğin, poliansature yağ asidi içeriğinin artması, peroksidasyona olan duyarlılığı artırmakta; hal-buki kolesterolün varlığı, peroksidasyonu baskılamaktadır. Normal insan eritrositlerinde, lipid peroksidasyonunun derecesi ile membran kolesterol konsantrasyonu arasında, belirgin bir negatif korelasyon bulunmuştur(31).

Fe ve Cu iyonları, ya da bu iyonların basit kelatları, hem, hemoglobin ve miyoglobini de içeren bazı demir proteinleri, lipid hidroperoksitlerini bozarak, peroksidasyonu sonlandırmaktadırlar. Bu kompleks bozunma reaksiyonlarının ürünleri; etan ve pentan gibi hidrokarbon gazları, $ROOH$, $RCOOH$, $R-OH$ ve $R-CHO$ gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanmaktadır(58,67).

Açığa çıkan bu ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskositesini önemli ölçüde etkilemektedir. Lipid hidroperoksitleri ve lipid peroksi radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi, aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek toksik etkilerini göstermektedirler(58,67).

Peroksidasyon sonucu üretilen MDA, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olarak, deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, iç membranın bazı özelliklerini değiştirmekte ve diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girmektedir. MDA, bu etkilerinden dolayı,

mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir(58).

Lipid peroksidasyonunun yapısal hasara yol açmasının yanısıra, günümüzde bunun tersi, yani yapısal hasarların da lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir(42,67). Çünkü, hücre ve doku harabiyeti sonucu, peroksidasyonu stimüle edebilen geçiş metal iyonları, hasar görmüş hücrelerden salınarak, bu hücrelerdeki antioksidan mekanizmaları iyice zayıflatmaktadır(67).

Eritrositlerde Lipid Peroksidasyonu: Yüksek konsantrasyonda poliansature yağ asitleri, moleküler oksijen ve güçlü bir metal katalisti içeren eritrositlerin, peroksidasyona maruz kalmaları beklenebilir(31).

Oksihemoglobinin methemoglobine oto-oksidasyonu, süperoksit anyonlarının üretilmesine yol açmaktadır. Metalle katalizlenen Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları, hemoglobinin redoks drogları ve ksenobiyotiklerle etkileşmesi, eritrositlerde radikal üretiminin diğer kaynaklarıdır(31,58). Eritrosit membranında FL'lerin yapısında bulunan poliansature yağ asitlerinin allilik hidrojenleri, azalmış bağ dissosiyasyon enerjisinden dolayı, oksidatif hasara karşı özellikle duyarlıdır(31).

Serbest radikaller, peroksidasyonun yanısıra, membran bütünlüğünün bozulmasına, eritrosit enzimlerinin inaktivasyonuna ve hemoglobin molekülünün denatürasyonuna neden olmaktadır. Çekirdeği olmayan olgun eritrosit, protein sentezleyemediği için, hasar görmüş komponentleri yerine koyamamaktadır. Böylece oksidatif hasar, eritrositlerde sürekli bir defekti indüklemekte, hemolitik hastalıklara ve yaşlanmaya iştirak etmektedir(31,77).

Bununla beraber, normal eritrositlerin oksidatif hasara karşı dayanıklı olduğunu gösteren çalışmalar; katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, redükte glutatyon ve vitamin E içeren antioksidan mekanizmalarla kısmen açıklanabilmektedir(31).

2.5. SEKS STEROİDLERİ

Seks steroidleri, içerdikleri karbon atomu sayısına göre, başlıca üç grupta toplanırlar(160):

Projestinler: 21-karbonlu serilerdir. Pregnan çekirdeği temel yapıyı oluşturur.

Androjenler: 19-karbonlu serilerdir. Androstan çekirdeği taşırlar.

Estrojenler: Estran., ya da 19-nor androstan denilen 18-karbonlu steroid iskeletine sahiptirler.

Tüm steroid hormonların biyosentetik kaynağı, kolesteroldür(116). Steroid sentezi için, kolesterol esterinin hidrolizlenmesi ve kolesterolün mitokondriye taşınması, ön şarttır(116,145). Şekil 3'de görüldüğü gibi, kolesterol desmolaz denilen enzim kompleksi, kolesterolün yan zincirinde C-20 ve C-22 noktalarını hidroksilleyerek ve bunu takiben yan zinciri ayırarak (desmolaz reaksiyonu) pregnenolonu oluşturur(160).

Bu iki hidroksilasyon reaksiyonu ve sentez sırasında oluşan diğer hidroksilasyonlar; NADPH, O₂ ve sitokrom P-450'yi kullanan miks fonksiyonlu oksidazlar tarafından katalizlenmektedir(116,145).

Pregnenolonun dehidrojenasyonu, diğer tüm steroid hormonların öncülü olan projesteronu meydana getirir(116,160,164).

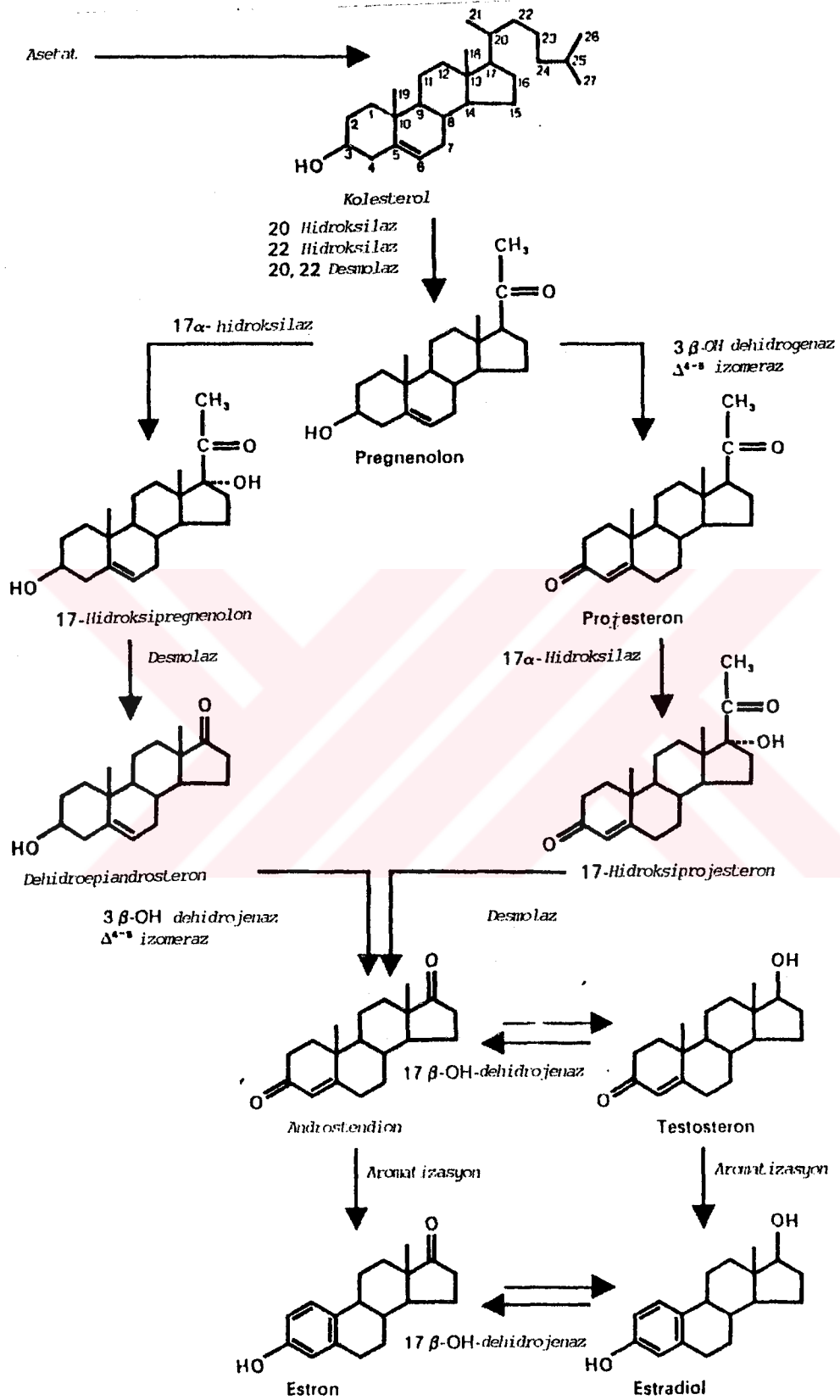
Projesteronun C-17'de hidroksillenmesi, C-17-20 bağının oksidatif yıkımı ve bunu takiben 17-OH grubunun oksitlenmesi sonucu, androstendion oluşur. Androstendionun redüklenmesi ise, testosteronu meydana getirir(145).

Androjenler grubuna giren androstendion ve testosteron, estrojen sentezinin öncülleridir(125,145,160). Androjenler, aromataz enzim kompleksi (miks fonksiyonlu oksidaz) tarafından katalizlenen 3 hidroksilasyon basamağından sonra, C-18 fenolik steroid estrojenlere dönüşmektedir(Şekil 3)(83,125).

2.5.1. ESTROJENLER

Dişi seks steroidleri olarak bilinen, başlıca doğal estrojenler; estradiol (17-β), ve estrondur(125,160,171). Estrojenler, dişi seks organlarının ve sekonder seks karakterlerinin gelişmesi ve sürdürülmesinden sorumludur(116,164).

Estradiol ve estron, dişilerde başta overler olmak üzere, renal korteks ve gebelerin plasentasında, androjenik hormonlardan sentezlenir(83,160). Estrojen-



Şekil 3. Seks Steroidlerinin Biyosentezi

lerin overlerdeki sentezi ve salgılanması, siklik nitelikte olup "iki hücre sistemi" ile açıklanmaktadır. FSH reseptörlerini içeren granuloza hücreleri ve LH reseptörlerini içeren teka hücrelerinin kooperatif çalışması sonucu, sentez gerçekleşir(160).

Ayrıca KC ve yağ dokusu, cilt gibi periferik dokular, dolaşımda bulunan androstendiondan, estron sentezleyebilmektedir. KC hücrelerinde, estradiol ve estron, 17- β -hidroksidehidrojenazın katalizlediği reversibl bir reaksiyonla birbirine dönüşebilmektedir. Overlerde sentezlenmeyen estriol ise, estron ve estradiolün periferik bir metabolitidir ve daha zayıf hormon etkisine sahiptir (83,160).

Estrojenik hormonların büyük kısmı, plazmada SHBG (seks hormonu bağlayan globulin) denilen bir β -globülinle; az bir kısmı da albüminle taşınmaktadır. Yaklaşık % 1-2'si proteine bağlı olmadan, serbest taşınan estrojenlerin bu fraksiyonu, hormonal aktivite gösterir(125,160).

Estrojenler, KC'de sülfo- ve glükuro-konjugatlarına çevrildikten sonra, safra ve idrarla atılmaktadır(125,171).

2.5.2. PROJESTERON

Diğer steroid hormonların öncülü olan projesteron, estrojenler gibi, dişi seks hormonudur. Projesteronun başlıca fonksiyonları; ovumun dölllenmesini kolaylaştırmak, dölllenmiş ovumun implantasyonu için uterusu hazırlamak ve gebeliğin sürdürülmesini sağlamaktır(83,164,171).

Projesteron başlıca overlerden ve siklik bir şekilde salgılanır. Ovulasyondan sonra, folikülün korpus luteuma dönüşmesiyle projesteron salınımı artmaktadır. Gebelik sırasında ise, projesteronun başlıca kaynağı plasentadır. Bir miktar projesteron da, renal korteksten dolaşıma katılır(125,160).

Projesteron, plazmada, kortikosteroid hormonları da bağlayan, taşıyıcı protein, transkortinle taşınmaktadır. Projesteronun % 2-10'u plazmada serbest halde bulunur(160,171).

Projesteron, KC'de hızlı bir şekilde, başlıca metaboliti olan pregnandiole çevrilir. Glükuronik asitle konjuge olan pregnandiol ise, böbreklerden itrah edilir(83,125).

2.5.3. ESTROJEN VE PROJESTERONUN ETKİ MEKANİZMASI

Tüm steroid hormonları gibi, estrojenler ve projesteron da, transkripsiyon hızını artırmak suretiyle, gen ifadesini düzenleyen steroidlerdir. Her ikisi de, hedef organ hücrelerinde, kendilerine ait reseptörlere bağlanarak, etkilerini gösterir(125,145).

Etki mekanizmaları aynı olmakla beraber, projesteron; genellikle estrojenle sinerjik bir şekilde etkileşerek, kendine özgü fonksiyonları gerçekleştirir. İki hormon arasındaki bu etkileşme tek yönlüdür: Estrojenler, projesteronun akti-vitesini artırırken, projesteron antiestrojenik etkinlik göstermektedir(83,160).

Estrojenlerin projesteron üzerindeki etkisi, "priming olayı" ile açıklanır. Estrojen hedef hücrede projesteron-reseptör sentezini ve dolayısıyla sayılarını artırarak, hedef hücrenin hormona olan duyarlılığının artmasına yol açmaktadır. Buna karşılık projestinerler, hedef hücrelerde estrojen reseptör sentezini azaltırlar. 17- β -hidroksidehidrojenazı aktive ederek, estradiolün daha zayıf etkili estrona dönüşümünü kolaylaştırırlar. Ayrıca, estrojen-sülfotransferazı indükleyerek, inaktif sülfat metabolitlerinin oluşumunu artırırlar. Bu olaylar, projesteronun antiestrojenik etkinliğinin başlıca nedenleridir(83,160).

2.6. SENTETİK SEKS STEROİDLERİ

Doğal estrojenler ve projesteron, oral yoldan kullanıldığında, KC'de önemli ölçüde inaktive edildiklerinden, biyoyararlanımları düşüktür. Buna karşılık, sentetik yapıda olanlar, KC'de yavaş inaktive edilirler ve oral yoldan kullanılma üstünlüğüne sahiptirler(19,83).

Sentetik seks steroidleri, günlük hayatta çeşitli amaçlarla ilaç olarak kullanılmaktadır. Kontrasepsiyonu sağlamak için oral yoldan kullanılan steroidler; bazı estrojen ve projestin türevleridir. Bunlar ayrı ayrı uygulanabildikleri gibi, estrojen/projestin kombinasyonu şeklinde de kullanılmaktadır(83,136,166).

Kombine preparatlardaki estrojen ve projestin dozları, "yerine koyma" tedavisinde kullanılan dozların çok üstünde olduğundan, suprafizyolojik yani farmakolojik dozlar olarak kabul edilmektedir(83).

Hipotalamus ve hipofiz üzerine inhibitör etki yapan estrojen/projestin (E/P) kombinasyonları, ovülasyonu önleyerek kontrasepsiyona neden olurlar. Projestin komponenti, LH salınımını baskılamak; estrojenik ajan, FSH salınımını inhibe etmektedir. Bu nedenle antiovulatuvar etkiden sorumlu olan esas komponent estrojendir. Projestinler, estrojenlerin inhibitör etkinliğini artırır (125,160).

2.6.1. ESTROJEN TÜREVLERİ

Kombine preparatlarda kullanılan sentetik steroid yapılı başlıca estrojenler, 17- α -etininil estradiol ve türevleridir(19,23,79).

Etininil Estradiol (EE): Estradiolün 17.pozisyonuna etininil grubunun girmesi(alkillenme), en güçlü oral estrojeni oluşturmaktadır. 17- α -etininil grubu KC'de inaktivasyonu yavaşlatarak, estrojenik etkinliği artırmaktadır(Şekil 4)(83,160, 166).

Günümüzde kullanılan kombine preparatlarda, EE dozu 50 μ g'ın altındadır. Genellikle 30-35 μ g EE dozları tercih edilmektedir(19,57,166).

Farmakokinetik çalışmalar, oral yolla kullanılan EE'nin en çok iki kompartımanlı dışa açık modele uyduğunu göstermiştir(62). EE, enterohepatik dolaşım yoluyla, ilk geçiş etkisine maruz kalmaktadır(55,64). Yani, oral olarak uygulanan dozun bir kısmı (% 52-62), sistemik dolaşıma katılmadan önce, KC ve intestinal duvarlarda biyotransformasyona uğrayarak, inaktive edilmektedir(62, 64). Bu yüzden oral yolla kullanılan EE'nin biyoyararlanımı % 38-48'dir(64).

GOLDZIEHER(64), EE'nin yarılanma ömrünün 10 saat olduğunu öne sürerken; STANCZYK(161), LNG ile kombine preparatlarda bu süreyi 12 saat; SAPERSTEIN(154) ise, NET ile kombine preparatlarda 11.1 ve 10.2 saat olarak bildirmiştir.

Mestranol: EE'nin 3-metil eteridir. KC'de metil grubunu kaybederek, EE'ye dönüştükten sonra etkinlik kazanmaktadır(83,160,166). Buna rağmen, EE aktivitesinin ancak yarısına sahiptir(83,160). Mestranol içeren preparatların hepatokarsinoma riskini artırdıkları saptandıktan sonra, kullanımları iyice azalmıştır(136,193).

Bugün, genellikle kombine preparatların hemen hemen hepsi, estrogen komponenti olarak EE içerdiğinden; preparatlar arasındaki farklılık projestinin tipine ve dozuna bağlı olmaktadır(122,166).

2.6.2. PROJESTERON TÜREVLERİ

Doğal projesteron ya da projesteron benzeri aktivite gösteren sentetik steroidlere gestajen, projestojen ya da projestinler denilmektedir(83,166).

Projestinler sahip oldukları projestojenik aktivitenin gücüne göre, kendi aralarında farklılaşırlar. Çünkü, bunlar projestojenik aktivitenin yanısıra çeşitli oranlarda estrogenik, antiestrogenik, androjenik ve anabolik gibi etkilere de sahiptirler(37,166,178).

Projestinlerin etkileri türler arası farklılık da göstermektedir. İnsanlarda kuvvetli projestasyonel aktiviteye sahip olan bazı projestinlerin (19-nortestosteronlar gibi), köpek ve ratlarda estrogenik aktiviteleri olduğu görülmüştür(79).

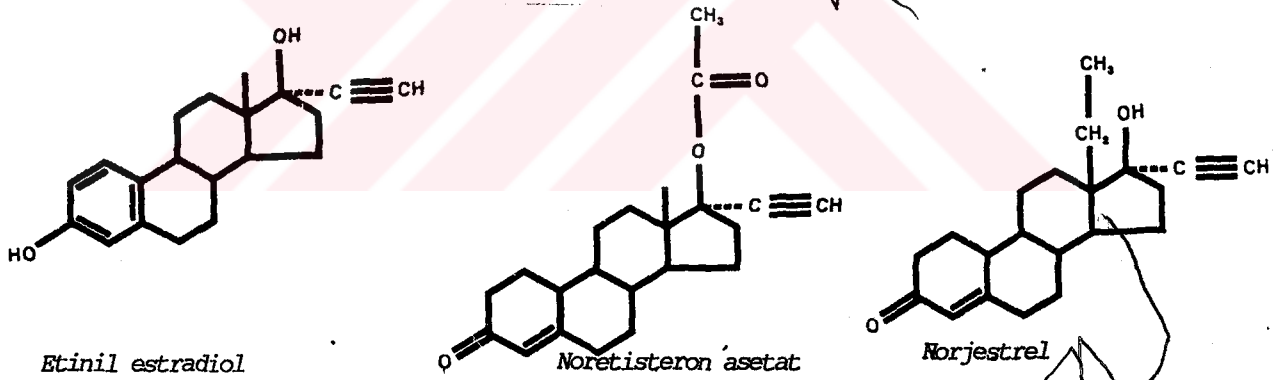
Doğal projesteronun bir özelliği olan antiestrogenik aktivite; projestinlerin ya aynı reseptör için estrogenle yarışmalarından, ya da estrogen reseptör sayılarını azaltmalarından meydana gelir. Ayrıca estrogenler tarafından indüklenen SHBG ve transkörtin seviyeleri, antiestrogenik aktivite ile bastırılmaktadır (166).

Projestinlerin androjenik aktivitesi, ratlarda prostat büyümesinin ölçülmesiyle belirlenir. Projestinlerin estrogenik etkinliği ise, overleri çıkarılmış ratlarda vajinal karnifikasyonun derecesine göre; ya da projestinlerin estrogen reseptörlerine olan affinitelerine göre tayin edilir(166).

Kontrasepsiyon amacıyla en sık kullanılan sentetik projestinler: 19-nortestosteron (estran) ve 17-hidroksipojesteron türevleridir(50,79,160).

19-Nortestosteron Türevi Projestinler: Bu türevlerde androjenden gelen hormonal aktivite, projestasyonel aktiviteye dönüştüğünden, testosteronun projestinin türevleri, 19-nortestosteron olarak tanımlanır(160). C-17'de bulunan etinil grubu, projestasyonel aktiviteyi artırmaktadır(149). Bununla beraber, androjenik etki tamamen yok edilemediğinden, bu türevlerin az da olsa, anabolik ve androjenik özellikleri söz konusudur(160,166). C-19 metil grubunun yokluğu ve Δ^4 çift bağın varlığı nedeniyle, 19-norsteroidlerin çoğu, androjenik reseptöre bağlanabilmektedir(149). Ayrıca, bu türevlerin estrogen reseptörüne karşı zayıf bir afiniteleri de mevcuttur (estrogenik aktivite)(160,166).

19-nortestosteron türevi olan başlıca projestinler şunlardır: Noretindron (noretisteron), noretisteron asetat, etinodiol diasetat, gestoden, dezojestrel, norjestrel ve levonorjestrel(60,83,160,166). Noretindron (NET), 19-nortestosteron türevi bileşiklerin prototipidir(160).



Şekil 4. Etinil Estradiol(EE), Noretisteron Asetat(NEA) ve Levonorjestrel(LNG)'in Kimyasal Yapıları

2.6.3. NORETİSTERON ASETAT (NEA)

Ovulasyonu güçlü bir şekilde inhibe eden NEA, doğal projesterona göre, iki kez daha aktif sentetik bir steroiddir(Şekil 4)(83,160).

Noretindron yapısına asetil grubunun eklenmesi, NEA'nın projesteron reseptörüne olan afinitesini azaltırken, aktivitesini artırmaktadır. Bu durum, asetil grubunun katabolizmayı geciktirmesine bağlanabilir(149).

NEA'nın zayıf androjenik ve estrojenik etkisi de vardır(83,166). NEA'nın estrojenik gücü, plazma proteinleri üzerine olan etkileriyle tayin edilmeye çalışılmıştır. Yüksek dozda NEA'nın, transkörtin bağlama kapasitesini artırdığı bulunmuştur(149).

NEA, organizmada noretisterona metabolize edildikten sonra etkisini göstermektedir(37,55,158). NET'in farmakokinetik özellikleri, tek kompartımanlı model şeklinde açıklanabilir(158). NET, ilk geçiş eliminasyonuna uğrayan bir steroiddir(55,64,158). NET'nin ilk geçiş etkisi % 27-53 ve biyoyararlanımı % 47-73 oranında bulunmuştur(64). SAPERSTEIN(154), EE ile kombine preparatlarda NET'nin yarılanma ömrünü 6.6 saat; GOLDZIEHER(64), 7.5 saat ve SHI(158), 7.6 saat olarak belirlemiştir.

2.6.4. LEVONORJESTREL (LNG)

LNG, rasemik karışım olan norjestrelin, levo-izomeridir(83,160,166). LNG, en güçlü androjenik, antiestrojenik ve projesteron benzeri etki gösteren projestindir(160). Norjestrele (NG) göre, iki kez daha güçlü olan LNG, NEA ile kıyaslandığında; androjenik aktivitenin 6 kez ve projesteron gücünün 30 kez daha büyük olduğu görülür(19,83).

19-nortestosteron yapısında, 13- β -metil grubu yerine etil grubunun geçmesi, projestasyonel ve androjenik aktivitenin yükselmesine yol açmaktadır(149). LNG'nin kimyasal yapısı Şekil 4'te gösterilmiştir.

Hayvan deneylerinde görüldüğü gibi, LNG'nin yüksek dozları androjenik ve anabolik bir cevap sağlarken; düşük dozlar, projestasyonel ve anti-ovulatuvar aktiviteye sahiptir. Bu yüzden androjenik ve kontraseptif aktivite arasında, büyük bir doz ayrımı mevcuttur(178). EE ile kombine preparatlarda, 50-150 μ g gibi düşük dozda kullanılan LNG'nin androjenik etkinliği zayıflamakta, buna karşılık projestasyonel aktivite ön plana çıkmaktadır(83,178).

LNG ve doğal projesteron, uterusda bulunan reseptörlere bağlanma bakımından, aynı afiniteye sahiptir (projestasyonel aktivite). NEA'da bu etki daha zayıf görünmektedir(166).

Antiestrojenik özellik gösteren LNG'nin, HL aktivitesini artırdığı, SHBG ve transkörtin bağlama kapasitesini azalttığı gösterilmiştir(60,149). LNG'nin antiestrojenik gücü NET'ye göre 8 kez daha fazladır(41,166). Şimdiye kadar LNG'nin estrojenik aktivite gösteren bir metaboliti belirlenmemiştir. Bu durum, LNG'nin antiestrojenik aktivitesinin, NEA ve diğer projestinden neden daha yüksek olduğunu kısmen açıklayabilir(60).

LNG'nin kinetik modeli ile ilgili çalışmalar, hem insanlarda(62), hem de ratlarda(128), LNG'nin en azından 2 kompartımanlı açık modele uyduğunu göstermiştir. İlk geçiş eliminasyonuna uğramayan LNG'nin biyoyararlanımı % 100'dür(62,64,161). STANCZYK(161), EE ile kombine preparatlarda LNG'-in yarılanma ömrünü 13 ve 15 saat; GOLDZIEHER(62) ise, 11.4 saat olarak bulmuştur.

2.6.5. SENTETİK SEKS STEROİDLERİNİN LİPİD METABOLİZMASINA ETKİLERİ

Son 30 yılın yoğun araştırmaları, plazma lipid, Lp ve apolp seviyeleri ile ateroskleroza bağlı olarak gelişen kardiovasküler hastalık (KVH) riski arasında ilişki olduğunu ortaya koymuştur(8,17,25,121,129).Risk, plazma HDL-kol veya Apo A₁ seviyelerinin düşük; LDL kol ya da Apo B seviyelerinin yüksek olmasıyla artmaktadır(4,8,18,92,111). Lp profiline bağlı olan bu risk; hipertansiyon, sigara, obesite, ileri yaş, diyabet, kalıtım gibi diğer aterosklerotik risk faktörlerinin varlığında daha da büyümetedir(23,71,118).

Çok sayıda epidemiyolojik çalışmalar, sentetik seks steroidleriyle tromboembolik bozukluklar, iskemik hastalıklar, felç ve hatta miyokard infarktüsü gibi KVH'ların frekansının arttığını göstermiştir(55,93,96,113,182,192). Epidemiyolojik çalışmaların değerlendirilmesi, E/P kombinasyonlarının; KVH için, muhtemelen bağımsız bir risk faktörü olmadığı şeklindedir. Fakat bu steroidler, metabolik etkilerinden dolayı, mevcut risk faktörlerini indükleyebilmektedir (41,60,63).

Estrojen ve projestinin lipid metabolizması üzerindeki etkileri birbirinden farklıdır(57,160,166).

Suprafizyolojik dozda uygulanan ekzojen estrojenler, başlıca HDL₂ alt fraksiyonunu artırmak suretiyle, plazma HDL seviyelerini yükseltirler. Estrojenin bu indükleyici etkisi, HDL partikülünün hem lipid (kolesterol,FL,TG) ve hem de protein (Apo A₁) bileşenlerinde görülmektedir(23,75,157).

HDL seviyelerindeki yükselme, estrojenlerin HL üzerindeki baskılayıcı etkisiyle kısmen açıklanabilmektedir(105,157,174). Estrojenlerin plazma HDL-kol ve Apo A₁ seviyelerini artırması, ateroskleroza karşı koruyucu bir etki meydana getirmektedir(57,75,157,160,166).

Estrojenler KC'de Apo B, TG ve VLDL'nin hem sentezini hem de salınımlarını artırdığından, plazma TG (hipertrigliseridemi), VLDL-TG ve -Apo B seviyelerinin yükselmesine de yol açar(57,75,153,154,179).

Estrojenlerin LDL üzerindeki etkisi, tartışmalı olmakla beraber, genellikle LDL-kol seviyelerini azaltmaya meyilli olduğu öne sürülmektedir(23,57,60,75,166). İn vivo olarak rat KC'inde ve ayrıca KC perfüzyonlarının kullanıldığı çalışmalarda, farmakolojik dozlarda uygulanan EE'nin hepatositler tarafından LDL alınımını artırdığı gösterilmiştir. EE'nin farmakolojik dozları, rat KC'inde Kupffer hücrelerinin fagositotik aktivitesini artırmakta ve sinüsoid endotelial hücrelerin çoğalmasına yol açmaktadır. EE, muhtemelen non-parankimal hücrelerde yeni bağlanma yerlerini ve LDL'nin alınımını indüklemektedir. EE uygulanmasından sonra, hepatik hücreler tarafından LDL alınımının artması, Apo B ve Apo E içeren Lp'lerin spesifik reseptörleriyle ilişkili görünmektedir(75,127).

Estrojenler, her ne kadar Lp profili üzerindeki olumlu etkileriyle ateroskleroz gelişimini yavaşlatabilseler de; KC'de pıhtılaşma faktörlerinin sentezini artırmalarına bağlı olarak, tromboembolik olayları indüklediklerinden, KVH'lara zemin hazırlayabilirler(41,83,160).

Doğal projesteronun, lipid metabolizması üzerinde, önemli bir etkisi yoktur. Buna karşılık sentetik projestiner, estrojenlerin lipid fraksiyonları üzerindeki etkilerini antagonize ederek, tersine çevirebilmektedir(60,83,133).

Projestinler arasında birden fazla biyolojik aktiviteye sahip olan 19-nortestosteron türevleri, lipid metabolizmasını en çok etkileyen steroidlerdir(60,149, 178,179). 19-norsteroidler, antiestrogenik ve androjenik aktiviteleri nedeniyle tek başlarına uzun süre kullanıldıklarında, doza bağlı olarak, plazma HDL₂ ve HDL seviyelerini düşürürken, LDL seviyelerini yükseltirler(23,83,166). Projestinlerin bu etkisi, muhtemelen HL'ı indüklemelerine bağlanabilir(179). Ayrıca bu steroidler KC'de TG ve VLDL'nin hem sentezini hem de salınımlarını inhibe ederek, plazma VLDL ve TG seviyelerini de düşürmektedir(84,149). Aynı zamanda bu projestinlerin etkisi sonucu plazma Apo A₁ seviyelerinde azalma ve Apo B'de artma gözlenmektedir(60).

Tüm bu etkilerinden dolayı, yüksek dozda uzun süre projestin kullanımı,arterleri bozabilir ve KVH'lara yol açabilir(83,160). Ancak projestinler, estrogenlerin aksine, pıhtılaşma faktörlerini değiştirmedikleri için, direkt olarak venleri etkilemez ve tromboembolik bir bozukluk yapmazlar(41,83).

Estrojen ve projestinlerin lipid metabolizmasını etkilemelerine bağlı olarak, bu steroidlerin kombinasyonlarının da metabolizmayı değiştirmeleri söz konusudur. Değişim, estrogen ve projestinin yapısına olduğu kadar, dozuna da bağlı olacaktır(23,41,50,57). Başka bir deyişle, klinik etki, "biyocebirsel" olarak nitelenebileceği gibi, estrogen ve projestinin biyolojik aktivitelerinin cebirsel bir toplamı olacaktır(179).

Günümüzde kombine preparatların çoğu, 50 µg'dan az ve 30-35 µg EE içerdiğinden; preparatların metabolik etkisindeki farklılık, önemli ölçüde projestine bağlıdır(57,160).

Estrojenlerle kombine edilen 19-nortestosteron türevleri, kalitatif olarak aynı biyolojik aktiviteleri paylaşmalarına rağmen, aktivitelerin etkinliğinin gösterilmesinde, doza bağımlı olarak birbirlerinden farklılaşmaktadır(179). Projestinin gücü, belli bir etki oluşturmak için gerekli drog miktarıyla ilgilidir. Bu yüzden, maksimal aktiviteleri birbirinin aynı olan projestinlerin ekivalan etkiler oluşturabilmesi, kombinasyonlarda gücü zayıf olanın daha yüksek dozda kullanılmasını gerektirir(19,166). Böylece projestin değil, kombinasyondaki projestin dozu, lipid değişikliklerini ve bu değişikliklerin yönünü tayin edecektir(179).

Aynı estrojen dozunu (0.05 mg) ve aynı projestinin farklı dozlarını (1;3;4 mg NEA) içeren, üç E/P kombinasyonu incelendiğinde, projestin dozunun artmasına paralel olarak, total arteriyel hastalık riskinin de arttığı gözlenmiştir. Bu durum LNG preparatları için de aynıdır: 0.150 mg LNG ile karşılaştırıldığında, 0.250 mg LNG içeren kombinasyonlar EE'nin küçük dozlarını içerseler bile, aynı arteriyel hastalık oranına sahiptirler(82).

Daha düşük estrojen ve projestin dozlarının, vasküler hastalığı azalttığı da gösterilmiştir(166). Yani, steroid dozu ne kadar az ve projestinin EE'ye oranı ne kadar dengeli ise, lipid seviyelerindeki değişiklikler o kadar az olmaktadır (179).

EE/NEA (NET) ve EE/LNG kombinasyonlarının lipid metabolizmasına etkilerini gösteren çalışmaların bir kısmı, Tablo III'de özetlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, uygulanan steroidlerin kimyasal yapısına, uygulamada kullanılan doza ve uygulama süresine bağlı olarak değişmektedir.

Tablo III. EE/NEA(NET) ve EE/LAG Kombinasyonlarının Lipid Metabolizması Üzerine Etkilerini Gösteren Klinik Çalışmaların Değerlendirilmesi

E/P Kombinasyonunun Tipi ve Dozu (µg/gün)	ÖLÇÜLEN PARAMETRE DEĞERLERİ (mg/dl)									
	TG	FL	T-kol	LDL-kol	HDL-kol	HDL ₂ -kol	HDL ₃ -kol	Apo A ₁	Apo B	Apo A ₁ /B
EE 30, 40, 30/LAG 50, 75, 125(Trifazik)										
2 ay(15)	↑		N	N	↓		↑	N	N	N
3 ay(69, 86, 114, 140)	N, ↑	N, ↑	N	N	↓, N		N, ↑	N, ↓	N, ↓	↓, N
4 ay(15)	↑		N	N	↓		↑	N	N	
6 ay(15, 69, 86, 130, 140, 191)	N, ↑	↑	N, ↑	N, ↓	↓, N		N, ↑	↑, N	↑, N	↓, N
12 ay(130)	↑		↑	N	↓		↑	↑	↑	↓
EE 30/LAG 150(Monofazik)										
7 hafta(93)	↑		N	N	↓		↑	N	↑	↓
3 ay(22, 103, 187)	↑		N, ↑	N, ↓	↓		↑	↑	↑	↓
6 ay(22, 180)	↑	N	N, ↑	N, ↑	↓		↑	↑	↑	↓
12 ay(187)	↑		↑	↓	↓					
40 ay(192)	↑		N	N	↓		N			
EE 30/LAG 250(Monofazik)										
40 ay(192)	N		↓	N	↓		↓			
EE 35/NET 500, 1000, 500(Trifazik)										
EE 35/NET 500, 750, 1000(Trifazik)										
3 ay(110, 140)	↑		N, ↑	N	↓, N		N			
6 ay(130, 140)	↑		↑	N	↓, N		↑			
12 ay(110, 130)	↑		N, ↑	N	↓		N, ↑			
EE 35/NET 500, 1000(Bifazik)										
3 ay(22)	↑		↑	N	↑		↑			
6 ay(22)	↑		↑	N	↑		↑			
EE 35/NET 400-1000(Monofazik)										
7 hafta(93)	N		↑	N	↑		↑			
3 ay(22, 187)	↑		↑	N, ↓			↑			
6 ay(22)	↑		↑	N	↓		↑			
12 ay(187)	↑		↑	↓			↑			
EE 20-50/NEA 1000-3000(Monofazik)										
3 ay(153)	↑	N	N	↑	↓					
18 ay(192)	↑		↑	N	↑					N
3 yıl(87)	↑		N	N	N					N
40 ay(192)	↑		↑	N	N					N
5 yıl(182)	↑		↑	↑	N					↑

N: Normal
↑: Artmış
↓: Azalmış

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.1. MATERYAL

Biyokimyasal ölçümlerde, Merck veya Sigma marka, analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanıldı.

Deneylerde spektrofotometre (Perkin-Elmer 35 ve Hittachi 150-20), atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Hittachi Z-8000), oto-analizör (Baker), santrifüj (MLW-T 24,Nüve), hassas terazi (Sartorius), pH metre (Beckman), su banyosu (Kotterman), etüv (Termal) otomatik (Fisher ve Gilson) ve cam pipetler, kapaklı polistren ve cam tüpler, beher ve balon jojeler kullanıldı.

Kullanılan cam malzemeler (tüp,pipet,balon joje,beher) deiyonize su ile yıkayıp bir gün % 20 HNO₃ çözeltisi içinde bekletildikten sonra, üç kez deiyonize sudan geçirilerek demineralize edildi(6).

Deneyler için gerekli çözelti ve tamponların hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı. Dayanıklılık süresi sınırlı olan çözelti ve tamponlar, belli aralıklarla yeniden hazırlandı.

Çalışmada kullanılmak üzere, serbest piyasadan, her bir drajede; 0.05 mg etinil estradiol (EE)/4.00 mg noretisteron asetat (NEA) ve 0.03 mg etinil estradiol (EE)/0.125 mg levonorjestrel (LNG) içeren iki tip preparat seçildi. İlk preparatta E/P oranı 1/80; diğerinde ise 1/4 olarak hesaplandı. Her iki kombine preparat da, estrogen olarak EE içerdiğinden, deney süresi boyunca, bu preparatlar ihtiva ettikleri projestin (NEA ve LNG)'e göre adlandırıldılar.

Çalışma Grubu: Çalışmada, EÜ Deneysel Klinik Araştırma Birimi'nden temin edilen Swiss albino, 75-85 günlük, 100-180 g ağırlığında 103 dişi rat kullanıldı. Deney süresince, 5-6'lık gruplar halinde kafeslerde barındırılan ratlar, normal oda ısı ve neminde tutuldu. Standart pelet yem ve musluk suyu ile beslendi.

Deney Planı: Ratlar, kısa süreli (15 gün;n=50) ve uzun süreli (120 gün;n=53) çalışma için, iki gruba ayrıldı. Her bir grup da kendi içinde, düşük doz (DD) ve yüksek doz (YD) NEA ile LNG verilen gruplar şeklinde 4 alt gruba bölündü. Ayrıca kısa ve uzun süreli çalışmalar için, birer kontrol grubu oluşturuldu. Böylece toplam 103 rat, her biri 10-11 rat içeren, 10 alt gruba bölünecek şekilde, deney planlandı (Tablo IV).

Deney süresince, ratlar için DD ayarlaması, klinik dozun 4 katı ve YD ayarlaması, klinik dozun 200 katı olacak şekilde yapıldı(119). Buna göre,

- a. 4.00 mg NEA içeren preparatı kullanan 50 kg ağırlığındaki insan için, klinik doz 0.08 mg NEA/kg/gün olacağından, ratlara uygulanacak
DD: 0.32 mg NEA/kg rat ağırlığı/gün ve
YD: 16.0 mg NEA/kg rat ağırlığı/gün olarak belirlendi.
- b. 0.125 mg LNG içeren preparatı kullanan 50 kg ağırlığındaki insan için, klinik doz 0.0025 mg LNG/kg/gün olacağından, ratlara uygulanacak
DD: 0.01 mg LNG/kg rat ağırlığı/gün ve
YD: 0.50 mg LNG/kg rat ağırlığı/gün olarak belirlendi (Tablo IV).

Oral yoldan uygulanacak preparatların, hayvanların içme sularına katılması planlandığından, deneylere başlamadan önce, ratların günlük su tüketimini belirlemek amacıyla, üç gün süreyle su testi yapıldı. Test sonucunda, her bir ratın ortalama su tüketimi, 25 ml olarak belirlendi.

Tablo IV. Çalışma Grubunu Oluşturan Ratların Deney Planı

GRUPLAR	KISA SÜRELİ (15 gün)		UZUN SÜRELİ (120 gün)	
	Denek Sayısı	Uygulanan Doz (mg/kg/gün)	Denek Sayısı	Uygulanan Doz (mg/kg/gün)
Kontrol Grubu	10	-	10	-
DD NEA Grubu	10	0.32	11	0.32
YD NEA Grubu	10	16.0	10	16.0
DD LNG Grubu	10	0.01	11	0.01
YD LNG Grubu	10	0.50	11	0.50

Kafeslerde 5'li ya da 6'lı gruplar halinde bulunan ratların ortalama ağırlığı üzerinden, düşük ve yüksek doz NEA ile LNG preparatları için, gereken hesaplamalar yapıldı. Drajeler, cam havanda iyice ezilerek toz haline getirildikten sonra, hesaplamalara uygun şekilde hassas terazide tartıldı. Günlük uygulanacak dozlar, her bir kafes için gerekli su miktarı içine katılarak ve iyice çalkalandıktan sonra, ratlara verildi. Gün boyunca, belirli aralıklarla su şişeleri çalkalandı ve preparatların su içerisinde homojen dağılımları sağlandı. Kısa süreli çalışma grupları için 15 gün ve uzun süreli çalışma grupları için 120 gün boyunca, her gün saat 9.00'da aynı işlemler tekrarlandı. Ayrıca, deney süresi içerisinde, ratlar her hafta tartılarak, ortalama ağırlıkları üzerinden gerekli doz ayarlamaları yapıldı. Böylece, deney süresince;

DD NEA Grubu için: Rat başına, 0.32 mg NEA/kg rat/gün,

YD NEA Grubu için: Rat başına, 16.0 mg NEA/kg rat/gün,

DD LNG Grubu için: Rat başına, 0.01 mg LNG/kg rat/gün,

YD LNG Grubu için: Rat başına, 0.50 mg LNG/kg rat/gün şeklinde kombine estrogen/projestin preparatları verilmiş oldu (Tablo IV).

Deney süresi boyunca, kısa süre DD LNG grubuna ait bir rat, kendiliğinden öldü. Toplam 102 ratla, çalışma tamamlandı.

Deney sürelerinin bitiminde her gruptaki ratlar, bir gece aç bırakıldı. Ertesi sabah tartımları yapıldıktan sonra, eter anestezisi altında, ratların carotis arteri kesilerek, kanları (5-7 ml), 1.5 mg EDTA/ml kan içeren santrifüj tüpleri

rine alındı. Bunu takiben ratların karnı yarılarak karaciğerleri çıkartıldı. Karaciğerler (KC), soğuk 154 mM NaCl çözeltisi ile 3 kez yıkandıktan sonra, -20 °C'de derin dondurucuda, çalışma gününe kadar saklandı.

Alınan kanlar 4 °C'de 30 dakika bekletildikten sonra, 4 °C'de düşük hızla santrifüj edilerek, plazmalar ayrıldı.

Lipid peroksidasyonu ve asetoasetat ölçümleri, aynı gün içerisinde yapıldı. Lipid peroksidasyonu ölçümünde, plazmanın ayrılmasıyla elde edilen eritrosit süspansiyonu kullanıldı. Asetoasetat ölçümü için, gerekli plazma miktarları alındıktan sonra, geriye kalan plazma örnekleri, çalışma gününe kadar, -20 °C'de derin dondurucuda bekletildi.

3.2. METOD

Çalışma gruplarından elde edilen plazma örneklerinde, asetoasetat, trigliserid, fosfolipid, total kolesterol, HDL-kolesterol, HDL₂-kolesterol, HDL₃-kolesterol, LDL-kolesterol, Apolipoprotein A₁ ve Apolipoprotein B tayinleri yapıldı.

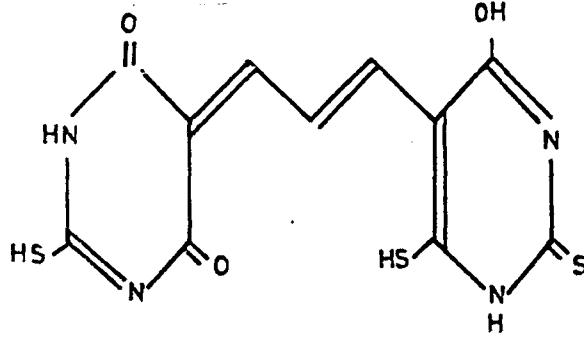
EDTA'lı kan örneklerinden, plazmanın ayrılmasıyla elde edilen eritrosit süspansiyonlarında lipid peroksidasyonu ölçüldü.

Ratların karaciğerlerinde ise, hepatik lipaz, HMG-KoA sentaz ve asetoasetil-KoA tiyolaz aktiviteleri çalışıldı.

3.2.1. LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ(77,163)

Çalışmada, STOCKS ve DORMANDY(163) tarafından geliştirilen ve JAIN(77) tarafından modifiye edilen lipid peroksidasyonu tayin yöntemi kullanıldı. Metoda göre, malondialdehid (MDA) oluşumu, in vitro lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edildi.

Metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA'nın, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbanı veren bir kompleks oluşturması esasına dayanır(77,194).



MDA'nın TBA İle Yapmış Olduğu Renkli Kompleks(194)

ÇÖZELTİLER

1. Fosfat tamponlu salin, pH=7.4
2. 154 mM NaCl
3. % 30 TCA (Trikloro asetik asit)
4. 0.1 M EDTA (Etilen diamin tetraasetik asit)
5. % 1 TBA
6. 5.848 M MDA bis (dimetil asetal) stok standart çözeltisi.

ÇALIŞMA

Plazmanın ayrılmasıyla elde edilen eritrosit süspansiyonları, eşit hacimde soğuk 154 mM NaCl ile yıkanarak, 4 °C'de santrifüj edildi. Yıkama işlemi 3-4 kez tekrarlandı. Yıkamış ve paketlenmiş eritrosit süspansiyonu, lipid peroksidasyonu tayininde kullanıldı.

Deney tüplerine, sırasıyla 0.6 ml eritrosit süspansiyonu, 2.4 ml fosfat tamponlu salin ve 1.5 ml TCA pipetlenerek, iyice karıştırıldı. Tüpler 2 saat buz banyosunda inkübe edildikten sonra, 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantların 3 ml'si ağız kapalı tüplere aktarıldı. Üzerlerine sırasıyla 0.225 ml EDTA ve 0.75 ml TBA pipetlenerek 15 dakika su banyosunda kaynatıldı.

Tüpler soğutulduktan sonra, 0.6 ml distile su ile, aynı şekilde çalışılan kör tüpüne karşı, her bir tüpün absorban değeri, spektrofotometrede, 532 nm dalga boyunda okundu.

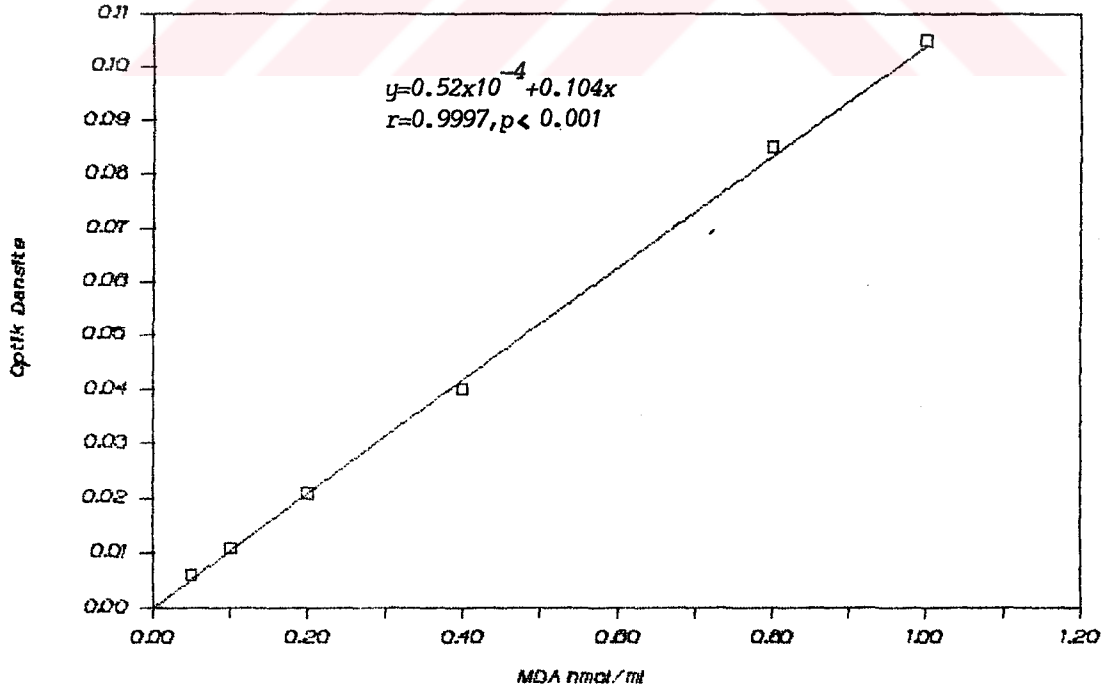
Değerlendirme, MDA-TBA reaksiyonu sonucu oluşturulan standart eğri ile yapıldı (Şekil 5).

Standart Serinin Hazırlanması

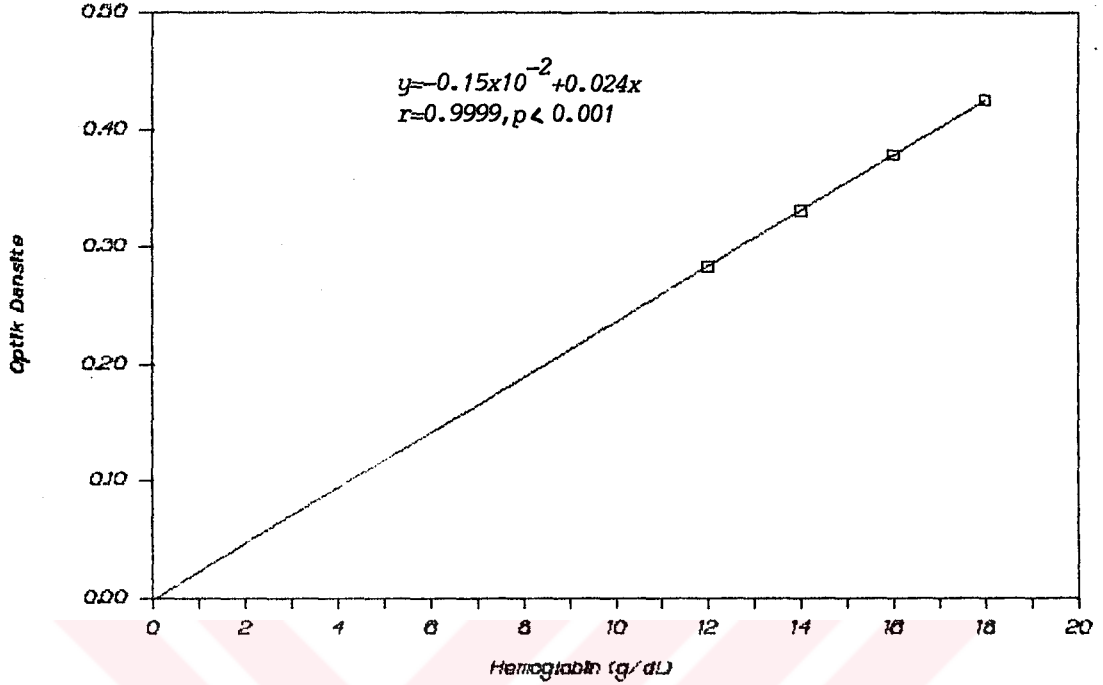
5.848 M stok MDA çözeltisi, 10 nmol/ml konsantrasyonda olacak şekilde dilüe edildi. Bu çözeltiden, deney ortamında (3.0 ml içinde) 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.8; 1.0 nmol/ml'ye karşılık gelecek şekilde, sırasıyla 0.25; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 5.0 nmol/ml konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Her bir standart çözeltiden 0.6 ml alınarak numune gibi çalışıldı ve standart eğri çizildi(Şekil 5).

Her bir eritrosit süspansiyonundan, siyanomethemoglobin metodu(171) ile hemogloblin ölçümü yapıldı (Şekil 6).

Çalışma gruplarının MDA seviyeleri, gram hemogloblin başına verildi (nmol MDA/g Hb).



Şekil 5. Lipid Peroksidasyonu Ölçümünde Kullanılan MDA Standart Eğrisi



Şekil 6. Hemoglobin Standart Eğrisi

Çalışmada kullanılan lipid peroksidasyonu metodunun tekrarlanabilirliğini ölçmek için, sağlıklı kişilerden toplanan EDTA'lı kan örneklerinden, eritrosit havuzu oluşturuldu. Metodun CV (değişme katsayısı) değeri hesaplanarak, % 3.54 olarak bulundu.

Lipid Peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)

n	$\bar{X} \pm SD$	CV (%)
10	1.696 \pm 0.06	3.54

n : Deney sayısı

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm standart sapma

CV : Değişme katsayısı

3.2.2. ASETOASETAT TAYİNİ(181)

Asetoasetat tayini için, WADKINS ve LEHNINGER(181)'in geliştirdiği metod, modifiye edilerek, plazmaya uygulandı.

Bu metodun prensibi, 450 nm'de karakteristik absorpsiyon spektrumu gösteren, N,N'di (-p-nitrofenil-)C-asetilformazon oluşturmak için, asetoasetatın diazolandırılmış p.nitroanilinle bağlanması esasına dayanır.

ÇÖZELTİLER

1. 0.1 M asetat tamponu, pH=5.7
2. % 0.05 p.nitroanilin (0.05 N HCl içinde hazırlanır)
3. 5.0 N HCl
4. 0.2 M sodyum asetat
5. 0.2 M TCA
6. Etil asetat çözeltisi
7. % 0.5 sodyum nitrit (kullanılmadan hemen önce hazırlanır)
8. Diazo Reaktifi: 15 ml % 0.5 Sodyum nitrit çözeltisi, 100 ml % 0.05 p.nitroanilin çözeltisi ile karıştırılır, 2 °C'ye kadar soğutulur. Sonra, 0.2 M Sodyum asetat çözeltisinden 35 ml ilave edilir (kullanılmadan hemen önce hazırlanmalıdır).

ÇALIŞMA

Deney tüplerine 1.0 ml plazma ve 3.5 ml TCA pipetlenerek santrifüj edildi. Tüplerden alınan 1.5 ml süpernatant, eşit hacimde asetat tamponuyla karıştırıldı ve ortamın pH'sına bakıldı (Bu safhada pH=4.9-5.0 olmalıdır). pH kontrolünden sonra, tüplere taze hazırlanmış diazo reaktifinden 6.0 ml ilave edildi ve tüpler 22 °C'de 40 dakika inkübe edildi. İnkübasyonu takiben, ortama 2.0 ml HCl ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra, tüplerdeki reaksiyon karışımı 8.0 ml etil asetatla ekstrakte edildi. 3.0 ml etil asetat fazı spektrofotometrenin küvetine aktarıldı. Absorbans değeri, 1.0 ml distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı, 450 nm'de okundu.

Metoda göre, 1.000'lik optik dansite, 840 nmol asetoasetat/ml'ye karşılık gelmektedir. Çalışma standardı olarak, dayanıksız bir bileşik olan asetoasetatı kullanmaya gerek yoktur. Çünkü, diazolandırılmış p-Nitroanilinli reaksiyon ürününe ait ekstinksiyon katsayısı, bu modifiye metodda kullanılan şartlar altında sabit olarak bulunmuştur(181).

Çalışma gruplarının asetoasetat seviyeleri, sepktrofotometrede okunan absor-bans değerlerinin, 840 faktörü ile çarpılması şeklinde hesaplandı. Sonuçlar, nmol asetoasetat/ml olarak verildi(181).

Asetoasetat tayininde kullanılan metodun tekrarlanabilirliğini belirlemek için sağlıklı kişilerden plazma havuzu oluşturuldu. Bu havuzdan 10 ölçüm yapılarak, CV değeri hesaplandı ve % 2.69 olarak bulundu.

Asetoasetat (nmol/ml)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	49.64 \pm 1.34	2.69

n : Deney sayısı
 $\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm Standart sapma
 CV : Değişme katsayısı

3.2.3. FOSFOLİPİD TAYİNİ(196)

Çalışma gruplarının plazma total fosfolipid düzeyleri, YOSHIDA(196) tarafın-dan geliştirilen metodla, kolorimetrik olarak tayin edildi.

Metodun prensibi: Dithiocyanatoiron reaktifi ile fosfolipidler arasında oluşan dayanıklı hidrofobik kompleksin renk şiddetinin 470 nm'de ölçülmesi esasına dayanır.

ÇÖZELTİLER

1. Thiocyanatoiron (TCIR) Reaktifi

0.97 g Ferrik nitrat ve 15.2 g amonyum tiyosiyanat bir miktar distile suda çözüldükten sonra, hacim distile suyla 100 ml'ye tamamlanır.

2. 0.17 N HCl

3. 1.2 Dikloro etan (DCE)

4. Absolu etanol

5. 10 mg/ml Fosfatidil kolin (PC) stok standart çözeltisi (Absolu etanol içinde hazırlanır).

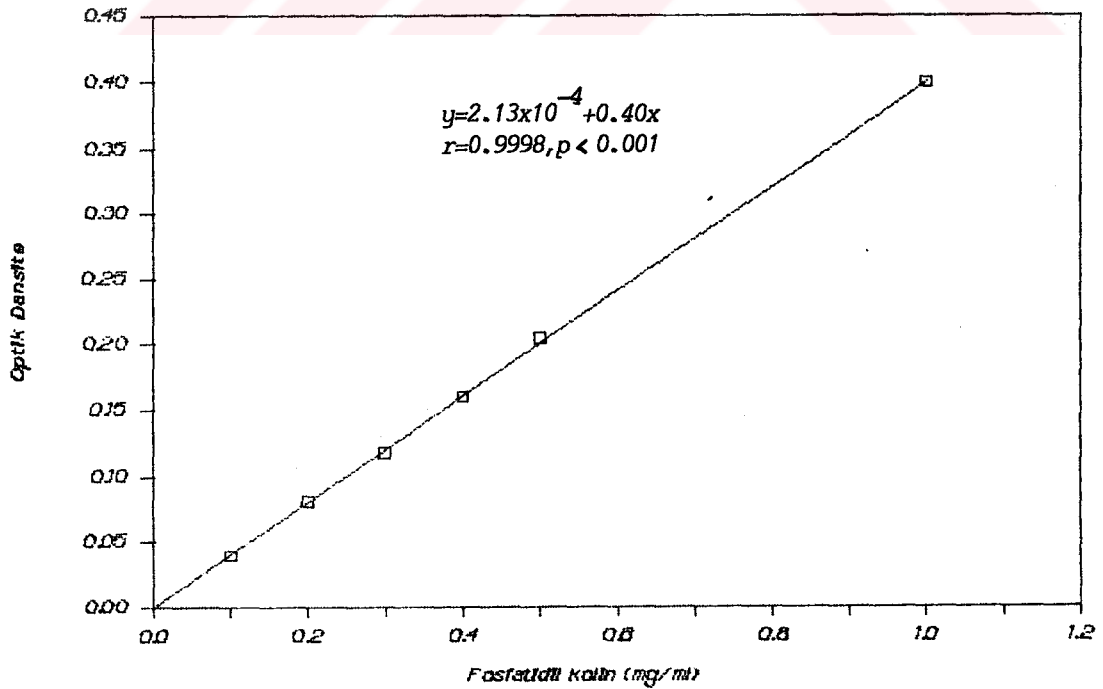
ÇALIŞMA

Deney tüplerine 0.1 ml plazma ve 0.1 ml absolu etanol pipetlendi. Tüpler 60 °C'de 5 dakika ısıtılarak deproteinize edildi. Daha sonra, tüplerin üzerine 0.5 ml TCIR reaktifi ve 0.3 ml HCl ilave edilip iyice karıştırıldı. Tüpler 35 °C'de 5 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonucu oluşan, thiocyanatoiron-fosfolipid kompleksi, 1.5 ml DCE ile 2 dakika vortekslenerek ekstrakte edildi. Tüpler 2500 rpm'de 2 dakika santrifüjlendikten sonra, alt fazın 470 nm'deki absorbanansı, distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı okundu.

Değerlendirme, fosfatidil kolin standart eğrisi üzerinden yapıldı (Şekil 7). Sonuçlar mg/dl olarak verildi.

Standart Serinin Hazırlanması

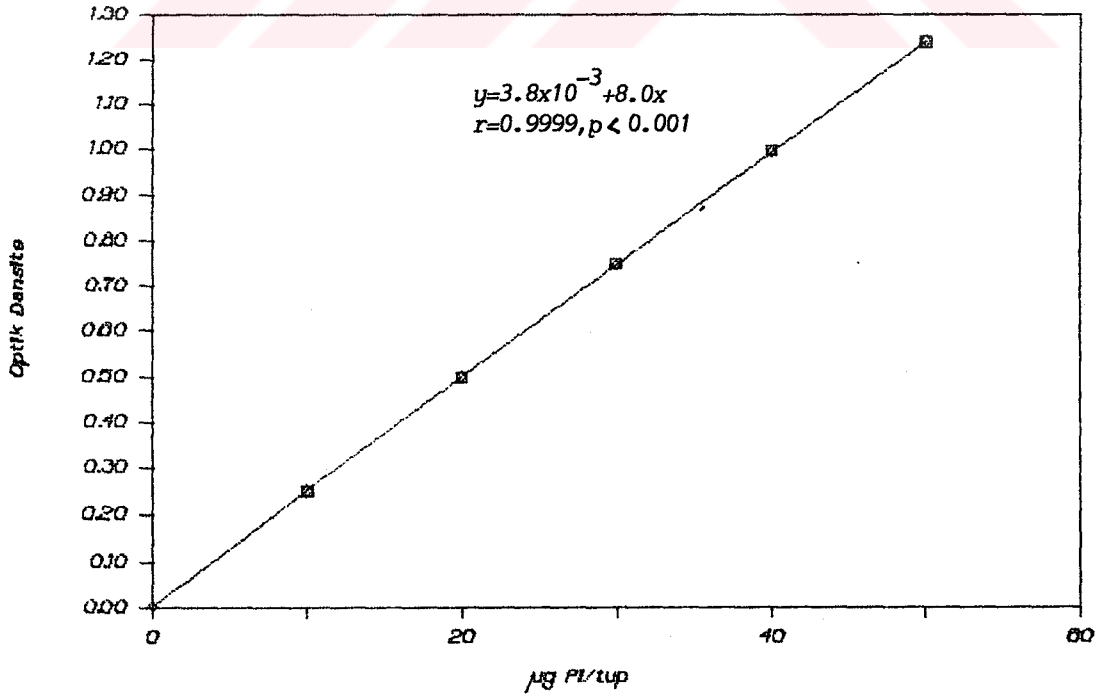
10 mg/ml Stok PC Çözeltisi, 1 mg/ml olacak şekilde absolu etanol ile dilüe edildi. Bu çözeltiden 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 1.0 mg/ml konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Her bir standart çözeltiden 0.1 ml alınarak numune gibi çalışıldı ve standart eğri çizildi (Şekil 7).



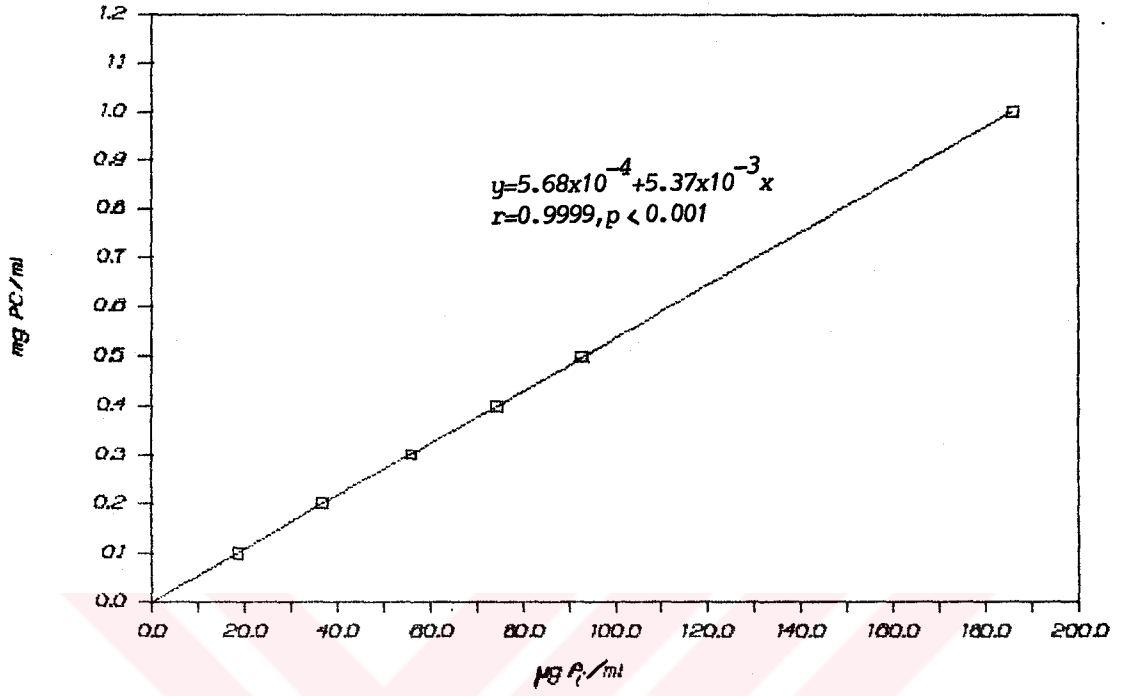
Şekil 7. Fosfatidil Kolin Standart Eğrisi

Fosfolipid tayininde kullanılan bu direkt kolorimetrik metod, güvenilirlik açısından incelendi:

Fosfolipid tayininde kullanılan metodların çoğu, saflaştırılmış lipid ekstraktının parçalanmasıyla açığa çıkan inorganik fosforun (P_i) ölçülmesi esasına dayanır. Bu çalışmada kullanılan metod ise, direkt fosfolipid tayini yapmaktadır. Bu nedenle metodun güvenilirliği açısından standart eğri çiziminde kullanılan fosfatidil kolin standart serisinin P_i içeriği GOMORI metodu ile tayin edildi (45). 1 mg/ml Fosfatidil kolin çözeltisinden 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 mg/tüp olacak şekilde, sırasıyla tüplere 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 ml pipetlendi. Sıcak su banyosunda organik faz uçurulduktan sonra, üzerlerine 0.4 ml oksitleyici asit reaktifi (1 kısım % 70 $HClO_4$ + 9 kısım 5 N H_2SO_4) ilave edildi. Daha sonra tüpler kum banyosuna gömülerek 240-250 °C'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutma işleminden sonra asidik artıktaki P_i ölçüldü. Değerlendirme, P_i standart eğrisi (Şekil 8) üzerinden yapılarak her bir Fosfatidil kolin standart çözeltisindeki P_i miktarları bulundu ($\mu g P_i/mg PC/ml$). Daha sonra, bu veriler kullanılarak, mg/ml PC'e karşı, $\mu g/ml P_i$ değerlerinin grafiği çizildi (Şekil 9).



Şekil 8. P_i Standart Eğrisi



Şekil 9. Fosfatidil Kolin Standart Çözeltisinde, PC İle P_i Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren Korelasyon Eğrisi

Direkt fosfolipid metoduyla tayin edilen 10 plazma örneğinin absorbans değeri, hem direkt olarak, hem de P_i üzerinden değerlendirildiğinde sonuçların aynı olduğu görüldü.

ÖRNEK

1. P_i üzerinden değerlendirme

0.040 OD	18.6 $\mu\text{g}/P_i$	18.6 $\mu\text{g } P_i$	0.1 mg PC/ml
0.327 OD(örnek) x		152 $\mu\text{g } P_i$	x
<hr/>		<hr/>	
x = 152 $\mu\text{g } P_i$		x = 81.75 mg/dl	

2. PC üzerinden değerlendirme

0.040 OD	0.1 mg PC/ml
0.327 OD(örnek) x	
<hr/>	
x = 81.75 mg/dl	

Direkt kolorimetrik fosfolipid metodunun tekrarlanabilirliği, sağlıklı kişilerden oluşturulan plazma havuzunda tayin edildi. CV değeri % 2.34 olarak bulundu.

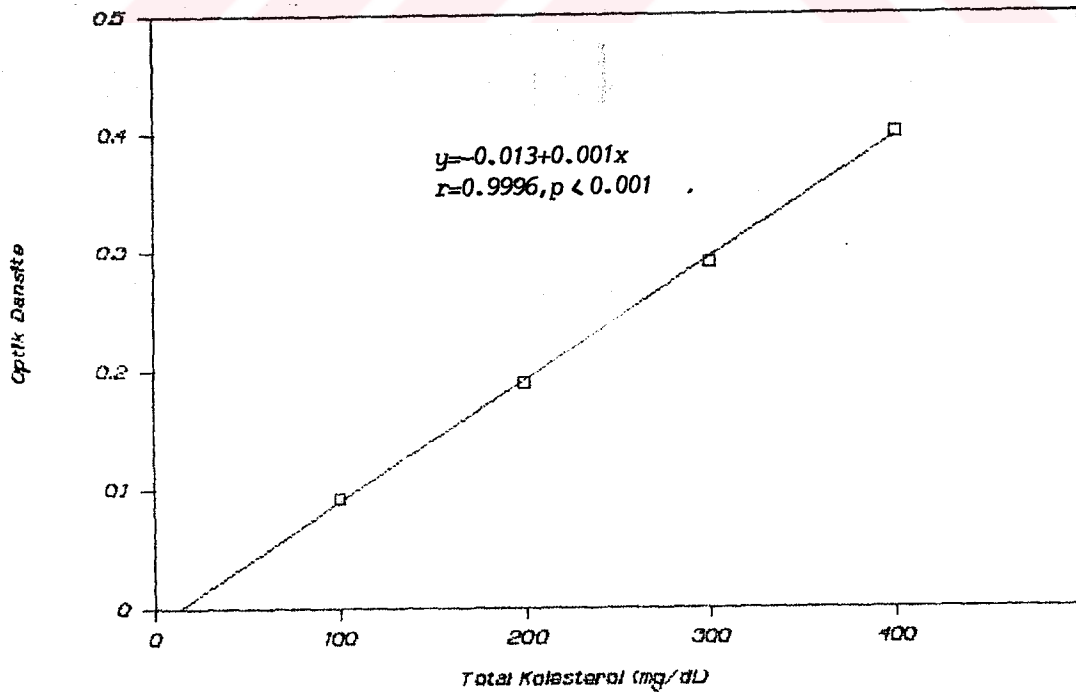
Fosfolipid (mg/dl)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	119.80 ± 2.80	2.34

n : Deney sayısı
 $\bar{X} \pm SD$: Ortalama ± Standart sapma
 CV : Değişme katsayısı

3.2.4. TOTAL KOLESTEROL TAYİNİ(45)

Çalışma gruplarının, plazma total kolesterol düzeyleri, modifiye LEFFLER(45) yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edildi.

Değerlendirme, 100; 200; 300; 400 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standart seriden elde edilen, kolesterol standart eğrisi üzerinden yapıldı (Şekil 10). Sonuçlar mg/dl olarak verildi.



Şekil 10. Total Kolesterol Standart Eğrisi

Modifiye LEFFLER Metodu'nun tekrarlanabilirliğini tayin etmek amacıyla sağlıklı kişilerden oluşturulan plazma havuzunda kolesterol ölçümleri yapıldı. CV değeri % 2.31 olarak bulundu.

Total Kolesterol (mg/dl)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	232.4 \pm 5.38	2.31

n : Deney sayısı
X : Aritmetik ortalama
SD : Standart sapma
CV : Değişme katsayısı

3.2.5. TOTAL HDL-KOLESTEROL İLE HDL₂ - VE HDL₂ -KOLESTEROL TAYİNLERİ(141,183,184)

HDL-kolesterol ve alt sınıflarının tayininde, WARNICK(183,184) tarafından geliştirilen ve PATSCH(141) tarafından kısmen modifiye edilen iki aşamalı çöktürme metodu kullanıldı.

Metodun temel prensibi, Dextran sülfat 50 000 (Sochibo SA,Boulogne,France) ve Mg⁺² iyonlarıyla yapılan çöktürmeye dayanmaktadır.

ÇÖZELTİLER

1. 20 g/L Dextran sülfat 50 000 stok çözeltisi
2. 1.0 MgCl₂ .6H₂ O stok çözeltisi
3. 3.0 M MgCl₂ .6H₂ O stok çözeltisi
4. 0.15 M NaCl

Tartımlarda kullanılan MgCl₂ .6H₂ O'nun su çekici özelliğinden dolayı,hazırlanan çözeltilerin Mg⁺² iyonu konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ölçüldü. Tam 1.0 M ve 3.0 M konsantrasyonunda çözelti hazırlayabilmek için gerekli ayarlamalar yapıldı(184)(Şekil 11).

HDL_T Reaktifi: Apo B içeren lipoproteinlerin (LDL, VLDL) çöktürülmesi için, 20 g/L Dextran sülfat ve 1.0 M MgCl₂.6H₂O çözeltilerinin eşit hacimde karıştırılmasıyla hazırlandı.

HDL₃ Reaktifi: Süpernatandan HDL₂'nin çöktürülmesinde kullanıldı. 20 g/L Dextran sülfat ve 3.0 M MgCl₂.6H₂O çözeltilerinin eşit hacimde karıştırılmasıyla hazırlandı.

Her iki reaktif de aylık olarak hazırlandı ve 4 °C'de saklandı.

ÇALIŞMA

Reaktifler ve plazma örneklerinin, oda ısısına ulaşmaları beklenildikten sonra; 1.0 ml plazma üzerine, 0.1 ml HDL_T reaktifi ilave edildi. 5 saniye vorteksle karıştırılıp, 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. Karışım daha sonra 1500xg'de 15 dakika oda ısısında santrifüjlendi ve HDL'yi içeren süpernatant ayrıldı. Süpernatanda herhangi bir bulanıklık olduğu takdirde, süpernatantı presipitattan ayırmadan, üzerine 1.0 ml 0.15 M NaCl ve 0.1 ml HDL_T reaktifi ilave edildi. Vorteksle karıştırıldıktan sonra 1500xg'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Bu süpernatanda ölçülen kolesterol, dilüsyonu düzeltmek için 2 ile çarpıldı(184).

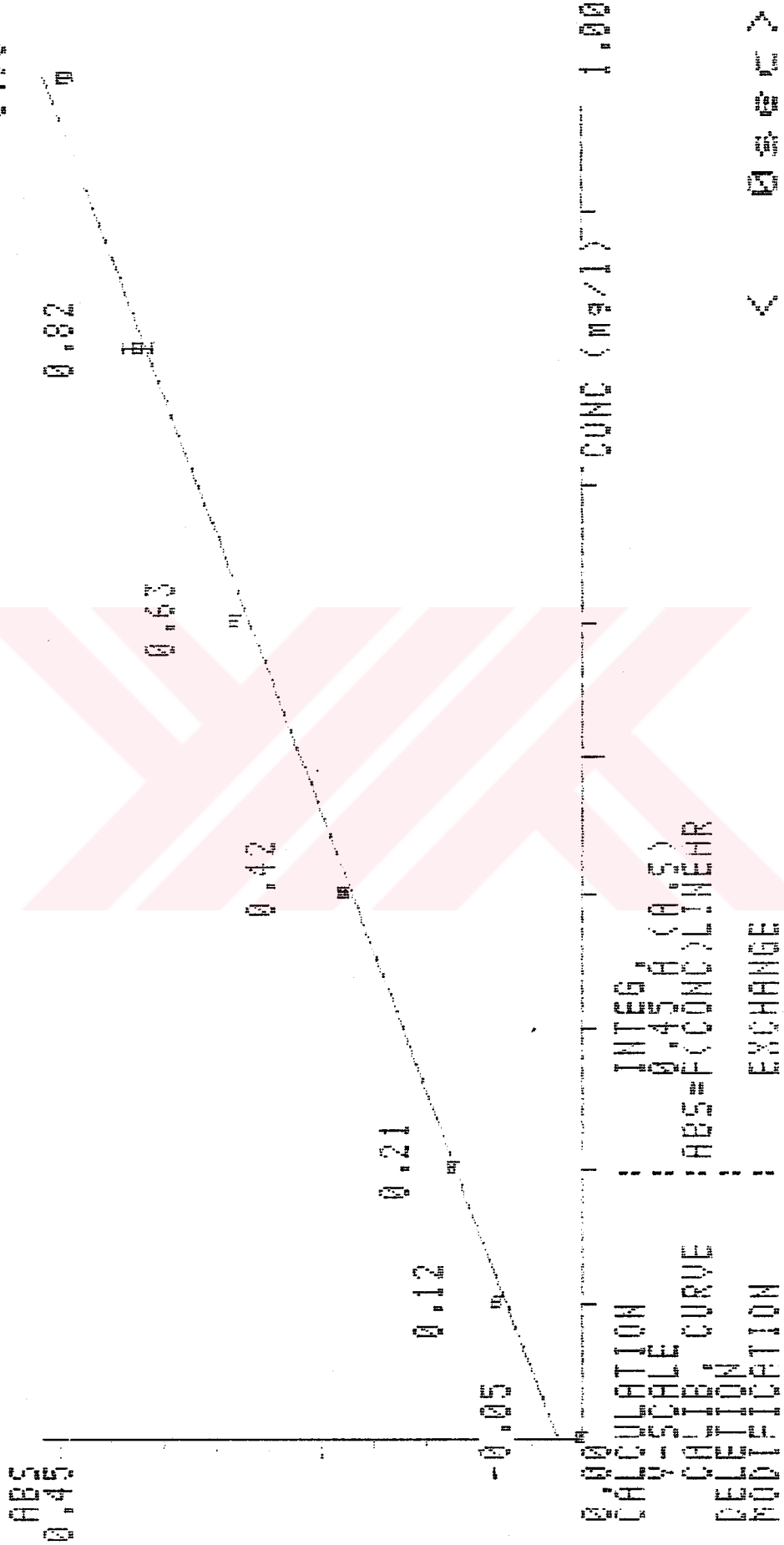
Ayrılan süpernatandan 0.5 ml alınıp üzerine 0.05 ml HDL₃ reaktifi ilave edildi. Vorteksle karıştırıldı. 10 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra, 1500xg'de 20 dakika oda ısısında santrifüj edildi. HDL₂'siz süpernatant ayrıldı.

Her iki süpernatandan 0.2 ml örnek alınıp üzerlerine 2 ml izopropanol ilave edildi ve kolesterol tayinine geçildi(45).

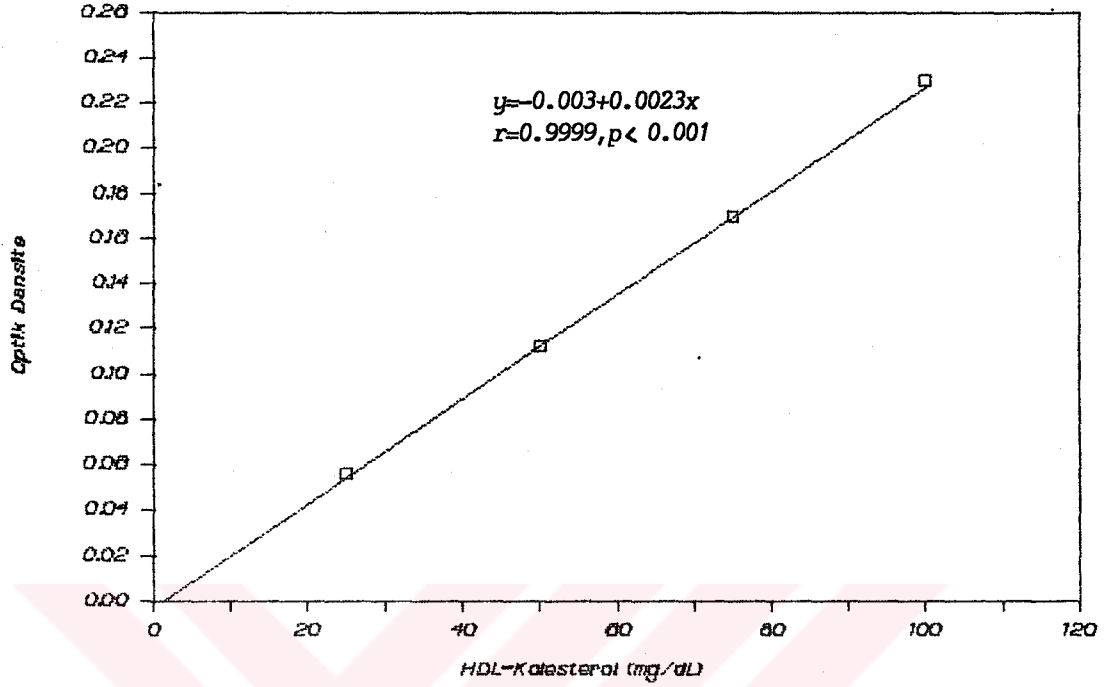
Değerlendirme 25; 50; 75; 100 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standart seriden elde edilen HDL-kolesterol standart eğrisi üzerinden yapıldı (Şekil 12). Grafikten bulunan değerler ilk süpernatant için 1.1 dilüsyon faktörü ile ve ikinci süpernatant için 1.21 dilüsyon faktörü ile çarpılarak, total HDL-kolesterol ve HDL₃-kolesterol düzeyleri mg/dl şeklinde verildi.

Çalışma gruplarına ait, her bir plazma örneği için tayin edilen total HDL-kolesterol ve HDL₃-kolesterol düzeylerinin farkları alınarak, HDL₂-kolesterol düzeyleri hesaplandı(141,183).

Mg CALIBRATION CURVE



Şekil 11. Magnezyum Standart Eğrisi



Şekil 12 . HDL-kolesterol Standart Eğrisi

HDL-kolesterol ve alt sınıflarının tayininde kullanılan, bu iki aşamalı presipitasyon metodu, güvenilirlik açısından incelendi:

Sağlıklı kişilerden oluşturulan plazma havuzunda, HDL-kolesterol ve HDL₃-kolesterol tayinleri yapılarak, CV değerleri hesaplandı. CV değerleri HDL-kolesterol tayini için % 3.20 ve HDL₃-kolesterol tayini için % 2.72 olarak bulundu.

HDL-kolesterol (mg/dl)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	36.49 ± 1.17	3.20

HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	20.72 ± 0.56	2.72

n : Deney sayısı
 $\bar{X} \pm SD$: Ortalama ± Standart sapma
 CV : Değişme katsayısı

Ayrıca, sağlıklı kişilerden ikinci bir plazma havuzu oluşturuldu. Aynı havuzda total HDL-kolesterol ölçümleri hem bu çalışmada kullanılan iki aşamalı çöktürme yöntemi ile, hem de sodyum fosfotungustat-Mg⁺² çöktürme yöntemi ile yapıldı(106). Her iki yönteme ait CV değerleri hesaplanarak birbiriyle karşılaştırıldığında, sonuçların hemen hemen aynı olduğu görüldü.

Total HDL-kolesterol (mg/dl)

	n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
Dextran sülfat-Mg ⁺² yöntemi	10	47.63 \pm 1.48	3.11
Na-fosfotungustat-Mg ⁺² yöntemi	10	47.23 \pm 1.60	3.38

n : Deneş sayısı
 $\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm Standart sapma
 CV : Değişme katsayısı

3.2.6. TRİGLİSERİD VE LDL-KOLESTEROL TAYİNİ

Çalışma gruplarının plazma trigliserid değerleri, "Cromatest" kiti kullanılarak, enzimatik metotla oto-analizörde tayin edildi.

Metotun prensibi: TG örnekleri lipaz enzimiyle hidroliz edilir. Açığa çıkan gliserol, ATP varlığında kinaz enzimiyle fosforlanır. Gliserofosfatın oksidaz ile oksitlenmesi sırasında oluşan H₂O₂, kromojenik bir oksijen akseptörü (fenol-ampyron) varlığında, peroksidaz ile kırmızı renkli kinonlara çevrilir. 500 nm'de okunan rengin şiddeti, TG miktarıyla doğru orantılıdır. TG değerleri, mg/dl olarak verildi.

Plazma LDL-kolesterol seviyelerinin tayininde ultrasentrifüj kullanma imkanı bulunamadığından, TKOCZ(176) tarafından ratlara uygulanan şekliyle, FRIEDEWALD formülü(59) kullanıldı.

$$LDL\text{-kolesterol} = \text{Total kolesterol} - \left(\text{HDL-kolesterol} + \frac{\text{Trigliserid}}{7} \right)$$

denklemiyle, hesaplandı. Çalışma gruplarının LDL-kolesterol değerleri, mg/dl olarak verildi.

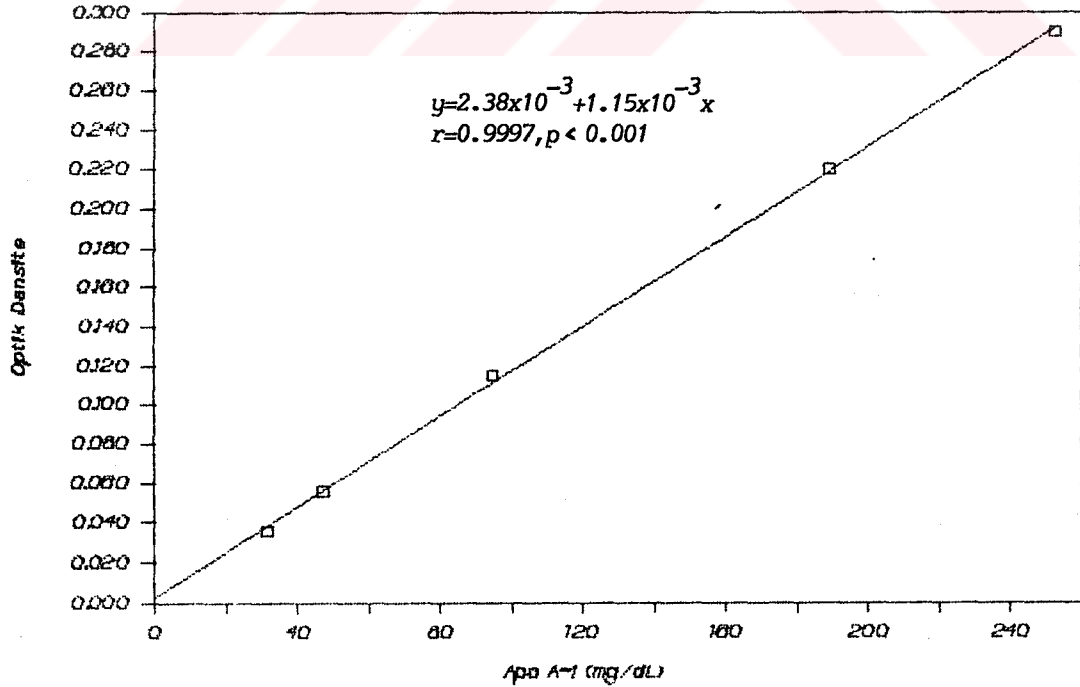
3.2.7. APOLİPOPROTEİN A₁ VE B TAYİNİ

Çalışma gruplarının plazmalarında Apo A₁ ve B seviyeleri, Orion Diagnostica kitleri kullanılarak immünoturbidimetrik metodla tayin edildi.

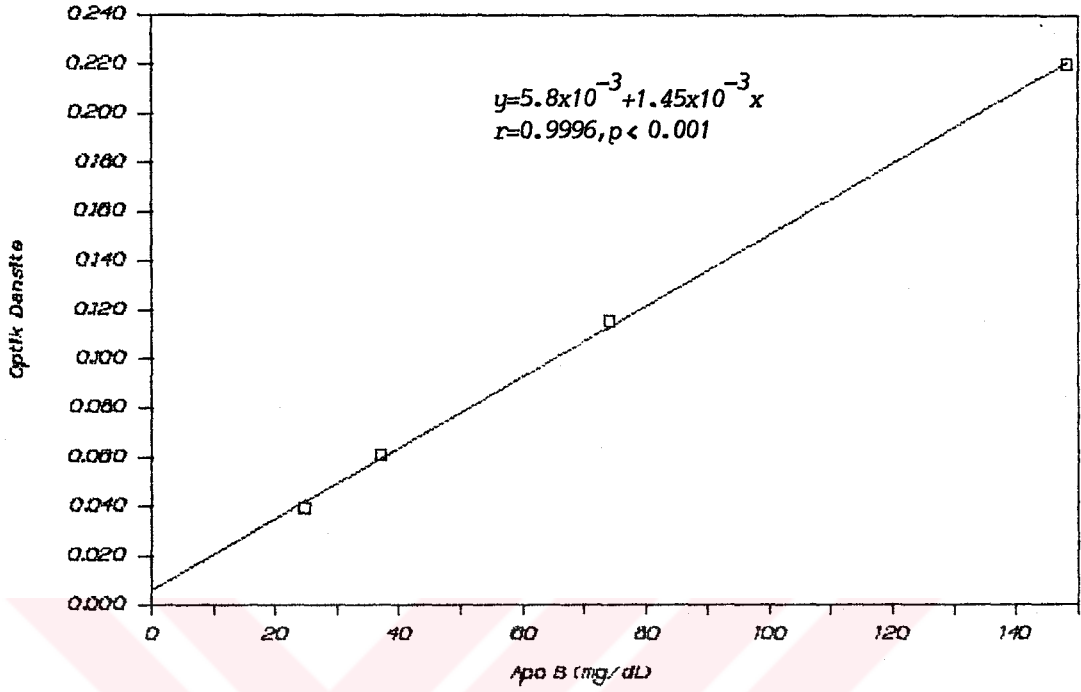
Immünoturbidimetrik metodun prensibi, plazma örneklerinin, Apo A₁ ve Apo B'ye spesifik antiseralarla inkübasyonu sonucu oluşan immunopresipitasyonların (Antijen-antikor kompleksleri), 340 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır(148).

Apo A₁ ve Apo B standart serilerine ait referans konsantrasyonları x-eksenine, bunlara karşılık gelen 340 nm'deki absorbans değerleri de y eksenine işaretlenerek, Apo A₁ ve Apo B kalibrasyon eğrileri çizildi (Şekil 13,14). Değerlendirme bu eğriler üzerinden yapıldı, sonuçlar mg/dl olarak verildi.

Plazma Apo A₁ ve Apo B değerleri kullanılarak çalışma gruplarının Apo A₁/Apo B oranları hesaplandı.



Şekil 13. Apo A₁ Standart Eğrisi



Şekil 14. Apo B Standart Eğrisi

3.2.8. HEPATİK LİPAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ(7,68)

Hepatik lipaz (HL) aktivitesi tayininde kullanılan KC homojenatları ASSMANN (7) tarafından geliştirilen ve HANSSON(68) tarafından modifiye edilen metoda göre hazırlandı. Metodun laboratuvarımızda uygulanması sırasında da, kısmen değişiklikler yapıldı.

KC Homojenatlarının Hazırlanması: Deney günü, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş olan KC'ler çözdürüldü. KC'lerin sol lobundan parça alınarak soğuk 154 mM NaCl içinde 3 kez yıkandı. Daha sonra, her bir KC parçasından yaklaşık 1.0 g tartıldı ve 5.0 ml soğuk Krebs-Ringer/Hepes tamponu ($\text{pH}=7.4$) ile buz banyosu içerisinde, teflon uçlu homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Homojenat 4000g 'de 15 dakika $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildikten sonra, yüzen yağları ve sitozol fraksiyonlarını içeren süpernatant atıldı. Mikrozomal fraksiyonun üzerine, ml'inde 15 İÜ Heparin içeren soğuk 0.1 M Tris (HCl) tamponundan ($\text{pH}=9.0$), 5 ml ilave edildi. Karışım süspansiyon edildi. 45 dakika buz banyosunda bekletildi. İnkübasyon sırasında karışım 15 dakika arayla homojenizatörde karıştırıldı. Daha sonra, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 4000g 'de 15 dakika tekrar santrifüj edildi. Süpernatant, HL aktivitesi tayininde kullanılmak üzere, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu. Bu

işlemler çalışma gruplarının hepsi için yapıldıktan sonra, dondurulmuş süpernatantlar çözdürüldü ve HL aktivitesi tayinine geçildi.

HL aktivitesi, serum lipaz aktivitesinin ölçülmesinde kullanılan titrimetrik Sigma-800 Kiti'nin KC homojenatlarından elde edilen süpernatantlara uygulanmasıyla tayin edildi.

Sigma metodunun prensibi, zeytinyağındaki trigliseridlerin lipaz tarafından yağ asitleri, digliseridler ve küçük bir kısmının monogliseridler ile gliserole hidrolizlenmesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyon sonucu açığa çıkan yağ asitlerinin miktarı, numunedeki lipaz aktivitesinin bir ölçüsüdür.

ÇALIŞMA

Zeytinyağı içeren substratla, 3 saat 37 °C'de inkübe edilen süpernatantlar, daha sonra 0.05 N NaOH ile titre edildi.

Lipaz Sigma-Tietz Ünitesi, inkübasyon sonucu açığa çıkan yağ asitlerini nötralize etmek için harcanan 0.05 N NaOH'ın miktarına (ml) eşit kabul edildiğinden, her bir süpernatanın Lipaz Sigma-Tietz Ünitesi/ml bulundu. Daha sonra bu üniteler, "280" faktörü ile çarpılarak internasyonal üniteye (mÜ/ml) çevrildi.

KC homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda, LOWRY yöntemi ile protein tayini yapıldı(107). Standart olarak BSA kullanıldı. Sonuçlar mg protein/ml olarak bulundu.

Çalışma gruplarının KC'lerinde, miligram protein başına düşen HL aktivitesi hesaplanarak, sonuçlar spesifik aktivite şeklinde değerlendirildi (mÜ HL/mg protein).

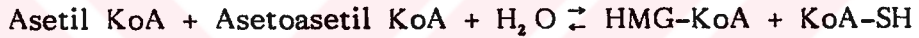
Çalışmada, modifiye ederek kullandığımız metodun, tekrarlanabilirliğini ölçmek için; kontrol gruplarına ait süpernatantlardan bir kısmı birleştirilerek, bir süpernatant havuzu oluşturuldu. Bu havuzdan 10 ölçüm yapılarak, HL aktivitesi tayin edildi. Metodun CV değeri % 3.52 olarak bulundu.

HL (mÜ/mg protein)		
n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	43.69 ± 1.54	3.52

n : Deneş sayısı
 $\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm Standart sapma
 CV : Değişme katsayısı

3.2.9. HMG-KoA SENTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ(33,34,35)

HMG-KoA Sentaz aktivitesi, CLINKENBEARD(34) tarafından modifiye edilen spektrofotometrik metod kullanılarak, KC homojenatlarında tayin edildi.



Metodun prensibi, reaksiyon denkleminde görüldüğü gibi, HMG-KoA Sentaz tarafından katalizlenen HMG-KoA sentezinin, asetoasetil KoA'nın tüketilmesine bağımlı olarak, 300 nm'de izlenmesi esasına dayanır(34). Asetoasetil-KoA'nın tüketilmesi ise, asetil-KoA konsantrasyonu ile ilişkilidir. Asetil-KoA'nın yaklaşık, % 70'i reaksiyona girinceye kadar, zamana karşı lineer bir azalma gösteren, 300 nm'deki OD değişimi, enzim konsantrasyonu ile orantılıdır(34).

ÇÖZELTİLER

1. Homojenize edici tampon, pH=7.2
0.25 M sukroz, 0.1 mM EDTA ve 2.0 mM HEPES içermektedir
2. 0.2 M Tris (Cl⁻) tamponu, pH=8.0 (0.2 mM EDTA içermektedir)
3. 10.0 mM Asetil-KoA, pH=4.5
4. 1.0 mM Asetoasetil-KoA, pH=4.5
5. 1.0 M MgCl₂ .6H₂O

KC Homojenatlarından Sitoplazmik Fraksiyonun Hazırlanması: Çalışma günü, -20 °C'de dondurulmuş olarak saklanan KC'ler çözdürüldü. KC'lerden bir parça kesilerek, soğuk 154 mM NaCl içinde 3 kez yıkandı. Daha sonra, her bir KC parçasından, yaklaşık 1.0 g tartıldı ve 5.0 ml homojenize edici tampon (pH=7.2) ile buz banyosu içerisinde süspansiyon edildi. Süspansiyon, teflon uçlu

homojenizatörle, gene buz banyosu içerisinde, homojenize edilerek, KC homojenatları hazırlandı.

Homojenat, 11.300xg'de 15 dakika 4 °C'de santrifüj edildikten sonra, partiküllü ve sitoplazmik kısım ayrıldı. Süpernatantların (sitoplazmik fraksiyon) hacmi ölçülerek, % 0.2 (w/v) olacak şekilde, triton X-100 ilave edilip iyice karıştırıldı. Buz banyosunda bekletilen bu süpernatantlar, başka hiç bir işlem yapılmaksızın, aynı gün enzim tayininde kullanıldı(33,34).

ÇALIŞMA

Deneyin tamamı 30 °C'de yürütüldü. 1.0 ml'lik total hacim içerisinde, 100 µmol tris, 0.1 µmol EDTA, 0.2 µmol asetil-KoA, 0.05 µmol asetoasetil-KoA ve 20 µmol MgCl₂.6H₂O olacak şekilde gerekli pipetlemeler yapıldı:

0.50 ml 0.2 M Tris (Cl⁻) tamponu (pH=8.0)

0.05 ml 1.0 mM Asetoasetil-KoA

0.02 ml 1.0 M MgCl₂.6H₂O

0.41 ml Süpernatant (homojenize edici tamponla 1/8 oranında dilüe edildikten sonra kullanıldı).

30 °C'de yapılan 2 dakikalık ön inkübasyondan sonra, deney ortamına, 0.02 ml 1.0 mM asetil-KoA ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Spektrofotometrede, 300 nm dalga boyunda, deiyonize su körüne karşı, absorbanstaki azalma, 5 dakika süreyle izlendi. Dakikadaki optik dansite değişimi (ΔOD/dk) hesaplandı.

1 Ünite HMG-KoA sentaz, standart deney şartlarında, dakikada bir µmol HMG-KoA oluşumunu katalizleyen enzim aktivitesidir (Ü/L= µmol/dk/L)(34).

HESAPLAR

$$\dot{U}/L = \frac{\text{Numune } \Delta OD/dk}{\epsilon} \times \frac{\text{Total hacim}}{\text{Numune hacmi}} \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{\text{mol}} \times \text{dilüsyon faktörü}$$

Asetoasetil-KoA'nın molar absorbtivite katsayısı (ε): 16.1x10³ M⁻¹cm⁻¹, dir (34).

Deney sistemimiz için:

$$\dot{U}/L = \frac{\Delta OD/dk}{16.1 \times 10^3} \times \frac{1.0}{0.41} \times \frac{10^6}{1} \times 8$$

$$\dot{U}/L = \Delta OD/dk \times 1.212 \times 10^3$$

$$\dot{U}/ml = \Delta OD/dk \times 1.212$$

$$m\dot{U}/ml = \Delta OD/dk \times 1.212$$

Saf olmayan enzim preparatlarında, tiyolaz ve sentaz aktivitesi olduğu için; HMG-KoA sentaz aktivitesi, asetoasetil-KoA'nın tüketim hızının yarısına eşit olmaktadır. Tiyolaz tarafından katalizlenen asetoasetil-KoA'nın, HMG-KoA sentezi sırasında açığa çıkan KoA'ya bağımlı tüketimini, bertaraf edebilmek için, HMG-KoA sentaz aktivitesi "2" faktörü ile çarpılır(33,34).

$$m\dot{U}/ml = \Delta OD/dk \times 2424$$

Enzim aktivitesi tayin edilen süpernatantlarda, LOWRY yöntemi ile, protein tayini yapıldı(107). HMG-KoA sentaz aktiviteleri, spesifik aktivite (mÜ/mg protein) şeklinde verildi.

Kontrol gruplarına ait süpernatantların bir kısmı birleştirilerek hazırlanan süpernatant havuzunda, enzim aktivitesi tayin edildi. Metodun CV değeri % 3.86 olarak bulundu.

HMG-KoA sentaz (mÜ/mg protein)

n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	1.992 \pm 0.077	3.86

n : Deney sayısı

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm standart sapma

CV : Değişme katsayısı

3.2.10. ASETOASETİL-KoA (AcAc-KoA) TİYOLAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ(32,34)

AcAc-KoA tiyolaz aktivitesi, CLINKENBEARD ve ark(32,34)'nın geliştirdiği metod kullanılarak, KC homojenatlarının sitoplazmik fraksiyonunda tayin edildi.



Metodun prensibi, reaksiyon denkleminde görüldüğü gibi, tiyolaz tarafından katalizlenen asetoasetil-KoA sentezinin, Mg^{+2} iyonları varlığında, 303 nm'de, optik dansite artışına bağlı olarak izlenmesine dayanır. Kondenzasyon reaksiyonunun ilk hızı, enzim konsantrasyonu ile orantılıdır(34).

ÇÖZELTİLER

1. 0.2 M Tris (glisin) tamponu, pH=8.8
2. 8.2 mM Asetil-KoA, pH=4.5
3. 1.0 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
4. Homojenize edici tampon, pH=7.2
0.25 M sukroz, 0.1 mM EDTA ve 2.0 mM HEPES içermektedir.

ÇALIŞMA

AcAc-KoA tiyolaz aktivitesi, HMG-KoA sentaz için hazırlanmış olan KC homojenizatlarının sitoplazmik fraksiyonunda ölçüldü. Süpernatant, homojenize edici tamponla 100 kere dilüe edildikten sonra kullanıldı. Deneyin tamamı 30 °C'de yapıldı.

1.0 ml'lik total hacim içerisinde, 100 μmol tris, 0.82 μmol asetil-KoA ve 50 μmol $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ olacak şekilde gerekli pipetlemeler yapıldı:

0.50 ml 0.2 M Tris (glisin) tamponu (pH=8.8) .

0.10 ml 8.2 mM Asetil-KoA

0.05 ml 1.0 μ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

30 °C'de ön inkübasyon yapıldıktan sonra, deney karışımına, 0.35 ml süpernatant ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Spektrofotometrede 303 nm dalga boyunda, deiyonize su körüne karşı, OD artışı en azından 3 dakika boyunca gözlemlendi. Dakikadaki OD değişimi ($\Delta\text{OD}/\text{dk}$) hesaplandı.

1 Ünite AcAc-KoA tiyolaz, standart deney şartlarında, dakikada 1 μmol asetoasetil-KoA'nın oluşumunu katalizleyen enzim aktivitesidir ($\text{Ü/L} = \mu\text{mol}/\text{dk/L}$) (34).

HESAPLAR

$$\dot{U}/L = \frac{\text{Numune } \Delta OD/dk}{\epsilon} \times \frac{\text{Total hacim}}{\text{Numune hacmi}} \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{\text{mol}} \times \text{dilüsyon faktörü}$$

Bu deney şartlarında, asetoasetil-KoA'nın molarabsorbivite katsayısı (ϵ): $20.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ dir(32).

Deney sistemimiz için:

$$\dot{U}/L = \frac{\Delta OD/dk}{20.7 \times 10^3} \times \frac{1.0}{0.35} \times \frac{10^6}{1} \times 100$$

$$\dot{U}/L = \Delta OD/dk \times 13.803 \times 10^3$$

$$\dot{U}/\text{ml} = \Delta OD/dk \times 13.803$$

$$m\dot{U}/\text{ml} = \Delta OD/dk \times 13803$$

Enzim aktivitesi tayin edilen süpernatantlarda, LOWRY yöntemi ile protein tayini yapıldı(107). Standart olarak BSA kullanıldı. AcAc-KoA tiyolaz aktivite-leri, spesifik aktivite (mÜ/mg protein) şeklinde verildi.

Enzim aktivitesi tayininde kullandığımız metodun, tekrarlanabilirliğini ölçmek için, kontrol gruplarına ait süpernatantlardan bir kısmı birleştirilerek bir süpernatant havuzu oluşturuldu. Bu havuzdan 10 ölçüm yapılarak, AcAc-KoA tiyolaz aktivitesi tayin edildi. Metodun CV değeri % 4.92 olarak bulundu.

AcAc-KoA tiyolaz (mÜ/mg protein)

n	$\bar{X} \pm SD$	CV(%)
10	213.33 \pm 10.51	4.92

n : Deney sayısı

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama \pm standart sapma

CV : Değişme katsayısı

İstatistiksel hesaplamalarda, "Student's t" testi kullanılarak, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi yapıldı. Çalışma gruplarının parametreleri arasında regresyon analizleri uygulandı(168).

4. BULGULAR

EÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılan bu çalışmada, EÜ Deneysel Klinik Araştırma Birimi'nden temin edilen Swiss albino, 75-85 günlük, 100-180 g ağırlığında 103 dişi rat kullanılmıştır.

Ratlar, kısa süreli (15 gün; n=50) ve uzun süreli (120 gün; n=53) çalışma için, iki gruba ayrılmış ve her bir grup kendi içinde, DD NEA; YD NEA; DD LNG ve YD LNG verilen gruplar şeklinde 4 alt gruba bölünmüştür. Ayrıca kısa ve uzun süreli çalışmalar için, birer kontrol grubu oluşturulmuştur. Böylece toplam 103 rat, her biri 10-11 rat içeren, 10 gruba bölünerek, deney planlanmıştır.

Deney süresi boyunca, kısa süre DD LNG grubuna ait bir rat, kendiliğinden öldüğü için, toplam 102 ratla çalışma tamamlanmıştır.

Çalışma gruplarının dağılımı ile birlikte, deney öncesi ve sonrası ağırlıkları, Tablo V'de gösterilmiştir.

Kısa süreli çalışmada, her bir grup, deney öncesi ve sonrası ratların ağırlığı bakımından karşılaştırıldığında; 15 gün içerisinde, kontrol grubunda bir miktar artma, DD LNG grubunda hafif bir artma, DD NEA, YD NEA ve YD LNG gruplarında hafif bir azalma olmasına rağmen; aralarında istatistiksel bir farkın olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo V).

Tablo V. Çalışma Gruplarının, Deney Öncesi ve Sonrası Ağırlıklarının İstatistiksel Karşılaştırılması

GRUPLAR	n	ÖNCE		SONRA		p
		Ağırlık(g)		Ağırlık(g)		
		$\bar{X} \pm SD$	n	$\bar{X} \pm SD$		
KISA SÜRE	Kontrol grubu	109.5 ± 7.24	10	118 ± 12.95		*
	DD NEA grubu	106 ± 8.43	10	104 ± 14.68		*
	YD NEA grubu	115.5 ± 10.39	10	111 ± 13.90		*
	DD LNG grubu	116 ± 18.53	9	117.22 ± 20.17		*
	YD LNG grubu	152.5 ± 28.79	10	149.5 ± 30.50		*
UZUN SÜRE	Kontrol grubu	119.5 ± 9.26	10	170 ± 21.98	< 0.001	
	DD NEA grubu	122.72 ± 12.72	11	125.91 ± 11.14		*
	YD NEA grubu	113.0 ± 7.89	10	111.0 ± 12.20		*
	DD LNG grubu	128.63 ± 12.26	11	144.10 ± 15.46	< 0.02	
	YD LNG grubu	111.82 ± 9.81	11	113.18 ± 9.29		*

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Uzun süreli çalışmada ise, deney öncesi ve sonrası ağırlıkları bakımından gruplar karşılaştırıldığında; 120 günün sonunda, DD NEA, YD NEA, YD LNG gruplarında belirgin bir değişiklik olmamasına rağmen ($p > 0.05$); kontrol ve DD LNG gruplarının ağırlıklarının önemli ölçüde arttığı tesbit edilmiştir ($p < 0.001, p < 0.02$)(Tablo V).

Ayrıca uzun süreli çalışmada, E/P kombinasyonları verilen grupların deney sonrası ortalama ağırlıkları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; kontrol-DD NEA ($p < 0.001$); kontrol-YD NEA ($p < 0.001$); kontrol-DD LNG ($p < 0.01$) ve kontrol-YD LNG ($p < 0.001$) grupları arasındaki farkın istatistiki bakımdan önemli olduğu bulunmuştur.

Deney kapsamına alınan tüm gruplarda çalışılan parametre değerleri, Ek Tablo I, II, III, IV, V'de gösterilmiştir.

Kısa süreli çalışmada, DD NEA verilen grubun biyokimyasal parametre değerleri, kontrol grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında; lipid peroksidasyonu, asetoasetat, FL, total kolesterol, LDL-kol seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği saptanmıştır ($p < 0.001$). TG ($p < 0.025$), HMG-KoA sentaz ($p < 0.005$) ve AcAc-KoA tiyolaz ($p < 0.05$) seviyelerindeki artışın da istatistiki bakımdan anlamlı olduğu görülmüştür. Buna karşılık, HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0.005$). Kontrol grubuna göre, HDL₂-kol seviyesi, HL aktivitesi ve Apo A₁/B oranındaki azalmanın; Apo A₁ ve Apo B değerlerindeki yükselmenin istatistiki bakımdan önem taşımadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$) (Tablo VI).

Kısa süreli çalışmada, YD NEA verilen grubun lipid peroksidasyonu, asetoasetat, TG, FL, total kolesterol, LDL-kol, Apo A₁, HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz seviyeleri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek ($p < 0.001$); HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile HL aktivitesi ($p < 0.005$) önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Buna karşılık, Apo A₁ ve B seviyelerindeki yükselmenin, HDL₂-kol değerindeki azalmanın istatistiki karşılaştırmada anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo VI).

Kısa süreli çalışmada, DD LNG verilen grupta, asetoasetat ile FL ($p < 0.001$), HMG-KoA sentaz ($p < 0.02$) ve lipid peroksidasyonu, TG, LDL-kol ($p < 0.05$) seviyeleri, kontrol grubuna göre, önemli ölçüde yüksek; HL aktivitesi ise önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p < 0.005$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, total kolesterol, HDL₂-kol, Apo A₁, Apo B seviyeleri ve Apo A₁/B oranı yüksek; HDL-kol, HDL₃-kol, AcAc-KoA tiyolaz seviyeleri düşük olmasına rağmen, istatistiki bakımdan anlamlı değildir ($p > 0.05$)(Tablo VI).

Kısa süreli çalışmada, YD LNG verilen grubun lipid peroksidasyonu, asetoasetat, TG, FL, total kolesterol, LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleri ($p < 0.005$) ve Apo A₁ değeri ($p < 0.01$), kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek; HDL-kol değeri ile HL aktivitesi ($p < 0.001$) ve HDL₃-kol ($p < 0.005$) seviyesi önemli derecede düşük bulunurken; HDL₂-kol, Apo B seviyeleri ve Apo A₁/B oranında önemli bir fark tespit edilememiştir ($p > 0.05$)(Tablo VI).

Tablo VI. Kısa Süreli Çalışmada, Düşük ve Yüksek Doz NEA ve LNG Verilen Gruplar İle Kontrol Grubunda Ölçülen Biyokimyasal Parametre Değerleri

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR				
	KONTROL GRUBU (n=10)	NEA GRUBU		LNG GRUBU	
		DÜŞÜK DOZ (n=10)	YÜKSEK DOZ (n=10)	DÜŞÜK DOZ (n=9)	YÜKSEK DOZ (n=10)
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	1.717 ± 0.377	2.551 ± 0.463 ^a	3.319 ± 0.553 ^a	2.250 ± 0.595 ^f	2.704 ± 0.422 ^a
Asetoasetat (nmol/ml)	49.05 ± 12.16	80.20 ± 17.01 ^a	96.26 ± 24.52 ^a	72.70 ± 19.51 ^a	114.41 ± 23.90 ^a
Trigliserid (mg/dl)	37.2 ± 7.23	49.9 ± 14.25 ^e	62.5 ± 11.79 ^a	47.44 ± 10.94 ^f	66.0 ± 15.15 ^a
Fosfolipid (mg/dl)	44.45 ± 3.58	73.37 ± 11.82 ^a	78.67 ± 13.62 ^a	66.44 ± 8.04 ^a	82.72 ± 10.81 ^a
Total kolesterol (mg/dl)	65.40 ± 10.41	82.10 ± 7.86 ^a	94.20 ± 14.51 ^a	70.88 ± 11.68	86.50 ± 12.50 ^a
LDL-kolesterol (mg/dl)	16.96 ± 6.52	39.14 ± 5.73 ^a	54.74 ± 12.85 ^a	23.77 ± 7.38 ^f	43.80 ± 9.20 ^a
HDL-kolesterol (mg/dl)	43.13 ± 5.07	35.83 ± 6.26 ^b	30.52 ± 4.23 ^a	40.34 ± 7.03	33.27 ± 5.35 ^a
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	15.57 ± 3.75	14.41 ± 4.62	12.32 ± 4.94	17.23 ± 5.48	13.20 ± 3.27
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	27.56 ± 3.56	21.42 ± 4.41 ^b	18.20 ± 3.61 ^a	23.11 ± 6.32	20.07 ± 5.82 ^b
Apo A ₁ (mg/dl)	37.04 ± 7.66	43.07 ± 6.03	58.53 ± 11.90 ^a	41.48 ± 4.08	46.13 ± 5.09 ^c
Apo B (mg/dl)	18.96 ± 6.56	21.85 ± 3.88	24.61 ± 5.46	19.13 ± 3.87	22.47 ± 5.77
Apo A ₁ /B (mg/dl)	2.06 ± 0.46	2.00 ± 0.35	2.53 ± 0.92	2.24 ± 0.52	2.19 ± 0.67
HL (mÜ/mg protein)	69.07 ± 32.43	59.48 ± 20.52	26.44 ± 14.03 ^b	28.56 ± 11.31 ^b	24.39 ± 9.36 ^a
HMG-KoA sentaz (mÜ/mg protein)	1.979 ± 0.356	2.634 ± 0.484 ^b	2.917 ± 0.637 ^a	2.483 ± 0.462 ^d	2.624 ± 0.460 ^b
AcAc-KoA tiyolaz (mÜ/mg protein)	226.44 ± 25.85	265.72 ± 51.14 ^f	373.21 ± 78.81 ^a	223.34 ± 42.10	293.68 ± 53.83 ^b

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. Önemlilik testi, kontrol grubu ile karşılaştırma şeklinde yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.005$; c: $p < 0.01$; d: $p < 0.02$; e: $p < 0.025$; f: $p < 0.05$, n: Denek sayısı

Uzun süreli çalışmada, DD NEA verilen grubun lipid peroksidasyonu, asetoasetat, FL, total ve LDL-kol, Apo A₁ seviyeleri ($p < 0.001$) ile TG değeri ($p < 0.01$), kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek; HL, HMG-KoA sentaz ($p < 0.001$) ve AcAc-KoA tiyolaz ($p < 0.025$) aktiviteleri ile HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri ($p < 0.005$) önemli ölçüde düşük bulunurken; HDL₂-kol, Apo B seviyeleri ile Apo A₁/B oranında önemli bir fark görülememiştir ($p > 0.05$)(Tablo VII).

Uzun süreli çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırılan YD NEA grubunun lipid peroksidasyonu, asetoasetat, FL, total ve LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile Apo B değeri ($p < 0.02$) önemli ölçüde yüksek; HDL-, HDL₂- ve HDL₃-kol, Apo A₁ seviyeleri ve Apo A₁/B oranı önemli ölçüde düşük ($p < 0.001$) bulunmuştur. Kontrol grubuna göre, sentaz ve tiyolaz aktiviteleri ile TG değerleri daha yüksek, HL aktivitesi daha düşük olmasına rağmen, bu farklılıklar istatistiksel bakımdan önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$)(Tablo VII).

Uzun süreli çalışmada, DD LNG verilen grubun, lipid peroksidasyonu, FL seviyeleri ($p < 0.001$) ve asetoasetat, Apo A₁ ($p < 0.02$) ile LDL-kol ($p < 0.0025$) değerleri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek; HL aktivitesi ve HDL₂-kol seviyesi önemli ölçüde düşük ($p < 0.005$) bulunurken; HDL-kol seviyesinin değişmediği ($p > 0.05$) gözlenmiştir. TG, total ve HDL₃-kol, Apo B, HMG-KoA sentaz seviyelerinde ve Apo A₁/B oranında görülen yükselmenin; AcAc-KoA tiyolaz aktivitesindeki azalmanın, istatistiksel karşılaştırmada anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo VII).

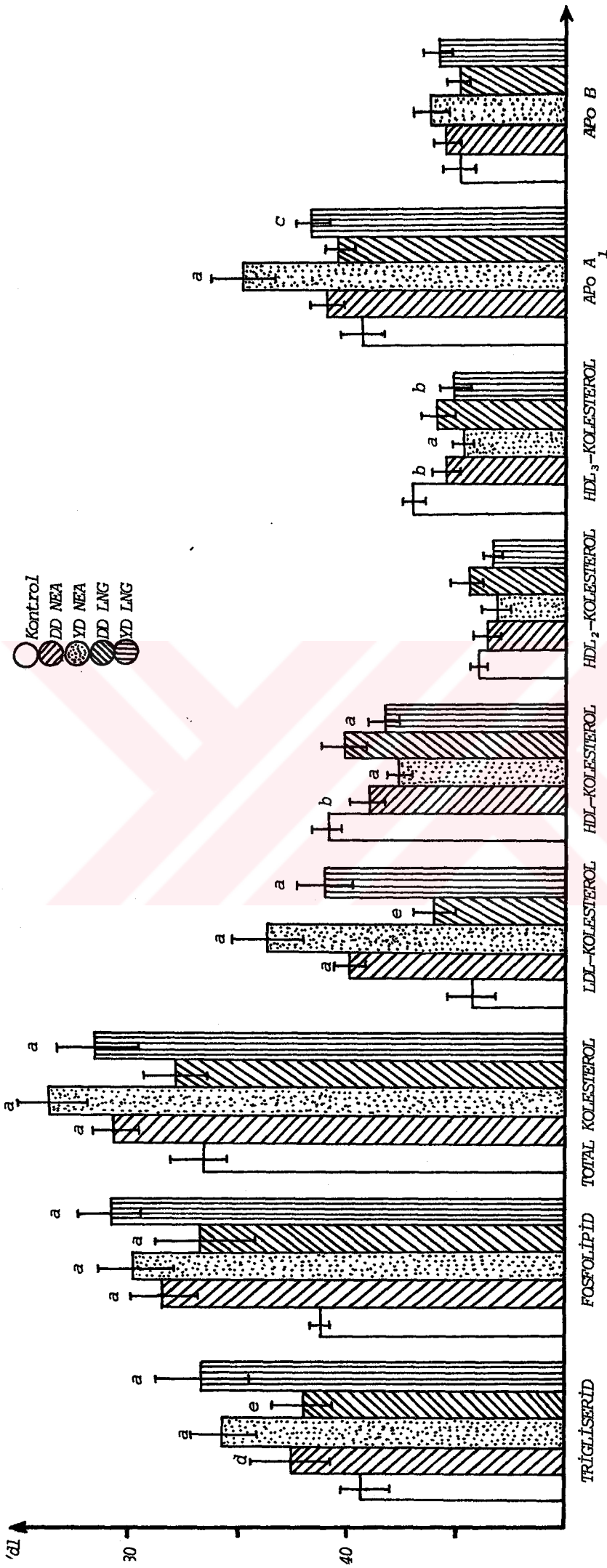
Uzun süreli çalışmada, YD LNG verilen grubun parametreleri kontrol grubu değerleriyle karşılaştırıldığında; lipid peroksidasyonu, asetoasetat, TG, FL, total ve LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile HL aktivitesi ($p < 0.02$) anlamlı şekilde yüksek; HDL, HDL₂-kol ($p < 0.001$) ve HDL₃-kol ile AcAc-KoA tiyolaz ($p < 0.005$) seviyeleri, ayrıca Apo A₁ değeri ($p < 0.025$) önemli derecede düşük bulunmuştur. Kontrol grubuna göre, Apo B seviyesindeki yükselme, HMG-KoA sentaz aktivitesi ile Apo A₁/B oranında görülen azalma, istatistiksel bakımdan önemli değildir ($p > 0.05$)(Tablo VII).

Kısa ve uzun süreli çalışma gruplarında ölçülen parametrelerin kontrol grubu değerleri ile karşılaştırılması; grafik şeklinde Şekil 15,16,17,18,19'da gösterilmiştir.

Tablo VII. Uzun Süreli Çalışmada, Düşük ve Yüksek Doz NEA ve LNG Verilen Gruplar İle Kontrol Grubunda Ölçülen Biyokimyasal Parametre Değerleri

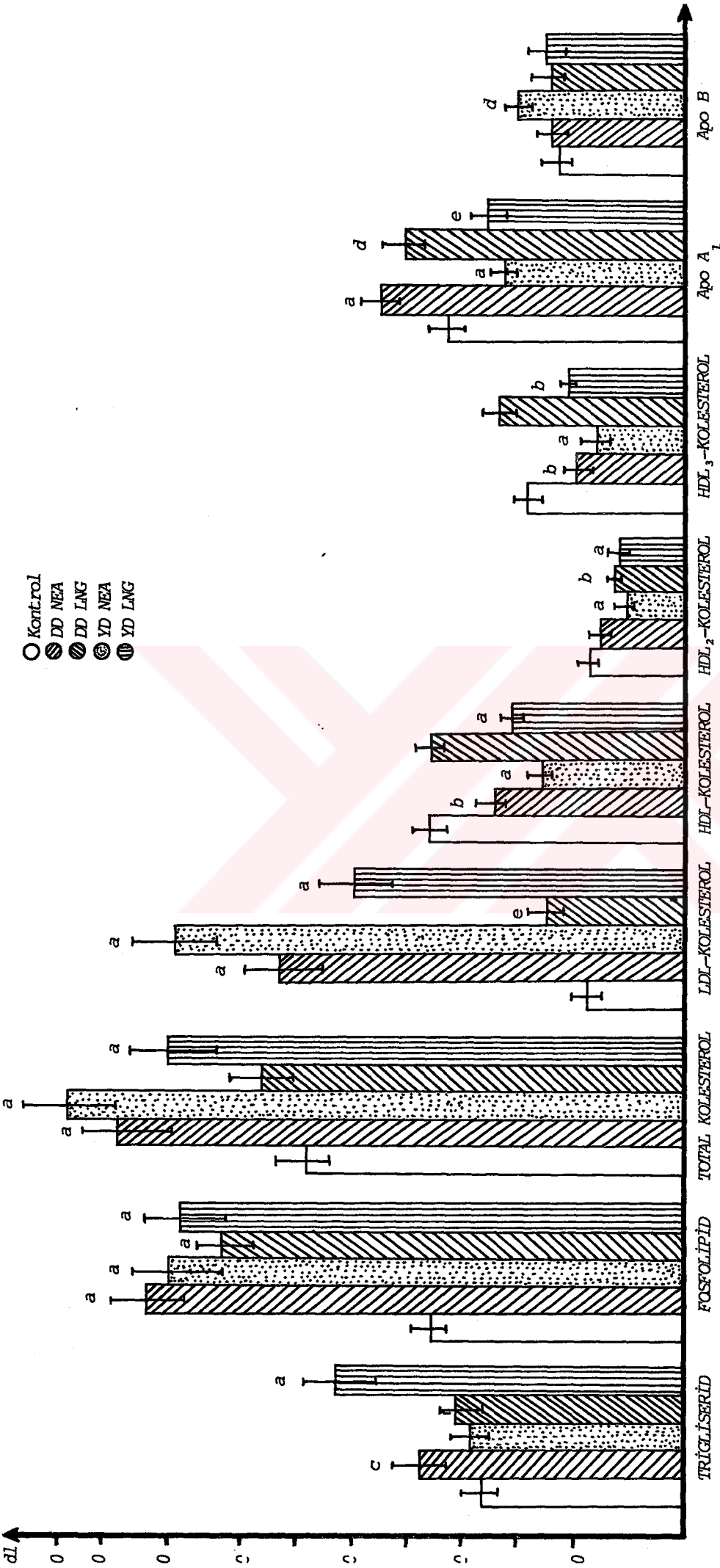
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR				
	KONTROL GRUBU (n=10)	NEA GRUBU		LNG GRUBU	
		DÜŞÜK DOZ (n=11)	YÜKSEK DOZ (n=10)	DÜŞÜK DOZ (n=11)	YÜKSEK DOZ (n=11)
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	1.535±0.260	2.403±0.687 ^a	2.950±0.426 ^a	2.104±0.388 ^a	2.479±0.389 ^a
Asetoasetat (nmol/ml)	50.32±14.04	88.15±18.76 ^a	92.15±21.86 ^a	73.69±24.6 ^d	93.01±16.36 ^a
Trigliserid (mg/dl)	36.3±5.39	47.27±10.81 ^c	38.9±6.92	41.0±7.82	62.54±14.16 ^a
Fosfolipid (mg/dl)	45.25±6.31	105.15±12.25 ^a	98.70±15.80 ^a	83.15±11.66 ^a	95.40±15.11 ^a
Total kolesterol (mg/dl)	68.0±12.36	114.18±17.58 ^a	127.3±16.41 ^a	76.0±12.13	99.36±15.52 ^a
LDL-kolesterol (mg/dl)	17.23±6.09	73.0±13.30 ^a	95.06±14.61 ^a	24.47±7.52 ^e	59.26±13.02 ^a
HDL-kolesterol (mg/dl)	45.59±7.64	34.42±6.31 ^b	25.68±4.98 ^a	45.67±5.74	31.16±4.39 ^a
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	17.20±3.68	15.42±3.85	10.60±3.64 ^a	12.39±2.81 ^b	10.55±3.28 ^a
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	28.39±5.85	19.0±5.25 ^b	15.08±4.55 ^a	33.28±6.25	20.61±2.62 ^b
Apo A ₁ (mg/dl)	42.81±6.26	54.61±7.33 ^a	32.33±4.40 ^a	50.87±6.79 ^d	35.17±7.87 ^e
Apo B (mg/dl)	22.68±6.71	23.64±5.92	29.86±5.13 ^d	23.76±6.43	24.77±7.49
Apo A ₁ /B	2.02±0.58	2.43±0.68	1.10±0.23 ^a	2.26±0.56	1.53±0.60
HL (mü/mg protein)	67.47±28.82	24.88±9.13 ^a	48.60±24.64	33.37±12.51 ^b	99.58±25.59 ^d
HMG-KoA sentaz (mü/mg protein)	2.164±0.325	1.481±0.426 ^a	2.412±0.580	2.231±0.586	1.780±0.464
AcAc-KoA tiyolaz (mü/mg protein)	227.39±38.53	190.20±30.6 ^e	232.42±34.18	213.59±48.20	164.82±36.21 ^b

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. Önemlilik testi, kontrol grubu ile karşılaştırma şeklinde yapıldı: a: p < 0.001; b: p < 0.005; c: p < 0.01; d: p < 0.02; e: p < 0.025; n: Denek sayısı



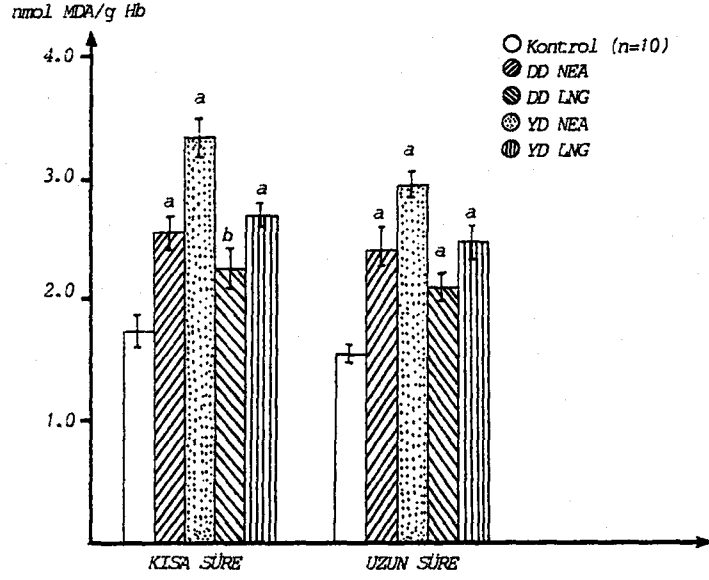
Şekil 15. Kısa Süreli Çalışma Gruplarının Plazmasında "mg/dl" Cinsinden Ölçülen Parametrelerin Grafik Şeklinde Gösterilmesi.

Değerler aritmetik ortalama \pm Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırma, kontrol grubu değerlerine göre yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.005$; c: $p < 0.01$; d: $p < 0.025$; e: $p < 0.05$

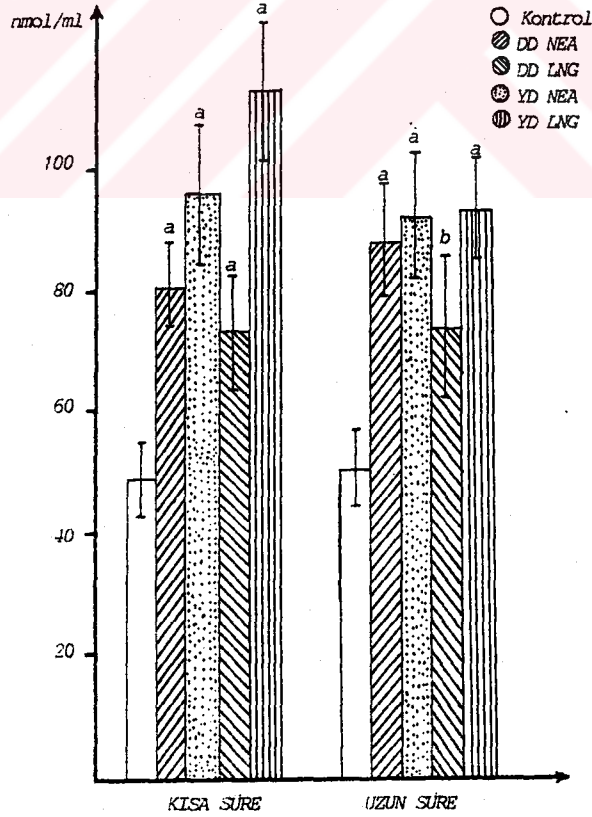


Şekil 16. Uzun Süreli Çalışma Kapsamına Alınan Grupların Plazmasında "mg/dl" Cinsinden Ölçülen Parametrelerin Grafik Şeklinde Gösterilmesi.

Değerler aritmetik ortalama \pm Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. İstatistikî karşılaştırma, kontrol grubu değerlerine göre yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.005$; c: $p < 0.02$; d: $p < 0.01$; e: $p < 0.025$.



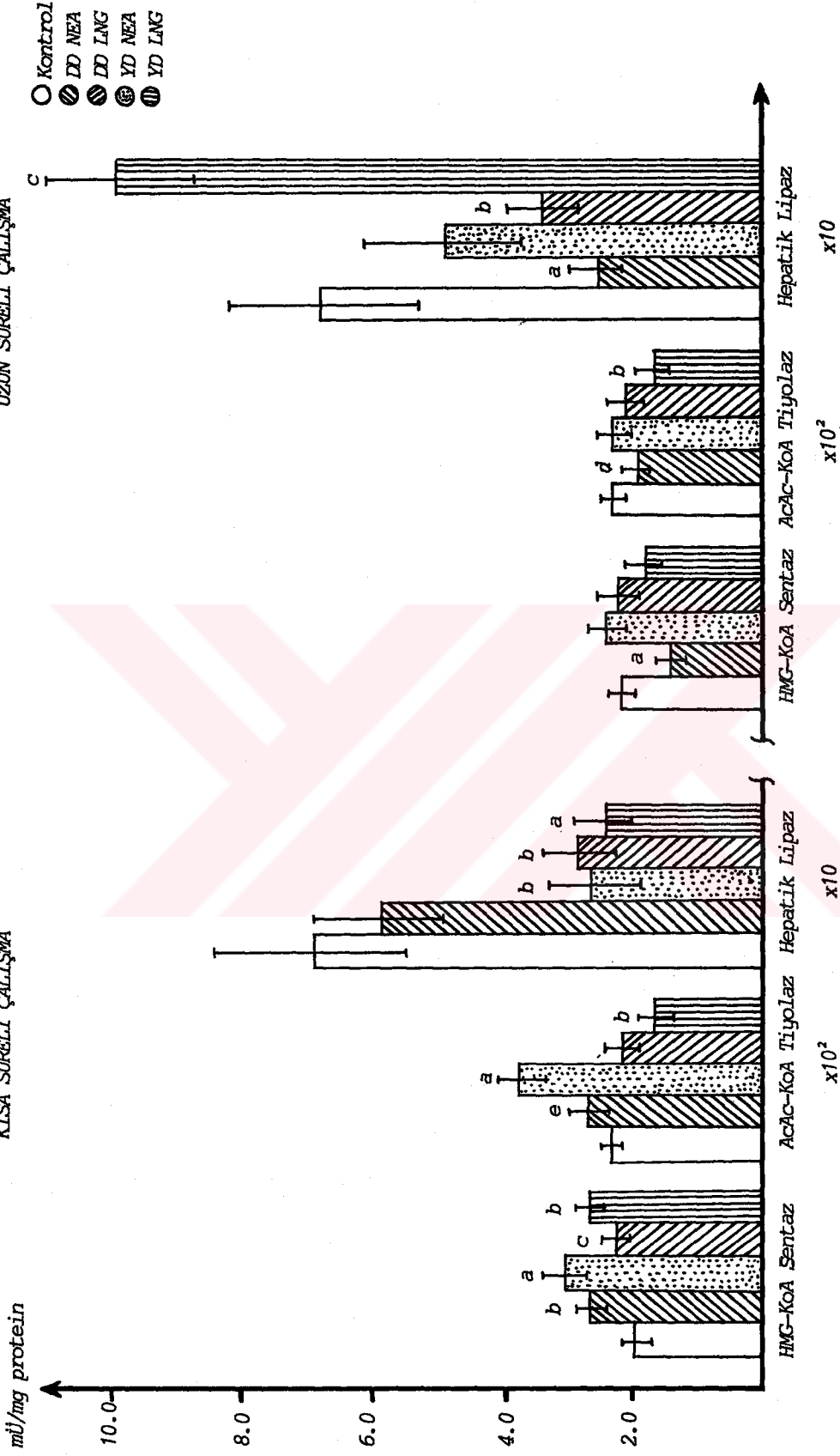
Şekil 17. Kısa ve Uzun Süreli Çalışma Kapsamına Alınan Gruplarda Ölçülen Lipid Peroksidasyonu Değerlerinin Grafik Şeklinde Gösterilmesi. Değerler, aritmetik ortalama \pm Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. İstatistikî karşılaştırma, kontrol grubu değerlerine göre yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.05$



Şekil 18. Kısa ve Uzun Süreli Çalışma Gruplarında Ölçülen Plazma Asetoasetat Seviyelerinin Grafik Şeklinde Gösterilmesi. Değerler aritmetik ortalama \pm Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. İstatistikî karşılaştırma, kontrol grubu değerlerine göre yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.02$.

KISA SÜRELİ ÇALIŞMA

UZUN SÜRELİ ÇALIŞMA



Şekil 19. Kısa ve Uzun Süreli Çalışma Kapsamına Alınan Gruplarda Ölçülen Enzim Aktivitelerinin (HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz, Hepatik lipaz), Grafik Şeklinde Gösterilmesi. Değerler, aritmetik ortalama \pm Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırma, kontrol grubu değerlerine göre yapıldı: a: $p < 0.001$; b: $p < 0.005$; c: $p < 0.02$; d: $p < 0.025$; e: $p < 0.05$

Kısa süreli çalışmada, düşük ve yüksek doz NEA verilen gruplar, birbiriyle karşılaştırıldığında; YD NEA verilen grubun lipid peroksidasyonu, LDL-kol, Apo A₁, tiyolaz seviyeleri ($p < 0.005$) ile TG ve total kolesterol değerleri ($p < 0.05$) önemli ölçüde yüksek; HL aktivitesi ($p < 0.001$) ile HDL-kol seviyesi ($p < 0.05$) önemli derecede düşük bulunmuştur. DD NEA verilen gruba göre, YD NEA grubunda, asetoasetat, FL, Apo B seviyeleri ile Apo A₁/B oranı ve sentaz aktivitesi daha yüksek; HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri daha düşük olmakla beraber, bu farklılıkların istatistiki bakımdan bir önemi olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo VIII).

Kısa süreli çalışmada, DD LNG grubuna göre, YD LNG verilen grupta, asetoasetat, LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile FL değeri ($p < 0.005$) ve TG ile AcAc-KoA tiyolaz seviyeleri ($p < 0.01$), total kolesterol ($p < 0.02$) ve Apo A₁ ($p < 0.05$) değerleri önemli ölçüde yüksek; HDL-kol seviyesi ise önemli derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Lipid peroksidasyonu, HMG-KoA sentaz, Apo B seviyelerindeki yükselme, HDL₂- ile HDL₃-kol değerleri, HL aktivitesi ve Apo A₁/B oranında görülen azalma, istatistiki bakımdan anlamlı değildir ($p > 0.05$)(Tablo VIII).

Uzun süreli çalışmada, düşük ve yüksek doz NEA verilen gruplar birbiriyle istatistiki olarak karşılaştırıldığında, YD NEA grubunda HMG-KoA sentaz ($p < 0.001$), LDL-kol ($p < 0.005$), HL ve tiyolaz ($p < 0.01$), Apo B ($p < 0.02$) ve lipid peroksidasyonu ($p < 0.05$) seviyelerindeki yükselmenin; Apo A₁ değeri ile Apo A₁/B oranı ($p < 0.01$) ve HDL-kol ($p < 0.005$), HDL₂-kol ($p < 0.01$) ile TG ($p < 0.05$) seviyelerindeki azalmanın, önemli olduğu bulunmuştur. YD NEA grubunda, asetoasetat, total kolesterol seviyeleri daha yüksek; FL ve HDL₃-kol değerleri daha düşük olmasına rağmen, bu farkların istatistiki bir önemi olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo IX).

Uzun süreli çalışmada, düşük ve yüksek doz LNG grupları karşılaştırıldığında, YD LNG grubunun TG, total ve LDL-kol seviyeleri ile HL aktivitesi ($p < 0.001$), asetoasetat ($p < 0.02$), lipid peroksidasyonu ve FL ($p < 0.05$) değerleri, DD LNG grubuna göre, önemli ölçüde yüksek; Apo A₁, HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri ($p < 0.001$), Apo A₁/B oranı ($p < 0.01$) ile AcAc-KoA tiyolaz aktivitesi ($p < 0.02$) önemli ölçüde düşük bulunurken; Apo B'deki artışın ve HDL₂-kol ile sentaz aktivitesindeki azalmanın önemli olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo IX).

Tablo VIII. Kısa Süreli Çalışmada, NEA ve LNG Gruplarının, Kendi İçlerinde, Verilen Doza Göre (DD-YD) Karşılaştırılmaları

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR					
	NEA GRUBU		p	LNG GRUBU		p
	DÜŞÜK DOZ (n=10)	YÜKSEK DOZ (n=10)		DÜŞÜK DOZ (n=9)	YÜKSEK DOZ (n=10)	
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.551 ± 0.463	3.319 ± 0.553	< 0.005	2.250 ± 0.595	2.704 ± 0.422	*
Asetoasetat (nmol/ml)	80.20 ± 17.01	96.26 ± 24.52	*	72.70 ± 19.51	114.41 ± 23.90	< 0.001
Trigliserid (mg/dl)	49.9 ± 14.25	62.5 ± 11.79	< 0.05	47.44 ± 10.94	66.0 ± 15.15	< 0.01
Fosfolipid (mg/dl)	73.37 ± 11.82	78.67 ± 13.62	*	66.44 ± 8.04	82.72 ± 10.81	< 0.005
Total kolesterol (mg/dl)	82.10 ± 7.86	94.20 ± 14.51	< 0.05	70.88 ± 11.68	86.50 ± 12.50	< 0.02
LDL-kolesterol (mg/dl)	39.14 ± 5.73	54.74 ± 12.85	< 0.005	23.77 ± 7.38	43.80 ± 9.20	< 0.001
HDL-kolesterol (mg/dl)	35.83 ± 6.26	30.52 ± 4.23	< 0.05	40.34 ± 7.03	33.27 ± 5.35	< 0.05
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	14.41 ± 4.62	12.32 ± 4.94	*	17.23 ± 5.48	13.2 ± 3.27	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	21.42 ± 4.41	18.20 ± 3.61	*	23.11 ± 6.32	20.07 ± 5.82	*
Apo A ₁ (mg/dl)	43.07 ± 6.03	58.53 ± 11.90	< 0.005	41.48 ± 4.08	46.13 ± 5.09	< 0.05
Apo B (mg/dl)	21.85 ± 3.88	24.61 ± 5.46	*	19.13 ± 3.87	22.47 ± 5.77	*
Apo A ₁ /B	2.00 ± 0.35	2.53 ± 0.92	*	2.24 ± 0.52	2.19 ± 0.67	*
HL (mü/mg protein)	59.48 ± 20.52	26.44 ± 14.03	< 0.001	28.56 ± 11.31	24.39 ± 9.36	*
HMG-KoA sentaz (mü/mg protein)	2.634 ± 0.484	2.917 ± 0.637	*	2.483 ± 0.462	2.624 ± 0.460	*
AcAc-KoA tiyolaz (mü/mg protein)	265.72 ± 51.14	373.21 ± 78.81	< 0.005	223.34 ± 42.10	293.68 ± 53.83	< 0.01

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) şeklinde verildi. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Tablo IX. Uzun Süreli Çalışmada, NEA ve LNG Gruplarının, Kendi İçlerinde, Verilen Doza Göre (DD-YD) Karşılaştırılmaları

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR					
	NEA GRUBU		p	LNG GRUBU		p
	DÜŞÜK DOZ (n=11)	YÜKSEK DOZ (n=10)		DÜŞÜK DOZ (n=11)	YÜKSEK DOZ (n=11)	
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.403±0.687	2.950±0.426	<0.05	2.104±0.388	2.479±0.389	<0.05
Asetoasetat (nmol/ml)	88.15±18.76	92.15±21.86	*	73.69±24.6	93.01±16.36	<0.02
Trigliserid(mg/dl)	47.27±10.81	38.9±6.92	<0.05	41.0±7.82	62.54±14.16	<0.001
Fosfolipid(mg/dl)	105.15±15.25	98.70±15.80	*	83.15±11.66	95.40±15.11	<0.05
Total kolesterol (mg/dl)	114.18±17.58	127.3±16.41	*	76.0±12.13	99.36±15.52	<0.001
LDL-kolesterol (mg/dl)	73.0±13.30	95.06±14.61	<0.005	24.47±7.52	59.26±13.02	<0.001
HDL-kolesterol (mg/dl)	34.42±6.31	25.68±4.98	<0.005	45.67±5.74	31.16±4.39	<0.001
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	15.42±3.85	10.60±3.64	<0.01	12.39±2.81	10.55±3.28	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	19.0±5.25	15.08±4.55	*	33.28±6.25	20.61±2.62	<0.001
Apo A ₁ (mg/dl)	54.61±7.33	32.33±4.40	<0.001	50.87±6.79	35.17±7.87	<0.001
Apo B (mg/dl)	23.64±5.92	29.86±5.13	<0.02	23.76±6.43	24.77±7.49	*
Apo A ₁ /B	2.43±0.68	1.10±0.23	<0.001	2.26±0.56	1.53±0.60	<0.01
HL(mü/mg protein)	24.88±9.13	48.60±24.64	<0.01	33.37±12.51	99.58±25.59	<0.001
HMG-KoA sentaz (mü/mg protein)	1.481±0.426	2.412±0.580	<0.001	2.231±0.586	1.780±0.564	*
AcAc-KoA tiyolaz (mü/mg protein)	190.20±30.60	232.42±34.18	<0.01	213.59±48.2	164.82±36.21	<0.02

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Kısa süreli çalışmada, DD NEA ve LNG verilen gruplar, birbiriyle karşılaştırıldığında ise, DD LNG verilen grubun LDL-kol değeri ve HL aktivitesi ($p < 0.001$) ile total kolesterol seviyesi ($p < 0.025$), DD NEA grubuna göre, önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Buna karşılık, DD LNG grubunda görülen lipid peroksidasyonu, asetoasetat, TG, FL, Apo A₁, Apo B seviyeleri ile sentaz ve tiyolaz aktivitelerindeki azalma; HDL-, HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri ile Apo A₁/B oranındaki yükselme, istatistiki bakımdan önemli değildir ($p < 0.05$) (Tablo X).

Kısa süreli çalışmada, YD NEA ve LNG verilen gruplar, birbiriyle karşılaştırıldığında ise, YD LNG grubunda Apo A₁ ($p < 0.01$), lipid peroksidasyonu ile tiyolaz ($p < 0.02$) ve LDL-kol ($p < 0.05$) seviyelerinin daha düşük olması, istatistiki bakımdan anlamlı bulunmuştur. YD LNG grubunda, total kolesterol, Apo B seviyeleri, Apo A₁/B oranı, HL ve sentaz aktiviteleri, YD LNG grubuna göre daha düşük; HDL-, HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri, asetoasetat, FL, TG değerleri daha yüksek olmasına rağmen, istatistiki bakımdan önemli değildir ($p > 0.05$)(Tablo X).

Uzun süreli çalışmada, DD NEA ve LNG grupları birbiriyle karşılaştırıldığında, DD LNG verilen grubun FL, total ve LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile HDL₂-kol değeri ($p < 0.05$), YD NEA grubuna göre, önemli derecede düşük; HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri ($p < 0.001$) ile HMG-KoA sentaz aktivitesi önemli ölçüde yüksek bulunurken; lipid peroksidasyonu, asetoasetat, TG, Apo A₁ seviyeleri ile Apo A₁/B oranındaki azalmanın ve HL ile AcAc-KoA tiyolaz aktivitesindeki yükselmenin istatistiki bakımdan anlamlı olmadığı, ayrıca Apo B seviyesinin her iki grupta da değişmediği görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo XI).

Uzun süreli çalışmada, YD NEA ve LNG verilen gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında, YD LNG grubunun TG, HL değerleri ($p < 0.001$), HDL₃-kol ($p < 0.005$) ve HDL-kol ($p < 0.02$) seviyeleri ile Apo A₁/B oranı ($p < 0.05$), YD NEA grubuna göre, önemli ölçüde yüksek; total ve LDL-kol değerleri ile, tiyolaz aktivitesi ($p < 0.001$) ve HMG-KoA sentaz aktivitesi ($p < 0.025$) önemli derecede düşük bulunurken; asetoasetat, Apo A₁ seviyelerindeki yükselmenin ve FL, Apo B değerlerindeki azalmanın istatistiki bakımdan anlamlı olmadığı; HDL₂-kol seviyesinin ise, her iki grupta da aynı olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$) (Tablo XI).

Tablo X. Kısa Süreli Çalışmada, NEA ve LNG Gruplarının Birbirleriyle Karşılaştırılması

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR					
	DÜŞÜK DOZ			YÜKSEK DOZ		
	NEA(n=10)	LNG(n=9)	p	NEA(n=10)	LNG(n=10)	p
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.551 ± 0.463	2.250 ± 0.595	*	3.319 ± 0.553	2.704 ± 0.422	< 0.02
Asetoasetat (nmol/ml)	80.20 ± 17.01	72.70 ± 19.51	*	96.26 ± 24.52	114.41 ± 23.90	*
Trigliserid(mg/dl)	49.9 ± 14.25	47.44 ± 10.94	*	62.5 ± 11.79	66.0 ± 15.15	*
Fosfolipid(mg/dl)	73.37 ± 11.82	66.44 ± 8.04	*	78.67 ± 13.62	82.72 ± 10.81	*
Total kolesterol (mg/dl)	82.10 ± 7.86	70.88 ± 11.68	<0.025	94.20 ± 14.51	86.50 ± 12.50	*
LDL-kolesterol(mg/dl)	39.14 ± 5.73	23.77 ± 7.38	<0.001	54.74 ± 12.85	43.80 ± 9.20	<0.05
HDL-kolesterol(mg/dl)	35.83 ± 6.26	40.34 ± 7.03	*	30.52 ± 4.23	33.27 ± 5.35	*
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	14.41 ± 4.62	17.23 ± 5.48	*	12.32 ± 4.94	13.20 ± 3.27	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	21.42 ± 4.41	23.11 ± 6.32	*	18.20 ± 3.61	20.07 ± 5.82	*
Apo A ₁ (mg/dl)	43.07 ± 6.03	41.48 ± 4.08	*	58.53 ± 11.90	46.13 ± 5.09	< 0.01
Apo B (mg/dl)	21.85 ± 3.88	19.13 ± 3.87	*	24.61 ± 5.46	22.47 ± 5.77	*
Apo A ₁ /B	2.00 ± 0.35	2.24 ± 0.52	*	2.53 ± 0.92	2.19 ± 0.67	*
HL (mü/mg protein)	59.48 ± 20.52	28.56 ± 11.31	<0.001	26.44 ± 14.03	24.39 ± 9.36	*
HMG-KoA sentaz (mü/mg protein)	2.634 ± 0.484	2.483 ± 0.462	*	2.917 ± 0.637	2.624 ± 0.460	*
AcAc-KoA tiyolaz (mü/mg protein)	265.72 ± 51.14	223.34 ± 42.10	*	373.21 ± 78.81	293.68 ± 53.83	< 0.02

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± Standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) şeklinde verildi. Önemlilik testi, DD verilen NEA-LNG; YD verilen NEA-LNG grupları arasında yapıldı. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Tablo XI. Uzun Süreli Çalışmada, NEA ve LNG Gruplarının Birbirleriyle Karşılaştırılması

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUPLAR					
	DÜŞÜK DOZ			YÜKSEK DOZ		
	NEA(n=11)	LNG(n=11)	p	NEA(n=10)	LNG(n=11)	p
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.403±0.687	2.104±0.388	*	2.950±0.426	2.479±0.389	<0.05
Asetoasetat (nmol/ml)	88.15±18.76	73.69±24.6	*	92.15±21.86	93.01±16.36	*
Trigliserid(mg/dl)	47.27±10.81	41.0±7.82	*	38.9±6.92	62.54±14.16	<0.001
Fosfolipid(mg/dl)	105.15±12.25	83.15±11.66	<0.001	98.70±15.80	95.40±15.11	*
Total kolesterol (mg/dl)	114.18±17.58	76.0±12.13	<0.001	127.3±16.41	99.36±15.52	<0.001
LDL-kolesterol(mg/dl)	73.0±13.30	24.47±7.52	<0.001	95.06±14.61	59.26±13.02	<0.001
HDL-kolesterol(mg/dl)	34.42±6.31	45.67±5.74	<0.001	25.68±4.98	31.16±4.39	<0.02
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	15.42±3.85	12.39±2.81	<0.05	10.60±3.64	10.55±3.28	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	19.0±5.25	33.28±6.25	<0.001	15.08±4.55	20.61±2.62	<0.005
Apo A ₁ (mg/dl)	54.61±7.33	50.87±6.79	*	32.33±4.40	35.17±7.87	*
Apo B (mg/dl)	23.64±5.92	23.76±6.43	*	29.86±5.13	24.77±7.49	*
Apo A ₁ /B	2.43±0.68	2.26±0.56	*	1.10±0.23	1.53±0.60	<0.05
HL (mU/mg protein)	24.88±9.13	33.37±12.51	*	48.60±24.64	99.58±25.59	<0.001
HMG-KoA sentaz (mU/mg protein)	1.481±0.426	2.231±0.586	<0.005	2.412±0.580	1.780±0.564	<0.025
AcAc-KoA tiyolaz (mU/mg protein)	190.20±30.60	213.59±48.20	*	232.42±34.18	164.82±36.21	<0.001

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama±standart sapma ($\bar{X}\pm SD$) şeklinde verildi. Önemlilik testi, DD verilen NEA-LNG; YD verilen NEA-LNG grupları arasında yapıldı. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Kısa süre ve uzun süre DD NEA verilen gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında; ilacın uzun süre düşük dozda kullanıldığı grupta, FL, Apo A₁, total kolesterol ve LDL-kol seviyeleri, kısa süreli düşük doz NEA uygulanan gruba göre, önemli ölçüde yüksek ($p < 0.001$); HL, HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleri önemli ölçüde düşük ($p < 0.001$) bulunmuştur. Uzun süre DD NEA verilen grupta, asetoasetat, HDL₂-kol, Apo B seviyeleri ve Apo A₁/B oranı daha yüksek; lipid peroksidasyonu, TG, HDL- ve HDL₃-kol değerleri daha düşük olmasına rağmen, istatistiki karşılaştırmada, bu parametrelerdeki farklılığın önemli olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo XII).

Kısa ve uzun süre YD NEA verilen gruplar, birbiriyle karşılaştırıldığında, YD NEA'nın uzun süre kullanılması, TG, Apo A₁ seviyeleri, AcAc-KoA tiyolaz aktivitesi ile Apo A₁/B oranı ($p < 0.001$) ve HDL-kol değerini ($p < 0.05$) önemli ölçüde düşürürken; FL, total kolesterol, LDL-kol seviyeleri ($p < 0.001$), HL aktivitesi ($p < 0.025$) ve Apo B değerini ($p < 0.05$) önemli ölçüde yükselttiği belirlenmiştir. Sürenin uzamasıyla, lipid peroksidasyonu, asetoasetat, HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri ve sentaz aktivitesi azalmakla beraber, istatistiki karşılaştırma yapıldığında, bu parametrelerdeki süreye bağlı değişikliğin, anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$)(Tablo XII).

DD LNG verilen gruplar süreye göre karşılaştırıldığında, DD LNG'nin uzun süre kullanılması, FL, HDL₃-kol, Apo A₁ seviyelerini önemli ölçüde yükseltirken ($p < 0.005$), HDL₂-kol seviyesini önemli derecede düşürmüştür ($p < 0.05$). Uzun süre, düşük dozda ilaç uygulanan grubun asetoasetat, total kolesterol, LDL-kol ve HDL-kol seviyeleri, Apo B değeri ve HL aktivitesi, kısa süre DD LNG grubuna göre, daha yüksek; lipid peroksidasyonu, TG seviyeleri ile HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleri daha düşük olmasına rağmen, istatistiki karşılaştırmada, bu parametrelerdeki süreye bağlı değişikliğin önemli olmadığı görülmüş ve Apo A₁/B oranının her iki grupta da aynı olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$)(Tablo XIII).

Kısa ve uzun süre YD LNG verilen gruplar, birbiriyle karşılaştırıldığında, yüksek dozda kullanılan LNG'nin süreye bağımlı olarak, Apo A₁, AcAc-KoA tiyolaz seviyeleri ($p < 0.001$), HMG-KoA sentaz aktivitesi ($p < 0.005$), asetoasetat değeri ile Apo A₁/B oranını ($p < 0.05$) önemli ölçüde düşürdüğü; HL ($p < 0.001$), LDL-kol ($p < 0.01$) ve FL ile total kolesterol ($p < 0.05$) seviyelerini önemli

Tablo XII. Düşük ve Yüksek Doz NEA Gruplarının Süreye Göre (Kısa-Uzun) Karşılaştırılması

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	NEA GRUPLARI					
	DÜŞÜK DOZ NEA			YÜKSEK DOZ NEA		
	KISA SÜRE (n=10)	UZUN SÜRE (n=11)	p	KISA SÜRE (n=10)	UZUN SÜRE (n=10)	p
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.551 ± 0.463	2.403 ± 0.687	*	3.319 ± 0.553	2.950 ± 0.426	*
Asetoasetat (nmol/ml)	80.20 ± 17.01	88.15 ± 18.76	*	96.26 ± 24.52	92.15 ± 21.86	*
Trigliserid (mg/dl)	49.9 ± 14.25	47.27 ± 10.81	*	62.5 ± 11.79	38.9 ± 6.92	< 0.001
Fosfolipid (mg/dl)	73.37 ± 11.82	105.15 ± 12.25	< 0.001	78.67 ± 13.62	98.70 ± 15.80	< 0.01
Total kolesterol (mg/dl)	82.10 ± 7.86	114.18 ± 17.58	< 0.001	94.20 ± 14.51	127.3 ± 16.41	< 0.001
LDL-kolesterol (mg/dl)	39.14 ± 5.73	73.0 ± 13.30	< 0.001	54.74 ± 12.85	95.06 ± 14.61	< 0.001
HDL-kolesterol (mg/dl)	35.83 ± 6.26	34.42 ± 6.31	*	30.52 ± 4.23	25.68 ± 4.98	< 0.05
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	14.41 ± 4.62	15.42 ± 3.85	*	12.32 ± 4.94	10.60 ± 3.64	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	21.42 ± 4.41	19.0 ± 5.25	*	18.20 ± 3.61	15.08 ± 4.55	*
Apo A ₁ (mg/dl)	43.07 ± 6.03	54.61 ± 7.33	< 0.001	58.53 ± 11.90	32.33 ± 4.40	< 0.001
Apo B (mg/dl)	21.85 ± 3.88	23.64 ± 5.92	*	24.61 ± 5.46	29.86 ± 5.13	< 0.05
Apo A ₁ /B	2.00 ± 0.35	2.43 ± 0.68	*	2.53 ± 0.92	1.10 ± 0.23	< 0.001
HL (mÜ/mg protein)	59.48 ± 20.52	24.88 ± 9.13	< 0.001	26.44 ± 14.03	48.60 ± 24.64	< 0.025
HMG-KoA sentaz (mÜ/mg protein)	2.634 ± 0.484	1.481 ± 0.426	< 0.001	2.917 ± 0.637	2.412 ± 0.580	*
AcAc-KoA tiyolaz (mÜ/mg protein)	265.72 ± 51.14	190.20 ± 30.60	< 0.001	373.21 ± 78.81	232.42 ± 34.18	< 0.001

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) şeklinde verildi. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

Tablo XIII. Düşük ve Yüksek Doz LNG Gruplarının Süreye Göre (Kısa-Uzun) Karşılaştırılması

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	L N G G R U P L A R I					
	DÜŞÜK DOZ LNG			YÜKSEK DOZ LNG		
	KISA SÜRE (n=9)	UZUN SÜRE (n=11)	p	KISA SÜRE (n=10)	UZUN SÜRE (n=11)	p
Lipid peroksidasyonu (nmol MDA/g Hb)	2.250 ± 0.595	2.104 ± 0.388	*	2.704 ± 0.422	2.479 ± 0.389	*
Asetoasetat (nmol/ml)	72.70 ± 19.51	73.69 ± 24.6	*	114.41 ± 23.90	93.01 ± 16.36	< 0.05
Trigliserid(mg/dl)	47.44 ± 10.94	41.0 ± 7.82	*	66.0 ± 15.15	62.54 ± 14.16	*
Fosfolipid(mg/dl)	66.44 ± 8.04	83.15 ± 11.66	< 0.005	82.72 ± 10.81	95.40 ± 15.11	< 0.05
Total kolesterol (mg/dl)	70.88 ± 11.68	76.0 ± 12.13	*	86.50 ± 12.50	99.36 ± 15.52	< 0.05
LDL-kolesterol(mg/dl)	23.77 ± 7.38	24.47 ± 7.52	*	43.80 ± 9.20	59.26 ± 13.02	< 0.01
HDL-kolesterol(mg/dl)	40.34 ± 7.03	45.67 ± 5.74	*	33.27 ± 5.35	31.16 ± 4.39	*
HDL ₂ -kolesterol (mg/dl)	17.23 ± 5.48	12.39 ± 2.81	< 0.05	13.20 ± 3.27	10.55 ± 3.28	*
HDL ₃ -kolesterol (mg/dl)	23.11 ± 6.32	33.28 ± 6.25	< 0.005	20.07 ± 5.82	20.61 ± 2.62	*
Apo A ₁ (mg/dl)	41.48 ± 4.08	50.87 ± 6.79	< 0.005	46.13 ± 5.09	35.17 ± 7.87	< 0.001
Apo B (mg/dl)	19.13 ± 3.87	23.76 ± 6.43	*	22.47 ± 5.77	24.77 ± 7.49	*
Apo A ₁ /B	2.24 ± 0.52	2.26 ± 0.56	*	2.19 ± 0.67	1.53 ± 0.60	< 0.05
HL (mü/mg protein)	28.56 ± 11.31	33.37 ± 12.51	*	24.39 ± 9.36	99.58 ± 25.59	< 0.001
HMG-KoA sentaz (mü/mg protein)	2.483 ± 0.462	2.231 ± 0.586	*	2.624 ± 0.460	1.780 ± 0.564	< 0.005
AcAc-KoA tiyolaz (mü/mg protein)	223.34 ± 42.10	213.59 ± 48.2	*	293.68 ± 53.83	164.82 ± 36.21	< 0.001

Tablodaki değerler, aritmetik ortalama ± standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi. n: Denek sayısı, *: Önemli değil

derecede yükselttiği bulunmuştur. Uzun süre YD LNG kullanılan grupta, lipid peroksidasyonu, TG, HDL- ve HDL₂-kol seviyeleri, kısa süre YD LNG grubuna göre, daha düşük; Apo B değeri daha yüksek olmasına rağmen, bu parametrelerdeki süreye bağlı değişikliğin, istatistiki bakımdan önemli olmadığı, HDL₃-kol'ün de hiç değişmediği görülmüştür ($p > 0.05$)(Tablo XIII).

Deney kapsamına alınan tüm gruplarda, çalışılan parametreler arasında regresyon analizleri yapılarak, sonuçlar Tablo XIV'de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda (n=20); TG-T-kol, TG-LDL-kol, FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-HDL-kol, FL-HDL₃-kol, FL-Apo B, T-kol-LDL-kol, T-kol-HDL-kol, FL-HDL₂-kol, FL-HDL₃-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-HDL-kol, LDL-kol-HDL₃-kol, LDL-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₂-kol, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz parametreleri arasında pozitif bir ilişki; FL-asetoasetat, FL-lipid peroks.'u, T-kol-asetoasetat, T-kol-lipid peroks.'u, LDL-kol-lipid peroks.'u, HDL-kol-asetoasetat, HDL₃-kol-asetoasetat, Apo A₁-asetoasetat, Apo A₁-lipid peroks.'u ve Apo B-lipid peroks.'u arasında negatif bir ilişki olduğu saptanırken; diğer parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo XIV).

Kısa süre DD NEA verilen grupta (n=10); TG-FL, TG-asetoasetat, FL-asetoasetat, FL-T-kol, T-kol-HDL-kol, T-kol-HDL₃-kol, T-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₂-kol, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz parametreleri arasında pozitif bir ilişki; FL-HL ve asetoasetat-HL arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Tablo XIV)(Şekil 20).

Kısa süre YD NEA grubunda (n=10); TG-FL, TG-T-kol, TG-LDL-kol, TG-Apo B, FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-Apo B, FL-lipid peroks.'u, T-kol-LDL-kol, T-kol-Apo B, T-kol-lipid peroks.'u, LDL-kol-Apo B, LDL-kol-lipid peroks.'u HDL-HDL₂-kol, Apo B-lipid peroks.'u ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz parametreleri arasında pozitif bir ilişki bulunurken, diğer parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo XIV)(Şekil 21).

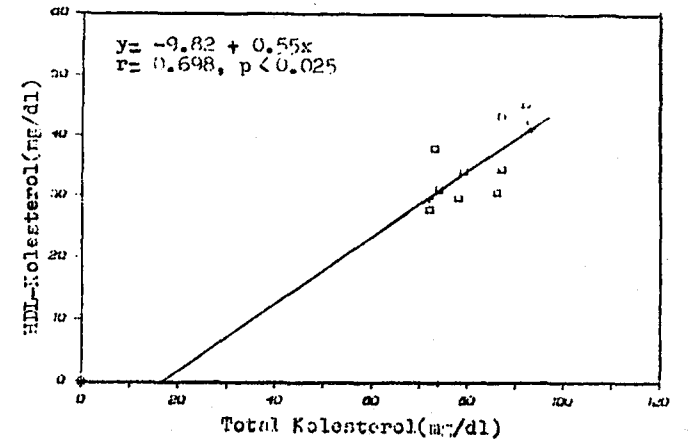
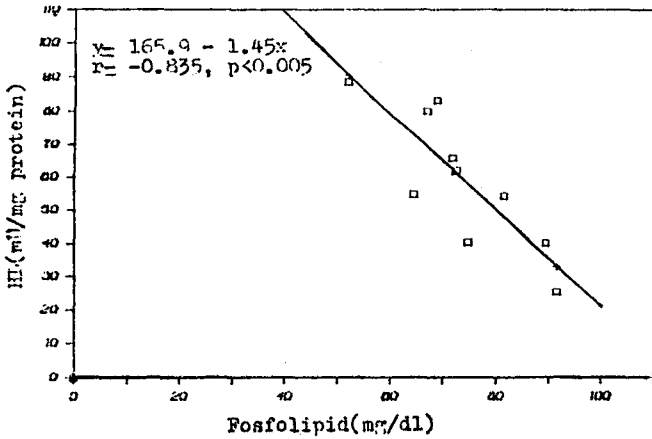
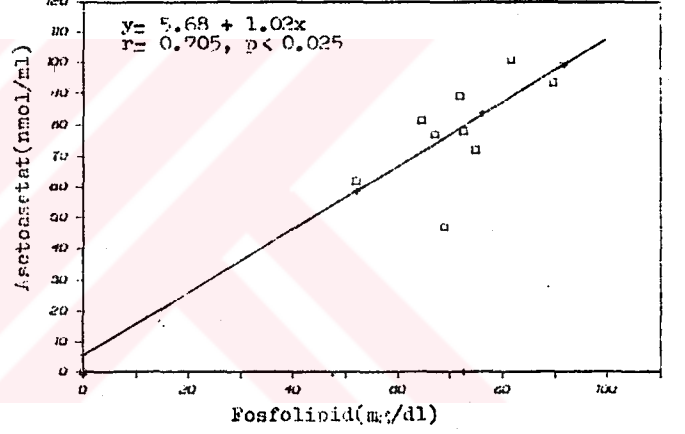
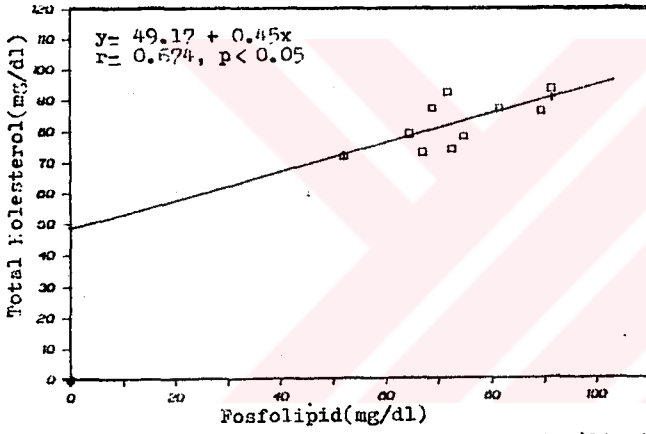
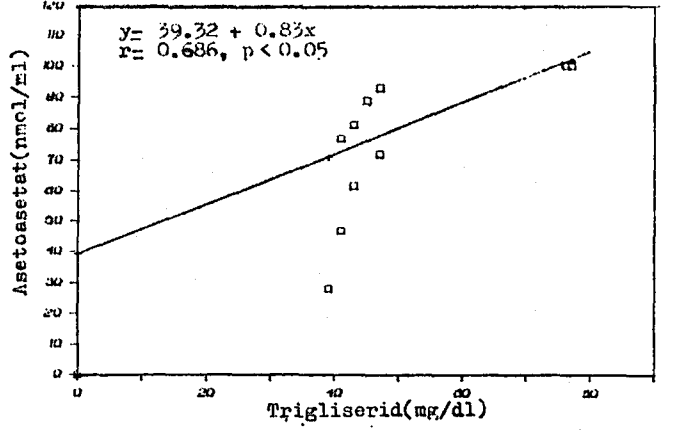
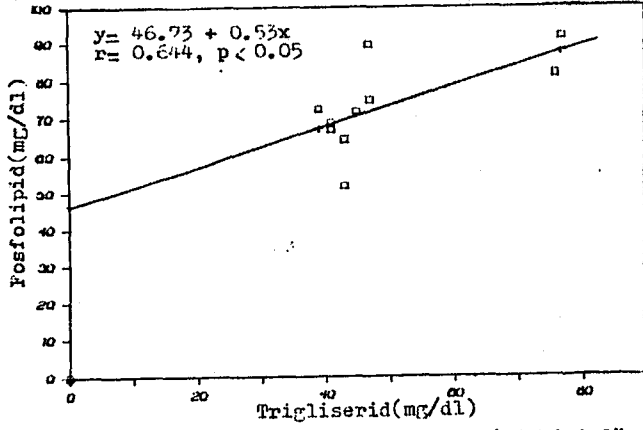
Kısa süre DD LNG grubunda (n=9); TG-FL, TG-HMG-KoA sentaz, TG-AcAc-KoA tiyolaz, FL-T-kol, FL-Apo B, FL-asetoasetat, T-kol-LDL-kol, T-kol-HDL-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B, LDL-kol-lipid peroks.'u, HDL-kol-

Tablo XIV. Çalışma Gruplarının Parametreleri Arasındaki Korelasyon

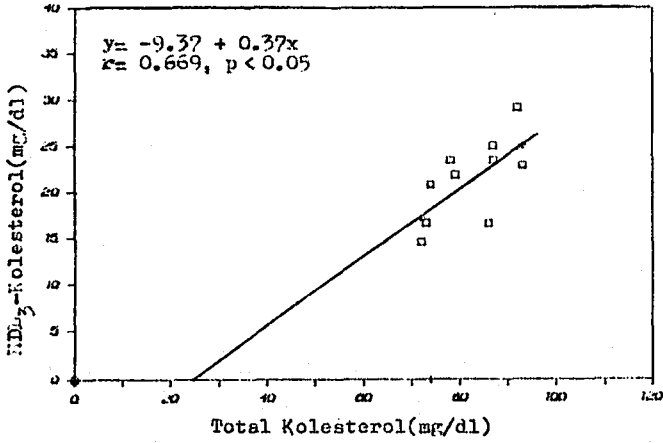
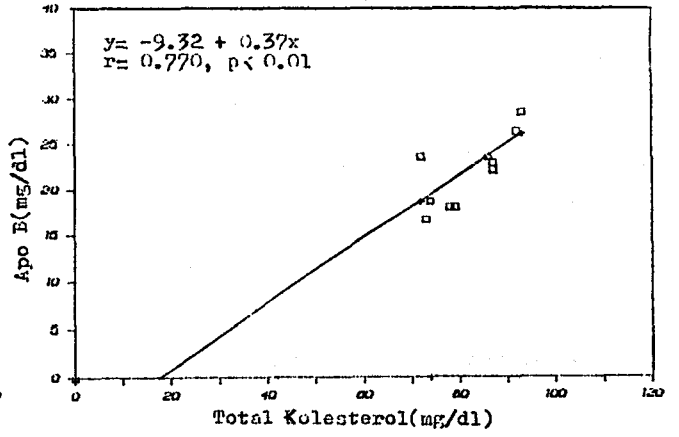
Parametreler	KISA SÜRE		KISA SÜRE		UZUN SÜRE		UZUN SÜRE										
	KONTROL GRUBU (n=20)		ID NEA(n=10)		ID LANG(n=9)		YD NEA(n=10)		ID LANG(n=11)		YD LANG(n=11)						
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p					
TG-PL	0.287 *		0.644 <0.05		0.713 <0.025		0.685 <0.05		0.604 *		0.451 *		0.374 *		0.536 *		0.495 *
TG-T-kol	0.520 <0.02		0.586 *		0.714 <0.025		0.564 *		0.667 <0.05		0.605 <0.05		0.198 *		0.667 <0.025		0.789 <0.005
TG-LDL-kol	0.516 <0.02		-0.203 *		0.751 <0.02		0.492 *		0.445 *		0.433 *		0.245 *		0.616 <0.05		0.619 <0.05
TG-HDL-kol	0.308 *		0.598 *		-0.228 *		0.198 *		0.388 *		0.530 *		-0.751 <0.02		0.407 *		0.493 *
TG-HDL ₂ -kol	0.158 *		0.512 *		-0.281 *		-0.140 *		0.397 *		-0.115 *		-0.209 *		-0.080 *		0.503 *
TG-HDL ₃ -kol	0.294 *		0.315 *		0.118 *		0.240 *		0.113 *		0.719 <0.02		-0.655 <0.05		0.410 *		0.193 *
TG-Apo A ₁	0.046 *		0.008 *		-0.413 *		-0.610 *		0.257 *		0.182 *		0.282 *		0.047 *		-0.286 *
TG-Apo B	0.312 *		0.562 *		0.788 <0.01		0.331 *		0.787 <0.01		0.615 <0.05		0.533 *		0.655 <0.05		0.780 <0.005
TG-Aseto A	-0.278 *		0.686 <0.05		-0.095 *		0.244 *		-0.124 *		0.151 *		0.493 *		-0.209 *		0.243 *
TG-Lip.Per	-0.101 *		-0.062 *		0.600 *		0.335 *		0.195 *		0.452 *		0.085 *		-0.071 *		-0.305 *
TG-H L	0.313 *		-0.592 *		0.541 *		0.150 *		-0.460 *		0.398 *		-0.505 *		0.337 *		-0.221 *
TG-sentas	-0.058 *		-0.418 *		0.466 *		0.765 <0.02		-0.236 *		0.038 *		0.188 *		0.180 *		0.037 *
TG-tiyolaz	0.126 *		-0.470 *		0.496 *		0.664 <0.05		-0.148 *		-0.302 *		0.242 *		-0.126 *		-0.231 *
FL-T-kol	0.804 <0.001		0.674 <0.05		0.845 <0.005		0.888 <0.005		0.789 <0.01		0.967 <0.001		0.901 <0.001		0.857 <0.001		0.793 <0.005
FL-LDL-kol	0.725 <0.001		0.267 *		0.752 <0.02		0.660 *		0.665 <0.05		0.888 <0.001		0.889 <0.001		0.699 <0.02		0.736 <0.01
FL-HDL-kol	0.668 <0.005		0.395 *		0.335 *		0.630 *		0.456 *		0.711 <0.02		0.078 *		0.790 <0.005		0.393 *
FL-HDL ₂ -kol	0.355 *		0.261 *		0.294 *		0.308 *		0.040 *		0.357 *		0.226 *		-0.214 *		0.345 *
FL-HDL ₃ -kol	0.629 <0.005		0.283 *		-0.009 *		0.435 *		0.397 *		0.593 *		-0.125 *		0.522 *		0.225 *
FL-Apo A ₁	0.371 *		-0.313 *		-0.600 *		-0.555 *		-0.272 *		0.208 *		0.072 *		-0.325 *		0.288 *
FL-Apo B	0.487 <0.05		0.420 *		0.642 <0.05		0.666 <0.05		0.771 <0.025		0.657 <0.05		0.730 <0.02		0.628 <0.05		0.709 <0.02
FL-Aseto As	-0.560 <0.02		0.705 <0.025		-0.006 *		0.687 <0.05		0.018 *		-0.344 *		0.038 *		-0.050 *		0.451 *
FL-Lip.Per	-0.481 <0.05		-0.392 *		0.708 <0.025		0.552 *		0.054 *		0.409 *		0.379 *		-0.230 *		0.422 *
FL-H L	-0.062 *		-0.838 <0.005		0.336 *		0.080 *		-0.800 *		-0.253 *		-0.208 *		-0.249 *		0.018 *
FL-sentas	-0.213 *		-0.582 *		0.085 *		0.504 *		-0.232 *		0.372 *		0.033 *		-0.380 *		-0.074 *
FL-tiyolaz	-0.254 *		-0.158 *		0.163 *		0.208 *		-0.434 *		-0.063 *		-0.455 *		-0.168 *		0.279 *
T-kol-LDL-kol	0.853 <0.001		0.401 *		0.960 <0.001		0.781 <0.02		0.864 <0.005		0.927 <0.001		0.967 <0.001		0.900 <0.001		0.936 <0.001
T-kol-HDL-kol	0.851 <0.001		0.698 <0.025		0.676 *		0.716 <0.05		0.582 *		0.684 <0.025		0.200 *		0.803 <0.005		0.395 *
T-kol-HDL ₂ -kol	0.507 <0.025		0.307 *		0.137 *		0.464 *		0.150 *		0.260 *		0.389 *		-0.250 *		0.398 *
T-kol-HDL ₃ -kol	0.758 <0.001		0.669 <0.05		0.086 *		0.395 *		0.451 *		0.630 <0.05		-0.092 *		0.851 <0.001		0.163 *
T-kol-Apo A ₁	0.202 *		0.182 *		-0.521 *		-0.501 *		0.093 *		-0.129 *		-0.250 *		-0.209 *		-0.057 *
T-kol-Apo B	0.575 <0.01		0.770 <0.01		0.883 <0.001		0.904 <0.001		0.930 <0.001		0.769 <0.01		0.805 <0.005		0.760 <0.01		0.876 <0.001
T-kol-AsetoAs	-0.497 <0.05		0.463 *		-0.216 *		0.548 *		0.064 *		-0.230 *		0.229 *		-0.355 *		0.168 *
T-kol-Lip.Per	-0.478 <0.05		-0.507 *		0.843 <0.005		0.621 *		-0.088 *		0.430 *		0.275 *		-0.254 *		0.016 *
T-kol-H L	-0.071 *		-0.481 *		0.247 *		-0.040 *		-0.602 *		0.346 *		-0.176 *		-0.202 *		0.016 *
T-kol-sentas	0.229 *		-0.169 *		-0.007 *		0.480 *		-0.259 *		0.375 *		-0.058 *		-0.018 *		-0.132 *
T-kol-tiyolaz	-0.018 *		-0.266 *		0.132 *		0.156 *		-0.273 *		-0.089 *		-0.536 *		0.272 *		-0.022 *
LDL-kol-HDL-kol	0.460 <0.05		-0.346 *		-0.037 *		0.139 *		0.119 *		0.368 *		0.037 *		0.471 *		0.057 *
LDL-kol-HDL ₂ -kol	0.184 *		-0.535 *		-0.040 *		0.275 *		0.020 *		0.094 *		0.309 *		-0.434 *		0.125 *
LDL-kol-HDL ₃ -kol	0.481 <0.05		0.069 *		0.011 *		-0.084 *		0.098 *		0.373 *		-0.260 *		0.528 *		-0.061 *
LDL-kol-Apo A ₁	0.267 *		-0.004 *		-0.500 *		-0.202 *		0.154 *		-0.159 *		-0.245 *		-0.137 *		0.034 *
LDL-kol-Apo B	0.614 <0.05		0.327 *		0.872 <0.05		0.708 <0.05		0.848 <0.005		0.620 <0.05		0.784 <0.01		0.713 <0.02		0.734 <0.02
LDL-kol-AsetoAs	-0.267 *		-0.240 *		-0.326 *		0.270 *		-0.167 *		-0.346 *		0.134 *		-0.378 *		0.086 *
LDL-kol-Lip.Per	-0.544 <0.02		0.577 *		0.793 <0.01		0.717 <0.01		0.014 *		0.371 *		0.308 *		-0.186 *		-0.010 *
LDL-kol-H L	0.089 *		-0.240 *		0.318 *		0.439 *		-0.747 <0.01		0.374 *		-0.279 *		-0.386 *		-0.023 *
LDL-kol-sentas	0.002 *		0.005 *		0.091 *		0.442 *		-0.366 *		0.406 *		-0.002 *		0.016 *		-0.384 *
LDL-kol-tiyolaz	-0.140 *		0.186 *		0.142 *		0.142 *		-0.468 *		-0.029 *		-0.551 *		0.103 *		-0.111 *
HDL-kol-HDL ₂ -kol	0.686 <0.01		0.710 <0.025		0.700 <0.025		0.513 *		0.155 *		0.556 *		0.479 *		0.056 *		0.804 <0.005
HDL-kol-HDL ₃ -kol	0.821 <0.001		0.675 <0.05		0.215 *		0.668 <0.05		0.832 <0.005		0.793 <0.005		0.712 <0.025		0.894 <0.001		0.667 <0.025
HDL-kol-Apo A ₁	0.090 *		0.168 *		-0.111 *		0.462 *		-0.149 *		0.068 *		-0.321 *		-0.270 *		-0.171 *
HDL-kol-Apo B	0.385 *		0.484 *		0.070 *		0.605 *		0.396 *		0.480 *		-0.199 *		0.543 *		0.558 *
HDL-kol-AsetoAs	-0.573 <0.01		0.577 *		0.283 *		0.572 *		0.488 *		0.051 *		-0.169 *		-0.215 *		0.228 *
HDL-kol-Lip.Per	-0.300 *		-0.088 *		0.264 *		0.372 *		-0.152 *		0.307 *		0.060 *		-0.281 *		0.229 *
HDL-kol-H L	-0.252 *		-0.191 *		-0.331 *		-0.561 *		-0.076 *		0.077 *		0.578 *		0.012 *		-0.143 *
HDL-kol-sentas	0.405 *		-0.076 *		-0.485 *		0.163 *		0.121 *		0.181 *		-0.316 *		-0.208 *		0.556 *
HDL-kol-tiyolaz	0.087 *		-0.310 *		-0.173 *		-0.037 *		0.275 *		-0.113 *		-0.319 *		0.296 *		0.357 *
HDL ₂ -kol-HDL ₃ -kol	-0.146 *		-0.039 *		-0.546 *		-0.297 *		0.618 *		-0.066 *		-0.276 *		0.398 *		0.094 *
HDL ₂ -kol-Apo A ₁	0.017 *		-0.165 *		0.165 *		0.110 *		0.487 *		-0.288 *		-0.432 *		-0.062 *		-0.455 *
HDL ₂ -kol-Apo B	0.148 *		0.371 *		-0.214 *		0.605 *		0.324 *		0.325 *		-0.044 *		0.002 *		0.498 *
HDL ₂ -kol-AsetoAs	-0.408 *		0.544 *		0.281 *		0.101 *		0.063 *		-0.110 *		0.202 *		0.610 *		0.357 *
HDL ₂ -kol-Lip.Per	-0.299 *		0.195 *		0.363 *		0.472 *		0.282 *		0.047 *		-0.236 *		0.027 *		0.008 *
HDL ₂ -kol-H L	-0.346 *		-0.001 *		-0.416 *		-0.269 *		-0.134 *		0.118 *		0.179 *		0.420 *		-0.390 *
HDL ₂ -kol-sentas	0.268 *		-0.260 *		-0.225 *		-0.324 *		0.331 *		0.195 *		0.090 *		-0.013 *		0.405 *
HDL ₂ -kol-tiyolaz	-0.008 *		-0.493 *		-0.066 *		-0.602 *		0.062 *		0.090 *		-0.191 *		0.107 *		0.070 *

HDL ₁ -kol-Apo ₁	0.108 *	0.412 *	-0.360 *	-0.610 *	-0.411 *	0.128 *	-0.005 *	-0.220 *	0.282 *
HDL ₁ -kol-Apo B	0.407 *	0.298 *	0.374 *	0.238 *	0.182 *	0.582 *	-0.182 *	0.498 *	0.311 *
HDL ₁ -kol-Astotoks	-0.458 <0.05	0.248 *	-0.050 *	0.550 *	0.413 *	0.143 *	-0.347 *	0.382 *	-0.066 *
HDL ₁ -kol-Lip.Per	-0.170 *	-0.330 *	-0.187 *	0.005 *	-0.301 *	0.344 *	0.254 *	-0.270 *	0.374 *
HDL ₁ -kol-H L	-0.071 *	-0.271 *	0.181 *	-0.391 *	0.005 *	0.005 *	0.490 *	-0.177 *	0.248 *
HDL ₁ -kol-santaz	0.290 *	0.160 *	-0.261 *	0.462 *	-0.075 *	0.073 *	-0.417 *	-0.185 *	0.590 *
HDL ₁ -kol-tiyolaz	0.204 *	0.076 *	0.017 *	0.480 *	0.173 *	-0.202 *	-0.196 *	0.223 *	0.511 *
Apo A ₁ -Apo B	0.408 *	0.388 *	-0.576 *	-0.312 *	0.244 *	0.153 *	0.010 *	0.108 *	-0.077 *
Apo A ₁ -Astotoks	-0.482 <0.05	-0.267 *	0.471 *	-0.544 *	-0.442 *	-0.038 *	-0.442 *	0.368 *	0.350 *
Apo A ₁ -Lip.Per	-0.564 <0.01	-0.187 *	-0.341 *	-0.391 *	-0.106 *	0.153 *	0.219 *	-0.520 *	0.388 *
Apo A ₁ -H L	-0.117 *	0.364 *	-0.260 *	-0.058 *	0.257 *	0.087 *	0.325 *	0.337 *	0.560 *
Apo A ₁ -santaz	-0.164 *	0.452 *	0.353 *	-0.506 *	-0.136 *	-0.693 <0.02	-0.272 *	-0.061 *	-0.328 *
Apo A ₁ -tiyolaz	-0.377 *	0.278 *	0.168 *	-0.292 *	-0.163 *	-0.717 <0.02	-0.167 *	-0.400 *	0.299 *
Apo B-Astotoks	-0.146 *	0.374 *	-0.223 *	0.454 *	-0.100 *	0.040 *	0.444 *	0.158 *	0.189 *
Apo B-Lip.Per	-0.703 <0.001	-0.583 *	0.651 <0.05	0.845 <0.005	0.047 *	0.392 *	0.217 *	-0.408 *	0.037 *
Apo B-H L	-0.215 *	-0.277 *	0.352 *	-0.204 *	-0.740 <0.02	-0.540 *	-0.286 *	0.068 *	-0.139 *
Apo B-santaz	0.254 *	0.133 *	-0.010 *	0.216 *	-0.270 *	0.226 *	-0.181 *	-0.220 *	0.014 *
Apo B-tiyolaz	0.111 *	-0.076 *	0.194 *	-0.012 *	-0.170 *	-0.060 *	-0.368 *	-0.175 *	0.019 *
Astotoks-Lip.Per	0.429 *	-0.273 *	-0.307 *	0.470 *	-0.077 *	-0.124 *	-0.297 *	-0.426 *	0.359 *
Astotoks-H L	0.208 *	-0.711 <0.025	0.360 *	0.086 *	-0.015 *	-0.301 *	-0.403 *	0.106 *	0.178 *
Astotoks-santaz	-0.092 *	-0.370 *	-0.083 *	0.063 *	0.165 *	-0.006 *	0.204 *	-0.675 <0.025	-0.003 *
Astotoks-tiyolaz	0.162 *	-0.094 *	-0.137 *	-0.141 *	0.543 *	-0.042 *	0.419 *	-0.725 <0.02	0.189 *
Lip.Per-H L	-0.051 *	0.533 *	0.060 *	0.053 *	-0.217 *	0.540 *	0.358 *	0.223 *	0.038 *
Lip.Per-santaz	-0.109 *	-0.176 *	0.075 *	-0.002 *	0.053 *	0.160 *	-0.395 *	0.370 *	0.348 *
Lip.Per-tiyolaz	0.259 *	-0.396 *	0.148 *	-0.126 *	-0.148 *	-0.226 *	-0.592 *	0.295 *	0.572 *
H L-santaz	-0.304 *	0.493 *	0.009 *	0.230 *	0.198 *	0.115 *	-0.757 <0.02	0.170 *	-0.127 *
H L-tiyolaz	-0.218 *	0.036 *	-0.275 *	-0.130 *	0.152 *	0.020 *	-0.568 *	0.062 *	0.419 *
Santaz-tiyolaz	0.456 <0.05	0.656 <0.05	0.716 <0.02	0.730 <0.05	0.641 <0.05	0.796 <0.005	0.679 <0.05	0.652 <0.05	0.627 <0.05

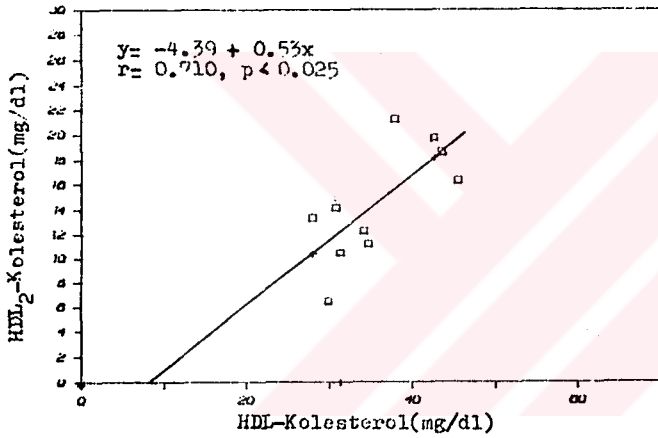
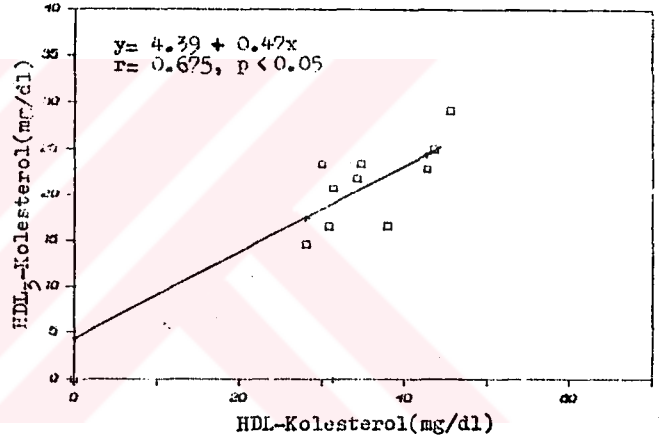
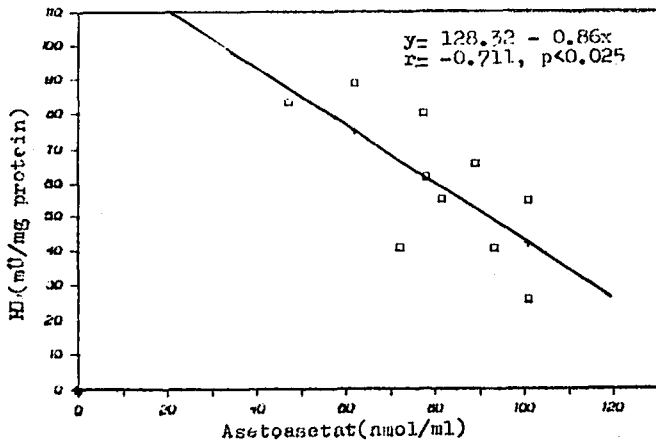
n: Denek sayı, *: Önemli değil.



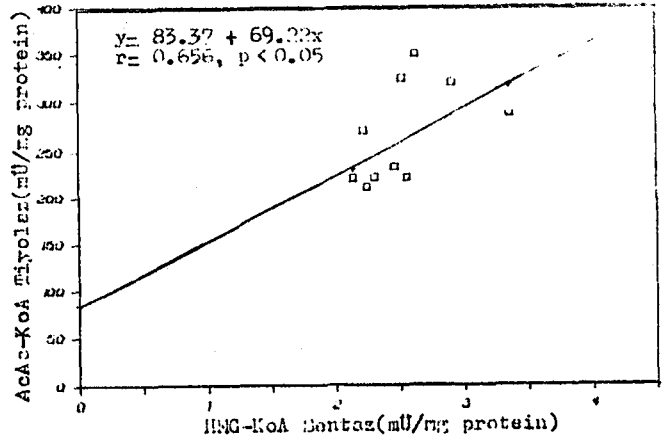
Şekil 20. Kısa Süre DD NEA Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler

Şekil 20.7. T.Kol.-HDL₂-Kol. Arasında Pozitif İlişki

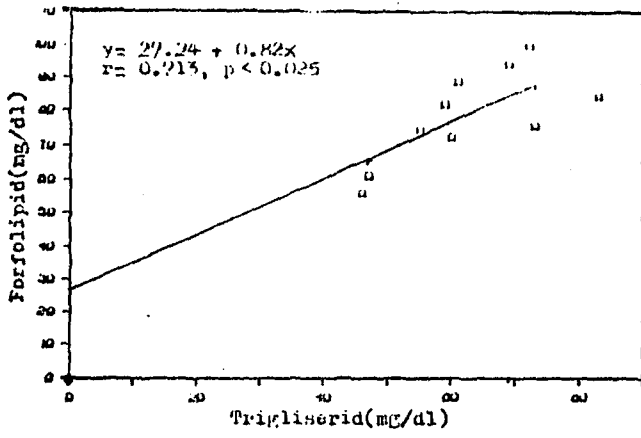
Şekil 20.8. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki

Şekil 20.9. HDL-Kol.-HDL₂-Kol. Arasında Pozitif İlişkiŞekil 20.10. HDL-Kol.-HDL₂-Kol. Arasında Pozitif İlişki

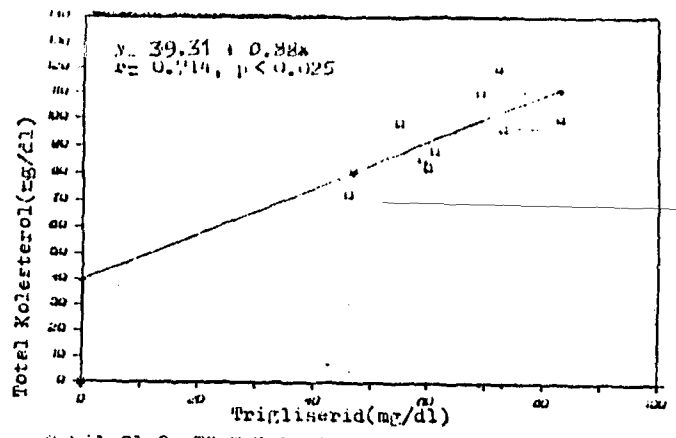
Şekil 20.11. Asetoasetat-HI Arasında Negatif İlişki



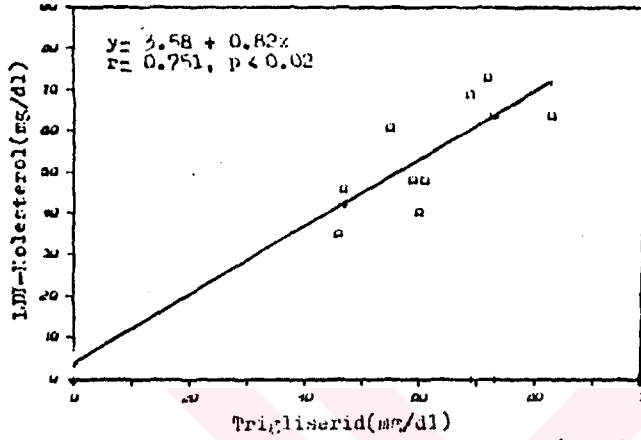
Şekil 20.12. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki.



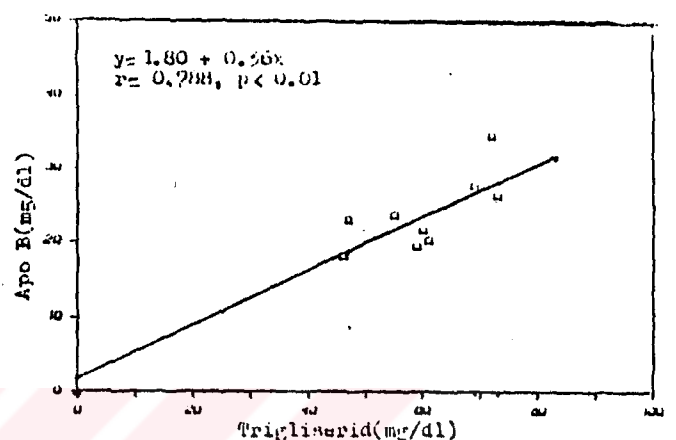
Şekil 21.1. TG-FL Arasındaki Pozitif İlişki.



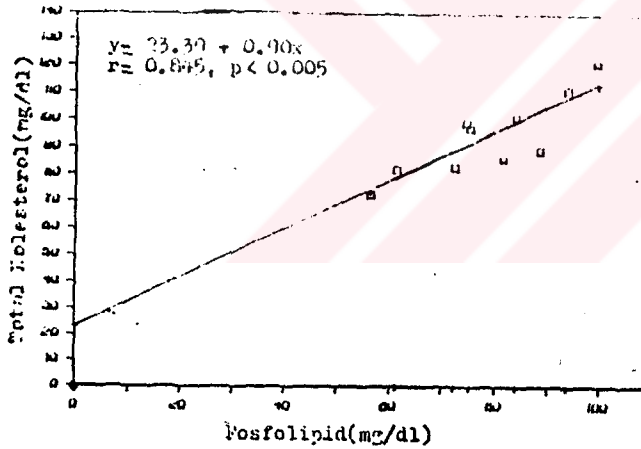
Şekil 21.2. TG-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



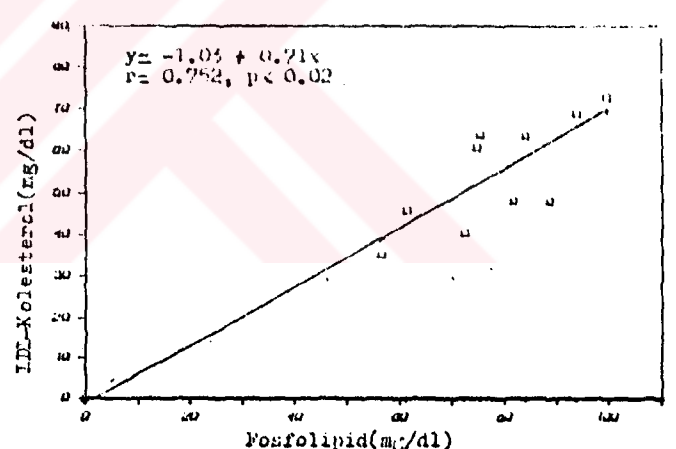
Şekil 21.3. TG-LDL-Kol. Arasındaki Pozitif İlişki



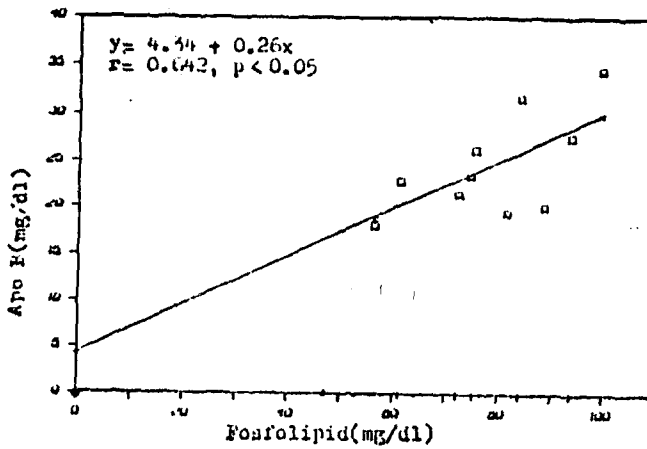
Şekil 21.4. TG-Apo B Arasında Pozitif İlişki



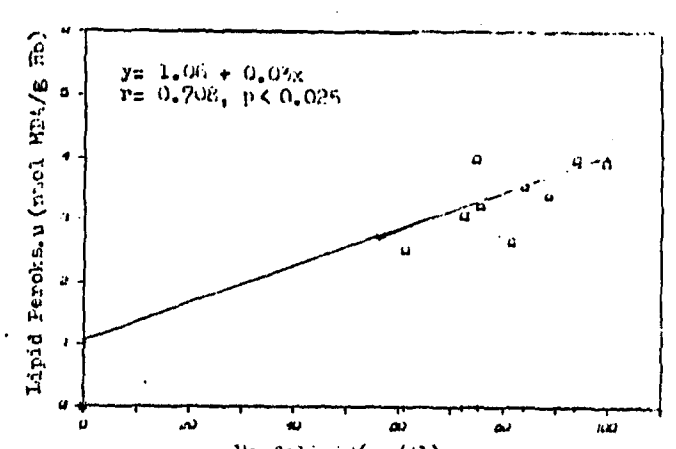
Şekil 21.5. FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



Şekil 21.6. FL-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

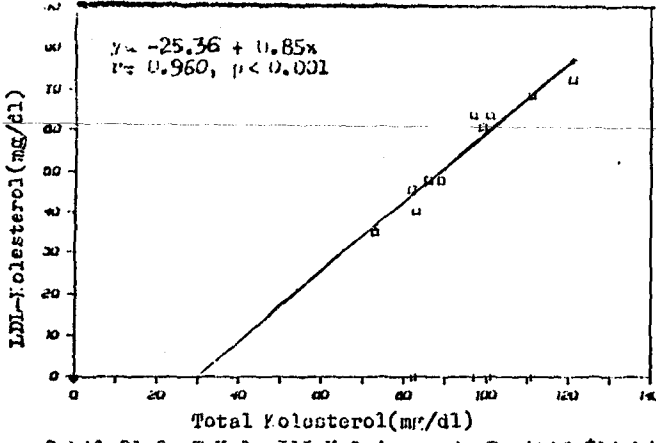


Şekil 21.7. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

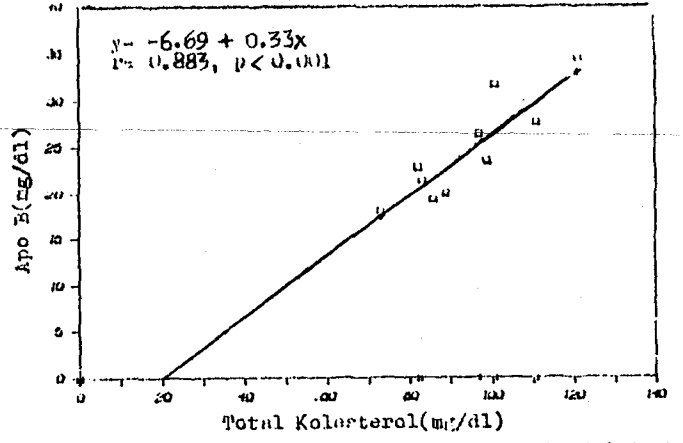


Şekil 21.8. FL-Lipid Peroksu Arasında Pozitif İlişki

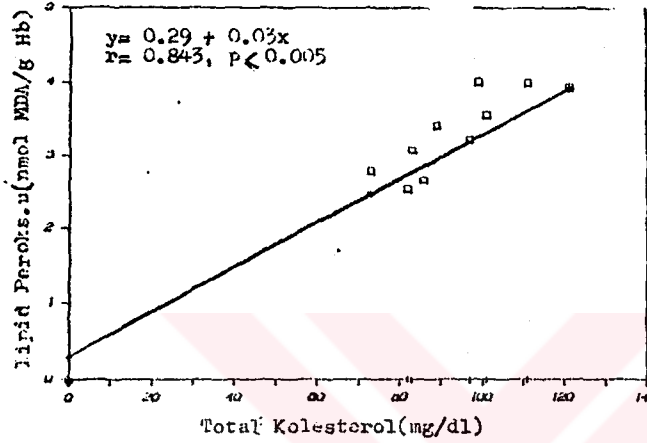
Şekil 21. Kısa Süre YD NEA Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



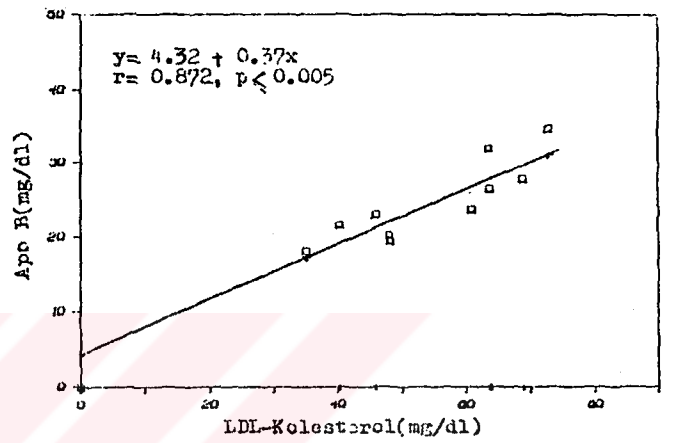
Şekil 21.9. T.Kol.-LDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki



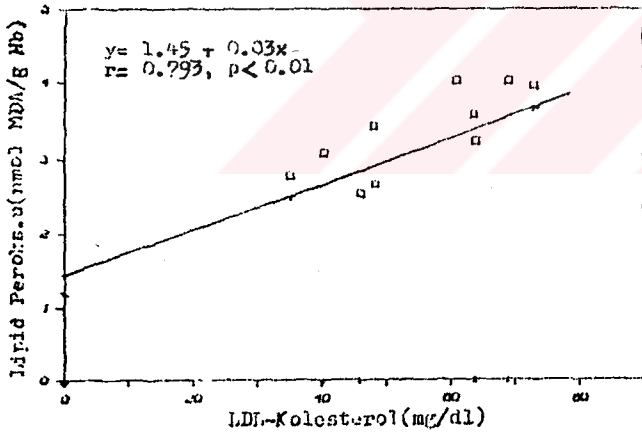
Şekil 21.10. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



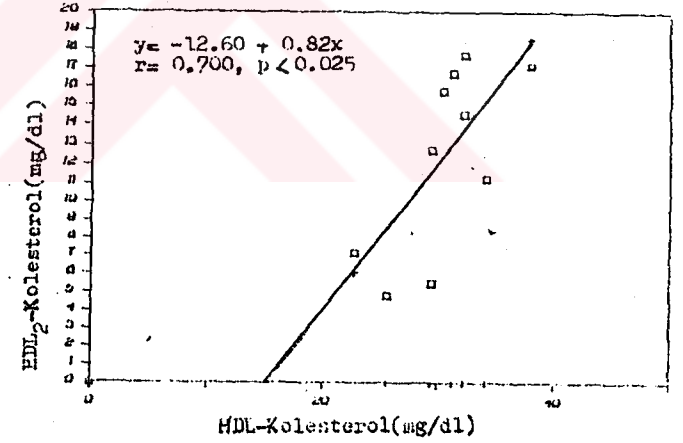
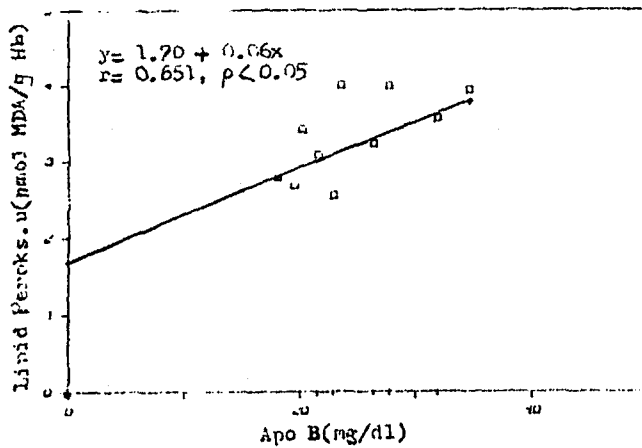
Şekil 21.11. T.Kol.-Lipid Peroks.u Arasında Pozitif İlişki



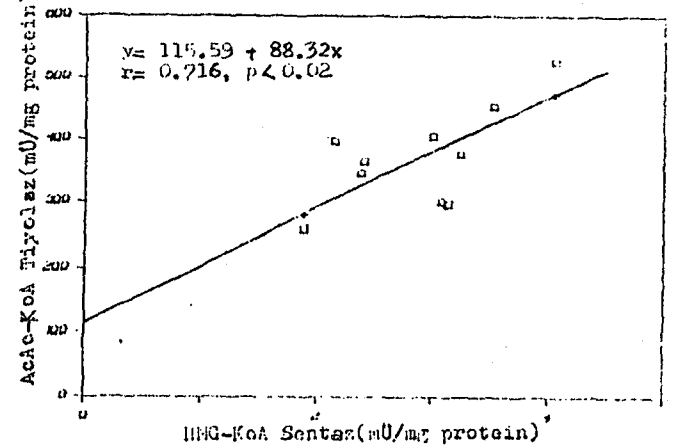
Şekil 21.12. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



Şekil 21.13. LDL-Kol.-Lipid Peroks.u Arasındaki Pozitif İlişki

Şekil 21.14. HDL-Kol.-HDL₂-Kol.Arasında Pozitif İlişki

Şekil 21.15. Apo B-Lipid Peroks.u Arasında Pozitif İlişki



Şekil 21.16. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyoilaz Arasında Pozitif İlişki.

HDL₃-kol, Apo B-lipid peroks.'u ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz parametreleri arasında pozitif bir ilişki bulunurken; diğer parametreler arasında bir ilişki belirlenememiştir (Tablo XIV)(Şekil 22).

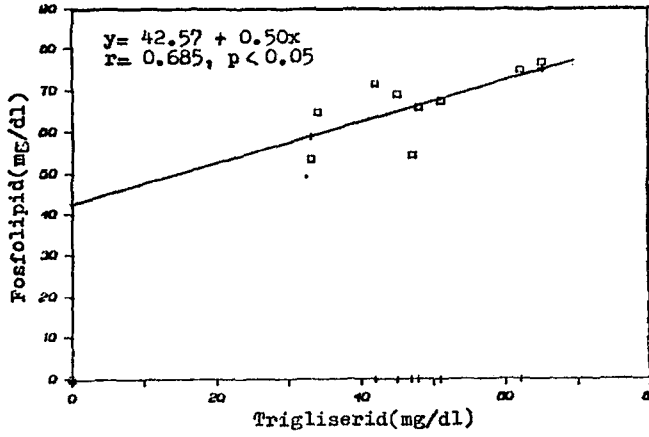
Kısa süre YD LNG grubunda (n=10); TG-T-kol, TG-Apo B, FL-T-kol,FL-LDL-kol, FL-Apo B, T-kol-LDL-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B,HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz arasında pozitif bir ilişki;LDL-kol-HL ve Apo B-HL arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Tablo XIV)(Şekil 23).

Uzun süre DD NEA grubunda (n=11); TG-T-kol, TG-HDL₃-kol, TG-Apo B, FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-Apo B, FL-HDL-kol, T-kol-LDL-kol, T-kol-HDL-kol, T-kol-HDL₃-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz arasında pozitif bir ilişki; Apo A₁-HMG-KoA sentaz ve Apo A₁-AcAc-KoA tiyolaz arasında negatif bir ilişki bulunurken; diğer parametreler arasında bir ilişki belirlenememiştir (Tablo XIV)(Şekil 24).

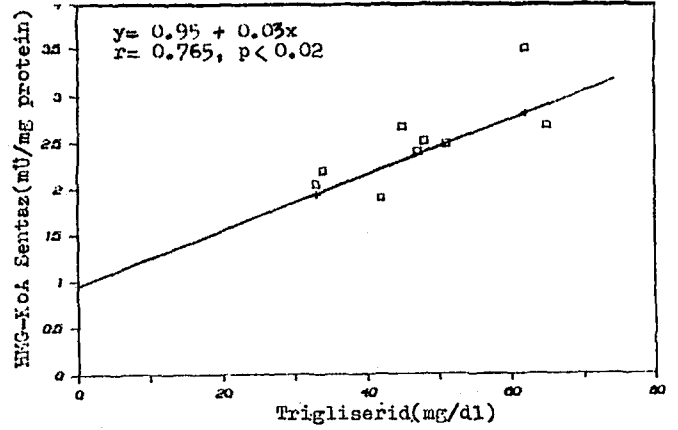
Uzun süre YD NEA verilen grupta (n=10); FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-Apo B , T-kol-LDL-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz arasında pozitif bir ilişki; TG-HDL-kol, TG-HDL₃-kol ve HL-HMG-KoA sentaz arasında negatif bir ilişki bulunurken; diğer parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo XIV)(Şekil 25).

Uzun süre DD LNG grubunda (n=11); TG-T-kol, TG-LDL-kol, TG-Apo B, FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-HDL-kol, FL-Apo B, T-kol-LDL-kol, T-kol-HDL-kol, T-kol-HDL₃-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz arasında pozitif bir ilişki;asetoasetat-HMG-KoA sentaz ve asetoasetat-AcAc-KoA tiyolaz arasında negatif bir ilişki bulunurken; diğer parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo XIV)(Şekil 26).

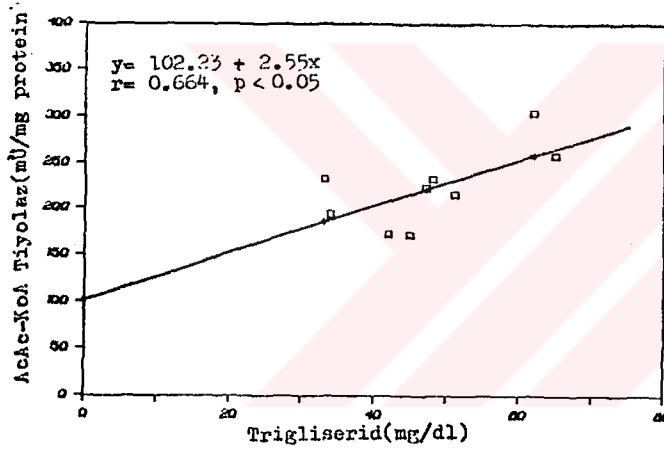
Uzun süre YD LNG grubunda (n=11); TG-T-kol, TG-LDL-kol, TG-Apo B, FL-T-kol, FL-LDL-kol, FL-Apo B, T-kol-LDL-kol, T-kol-Apo B, LDL-kol-Apo B, HDL-kol-HDL₂-kol, HDL-kol-HDL₃-kol ve HMG-KoA sentaz-AcAc-KoA tiyolaz arasında pozitif bir ilişki bulunurken; diğer parametreler arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo XIV)(Şekil 27).



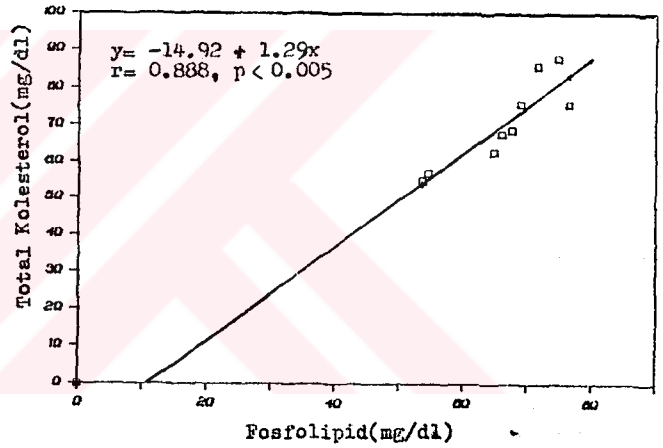
Şekil 22.1. TG-FL Arasındaki Pozitif İlişki.



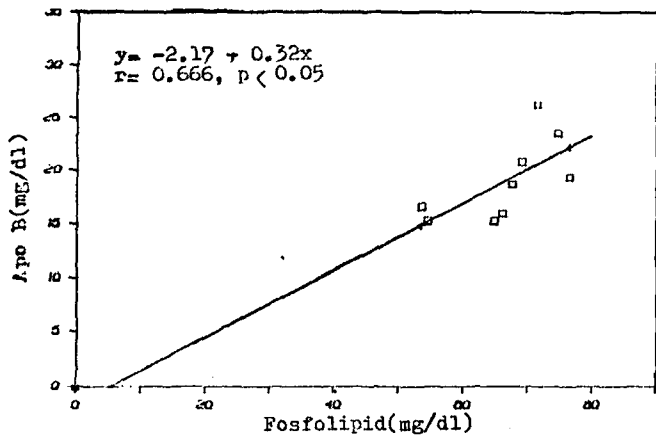
Şekil 22.2. TG-HMG-KoA Sentaz Arasında Pozitif İlişki



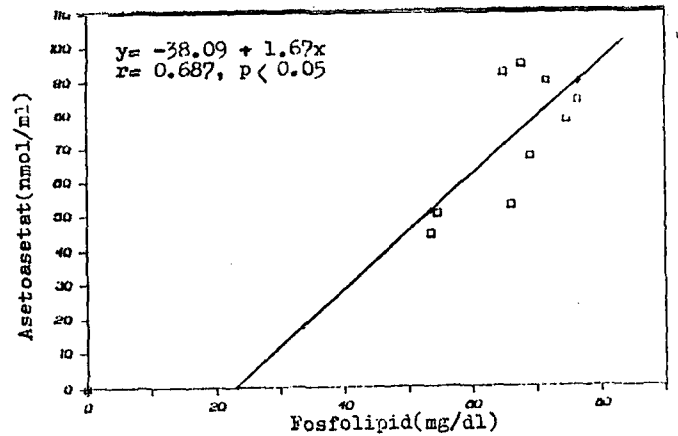
Şekil 22.3. TG-AcAc-KoA Tiyolaz Arasındaki Pozitif İlişki.



Şekil 22.4. FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki

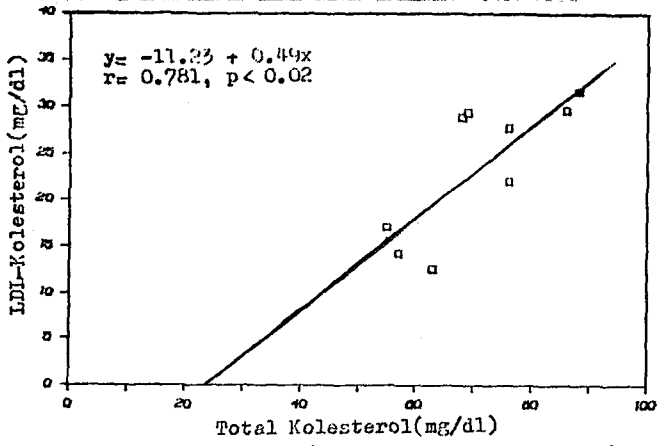


Şekil 22.5. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

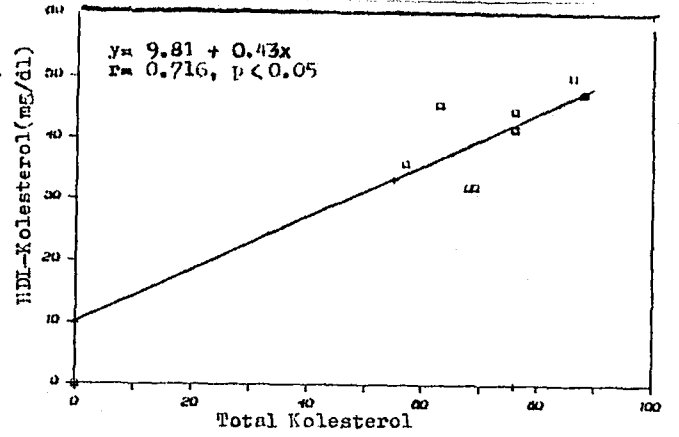


Şekil 22.6. FL-Asetoasetat Arasında Pozitif İlişki

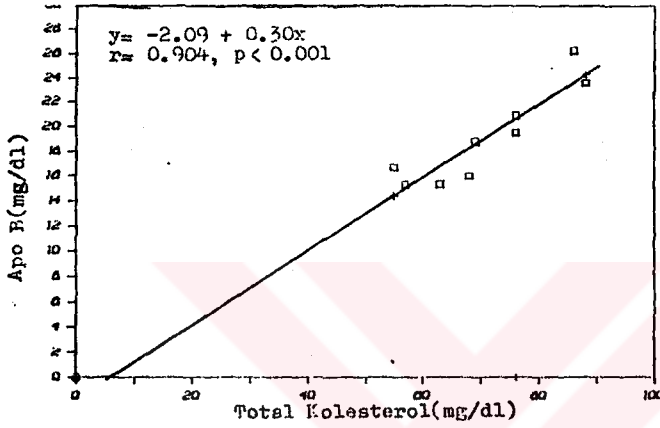
Şekil 22. Kısa Süre DD LNG Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



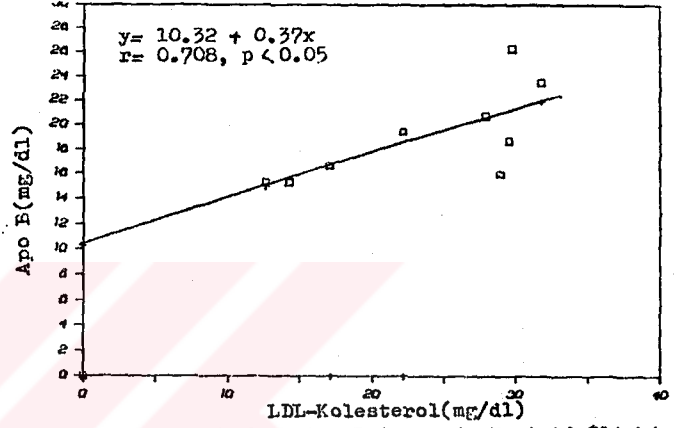
Şekil 22.7. T.Kol.-LDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki



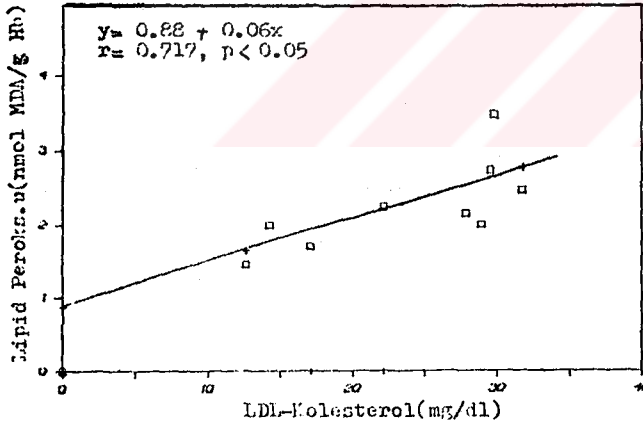
Şekil 22.8. T.Kol.-HDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki



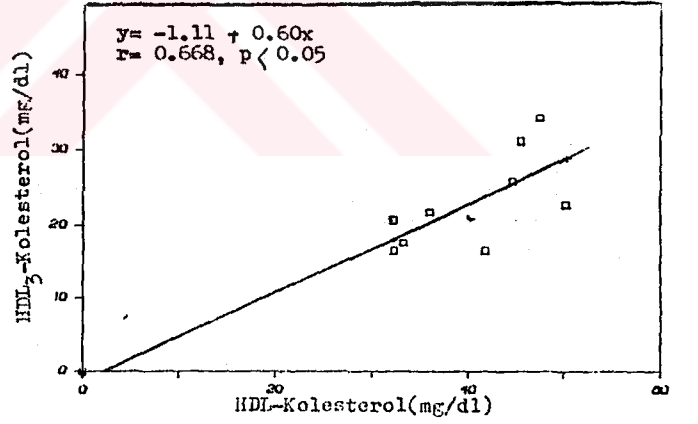
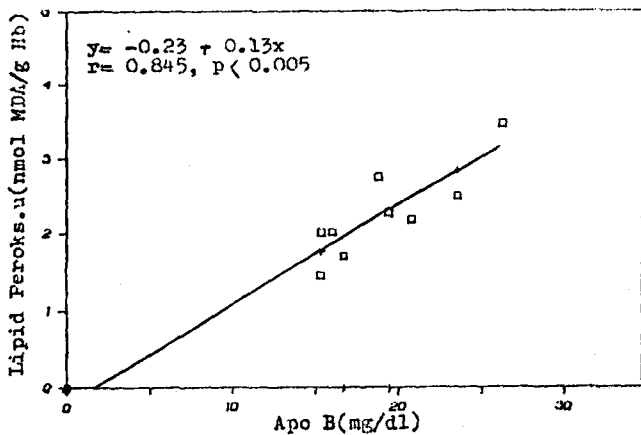
Şekil 22.9. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



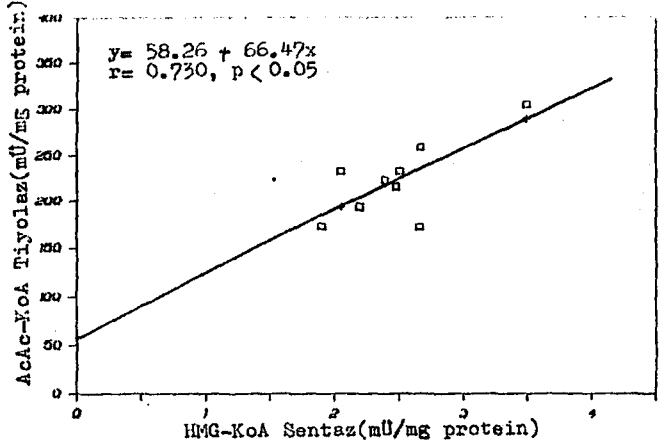
Şekil 22.10. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



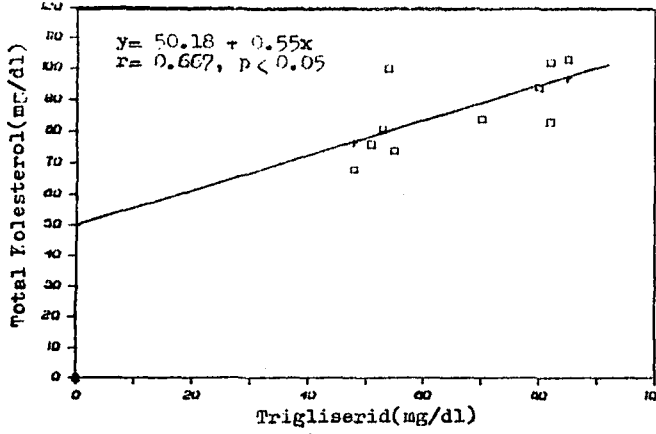
Şekil 22.11. LDL-Kol.-Lipid Peroks.u Arasındaki Pozitif İlişki

Şekil 22.12. HDL-Kol.-HDL₂-Kol. Arasında Pozitif İlişki

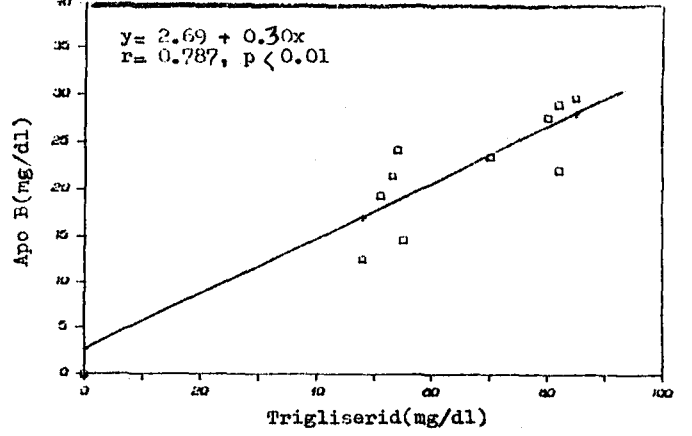
Şekil 22.13. Apo B-Lipid Peroks.u Arasında Pozitif İlişki.



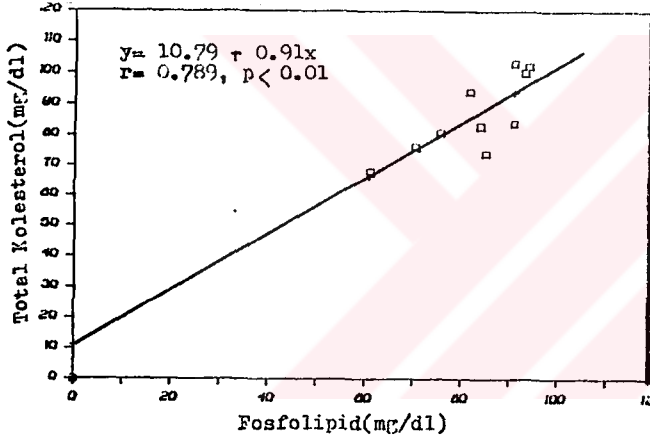
Şekil 22.14. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki



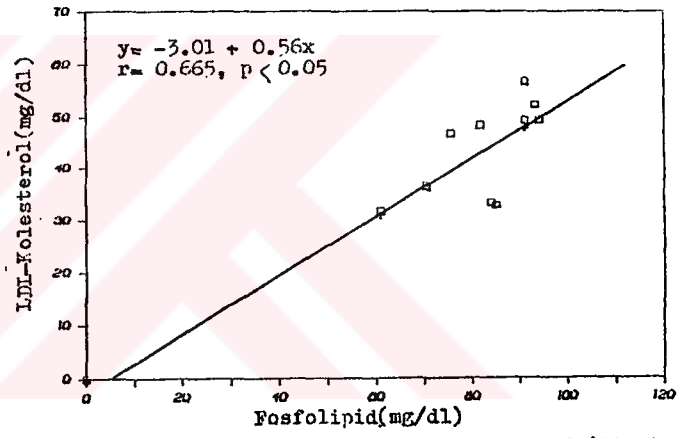
Şekil 23.1. TG-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki.



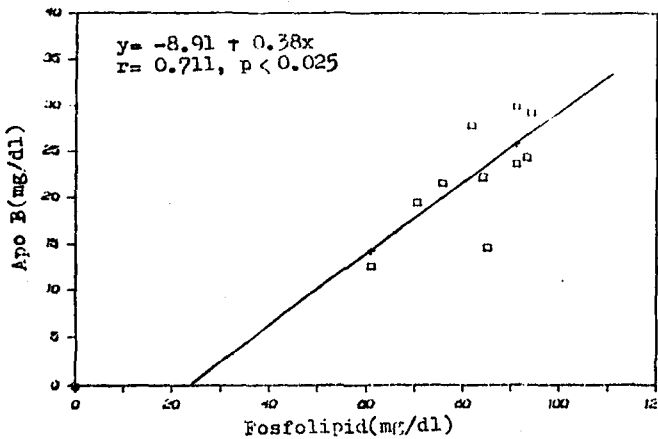
Şekil 23.2. TG-Apo B Arasında Pozitif İlişki



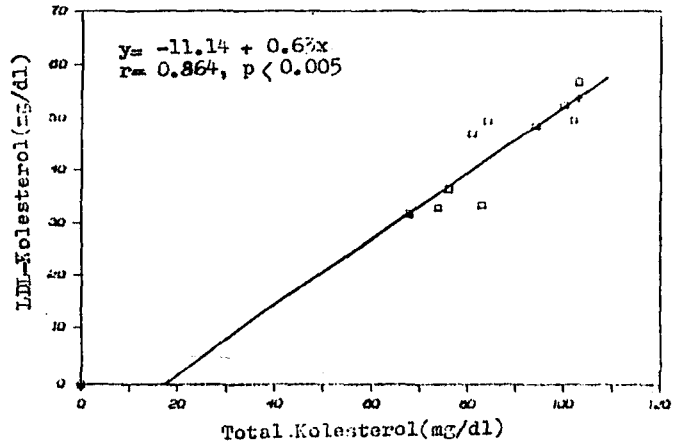
Şekil 23.3 FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



Şekil 23.4 FL-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

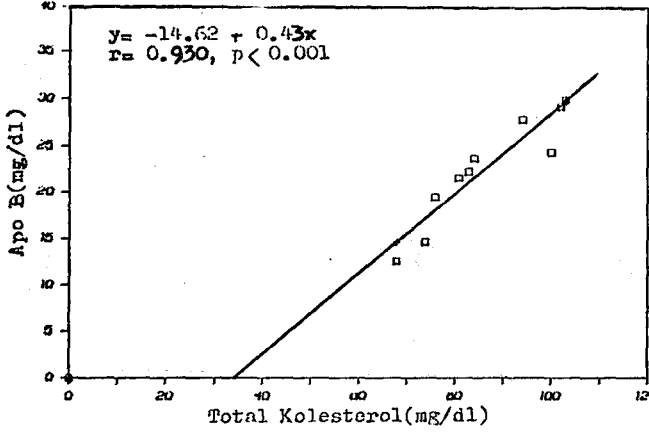


Şekil 23.5. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

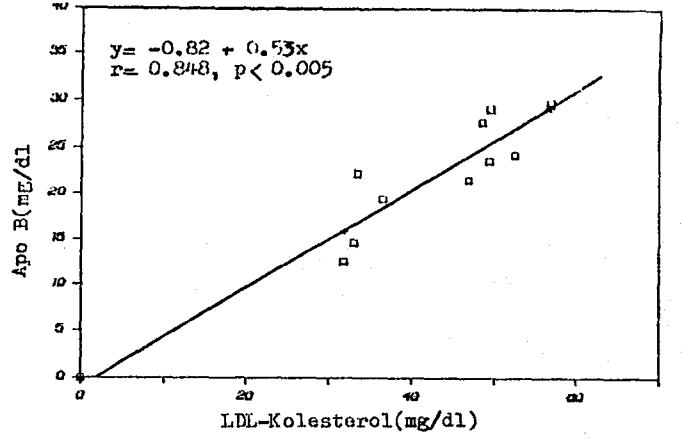


Şekil 23.6. T.Kol.-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

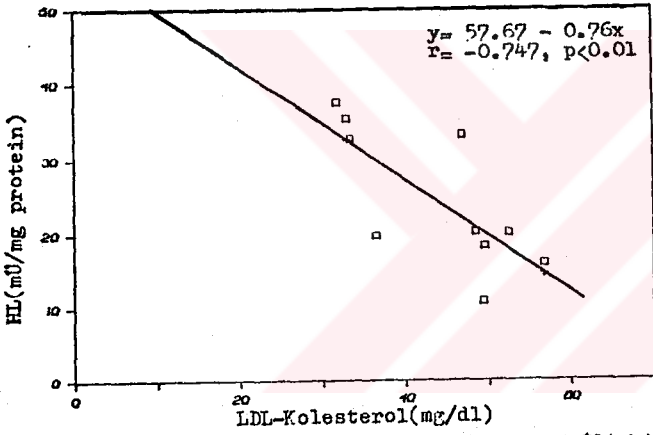
Şekil 23. Kısa Süre YD LNG Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



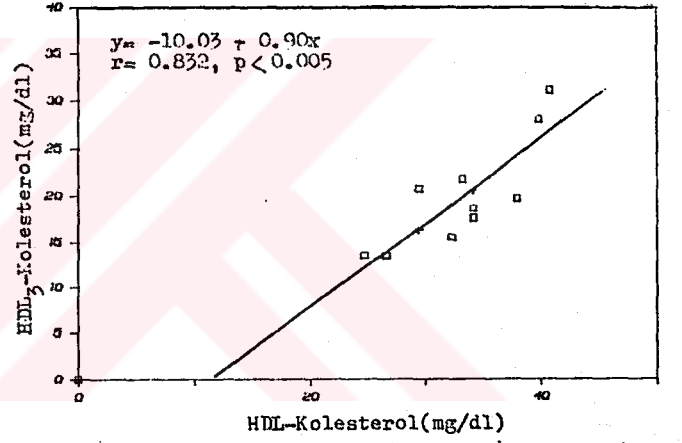
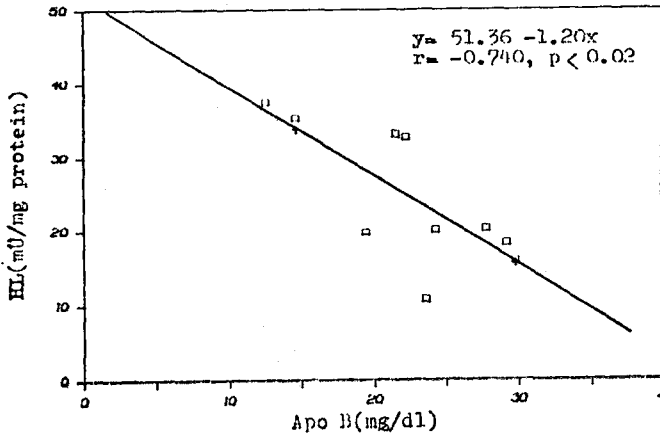
Şekil 23.7. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



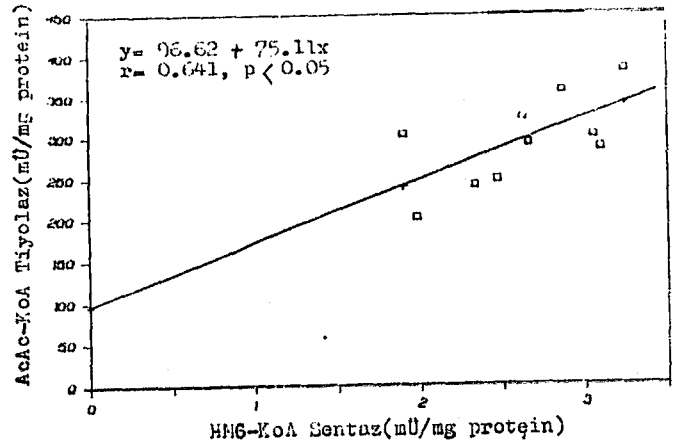
Şekil 23.8. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



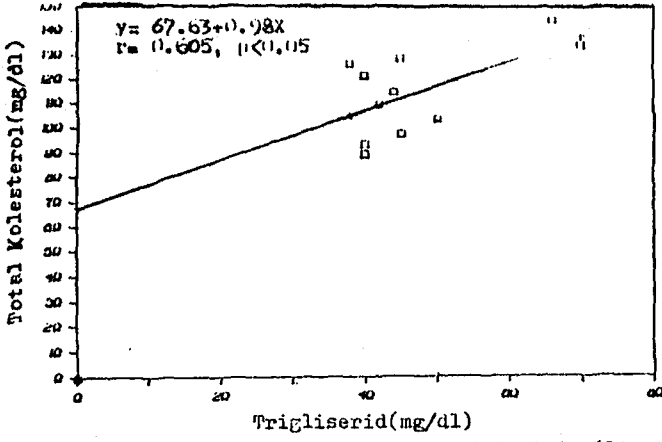
Şekil 23.9. LDL-Kol.-HL Arasında Negatif İlişki

Şekil 23.10. HDL-Kol.-HDL₂-Kol.Arasında Pozitif İlişki

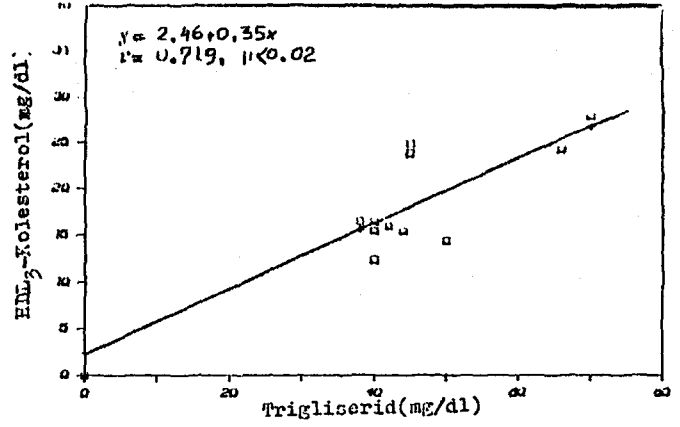
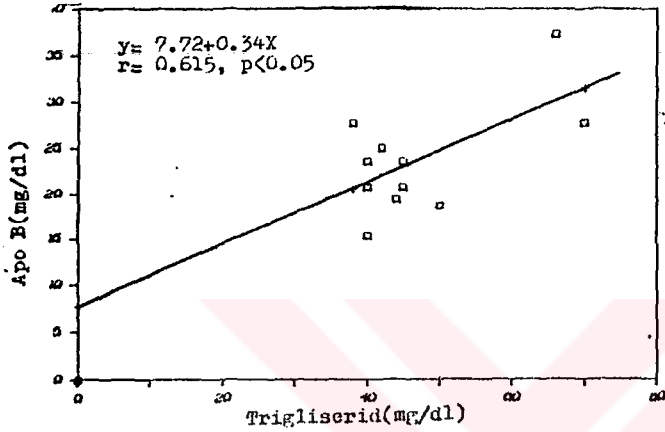
Şekil 23.11. Apo B-HL Arasında Negatif İlişki



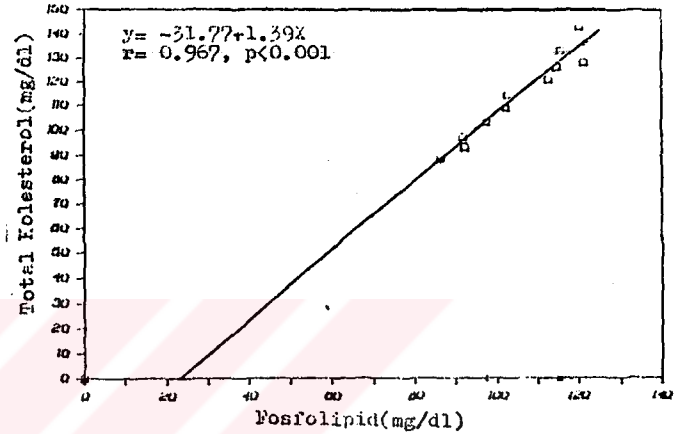
Şekil 23.12. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki.



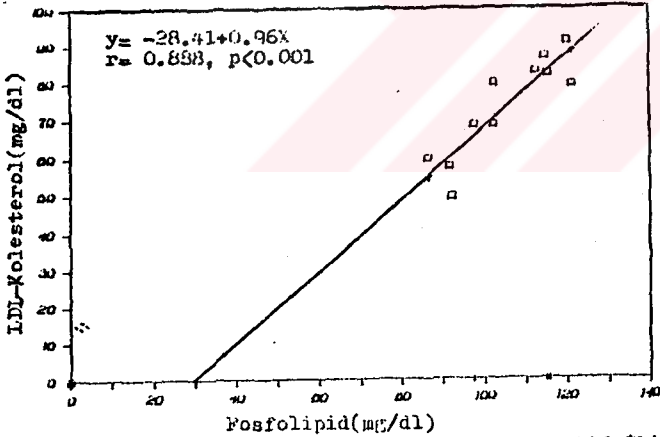
Şekil 24.1. TG ve T.Kol. Arasındaki Pozitif İlişki

Şekil 24.2. TG ve HDL₂-Kol. Arasındaki Pozitif İlişki

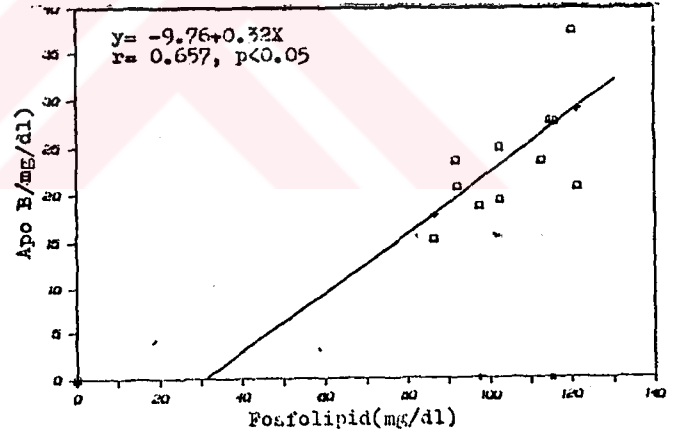
Şekil 24.3. TG ve Apo-B Arasındaki Pozitif İlişki



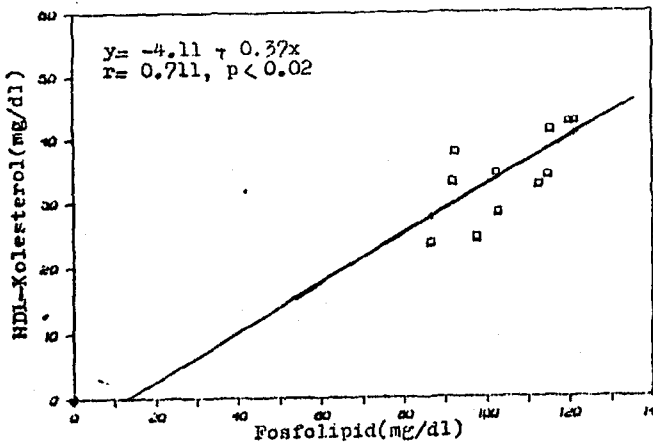
Şekil 24.4. PL ve T.Kol. Arasındaki Pozitif İlişki



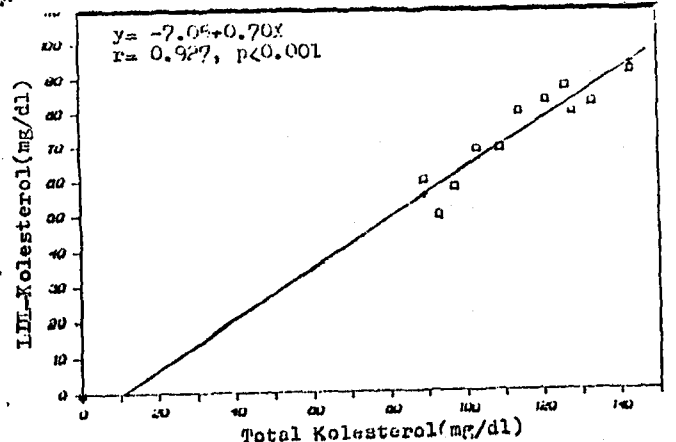
Şekil 24.5. PL ve LDL-Kol. Arasındaki Pozitif İlişki



Şekil 24.6. PL ve Apo-B Arasındaki Pozitif İlişki

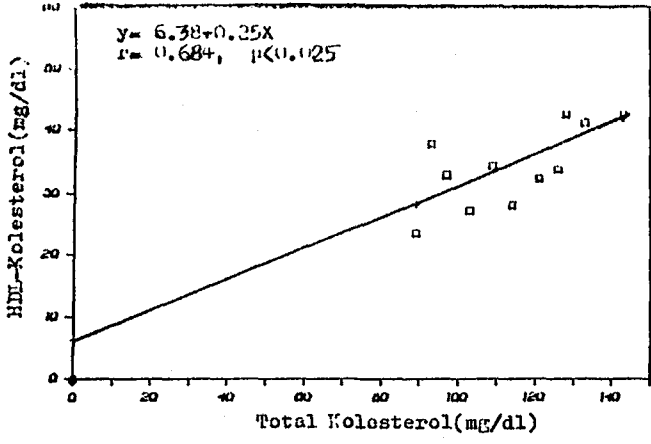
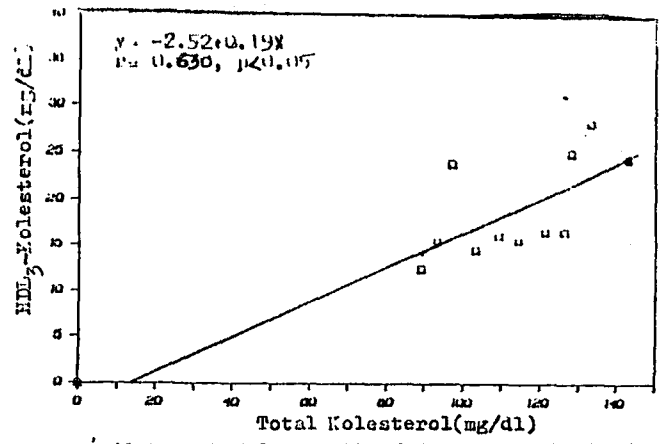
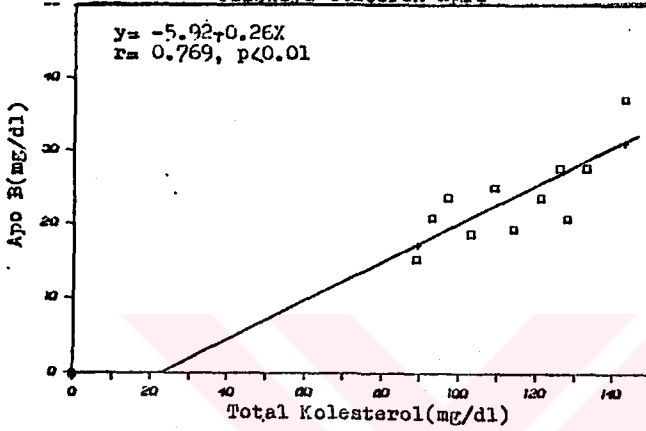


Şekil 24.7. PL-HDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

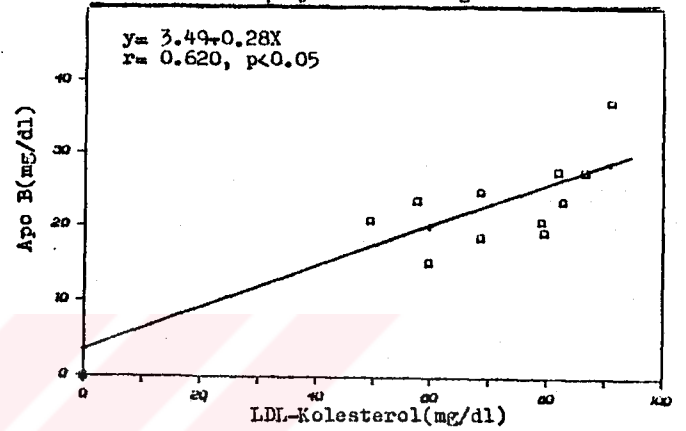


Şekil 24.8. T.Kol. ve LDL-Kol. Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren Eğri

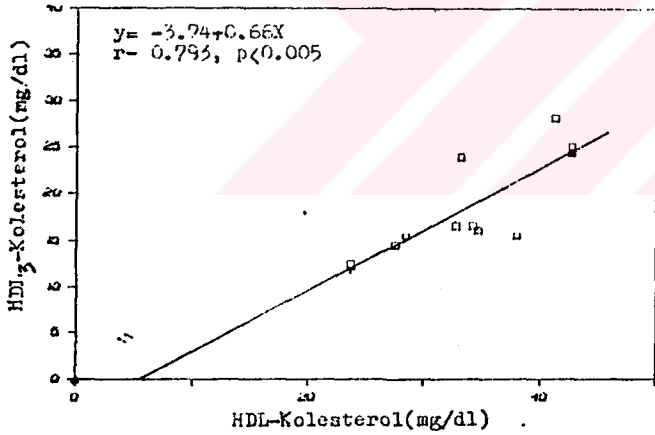
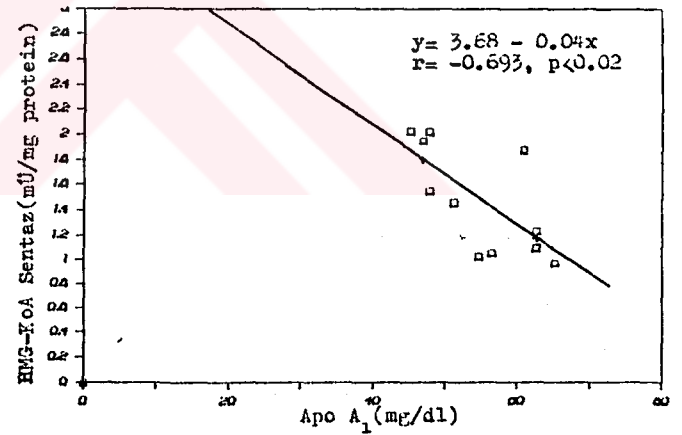
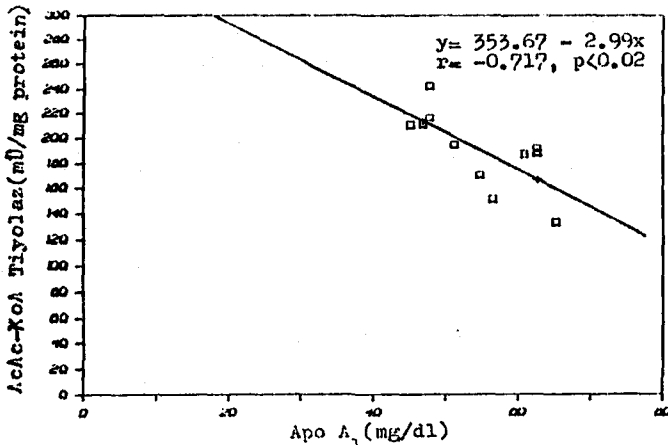
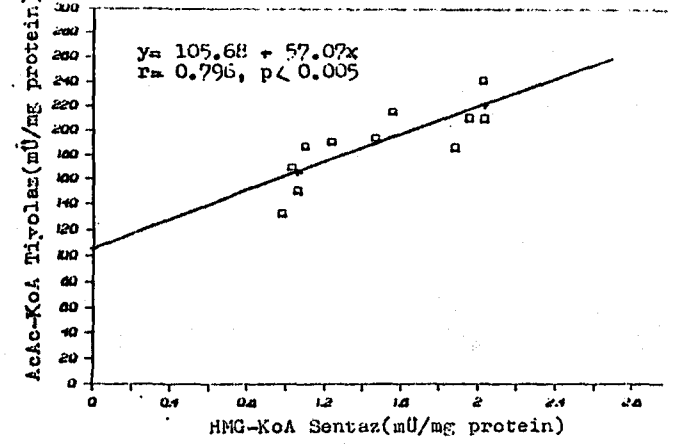
Şekil 24. Uzun Süre DD NEA Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler

Şekil 24.9. T.Kol. ve HDL₂-Kol. Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren EğriŞekil 24.10. T.Kol. ve HDL₃-Kol. Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren Eğri

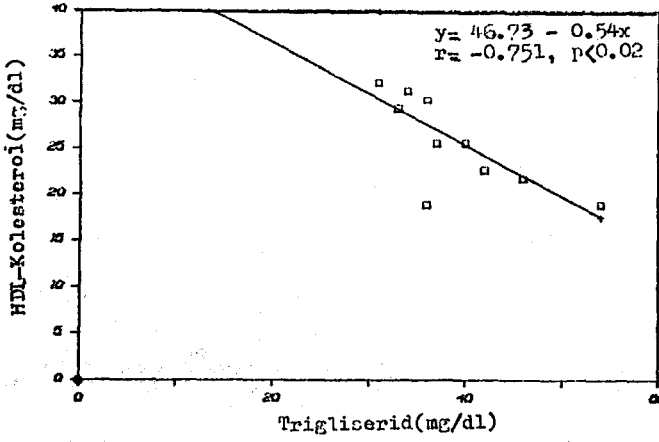
Şekil 24.11. T.Kol. ve Apo-B Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren Eğri



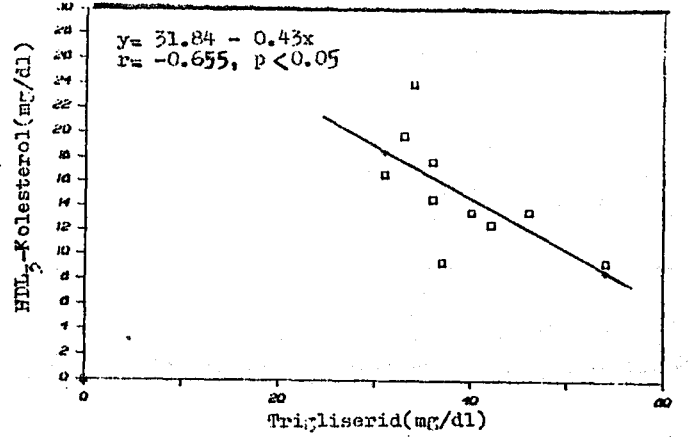
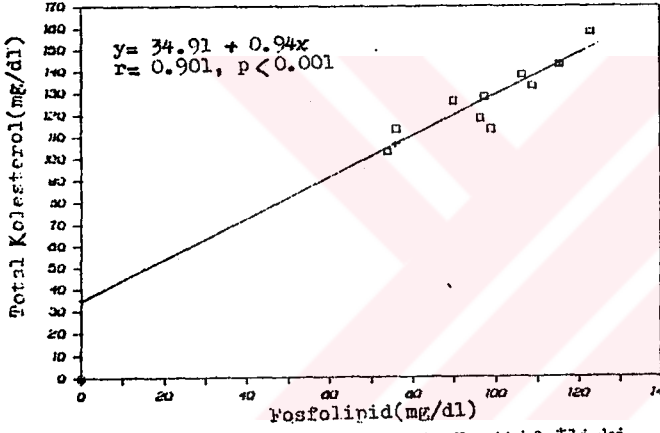
Şekil 24.12. LDL-Kol. ve Apo-B Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren Eğri

Şekil 24.13. HDL-Kol. ve HDL₂-Kol. Arasındaki Pozitif İlişkiyi Gösteren EğriŞekil 24.14. Apo A₁-HMG-KoA Sentaz Arasında Negatif İlişkiŞekil 24.15. Apo A₁-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Negatif İlişki

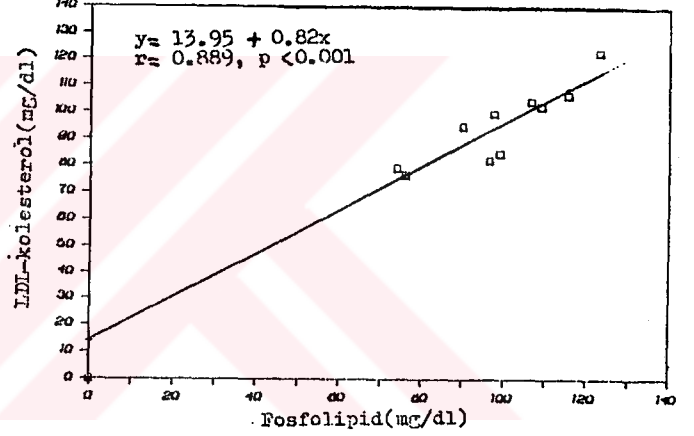
Şekil 24.16. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki



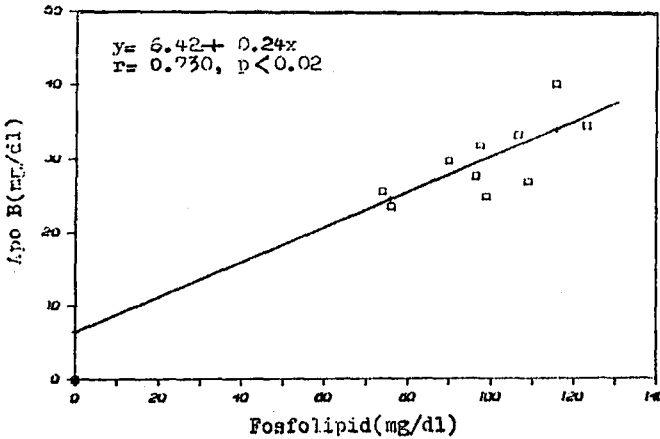
Şekil 25.1. TG-HDL-Kol.Arasında Negatif İlişki

Şekil 25.2. TG-HDL₂-Kol. Arasında Negatif İlişki

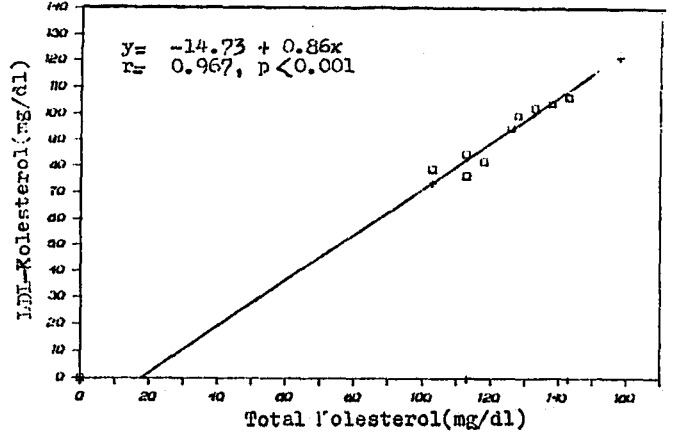
Şekil 25.3. FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



Şekil 25.4. FL-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

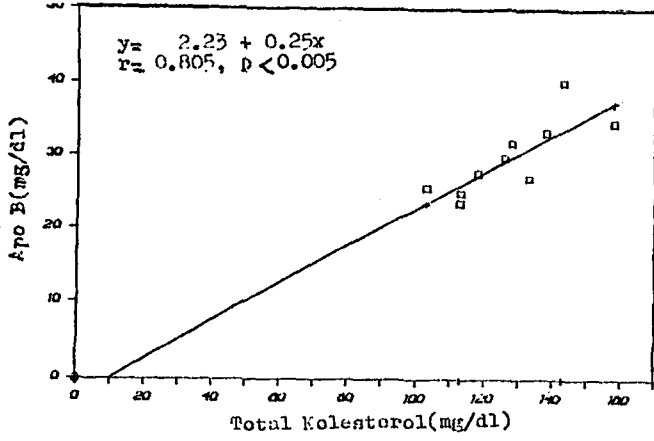


Şekil 25.5. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

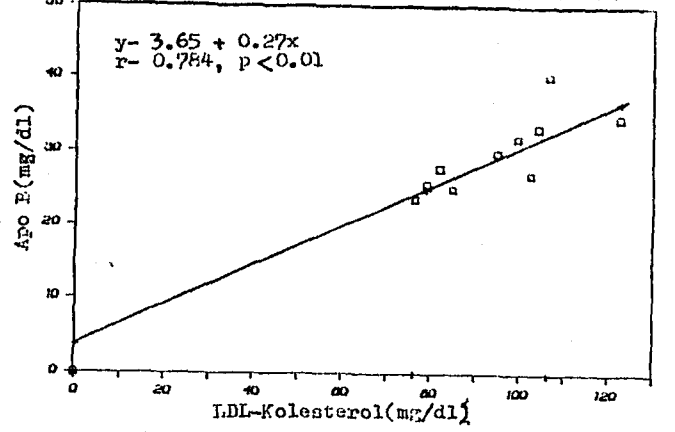


Şekil 25.6. T.Kol.-LDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki

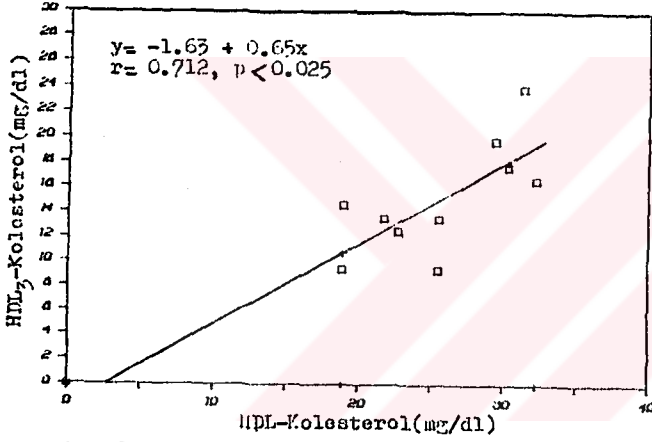
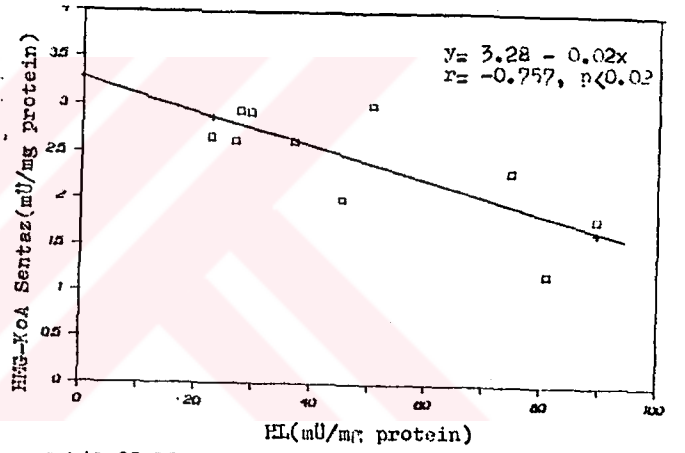
Şekil 25. Uzun Süre YD NEA Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



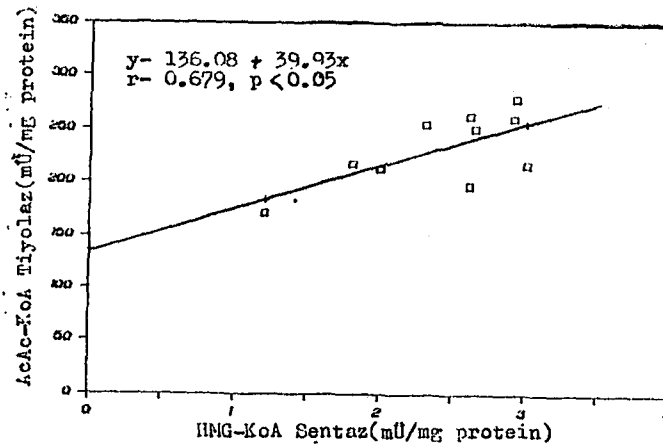
Şekil 25.7. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



Şekil 25.8. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki

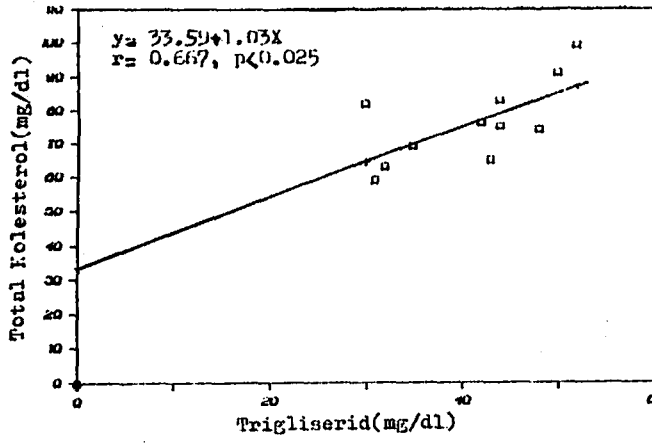
Şekil 25.9. HDL-Kol.-HDL₂-Kol.Arasında Pozitif İlişki

Şekil 25.10. HL-HMG-KoA Sentaz Arasında Negatif İlişki.

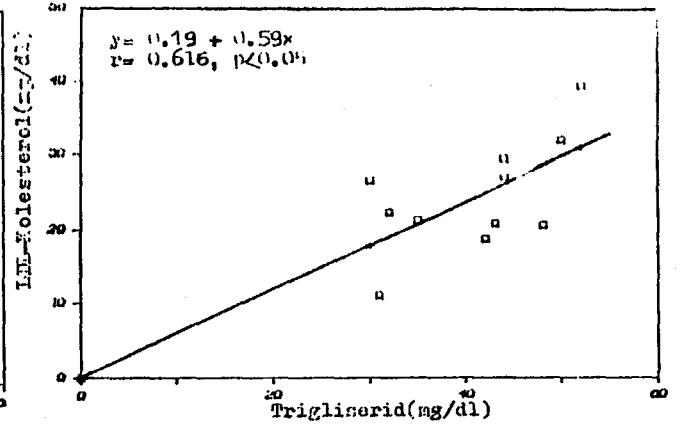


Şekil 25.11. HMG-KoA Sentaz-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki

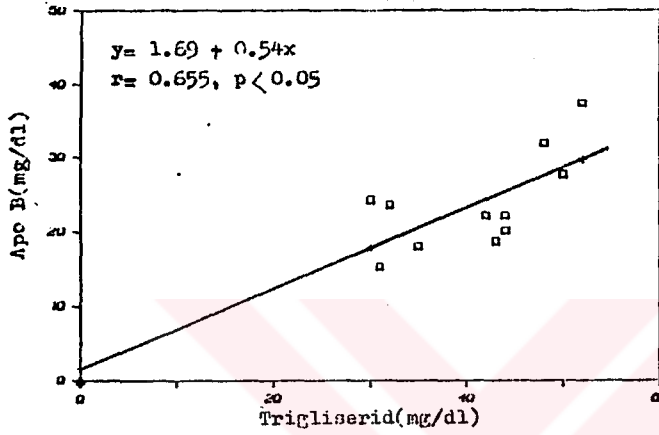
Şekil 25 devamı



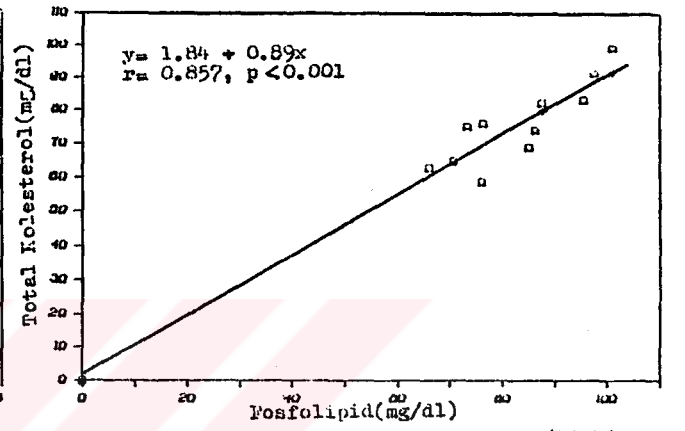
Şekil 26.1. TG ve T.Kol. Arasındaki Pozitif İlişki



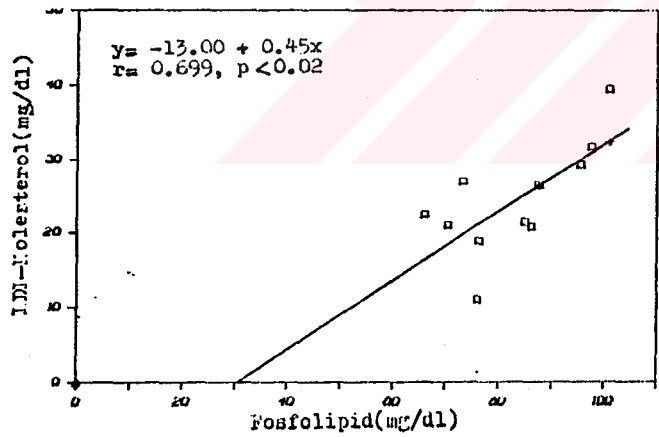
Şekil 26.2. TG-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki



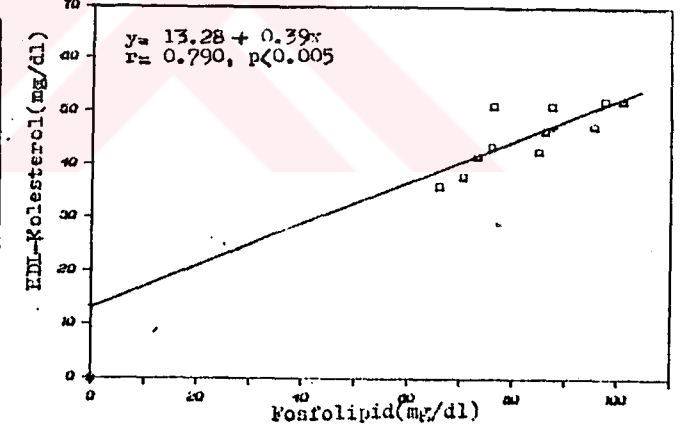
Şekil 26.3. TG-Apo B Arasındaki Pozitif İlişki



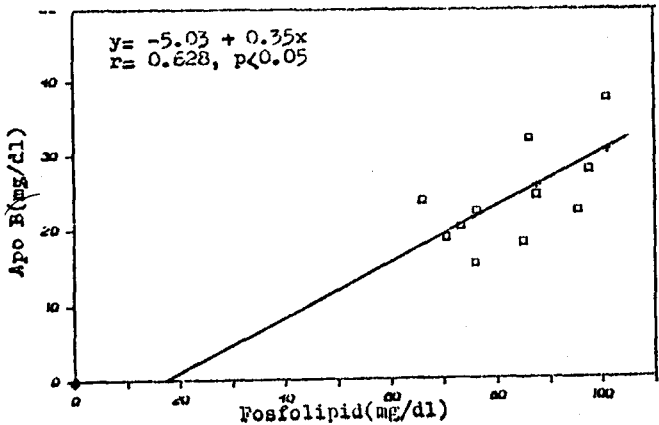
Şekil 26.4. FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



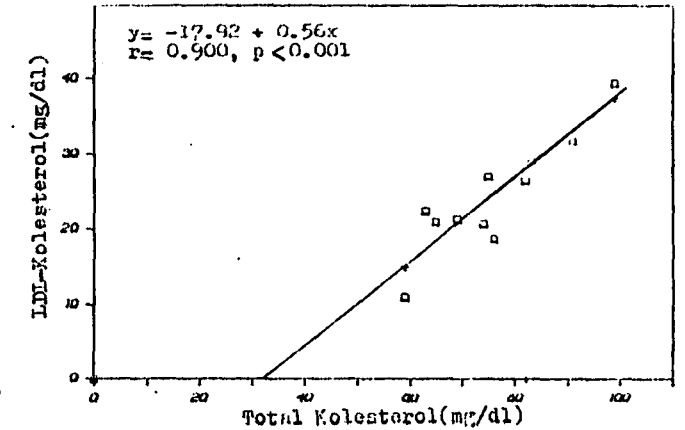
Şekil 26.5. FL-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki



Şekil 26.6. FL-HDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

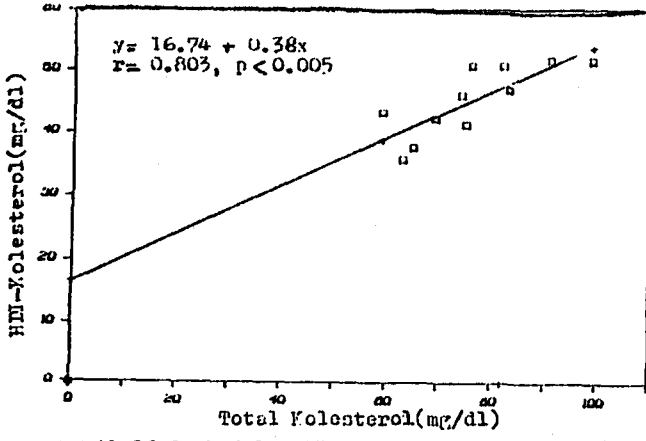


Şekil 26.7. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

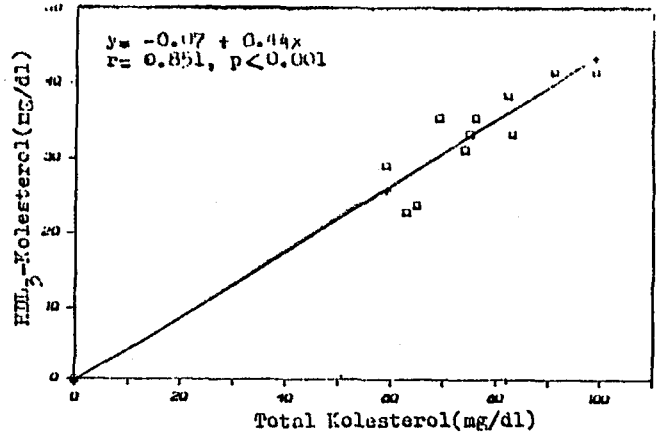
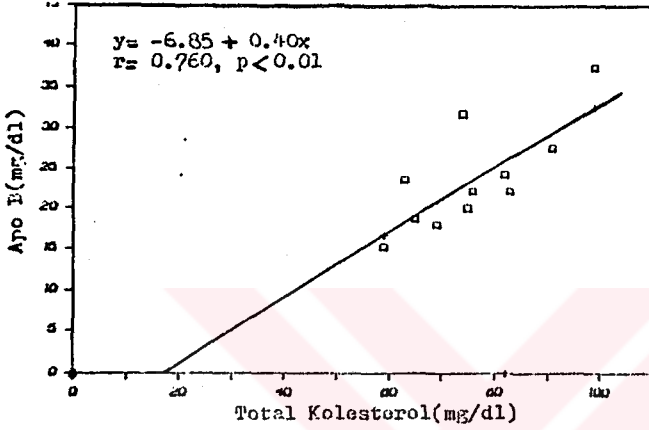


Şekil 26.8. T.Kol.-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

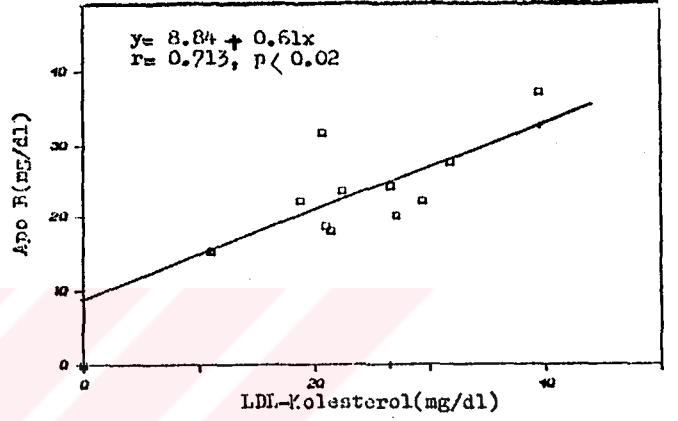
Şekil 26. Uzun Süre DD LNG Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



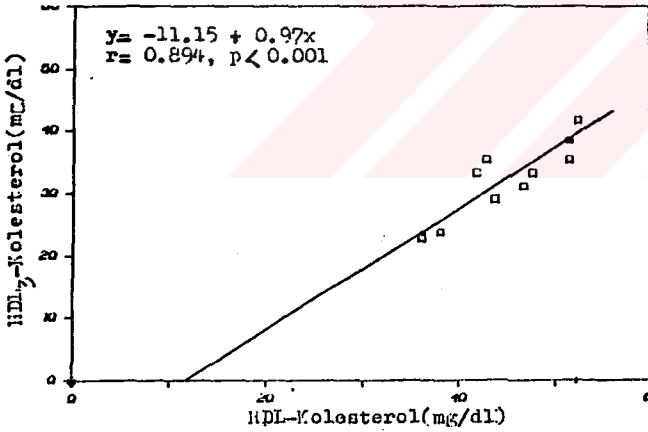
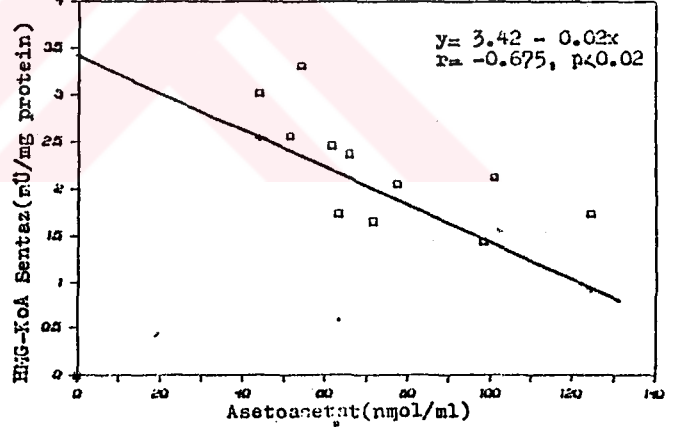
Şekil 26.9. T.Kol.-HDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki

Şekil 26.10. T.Kol.-HDL₂-Kol.Arasında Pozitif İlişki

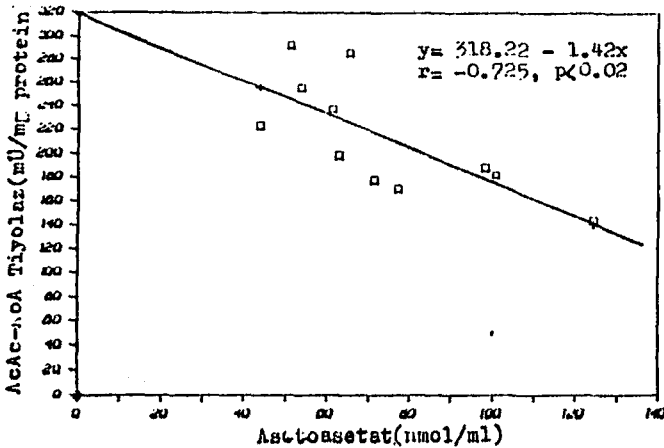
Şekil 26.11. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



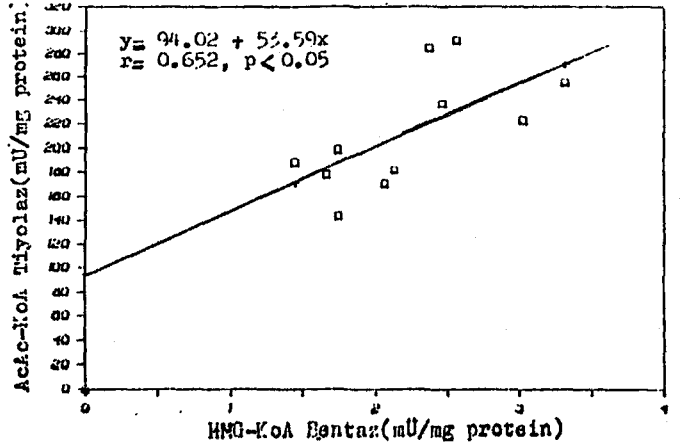
Şekil 26.12. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki

Şekil 26.13. HDL-Kol.-HDL₂-Kolesterol Arasında pozitif ilişki

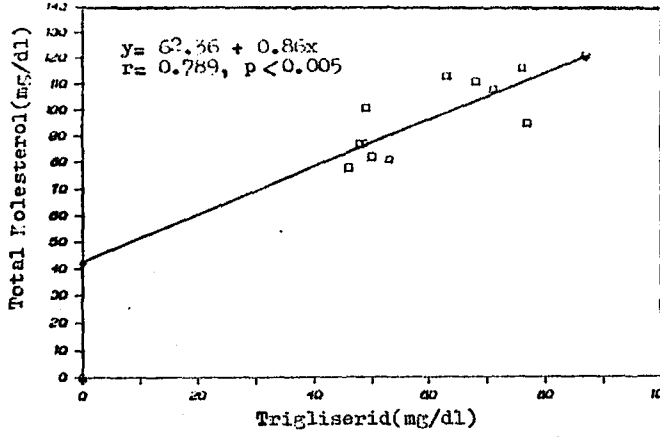
Şekil 26.14. Asetoasetat-HMG-KoA Sentez Arasında Negatif İlişki.



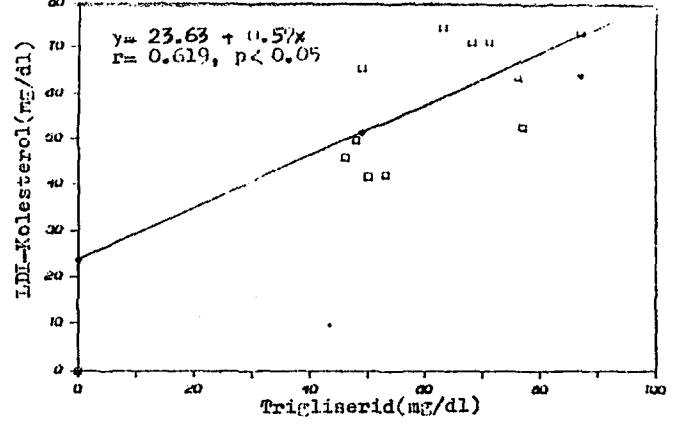
Şekil 26.15. Asetoasetat-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında negatif ilişki



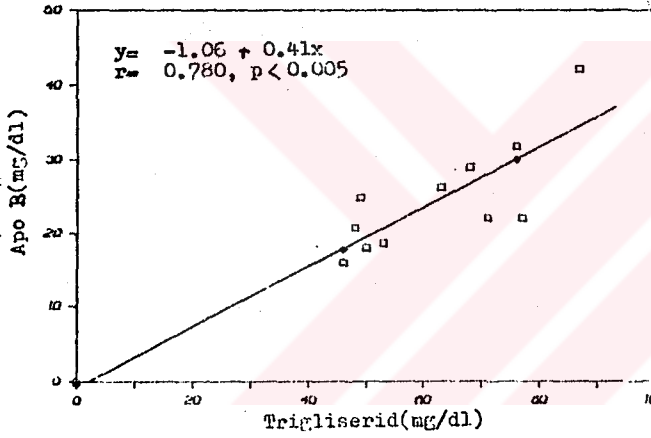
Şekil 26.16. HMG-KoA Sentez-AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki



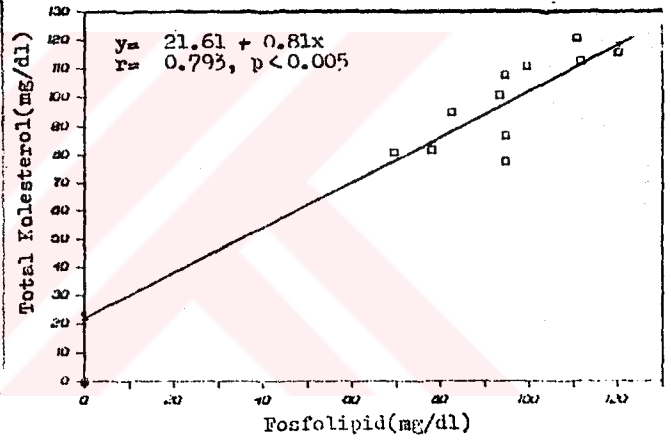
Şekil 27.1. TG-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki



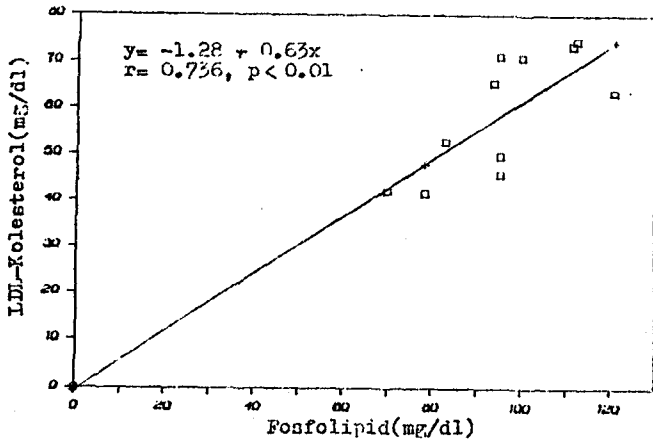
Şekil 27.2. TG-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki



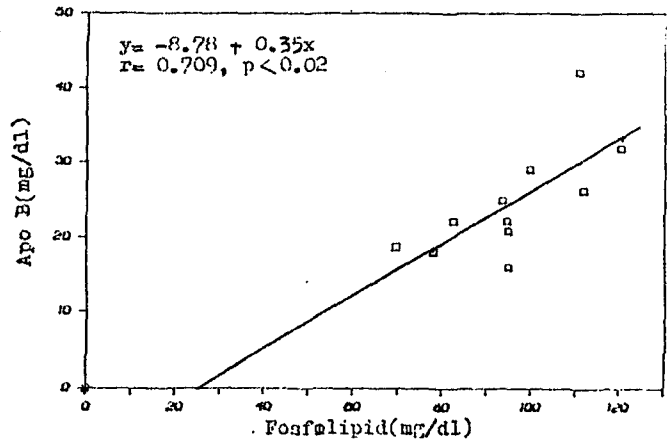
Şekil 27.3. TG-Apo B Arasında Pozitif İlişki



Şekil 27.4. FL-T.Kol. Arasında Pozitif İlişki

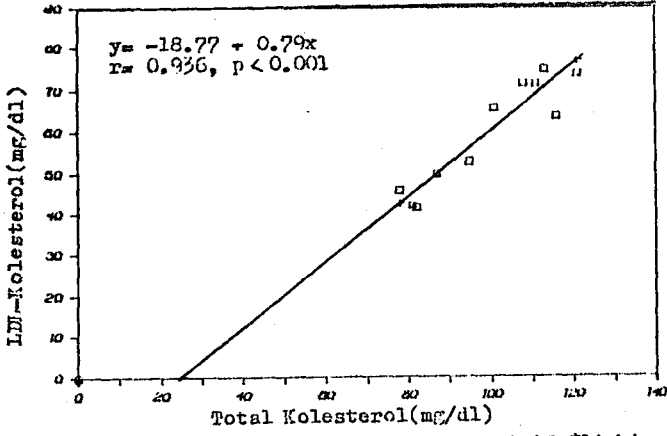


Şekil 27.5. FL-LDL-Kol. Arasında Pozitif İlişki

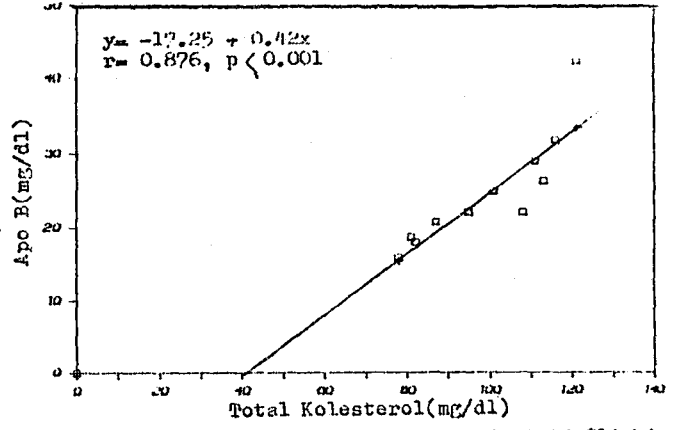


Şekil 27.6. FL-Apo B Arasında Pozitif İlişki

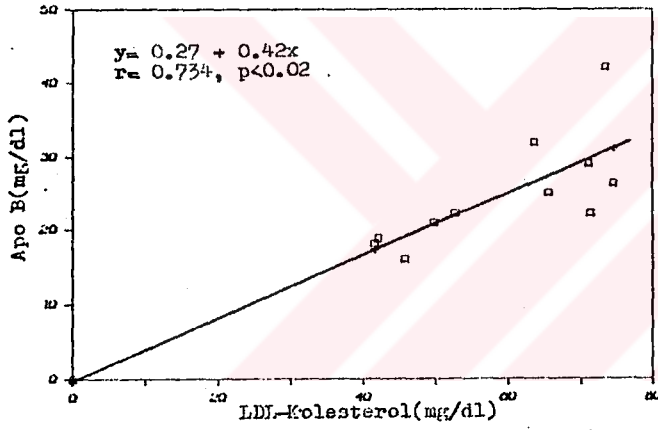
Şekil 27. Uzun Süre YD LNG Grubuna Ait Parametreler Arasındaki İlişkileri Gösteren Eğriler



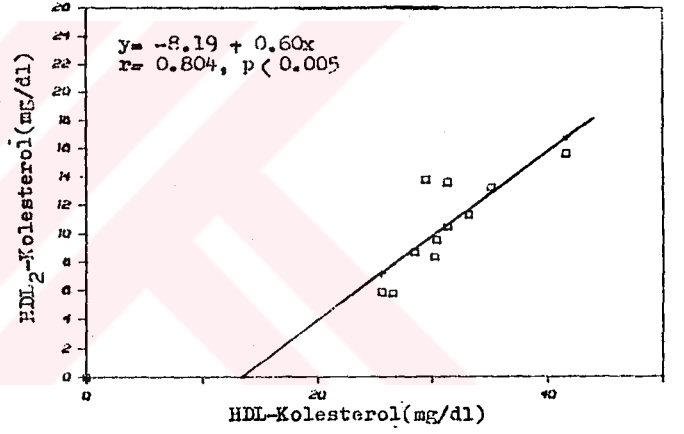
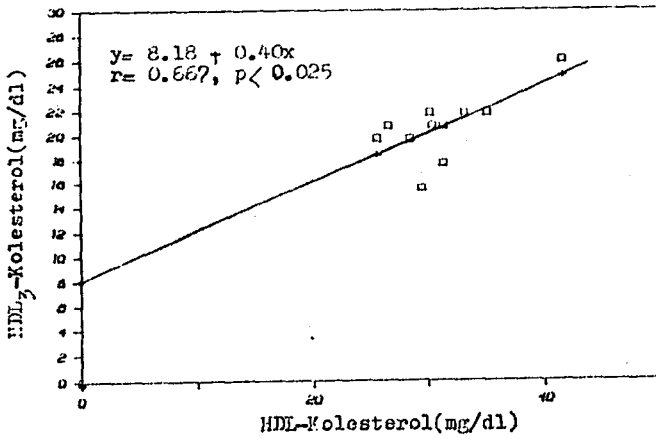
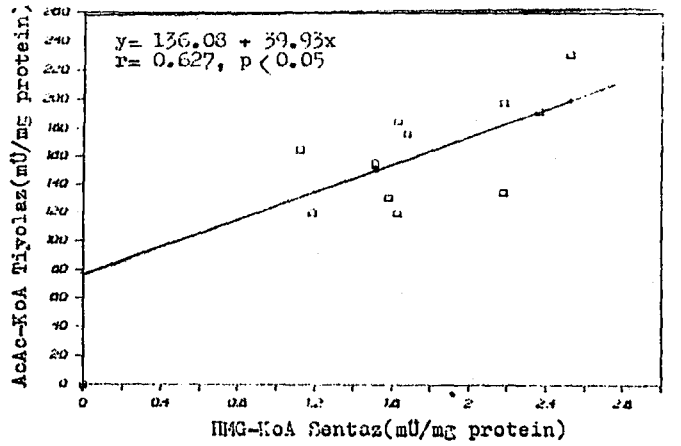
Şekil 27.7. T.Kol.-LDL-Kol.Arasında Pozitif İlişki



Şekil 27.8. T.Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki



Şekil 27.9. LDL-Kol.-Apo B Arasında Pozitif İlişki

Şekil 27.10. HDL-Kol.-HDL₂-Kol.Arasında Pozitif İlişkiŞekil 27.11. HDL-Kol.-HDL₃-Kol.Arasında Pozitif İlişki

Şekil 27.12. HMG-KoA Sentaz ve AcAc-KoA Tiyolaz Arasında Pozitif İlişki

5. TARTIŞMA

Kontraseptif steroidlerin lipid metabolizması üzerine etkilerini hücresele seviyede incelemek amacıyla yaptığımız bu çalışmada rat modeli kullanılmıştır.

Seksüel olgunluğa 50-60.günlerde ulaşan ratların ilk estrus siklusu 36.günde başlamaktadır(188). Bu nedenle 75-85 günlük dişi ratlar çalışma kapsamına alınmıştır.

Hayvan deneylerinden elde edilen sonuçların insanlara uygulanması, eğer uygulama şekilleri aynı olursa daha büyük bir güvenle yapılabilir. Drogun dağılımı, metabolitleri ve çeşitli dokular üzerindeki etkisi uygulama şekline göre değişecektir. Kontraseptif steroidlerin hayvan deneylerinde genelde, klinik yol olan "oral" kullanılmaları tasarlanmıştır(119). Bu nedenle bu çalışmada, E/P kombinasyonları ratlara oral yolla verilmiştir.

Çalışmada, ratlara oral uygulanacak preparatların düşük ve yüksek doz ayarlamaları, literatürdeki "düşük ve yüksek doz" tanımları dikkate alınarak yapılmıştır. Literatüre göre, hayvan deneylerinde toksik olmayan doz seviyesinin göstergesi olarak tanımlanan düşük doz (DD), klinik dozun (mg/kg vücut ağırlığı/gün), 2-5 katı olacak şekilde ayarlanmaktadır. Yüksek doz (YD) ise , insanlara uygulanan klinik dozun (mg/kg vücut ağırlığı/gün), 200-400 katıdır (119). Bu çalışmada DD, klinik dozun 4 katı ve YD klinik dozun 200 katı şeklinde ayarlanmıştır.

İnsanlardaki 30 günlük siklusla karşılaştırıldığında, ratların 4-5 günlük çok kısa estrus siklusuna sahip olduğu görülür(119,188). Bu durum, foliküler ve luteal fazların üstüste binmesinden meydana gelir(119). Bu nedenle pre-klinik çalışma kabul edilen hayvan deneyini klinik çalışmaya paralel götürebilmek ya da klinik çalışmayla karşılaştırabilmek için; klinik olarak 3 ay yürütülen kısa süreli bir çalışmanın, ratlarda 15 günlük bir süreye ve 2 yıl gibi uzun süreli klinik bir çalışmanın, ratlarda 120 günlük bir periyota karşılık geleceği varsayılarak, bu çalışma planlanmıştır.

McCONNEL(117) ve JOHNSON(79)'a göre, kontraseptif kullanımında, fizyolojik dengenin sürdürülmesine ilaveten, istenilen kontraseptif etkileri sağlamak için, kombinasyondaki E/P oranının belli bir sınır içinde olması şarttır. Bu oranı belirleyen kriterlerden bir tanesi, salgılayan bir endometriyum üretebilen E/P kombinasyonunun miktarıdır. Bu nedenle, insanlar için kullanılan kombinasyonlarda, E/P oranı, projestasyonal ajanın biyolojik gücüne bağlı olarak 1/5-1/80 sınırları içerisindedir. Ratlarda ise, salgılayıcı endometrial bir değişiklik üreten E/P oranı, 1/10.000-1/20.000 arasındadır(79,117). İnsan formülasyonlarının ratlara uygulanması, yani klinik dozun katları temeline dayanarak dozun ayarlanması, projestinin etkisini baskılayan, estrojenik komponentin aşırı dozuyla sonuçlanır ve fizyolojik olmayan hormonal bir ortam yaratır(79,117,119). Estrojen dengesizliği, 19-nortestosteron türevi projestinlerin, ratlarda estrojenik aktivite göstermeleri ile daha da artırılabilir(79,117).

Bu açıdan değerlendirildiğinde, çalışmamızda kullanılan kontraseptif steroid kombinasyonlarında E/P oranı; LNG için, 1/4 ve NEA için, 1/80 olduğundan; ratlara aşırı dozda estrojen yüklenildiği açıkça görülmektedir.

Bu çalışmada kullanılan laboratuvar metodları güvenilirlik açısından incelendiğinde, DK değerlerinin % 10'un altında olduğu bulunmuştur.

Yapılan literatür taramasında ratlarda normal plazma T-kol seviyeleri 46-85 mg/dl(43,68,81,84,124); TG seviyeleri 25-54 mg/dl(68,84,124,186); FL seviyeleri 62-100 mg/dl(81,84); LDL-kol seviyeleri 7.98-11.1 mg/dl(16,81,84); total HDL-kol değeri 30.8-56.12 mg/dl(68,81,84,124); Apo A₁ değeri 30.5-37 mg/dl (43,186) ve Apo B değeri 14.58mg/dl(124) sınırları içinde ve rat KC'inde ölçülen sitoplazmik HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleri sırasıyla

2.0 mÜ/mg protein(33,35) ve 148-205 mÜ/mg protein(33,35,152) ve HL aktivitesi 58.33 mÜ/mg protein(7) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda kontrol gruplarına ait parametre değerleri de literatüre çok yakın bulunmuştur.

Steroid hormonları, hipotalamus-hipofiz eksenindeki merkezi fonksiyonlarının yanı sıra, periferik metabolik dokular üzerinde de direkt etkilidir(176). Seks steroidlerinin lipid metabolizması üzerindeki etkilerini, en azından kısmen, KC'de gerçekleşen lipid sentezini ve/veya Lp'lerin birbirine dönüşümünü etkileyerek gösterdiği varsayılabilir(169).

Kolesterojenez ve ketojeniz, KC'in birbirinden bağımsız regülasyon gerektiren fonksiyonları olmakla beraber, her iki senteze ait ilk iki reaksiyon, kimyasal olarak birbirinin aynı olup, HMG-KoA senteziyle sonuçlanmaktadır(35).

Hepatik kolesterojenez ve ketojeniz için HMG-KoA üreten sistemler AcAc-KoA tiyolaz ve HMG-KoA sentaz aktivitelerinden oluşmaktadır(33). Son yıllarda sitozolik ve mitokondriyel sentaza ait birbirinden bağımsız iki farklı genin varlığı gösterilmiştir(9).

Kolesterol biyosentezine katılan HMG-KoA, sitoplazmik sentaz ve tiyolaz aktiviteleriyle, sitoplazmik hücre kompartımanında bulunan asetil-KoA'dan sentezlenmektedir(34). Sentez sırasında başlıca kontrol HMG-KoA seviyesinde olduğundan, HMG-KoA redüktazın yanı sıra, sentaz ve tiyolaz aktivitelerinin düzenlenmesi de önem kazanmaktadır(116,147). Sitoplazmik sentaz ve tiyolazdan birinin ya da her ikisinin birden regülasyonu, kolesterojenezin baskılanması halinde, sitoplazmik asetil-KoA havuzunun tükenmesini önlemek bakımından gerekli görünmektedir(32).

Rat modeli kullanılan in vivo çalışmalar, HMG-KoA sentaz ve redüktaz aktiviteleri ile(13,120,147); gene aynı şekilde sentaz ve tiyolaz aktivitelerinin(32, 34,35,152) birlikte düzenlenebileceğini göstermiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre; HMG-KoA sentaz, başlıca mRNA seviyesinde ve HMG-KoA redüktaz ile koordine halde regüle edildiği gibi(120,147), AcAc-KoA tiyolaz aktivitesiyle de paralel şekilde düzenlenmektedir(152).

Çalışmamızda da, sitozolik HMG-KoA üreten sistemi oluşturan sentaz ve tiyolaz aktivitelerinin, hemen hemen birbirine paralel şekilde değiştiği gözlen-

miştir. Ayrıca, çalışma kapsamına alınan tüm gruplarda HMG-KoA sentaz ve tiyolaz aktiviteleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişkinin varlığı da tespit edilmiştir.

Kontrol gruplarına göre, kısa süreli çalışmada, düşük ve yüksek dozda uygulanan kombine preparatların hepsi, HMG-KoA sentaz aktivitesinin yanısıra; DD LNG grubu hariç, AcAc-KoA tiyolaz aktivitesini de artırmıştır. Uzun süreli çalışmada ise, DD NEA ve YD LNG gruplarında, her iki enzim aktivitesinin de baskılandığı, buna karşılık YD NEA ve DD LNG gruplarında enzim aktivitelerinin değişmediği görülmüştür. DD'da kullanılan NEA ve LNG preparatlarının enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri, kısa süreli çalışma içerisinde birbirinden farklı değilken, uzun süreli çalışmada NEA, LNG'ye göre, enzim aktivitelerinin daha çok yükselmesine yol açmaktadır. Ayrıca, DD LNG grubu hariç diğer gruplarda, enzim aktivitelerinin süreye bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Literatürde, HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleri üzerine, sentetik seks steroidlerinin etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Ancak, EE'nin kolesterol sentezinin hızı ve HMG-KoA redüktaz aktivitesi üzerine in vivo etkilerini inceleyen çalışmalar gözden geçirildiğinde, birbirleriyle çelişkili oldukları görülmüştür. EE'nin ratlara hipokolesterolemi oluşturacak dozlarda uygulanması; kolesterol sentezini ve redüktaz aktivitesini azaltmakta(48,70) ya da redüktaz aktivitesini etkilememektedir(102). Bununla beraber, LETTERIE ve ark(102)'nın, estrogen, projestin ve E/P kombinasyonlarının hepatik kolesterol metabolizması ve özellikle HMG-KoA redüktaz aktivitesi üzerine etkilerini araştıran çalışma, bulgularımızın değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır.

LETTERIE ve ark(102), 6 gruba ayırdıkları ratlara subdermal yerleştirilen kapsüllerle, sırasıyla günde 0.1 mg EE; 1.0 mg EE; 1.0 mg NG; 10 mg NG; 0.1 mg EE/1.0 mg NG ve 1.0 mg EE/10 mg NG uyguladıklarında; 8 günün sonunda sadece kombine steroid verilen gruplarda, doza bağımlı olmaksızın, enzim aktivitesinin belirgin şekilde arttığını, diğer gruplarda ise değişmediğini gözleyerek, EE ve 19-norprojestinler arasındaki sinerjik etkileşme sonucu, HMG-KoA redüktaz aktivitesinin indüklendiğini öne sürmüşlerdir.

Daha önce bahsedildiği gibi, HMG-KoA redüktaz, sentaz ve tiyolaz aktivitelerinin birlikte düzenlendiği(32,34,35,152) bulguları dikkate alınacak olursa; kısa süreli çalışmamızda düşük ve yüksek dozda uygulanan kombine steroidlerin enzim aktivitelerini artırdığını gösteren bulgularımız, LETTERIE(102)'nin çalışması ile uyumludur. Yani, HMG-KoA redüktaz aktivitesinin, E/P kombinasyonlarıyla yükselmesi, redüktazla birlikte regüle edilen sentaz ve tiyolaz aktivitelerinin de yükselebileceği fikrini desteklemektedir.

Kısa süreli çalışmamızda, HMG-KoA sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktivitelerinde gözlenen değişiklikler, plazma T-kol seviyelerine yansımış gibi görünmektedir. Çünkü, kısa süreli çalışmada, DD LNG grubunun dışında, diğer gruplarda yüksek T-kol seviyeleri tespit edilmiştir. Uzun süreli çalışmada ise, gene DD LNG grubu dışında, tüm gruplarda T-kol seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir. DD'da uygulanan LNG preparatlarının, enzim aktiviteleri üzerinde süreye bağlı bir etki yapmaması, bu gruplarda T-kol seviyelerinin değişmediği bulgusuyla uyum içindedir. Buna karşılık, LNG'nin yüksek dozları, süreye bağlı olarak enzim aktivitelerini önemli ölçüde düşürürken, T-kol seviyelerinin yükseldiği görülmektedir. DD ve YD NEA gruplarında da süreye bağımlı olarak, enzim aktiviteleri azalırken T-kol'ün gittikçe yükseldiği tespit edilmiştir.

Bu bulgular, kısa süreli çalışmada, DD LNG hariç, E/P kombinasyonlarının enzim aktivitelerini artırdığı ve buna bağlı olarak plazma T-kol seviyelerinin yükseldiği ve sürenin ilerlemesiyle gittikçe yükselen T-kol seviyelerinin feedback inhibisyonla enzim aktivitelerini baskıladığı şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda, E/P kombinasyonlarının doza bağlı etkileri incelendiğinde, DD LNG her ne kadar kontrollere göre, T-kol seviyelerini önemli ölçüde değiştirmemişse de, çalışma süresi boyunca, doza bağlı olarak T-kol seviyelerinde artışa neden olmuştur. Buna karşılık, NEA'nın kısa sürede görülen doza bağımlı etkisi, uzun sürede ortadan kalkmaktadır. LNG ve NEA etki bakımından birbiriyle karşılaştırıldığında, düşük dozlarda, NEA'nın LNG'ye göre, T-kol seviyelerini daha çok artırdığı; yüksek dozlarda ise, ancak sürenin uzamasıyla bu etki farkının yeniden ortaya çıktığı görülmektedir.

Asetil ünitelerinin suda çözünebilen ve taşınabilen bir formu olarak kabul edilen asetoasetat, KC mitokondrilerinde sentezlenmekte ve periferel dokularda kullanılmaktadır(164). Klasik bilgilere göre, KC'de asetoasetatı aktive eden mitokondriyel 3-oksoasid-KoA transferaz ve sitozolik asetoasetil-KoA (AcAc-KoA) sentetaz aktiviteleri ya hiç yok ya da çok düşük düzeylerde bulunduğundan, asetoasetatın kullanımı ekstrahepatik dokularda gerçekleşmektedir(145).

Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar, KC'in asetoasetatı lipojenezde substrat olarak kullanmak için, geniş bir kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir(13, 46,47,61,123). Fizyolojik görünümüne göre, KC'in parankima hücreleri, hem keton cisimlerini üretmekte hem de kullanabilmektedir: Mitokondrilerde yağ asitlerinin yıkımıyla oluşan keton cisimleri, sitozolde yağ asitlerinin de novo sentezine, kısa ve orta zincirli yağ asitlerinden, uzun zincirli yağ asitlerinin oluşumuna ya da kolesterojeneze katılmaktadır. Asetoasetat, ekstrahepatik dokularda olduğu gibi, KC'de de asetil ünitelerinin taşıyıcısı olarak fonksiyon yapmaktadır(61).

Perfüze KC'de(46) ve izole rat hepatositlerinde(61) yapılan in vitro çalışmalar, asetoasetatın özellikle kolesterojenezde kullanıldığını göstermiştir. ENDEMAN ve ark(46), izole edilmiş perfüze rat KC'inde, metabolik duruma bağlı olarak, keton cisimlerinin sterol ve yağ asitlerine sırasıyla, % 19-80 ve % 22 oranında katıldığını; GEELLEN ve ark(61) ise, izole edilmiş rat hepatositlerinde, bu katılımın kolesterol ve yağ asitlerinin de novo sentezi için, sırasıyla % 21-75 ve % 14-54 arasında değiştiğini bulmuşlardır. GEELLEN(61)'e göre, yağ asitleriyle karşılaştırıldığında, asetoasetatın kolesterol sentezine katılımı, 1.4-2.3 kez daha büyüktür.

Ayrıca, ratlara sub kutan enjekte edilen asetoasetatın kısa sürede hepatik lipidlere inkorpore olması, asetoasetatın kolesterojenezde kullanıldığını gösteren, in vivo bir kanıttır(13). Bu çalışmalar, asetoasetatın kolesterojenezde spesifik bir fonksiyonu olduğunu öne sürmektedir(13,46,61).

İzoprenoid sentezinde, asetoasetil-KoA ilk sitozolik aracı olduğundan(13);KC'de, "asetoasetat + KoA-SH + ATP → Asetoasetil-KoA + AMP + PPİ" reaksiyonunu katalizleyen sitozolik AcAc-KoA sentetazın, asetoasetatı aktive etti-

ğine inanılmaktadır(13,46,152). İn vivo ve in vitro çalışmalara göre, asetoasetatın aktive edilen 4 karbon ünitesi, AcAc-KoA tiyolazla asetil-KoA'ya da çevrilmesi mümkün olduğu halde, HMG-KoA sentaz tarafından tercihan kullanılmakta ve HMG-KoA'ya katılarak, daha sonra kolesterolün yapısına girmektedir. Bu durum, asetoasetattan üretilen asetoasetil-KoA'nın sitozolik tiyolaz ile dengelenmediğini yani sitozolik asetoasetil-KoA ve asetil-KoA havuzları arasında bir denge olmadığını da gösterir(13,46,123).

BERGSTROM ve ark(13), asetoasetatın kolesterojenezdeki rolünü daha iyi belirleyebilmek için yaptıkları çalışmada, asetoasetatı aktive eden sitoplazmik AcAc-KoA sentetazın, ratların KC ve adrenallerinde kolesterol biyosentezini ve/veya HMG-KoA redüktaz, HMG-KoA sentaz aktivitelerini etkileyen modulatorler tarafından yüksek derecede regüle edildiğini gösterdiler. Ayrıca, aç bırakılmış ratların zeytinyağı ile akut beslenmelerini takiben, HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz ve AcAc-KoA sentetaz aktivitelerinin yükselmesi; bu enzimlerin birbirine paralel bir şekilde düzenlendiğini göstermektedir(152). Bu çalışmalara göre, sentetazın regülasyonu ve asetoasetatın lipojenezde kullanılması kolesterojenezin regülasyonuna çok sıkı bir şekilde bağlı görünmektedir(13,152).

Çalışmamızda, kontrol gruplarına göre, E/P kombinasyonu uygulanan tüm gruplarda plazma asetoasetat seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği gözlenmiştir. Kısa ve uzun süreli çalışmada, NEA ve LNG preparatları dozlarına göre, kendi içlerinde karşılaştırıldığında; NEA'nın doza bağımlı bir etkisi olmadığı, buna karşılık LNG'nin yüksek dozlarda asetoasetat seviyelerini daha çok artırdığı belirlenmiştir. Gene aynı şekilde, NEA'nın etkisi süreye bağımlı değilken, yüksek dozlarda kullanılan LNG'nin etkisi sürenin uzamasıyla değişmektedir. Ayrıca, iki preparat içerdikleri projestin tipine göre karşılaştırıldığında, plazma asetoasetat seviyeleri üzerinde aynı etkiye sahip görünmektedir.

Yapılan literatür taraması içinde, E/P kombinasyonlarının asetoasetat üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Fakat, çalışmamızda LNG ve NEA verilen tüm gruplarda asetoasetat seviyelerinin yükselmesi, E/P kombinasyonlarının, henüz açıklayamadığımız bir mekanizma ile, plazma asetoasetat seviyelerini etkilediğini göstermektedir.

Her ne kadar bu çalışmada, AcAc-KoA sentetaz aktivitesini ölçme imkanımız olmamışsa da, daha önce bahsedildiği gibi, son yıllarda yapılan çalışmalar, KC'de asetoasetatı aktive ederek kolesterojenezle katılmasını sağlayan bu enzimin; HMG-KoA redüktaz, sentaz ve AcAc-KoA tiyolaz aktiviteleriyle birlikte regüle edildiğini ve kolesterojenezle yakın ilişkili olduğunu öne sürmektedir(13,46,61,123,152).

HMG-KoA redüktaz aktivitesinin E/P kombinasyonlarıyla yükseldiğini gösteren LETTERIE ve ark(102)'nin çalışması dikkate alınacak olursa, çalışmamızda kısa süre kullanılan E/P kombinasyonlarının sentaz ve tiyolazın yanısıra, AcAc-KoA sentetazı da aktive ettiği varsayılabilir.

Böylece, asetoasetatın aktivasyonu ve kolesterol sentezine katılımı artacağından, kolesterojenezin artmış hızı, plazma T-kol seviyelerine yansıtacaktır. Gerçekten, bu yaklaşımımıza uygun şekilde, kısa süreli çalışmamızda, asetoasetatın yanısıra, HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz aktivitelerinin ve T-kol seviyelerinin de yükseldiği tespit edilmiştir. Buna karşılık uzun süreli çalışmamızda, YD LNG, DD ve YD NEA gruplarında, T-kol ve asetoasetatın yüksek seviyelerine, düşük enzim aktivitelerinin eşlik etmesi, feed-back inhibisyonun varlığını düşündürülebilir.

Başlıca yağ asitlerinin hepatic oksidasyonundan açığa çıkan asetoasetatın, kolesterol sentezinde substrat olarak kullanılmasının önemi, henüz açıklanmamış olmasına rağmen; belki de asetoasetat, yağın kolesterole dönüşümünde önemli bir aracı olarak rol oynamaktadır. Ayrıca, asetoasetatın rolünün, çeşitli fizyolojik durumlara bağlı olduğu da dikkate alınmalıdır(13). Örneğin, GEELLEN ve ark(61)'nin, süt verme dönemindeki dişi ratlardan izole edilen hepatositlerde, asetoasetatın kolesterole inkorporasyonunun daha fazla olduğunu göstermesi, hormonal bir etkinin varlığını yansıtabilir.

Süt verme döneminde, prolaktin (PRL) seviyeleri yükselmektedir(125). Ratlara uygulanan kontraseptif steroidler, estrogen ağırlıklı olduklarından, sürekli olarak yüksek estrogenin varlığı, süt verme dönemindekine benzer şekilde, ratlarda PRL salınımını artıracak ve yüksek PRL seviyelerine yol açacaktır(117). Bu nedenle süt verme dönemindeki dişi ratlarda gözlenen, asetoasetatı etkileyen metabolik durum, kontraseptif steroidlerin kullanımıyla da ortaya çıkabilir.

Bu yaklaşıma göre, bulgularımızı değerlendirecek olursak, çalışma gruplarımızda E/P kombinasyonlarının asetoasetatin aktivasyonunu ve buna bağlı olarak kolesterojeneze katılımını artırdığını ve böylece plazma T-kol seviyelerinin yükselmesinde asetoasetatin da rolü olduğunu söyleyebiliriz.

Fizyolojik olarak, plazma LDL seviyeleri, LDL'nin oluşumu ve katabolizması arasındaki dengeye bağlıdır(38). Ratlarda, plazma LDL'nin yaklaşık % 80'ini dolaşımdan uzaklaştırabilen KC'in(162), çok sayıda LDL reseptörü içerdiği de son yıllarda belirlenmiştir(36). LDL'nin sentez hızı değişmediği sürece, LDL'nin hızlanmış katabolizması veya klirensinin azalması, plazma LDL seviyelerinde değişikliklere yol açabilir(16). Yüksek plazma LDL-kol seviyeleri için, başlıca iki mekanizmanın varlığı söz konusudur: birincisi LDL klirensinin azalması, ikincisi ise aşırı LDL üretimidir. Bu mekanizmaların kompleks ve çok faktörlü olduğu da bilinmektedir(38).

Çalışma kapsamına alınan tüm gruplarda, plazma LDL-kol seviyeleri, kontrollere nazaran daha yüksek bulunmuş ve DD LNG verilen grupların dışında, T-kol seviyelerine paralel bir şekilde yükselmiştir. Yani, yüksek plazma T-kol seviyelerine, yüksek LDL-kol seviyeleri eşlik etmektedir. Çalışmamızda ayrıca, DD NEA grubu dışında, diğer gruplarda plazma T-kol ve LDL-kol seviyeleri arasında pozitif yönde kuvvetli bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, NEA'nın LDL-kol üzerindeki etkisi, doza ve süreye bağlı olarak artarken; LNG'nin doza bağımlı etkisinin yanı sıra, yüksek dozlarında süreye de önemli olmaktadır. İki preparat arasındaki etki farkı, deney süresi boyunca, hem düşük hem de yüksek dozlarda görülmekte ve NEA, LNG'ye göre, LDL-kol seviyelerini daha çok artırmaktadır.

Hayvan deneyleri ile ilgili literatür taramalarında, kontraseptif kombinasyonların total ve LDL-kol seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen, bizim çalışmamıza benzer bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı direkt karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Bununla beraber, ayrı ayrı estrogenlerin ve projestinlerin ya da bu steroidlerin ardışık kullanımının kolesterol metabolizmasına etkilerini inceleyen bildiriler, bu çalışma kapsamı içerisinde değerlendirilmiştir.

Seks steroidlerinin etki mekanizması tam olarak anlaşılmış değilse de, insanlara(157) ve ratlara(27,70,91,150,186) uygulanan estrogenlerin plazma T-kol seviyelerini düşürdüğünü; artırdığını(175,176) ya da tavşanlarda değiştirmedini(172) gösteren çelişkili bildirimler vardır. Ayrıca, rat plazmasında estrogenin doza bağlı olarak, T-kol seviyelerini yükseltebileceği veya düşürebileceği de bildirilmiştir(53).

TKOCZ ve ark(175,176), 3 hafta boyunca, sürekli olarak DD'da EE uygulamak amacıyla, dişi ratlara yerleştirilen implantların, plazma T-kol ve LDL-, VLDL-kol seviyelerini ve pre- β fraksiyonunu artırdığını gözlemişlerdir. TKOCZ(176)'a göre, DD EE'nin pre- β fraksiyonundaki Lp seviyelerini artırması, hepatik VLDL salınımının artmasına karşılık gelmekte ve belki de ön madde-ürün ilişkisi nedeniyle, LDL-kol seviyeleri yükselmektedir. Buna karşılık, WEINSTEIN ve ark, ratlara DD(185) ve YD(186) EE uyguladıkları çalışmalarda plazma T-kol seviyelerinin baskılandığını gözlemişlerdir. WEINSTEIN(186)'a göre, EE'nin etkisiyle hepatik VLDL üretimi ve salınımı stimüle olmakla beraber, plazma kolesterol seviyelerinde gözlenen azalma, kolesterol taşıyan Lp'lerin hepatik ve/veya periferik kullanımının artmasına bağlanabilir.

Hayvan çalışmalarından elde edilen veriler, estrogenin LDL reseptörünü etkilemesine bağlı olarak, LDL ve kolesterol metabolizmasını değiştirdiğini göstermektedir. Bu konuyla ilgili perfüze rat KC'inde yapılan ilk çalışmalar(91, 190) ve son yıllarda in vivo olarak rat KC'inde(127,150) ve ratların KC'inden izole edilen hepatositlerde(70) yapılan çalışmalar, farmakolojik dozda uygulanan EE'nin, plazma lipid seviyelerini azalttığını; KC'de HMG-KoA redüktaz aktivitesini ve kolesterol sentezini baskılamakta, kolesterol içeriğini artırdığını göstermekte ve bu bulgulara dayanarak, EE ile indüklenen hipolipidemide, KC'in önemli bir rol oynadığını, KC membranlarında artmış LDL reseptörleri aracılığıyla, plazma lipid alınımının arttığını öne sürmektedir. COOPER ve ark(36) ise, EE ile indüklenen rat KC'inden saflaştırdığı LDL reseptörünün biyokimyasal ve immünolojik özelliklerinin; fare, köpek, insan gibi diğer türlerde de aynı olduğunu göstermişlerdir. COOPER(36)'a göre, normal yetişkin ratların KC'inde bulunan bu reseptör, LDL'yi olduğu kadar, kolesterolden zengin HDL_C ve β -VLDL'yi de bağlamaktadır.

Projestinlerin, genelde T-kol ve LDL-kol seviyelerini yükseltmeye meyilli oldukları bilinmesine rağmen, bunun karşıtını gösteren çalışmalar da vardır. Dişı ratların 15 gün süreyle yemine katılan DD LNG'nin, plazma T-kol ve LDL-kol seviyelerini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir(84). Buna karşılık, ratlara akut uygulanan estran tipi projestinler, T-kol ve LDL-kol seviyelerini doza bağılı olarak önemli ölçüde düşürmüş ve hatta, EE ile ardışık kullanılan NEA ve LNG, tek başına uygulanan estrojenin total ve LDL-kol üzerindeki etkisini baskılamışlardır(175,176).

Hayvan deneylerinin yanısıra, pek çok klinik çalışmadan elde edilen veriler, kontraseptif steroidlerin total ve LDL-kol seviyelerini etkileyebileceğini göstermektedir. Monofazik EE/LNG kombinasyonlarıyla ilgili çalışmaların bir kısmı T-kol ve LDL-kol seviyelerinin yükseldiğini(22); bir kısmı da değişmediğini(93,103,180,192) öne sürmektedir. EE ve LNG içeren trifazik kontraseptiflerin ise, genelde total ve LDL-kol'ü değiştirmedeği görüşü yaygın olmakla beraber(15,69,86,114,191); NOTELOWITZ(130), her iki parametrenin de yükseldiğini, fakat bu artışın laboratuvar metodlarının normal sınırları içerisinde olduğunu vurgulamıştır.

EE ile kombine NET (NEA) kombinasyonlarının genelde T-kol ve LDL-kol değerlerini artırdığı(22,182,187) veya sadece T-kol'ü(93,182,187,192) ya da sadece LDL-kol'ü(153) artırdığı öne sürülmektedir. EE ve NET içeren bifazik ve trifazik preparatlarla, ya her iki parametrenin de yükseldiği(22,130,140) ya da değişmediği(110,140) gösterilmiştir.

NOTELOWITZ ve ark(130), NET ve LNG içeren kombinasyonların etkisini karşılaştırdıklarında, LNG verilen grupta LDL-kol seviyelerini daha yüksek bulduklarından, LNG'yi potansiyel olarak daha aterojenik kabul etmişlerdir. Araştırmacıların çoğuna göre, sentetik projestinlerin esas etkisi, doza ve entrensek androjenik özelliklere bağılı görünmekte ve LNG, NET (NEA)'a göre, daha büyük androjenik aktiviteye sahip olduğundan, lipidler üzerinde daha etkili olmaktadır(87,93,132,180,182,187).

Çalışmamızda kullanılan tüm preparatların estrojen ağırlıklı oldukları(117), kabul edilecek olursa, TKOCZ ve ark(175,176)'nın EE ile ilgili bulguları dışında, diğere hayvan modeli kullanılan çalışmaların sonuçları, bizim bulguları-

mızla tam bir uyum içinde değildir. Fakat bu çalışmalarda kullanılan doz, uygulama süresi ve şekli de sonuçların farklı olmasını etkileyebilecek faktörlerdir. Ayrıca, sentetik estrogenlerin, plazma kolesterolünü düşürücü etkisinin daha zayıf olduğu da bilinmektedir(12). Projestinlerin ise, etki bakımından türler arası farklılık gösterdiği, insanlarda kuvvetli projestasyonal aktiviteye sahip 19-nortestosteron türevi bazı projestinlerin köpek ve ratlarda estrogenik aktiviteleri olduğu bildirilmiştir(79). Bu görüşü de dikkate alarak, her ne kadar çalışmada kullandığımız preparatlar, ratlar için estrogen ağırlıklı kabul edilseler de, E/P kombinasyonunun komponentleri arasında, tıpkı kontraseptif etkinin ortaya çıkmasında görüldüğü gibi, sinerjik bir etkileşme de söz konusu olabilir.

Çalışmamızda elde edilen yüksek T-kol ve LDL-kol seviyeleri, çalışmanın kendi kapsamı içinde, enzim aktiviteleri ve asetoasetat seviyeleri ile uyum içindedir.

Plazma FL'leri için, başlıca kaynak KC'dir. Estrogenlerin kalitatif ve kantitatif olarak FL sentezini etkilediği bilinmektedir(44,151).

RUSINOL ve ark(151), 17- β estradiol uygulanan tavuklarda plazma FL, TG ve T-kol seviyelerinin yükseldiğini ve estradiolün hepatik FL biyosentezini artırdığını gözlemişlerdir. EDEN ve ark(44)'nın çalışmasında ise, gonadektomi yapılan dişi ratlara estrogen uygulanması FL seviyelerini etkilemezken, hipofizektomize ratlarda, FL seviyelerinin düştüğü ve estrogen uygulanmasıyla da yükselmediği gözlemlendiğinden; gonadal steroidlerin hipotalamus-hipofiz eksenini aracılığıyla, KC'de FL'lerin biyosentezi ve katabolizmasını etkilediği sonucuna varılmıştır.

Başka bir çalışmada ise, ratlara çok yüksek dozda uygulanan EE'nin, KC'de FL sentezini etkilememekle beraber, plazma FL seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir(70). Buna karşılık, projestinlerle ilgili bir çalışmada, DD'de uygulanan LNG'nin, total plazma FL seviyelerini değiştirmediği gösterilmiştir(84).

Klinik çalışmalara göre, trifazik EE/LNG kombinasyonlarının plazma FL seviyelerini artırdığı(86,114); monofazik EE/LNG(180) ve EE/NEA(10,153) preparatlarının ise, değiştirmediği öne sürülmüştür.

Plazma FL seviyeleri, çalışma kapsamına alınan tüm gruplarımızda, kontrole nazaran daha yüksek bulunmuştur. Bununla beraber, NEA'nın FL üzerindeki etkisi süreye bağlı görünürken; dozun artması etkiyi değiştirmemektedir. LNG ise, hem doza hem de süreye bağlı olarak, FL seviyelerini artırmaktadır. Preparatlar etki bakımından birbiriyle karşılaştırıldığında, iki preparat arasında kısa sürede görülmeyen etki farkı, ancak uzun sürede düşük dozlarda ortaya çıkmakta, yüksek dozlarda ise gene tespit edilememektedir.

Ayrıca çalışma kapsamına alınan tüm gruplarda, plazma FL-T-kol seviyeleri arasında ve kısa süre DD NEA, LNG grupları dışında, diğer gruplarda FL-LDL-Kol seviyeleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişkinin olduğu görülmüştür. Kısa süre DD'da uygulanan NEA ve LNG gruplarında ise, plazma FL-asetoasetat seviyeleri arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Çalışmamızda, FL, T-kol, LDL-kol ve asetoasetat seviyelerinin yüksek bulunması, bu parametrelerin birbiriyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Hayvan deneyleri ile ilgili literatür taramalarında, plazma FL seviyeleri üzerine E/P kombinasyonlarının etkisini inceleyen, bizim çalışmamıza benzer bir çalışmaya rastlayamadığımızdan, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Ancak, çalışmamızda kullanılan tüm preparatların estrojen ağırlıklı oldukları kabul edilecek olursa, bulgularımız RUSINOL(151) ve EDEN(44)'nin çalışmalarıyla uyumludur. Ayrıca, HROMADOVÁ(75)'nin yorumuna göre, estrojenin HL ve fosfolipaz aktivitelerini baskılamasıyla, HDL'nin KC'e akışı ve KC'de yıkımı azalacağından, plazma HDL ve FL seviyeleri yükselmektedir. Daha sonra değinileceği gibi, çalışmamızda, YD LNG grubu dışında, diğer gruplarda, kontrollere göre, HL aktivitesinin daha düşük olması, plazma FL seviyelerinin yükselmesine yol açan bir faktör olabilir. Bu yönden değerlendirildiğinde, bulgularımız HROMADOVÁ(75)'nin yorumu ile desteklenmektedir.

TG, başlıca bağırsaklardan gelen şilomikronlar ve KC'den salınan VLDL ile kan dolaşımında taşınmaktadır. Hepatik VLDL salınımı ile ilgili çalışmalar, dişi seks hormonlarının, özellikle estradiolün bu salınımı sitümüle ettiğini göstermektedir(73,157,177,186,190).

Ancak, estrojenlerin VLDL-TG'nin hepatic sentezini ve salınımını artırdığı bilinmekle beraber, ratlara DD'da uygulanan EE'nin plazma TG seviyelerini

yükselttiği(177,190); buna karşılık, YD EE'nin belirgin bir hipolipidemiye yol açtığı bildirilmiştir(27,70,186). Doza bağlı olarak ortaya çıkan bu çelişki, WEINSTEIN(186)'a göre, YD EE'nin Lp metabolizmasına olan spesifik etkisinden çok, estrojenin iştah baskılaması sonucu gıda tüketiminde azalmaya yol açan indirekt etkilerine bağlıdır.

Plazma TG'leri üzerine projestinlerin etkisini inceleyen bildiriler de birbiriy-le çelişkilidir. Bazı araştırmacılar projestinlerin (NEA ve/veya LNG) plazma TG değerlerini düşürdüğünü(84,85); bazıları da etkilemediğini öne sürmektedir (177).

KHOKKA ve ark(84), dişi ratların 15 gün süreyle yemine katılan DD LNG'-nin plazmada total ve VLDL-TG seviyelerini düşürdüğünü gözledikleri çalışmada, LNG'nin hepatik TG sentezi ve salınımını inhibe ettiğini saptayarak, plazma TG seviyesindeki azalmayı bu inhibisyona bağlamışlardır. Ayrıca, LNG'-nin TG sentezini inhibe etmesini, hız sınırlayıcı enzimler seviyesinde araştırdıkları daha kapsamlı başka bir çalışmada(85), LNG'nin, gliserolipidlerin oluşumuna ait ilk reaksiyonu katalizleyen, hepatik mikrozomal gliserol 3-fosfat açıltransferaz (GPAT) aktivitesini % 26 oranında düşürdüğünü gözleyerek, plazma TG seviyesindeki azalmanın, kısmen bu inhibisyon yoluyla olduğunu öne sürmüşlerdir. Bununla beraber LNG, hepatosit TG sentezinin inhibisyonuna göre, hepatosit TG salınımını daha büyük çapta inhibe etmektedir. LNG'nin bu çok hızlı inhibe edici etkisi, bilinen steroid etki mekanizmasından farklı bir şekilde meydana geliyor olabilir(84).

TKOCZ ve ark(177) ise, dişi ratlara EE ile ardışık olarak ya da tek başına uygulanan YD NEA ve LNG'nin, plazma TG seviyelerini değiştirmedeğini ve hatta bu projestinlerin hepatik TG salınımını stimüle ettiğini gözlemişlerdir. TKOCZ(177)'a göre, bu projestinler hem TG salınımını hem de klirensini stimüle ediyor olabilir.

Klinik çalışmaların büyük kısmı, EE/LNG kombinasyonlarının plazma TG seviyelerini artırdığını(22,93,103,140,180,187,192); bir kısmı ise değiştirmedeğini(69,191) öne sürmektedir. EE ile kombine NET (NEA) preparatlarının da plazma TG seviyelerini artırdığı(22,87,153,180,187,192); buna karşılık çok düşük dozda (400 µg) NET kombinasyonunun plazma TG seviyelerini etkilemediği(93) gösterilmiştir.

PATSCH(139)'a göre, plazma TG seviyelerinin hipertrigliseridemik düzeyde yükselmesi, sıklıkla HDL₂-kol'de bir artış olmaksızın, HDL₂-kol'ün azalması sonucu, düşük HDL-kol seviyeleri ile birlikte dir. KNOPP(87) ve MANZ(114)'a göre, kombinasyonlarda estrojen gücünün artması, total, HDL-, VLDL-TG seviyelerini artırmaktadır. Kontraseptif steroidlerin TG değerlerini artırması ile ilgili mekanizma, hâlâ tam olarak açık değilse de, TG'lerin klirensi azalmış gibi görünebilir. Ama daha önemlisi, TG sentezinin arttığı şeklindeki görüşlerdir(12).

Çalışmamızda, E/P kombinasyonlarının plazma TG değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, kısa süreli çalışmada kontrol grubuna göre, tüm preparatlar TG seviyelerini önemli ölçüde yükseltirken; uzun süreli çalışmada, plazma TG değerleri her grupta yükselmesine rağmen, sadece DD NEA ve YD LNG uygulanan gruplarda istatistiki bakımdan önem taşımaktadır.

Kısa süreli çalışmada, hem LNG hem de NEA, doza bağımlı olarak etki yapmakta ve yüksek dozlarda TG düzeylerini daha çok artırmaktadır. Uzun süreli çalışmada ise, LNG, gene doza bağımlı olarak TG seviyelerini artırırken; NEA, yüksek dozlarda TG seviyelerini nispeten düşürmektedir. Yani LNG'nin TG üzerindeki doza bağımlı etkisi, NEA'den farklı olarak, süreye göre değişmemektedir. Bununla beraber iki preparat arasındaki etki farkı, düşük dozlarda görülmezken, ancak yüksek dozda ve uzun sürede ortaya çıkmaktadır.

Literatürde benzer bir çalışmaya rastlayamadığımızdan, bulgularımızı direkt karşılaştırma imkanımız olamamıştır. Ancak, çalışma protokolündeki farklılıklara rağmen, DD'da uygulanan EE'nin, TG seviyelerini yükselttiğini gösteren çalışmalar(22,87,153,180,187,192) bizim çalışmamızla uyum içindedir. Ayrıca, YD EE'nin plazma TG seviyelerini düşürdüğünü öne süren bildirimler de(27,70,186), bizim çalışmamızı desteklemektedir. Çünkü, çalışmamızda YD'da ve uzun süre uygulanan NEA, TG değerlerini etkilememiştir.

Çalışmamızda, NEA ve LNG kombinasyonları, kısa sürede ratların ortalama ağırlığı üzerine belirgin bir etki yapmamaktadır. Buna karşılık DDLNG hariç, bu preparatların uzun süre kullanılması, ratların büyümesini engellemektedir. Çünkü kontrol grubunu oluşturan ratlar, 120 gün içerisinde normal gelişmele-

rini sürdürüp büyürlerker; NEA'nın düşük ve yüksek, LNG'nin yüksek dozlarının uygulandığı gruplarda, ağırlık artışı belirlenememiştir. Sadece DD LNG verilen ratlarda, deney bitiminde bir miktar ağırlık artışı olmasına rağmen, kontrolle karşılaştırıldığında, bu grubun da yeterli düzeyde gelişemediği görülmektedir.

LETTERIE ve ark(102), ratlara subdermal yerleştirilen kapsüllerle EE, NG ve EE/NG kombinasyonları uyguladıklarında, 8 günün sonunda kombine ya da tek başına EE verilen gruplarda, daha çok kilo kaybı olduğunu; en büyük ağırlık azalmasının ise, YD EE alan tek veya kombine gruplarda meydana geldiğini tesbit etmişlerdir. Yani, projestinin katkısı olmaksızın, EE'nin dozuna bağlı olarak ratların ağırlığı azalmaktadır.

DD mestranol, DD NET ve bunların kombinasyonunu içeren diyetle beslenen dişi ratların, 4 ayın sonunda vücut ağırlıklarının kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ve belirgin kilo kaybının mestranol ve kombinasyonunu içeren gruplarda olduğu gözlenmiştir(193).

YD EE uygulanan ratların 2 günün sonunda başlangıç ağırlıklarının % 1'ini (70) ve 5 günün sonunda % 5'ini(150) kaybettikleri gösterilmiştir. WEINSTEIN (186)'a göre, YD EE gıda alımını azaltan indirekt etkilere sahiptir. Ratlara EE uygulanması, gıda tüketimini azaltacağından, kısmi ya da tam açlık hali, VLDL-TG'nin hepatik sentezini ve salınımını azaltacaktır.

Çalışma gruplarımızın hiç birinde 15 gün içerisinde kilo kaybı olmamasına karşılık, 120 günün sonunda gözlenen ağırlık azalmaları, E/P kombinasyonlarının, hem doza hem de süreye bağlı olarak, kilo kaybına yol açtığını göstermektedir. Düşük ve yüksek doz NEA ve YD LNG verilen gruplarda ağırlık azalmalarının daha da fazla olması, literatürle uyum içindedir(102,193).

Ratların ağırlığı ile, plazma asetoasetat seviyesindeki değişiklikler de birbiriyle ilgili gibi görünmektedir. Ratlarda görülen ağırlık azalmasını yarı açlık durumu ve kısmen lipolize bağlayacak olursak, bunlar asetoasetatın yükselmesine yol açan başlıca faktörler olduğundan, deney süresi boyunca, ratların ağırlığının artmaması, asetoasetat seviyelerinin yükselmesiyle kısmen ilişkili olabilir.

1975 yılında MILLER(121), HDL ve KVH arasındaki negatif ilişkiyi açıklayan bir mekanizma öne sürerek, HDL'nin arter duvarından kolesterolü temizlemeyi kolaylaştırdığını ortaya koymuştur. Yakın zamanlarda ise, HDL'den çok, HDL'nin alt sınıfları dikkati çekmekte ve HDL'nin koruyucu etkisinin total HDL veya HDL₃ 'e nazaran, plazma HDL₂ seviyeleri ile daha iyi yansıtılacağı öne sürülmektedir(37,57). HDL₂ değerleri ile KVH arasında, diğerlerine nazaran, çok daha yüksek negatif bir korelasyon olduğu tahmin edilmektedir(57, 65,138,139). KVH ve HDL₂ arasındaki negatif ilişkinin mekanizmaları kesin olarak bilinmemekle beraber; HDL₂, kolesterolün geri taşınmasında rol oynayarak atelosklerotik işleme direkt olarak karışabileceği gibi; ateroskleroza karşı koruyucu bir lipid transportu için indikatör de olabilir. Örneğin,TG'den zengin Lp'lerin plazmadan temizlenmesinde, HDL₂ 'nin oynadığı rol büyüktür (139).

Seks steroidlerinin, plazma HDL seviyelerinin düzenlenmesinde önemli bir faktör oldukları, puberteden sonra kadınlarda HDL- ve HDL₂ -kol seviyelerinin daha yüksek olduğu ve en yüksek HDL-kol'ün, estrojen alan kadınlarda görüldüğü bilinmektedir(3,71). Ayrıca HDL₂ -alt fraksiyonunun, HDL₃ 'e göre, estrojenlere ve projestinlere karşı daha duyarlı olduğu da bildirilmiştir (57). Bununla beraber, gebelik ya da bazı hormon tedavileri sırasında yükselen hormon seviyeleri, Lp profilleri üzerinde, aterosklerotik riski artıran zıt etkiler yapabilmektedir(75,88,179). Bu gözlemler, insanlarda hormonların en azından doza bağımlı iki farklı etkisinin olabileceği ihtimalini doğurmaktadır (169).

TKOCZ ve ark(175,176), ratlara kronik şekilde uygulanan DD EE implantlarının,HDL-kol seviyelerini % 12 oranında artırdığını gözlemişlerdir.HENRIKSSON ve ark(72) da, kolesterol ya da normal diyetle beslenen tavşanlara, 12 hafta boyunca farmakolojik dozda uygulanan estrojenin, HDL-kol seviyelerini ve HDL/VLDL oranını artırdığını ve tavşanlarda ateroskleroz gelişimini önlediğini bulmuşlardır.

Projesteron ve analoglarının HDL seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen, az sayıda bildiri olmasına rağmen, ratlara akut uygulanan YD NEA ve LNG'nin, plazma HDL-kol seviyelerini % 67 oranında düşürdüğü; hatta EE ile ardışık

kullanılan YD NEA ve LNG'nin, ratlarda EE ile indüklenen HDL-kol seviyelerindeki artışı baskıladığı bildirilmiştir(175,176). Buna karşılık, 15 gün süreyle dişi ratların yemine katılan DD LNG'nin, plazma HDL-kol seviyelerini etkilemediği gibi, HDL-FL ve HDL'nin alt fraksiyonlarını da değiştirmedeği gösterilmiştir(84).

Maymunlar üzerinde yapılan bir çalışmada, EE/LNG kombinasyonunun HDL-kol seviyelerini düşürdüğü, fakat beklenenin aksine, aterosklerozun yaygınlığı ya da çapında bir artışa yol açmadığı görüldüğünden; EE'nin, projestin komponentinin aterojenik etkisini nötralize ettiği sonucuna varılmıştır(1). Maymunlara EE/NG kombinasyonu verilen başka bir çalışmada da, 2 yıl sonunda T-kol, TG seviyelerinin yükseldiği, HDL-kol değerlerinin azaldığı ve HDL'deki azalmanın HDL₂ 'de azalma ve HDL₃ 'de artmayla birlikte olduğu gözlenmiştir(134).

Kontraseptif steroidlerin, HDL-kol üzerindeki etkisini inceleyen klinik çalışmalar, nispeten birbirinden farklı görüşler bildirmişlerdir: EE/LNG kombinasyonlarının hem HDL-kol, hem de HDL₂ -, HDL₃ -kol seviyelerini düşürdüğü (180,192) veya HDL-kol'ü etkilemeyip HDL₂ -kol seviyelerini düşürdüğü(15,69, 86,93,130,140) ya da değiştirmedeği(114); buna karşılık HDL₃ -kol seviyelerini ya artırdığı(15,93,130,140) ya da değiştirmedeği(69,86) gösterilmiştir. EE/NET (NEA) preparatlarının da, tüm HDL seviyelerini artırdığı(93); HDL-kol'ü düşürdüğü(52,153,187); ya da HDL-kol seviyelerini değiştirmeyip HDL₂ -kol seviyelerini düşürürken, HDL₃ -kol seviyelerini yükselttiği(110,130,140) ya da HDL₃ -kol üzerinde belirgin bir etki yapmadığı(52,192) gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda kısa ve uzun sürede, hem düşük hem de yüksek dozlarda kullanılan NEA, kontrol gruplarına göre HDL- ve HDL₃ -kol seviyelerini düşürürken; HDL₂ -kol seviyelerini, ancak YD'da ve uzun süre kullanıldığında azaltmaktadır. Bununla beraber, NEA'nın HDL-kol seviyelerini hem doza hem de süreye bağlı olarak daha çok düşürdüğü; HDL₃ -kol üzerindeki etkisinin ise, ne süreye ne de doza bağlı olmadığı görünmektedir.

Çalışmamızda LNG verilen gruplar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, düşük dozda kullanılan LNG'nin, sadece uzun sürede HDL₂ -kol'ü azalttığı; yüksek dozlarında ise, süreye bağlı olmaksızın HDL ve alt fraksiyonlarının kol. sevi-

yelerini düşürdüğü bulunmuştur. LNG, HDL-kol seviyesini süreye bağlı olmadan, dozun artmasıyla düşürürken; HDL₂ seviyelerini süreye bağlı olarak azaltmaktadır. HDL₃-kol seviyelerini ise, ancak uzun süre kullanıldığında ve doza bağlı olarak etkileyen LNG, düşük dozlarda HDL₃-kol'ü yükseltirken, yüksek dozlarda düşürmektedir.

İki preparat arasında, kısa sürede görülmeyen etki farkı, uzun sürede ortaya çıkmakta ve doza bağımlı olmaksızın NEA, LNG'ye göre, HDL- ve HDL₃-kol seviyelerini daha fazla düşürmektedir. Düşük dozda kullanılan LNG ise, HDL₂-kol seviyesini daha çok etkilemektedir.

Ayrıca çalışmamızda, YD NEA grubu hariç, diğer gruplarda plazma HDL- ve HDL₃-kol seviyeleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişki bulunmuştur.

Literatürde, HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri üzerine, sentetik seks steroidlerinin etkisini inceleyen ratlar üzerinde yapılan bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Ancak, estrogen, projestin ve E/P kombinasyonlarının HDL-kol seviyeleri üzerine etkilerini araştıran çalışmalar, bulgularımızın değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır. Çalışma protokolündeki farklılıklara rağmen, EE ile ardışık kullanılan NEA ve LNG'nin, EE/LNG ya da EE/NG kombinasyonlarının plazma HDL-kol seviyelerini düşürdüğünü gösteren, ratlar ve maymunlar üzerinde yapılan çalışmalar(1,134,175,176), bizim bulgularımızla uyum içindedir. Çalışmamızda,DD'-da uygulanan EE/LNG kombinasyonlarının, HDL-kol'ün yanısıra HDL₂-kol düşürürken, HDL₃-kol seviyelerini yükseltmesi, PARKS ve ark(134)'nın çalışmasıyla desteklenmektedir. Ayrıca, bizim bulgularımıza benzer sonuçlar bildiren, klinik çalışmalar da vardır(15,93,110,130,140,180,192).

TKOCZ(176)'a göre, EE ile ardışık kullanılan NEA ve LNG'nin, EE ile indüklenen HDL-kol seviyelerindeki artışı baskılaması, projestinlerin estradiolün etkisini antagonize ederek, HDL-kol katabolizmasını artırmalarına bağlanabilir; ve projestinlerin bu etkileri projesteron reseptöründen çok, androjen reseptörleri aracılığıyla olmaktadır. Son veriler, estrogen ve androjen uygulamasına karşı, lipid cevaplarının kısmen KC'deki spesifik hormonal bağlanma yerleri aracılığı ile olabileceğini öne sürmektedir(169). 19-norprojestinlerin, yüksek bir stabilite ile androjen reseptörlerine bağlandığı da bilinmekte-

dir(149,166). Projestinler nispeten kuvvetli androjenik etkileriyle, HL aktivitesini artırarak, HDL ve HDL₂ seviyelerini düşürmekte ve böylece, estrojene zıt etki yapmaktadırlar(172). Bu nedenle projestinlerin, HL aracılığıyla, HDL₂ seviyelerinin azalmasından sorumlu olabileceği ihtimali çok yüksektir (14,69,130,140). Daha sonra değinileceği gibi, çalışmamızda kullanılan E/P kombinasyonlarının HDL-kol ve alt fraksiyonları ile HL aktivitesi üzerindeki etkisi, birlikte değerlendirilmiş ve bu kombinasyonların HL aracılığıyla, HDL alt fraksiyonlarını etkileyebileceği sonucuna varılmıştır.

Lipid metabolizmasında önemli rol oynayan diğer bir kesit de apolipoproteinlerdir. Erkekler ve kadınlar arasında HDL-kol ve Apo A₁ seviyelerindeki farklılıklar, HDL₂ 'nin kadınlarda daha yüksek seviyede olmasına ve daha fazla Apo A₁ içermesine bağlanmakta(75) ve bu durum estrojenin etkisiyle açıklanmaktadır(3,75,174). Estrojen uygulanmasıyla, Apo A₁ seviyeleri, HDL-kol seviyelerine göre, daha fazla artmaktadır(56,157).

Yapılan çalışmalara göre, estrojenlerin plazma Apo A₁ ve B seviyeleri üzerindeki etkileri, öncelikle doza bağlı olarak değişmektedir(169,186).

WEINSTEIN ve ark, ratlara uygulanan DD EE ile, plazma Apo A₁ seviyelerinin yükseldiğini(185); buna karşılık, YD EE ile Apo A₁ değerlerinin azaldığını (186) bildirmişlerdir. Premenopozal kadınlarda, estrojenlerin Apo A₁ ve B seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen SCHAEFER ve ark(157), kadınların erkeklere göre daha yüksek üretim hızına sahip olduğunu ve estrojenlerin Apo A₁ sentezini artırdığı gibi, VLDL-Apo B üretimiyle birlikte VLDL bileşenlerini de artırdığını; buna karşılık Apo A₁'in depolanma süresini, VLDL-Apo B katabolizmasını etkilemediğini; ayrıca LDL-Apo B'nin ne sentezini ne de katabolizmasını değiştirmedeğini öne sürmüşlerdir. KUSWAHA ve ark(95) da, baboonlara tek veya projestinle kombine verilen estrojenin, plazma Apo A₁ seviyelerini ve Apo A₁'in sentezini artırdığını, fakat katabolik hızını etkilemediğini göstermişlerdir. Gene baboonlar üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada(94) da, estrojenin tek veya kombine verildiği gruplarda, plazma T-kol seviyelerinin azaldığını ve bu azalmanın öncelikle LDL-kol seviyelerinde olduğunu, LDL-Apo B seviyelerinin ise, LDL-kol'e paralel şekilde azaldığını gözleyerek, estrojenin VLDL-Apo B üretimini değiştirmedeğini, fakat LDL-Apo B'nin hem üretimini hem de katabolizmasını artırdığını öne sürmüşlerdir.

TAM ve ark(169), estrojen uygulanmasına karşı, lipid cevaplarının kısmen KC'deki spesifik hormonal bağlanma yerleri aracılığıyla olabileceğini öne sürerek, farklı apolp'lerin indüksiyonu için, kültürü yapılmış insan hepatoma hücrelerine çeşitli konsantrasyonlarda uygulanan 17- β estradiolün, iki ayrı eşiğe sahip olduğunu göstermişlerdir. DD'da uygulanan hormon, Apo A₁ ve C-II seviyelerinde maksimum artışa yol açarken; Apo B ve E için aynı indüksiyon, hormonun YD'ları ile meydana gelmektedir. Doza bağlı bu cevapların her ikisi de Apolp-mRNA seviyesindeki değişikliklerden sorumludur. Ancak Apo A₁ ve C'nin indüksiyonu nükleer Tip I estrojen bağlanma yerleriyle; Apo B ve E sentezindeki artışlar ise, Tip II yerlerinin indüksiyonu ile ilişkilidir (169).

Projestinlerin Apo A₁ ve B seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar daha az olmakla beraber, hayvan modeli kullanılan çalışmalarda tek olarak uygulanan projesteronun Apo A₁'in hem sentezini hem de katabolik hızını artırdığından plazma Apo A₁ seviyelerini değiştirmedeği(95); plazma LDL-kol ve Apo B seviyelerini yükseltmeye meyilli olduğu(94); buna karşılık DD'da tek uygulanan LNG'nin, VLDL-Apo B üretiminin ve klirensinin absöü hızlarını değiştirmedeği(85) gösterilmiştir. Ayrıca 6 ay boyunca NET verilen kadınlarda, LDL-kol seviyelerinin değişmemesine rağmen, Apo B seviyelerinin yükseldiği; HDL-, HDL₂-kol ve Apo A₁ seviyelerinin ise azaldığı gözlenmiştir (51).

EE ile kombine halde kullanılan projestinlerin, apolp'ler üzerine etkilerini inceleyen klinik çalışmalar, farklı görüşler bildirmişlerdir: EE/LNG kombinasyonu ile ilgili çalışmaların bir kısmı Apo A₁ ve B'nin yükseldiğini(130,140); bir kısmı her ikisinin de değişmediğini(15,69); bir kısmı ise Apo A₁ seviyeleri artarken, Apo B'nin değişmediğini(15,110); bir kısmı da tam tersi, Apo A₁ seviyelerinin değişmeyip Apo B'nin arttığını(22,86,103,130) öne sürmüşlerdir. EE/LNG kombinasyonları A₁/B oranını ya düşürmekte ya da etkilememektedir(69,86,103,130). EE/NET (NEA) kombinasyonlarının Apo B seviyelerini artırdığı(22,110,130,140); Apo A₁'i ise ya değiştirmedeği(130,140) ya da artırdığı(15,22,130,140) gösterilmiştir.

Apolp'lerle ilgili klinik çalışmaları değerlendiren FOTHERBY(56,57)'a göre, kontraseptif steroidlerin plazma Apo A ve B üzerindeki etkileri, plazma

HDL- ve LDL-kol üzerindeki etkilerine benzemektedir. Fakat bu konuda farklı görüşler de vardır: E/P kombinasyonlarıyla, sabit HDL-kol seviyelerine yüksek Apo A₁ değerlerinin eşlik ettiği(15,110,130,140); HDL-kol azalırken Apo A₁'in değişmediği(22); yüksek Apo B seviyelerine karşılık LDL-kol'ün etkilenmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur(86,110,130,140).

Çalışma kapsamına alınan gruplarımızda plazma Apo A₁ ve B seviyeleri değerlendirildiğinde, kontrol gruplarına göre, DD'da kullanılan her iki preparatın da kısa sürede Apo A₁ seviyelerini değiştirmede, fakat sürenin uzamasıyla önemli derecede yükselttiği bulunmuştur. Buna karşılık, kısa sürede Apo A₁ seviyelerini artıran bu preparatların YD'ları, uzun süre kullanıldığında, Apo A₁ değerlerini düşürmektedir. Apo B değerleri ise, YD'da uzun süre uygulanan NEA'nın etkisiyle artmasının dışında, çalışma süresi boyunca istatistiki bakımdan değişmeden kalmıştır. Apo B seviyelerindeki değişikliklere paralel giden Apo A₁/B oranı, kontrol gruplarına göre, sadece uzun süre YD NEA kullanılan grupta, önemli ölçüde azalmıştır.

Doza ve süreye göre NEA, hem Apo A₁ hem de Apo B seviyelerini etkilerken; LNG, sadece Apo A₁ değerini değiştirmektedir. Bununla beraber, her iki preparat da doza ve süreye bağlı olarak, Apo A₁/B oranını düşürmektedir. İki preparatın etkinliği karşılaştırıldığında ise, sadece yüksek dozda kullanılan NEA'nın LNG'ye göre, kısa süre içinde Apo A₁ seviyelerini daha fazla yükselttiği, uzun sürede ise Apo A₁/B oranını daha çok düşürdüğü bulunmuştur.

Ayrıca çalışmamızda, tüm gruplarda T-kol-Apo B; DD NEA grubu dışında diğerlerinde LDL-kol-Apo B; YD NEA grupları dışında kalan gruplarda TG-Apo B; ve DD NEA grubu dışında diğerlerinde FL-Apo B seviyeleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir.

Literatürde, EE ile kombine NEA ve LNG preparatlarının plazma Apo A₁ ve B seviyeleri üzerine etkilerini hayvan modeli kullanarak inceleyen bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı direkt karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Ancak çalışmada kullandığımız preparatların estrojen ağırlıklı oldukları(117) dikkate alınacak olursa, çalışma protokolündeki farklılıklara rağmen; bulgularımız, DD EE verilmesiyle Apo A₁ seviyelerinin yükseldiğini (95,157,169,185) ve YD EE ile düştüğünü gösteren(186) çalışmalarla uyum

içindedir. Gene aynı şekilde, YD uzun süre NEA grubunda, Apo B seviyelerinin yükselmesi TAM ve ark(169)'nın çalışmasıyla desteklenmektedir. Hayvan modeli kullanan çalışmaların bir kısmına göre EE, doza bağımlı olmaksızın Apo A₁'in hepatik sentezini artırdığından(95,157,186), YD EE ile plazma Apo A₁ seviyelerinin azalması, Apo A₁'in hepatik ve/veya periferal katabolizmasının artması sonucu olabilir(186). Klinik çalışmalardan elde edilen farklı görüşler, muhtemelen kombinasyonlarda kullanılan estrogen ve projestin komponentlerinin tipi, dozu ve E/P oranından kaynaklanmakta, kullanma süresi de sonuçları etkilemektedir.

KC perfüzyonları ve KC membranlarında yapılan in vitro çalışmalar, Apo B içeren Lp seviyelerindeki azalmayı KC'de LDL reseptörünün indüklenmesine bağlı olarak açıklamaktadır(27,91). Bununla beraber SCHAEFER ve ark(157), EE'nin VLDL-Apo B üretimini artırırken, LDL-Apo B üretimini, VLDL-Apo B ve LDL-Apo B katabolizmasını etkilemediğini öne sürmektedir. KUSWAHA ve ark(94) ise, estrogenin VLDL-Apo B üzerinde etkili olmayıp LDL-Apo B'nin hem üretimini hem de katabolizmasını artırdığını göstermişlerdir. Bildiriler arasında bu farklılıklar, deneylerde kullanılan estrogenin dozuna, tipine ve verilme şekline bağlı olabilir.

LUOMA ve ark(108), estrogen ağırlıklı EE/LNG kombinasyonunun HL aktivitesini baskıladığını vurgulayarak, HDL-kol ve Apo A₁ seviyelerinin yükseldiğini ifade etmişlerdir. KUSWAHA ve ark(94,95)'nin öne sürdüğü kinetik hipoteze göre, estrogen ve projesteronun Apo A₁ ve B üzerindeki zıt etkileri, HL aracılığıyla gerçekleşmektedir. Daha sonra değinileceği gibi, bizim çalışmamızda da, plazma Apo A₁ ve HL aktivitesindeki değişiklikler birlikte değerlendirilmiştir.

Plazma Lp'lerinin metabolizmasında ve birbirine dönüşümünde önemli rol oynayan HL, henüz tam açıklanmamakla birlikte, Lp-kolesterol metabolizmasını düzenlemektedir(78,159).

Son yıllarda HDL ile HL etkileşimi üzerinde önemle durulmaktadır(74,78,159). Kolesterol ester-transfer protein (CETP) ve HL'ın kombine etkileri, HDL'nin partikül büyüklüğünü belirlemektedir(74). PATSCH ve ark(138,139), plazmada TG'lerin taşınması ile HDL₂ konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi açıklayan me-

tabolik bir şema öne sürerek, lipid taşıyıcı proteinlerin etkisiyle, TG'den zengin HDL'nin dolaşımında oluşabileceğini vurgulamışlardır: postprandial lipeminin derecesi ile ters ilişkili olan HDL₂ seviyelerinin yükselmesi, dolaşımında bulunan alimanter Lp'lerin katabolize edildiklerini yansıtır. HL aktivitesi, lipeminin büyüklüğü ile direkt ve HDL₂ seviyeleriyle ters ilişkili olduğundan; lipeminin artması, HDL₂'nin HDL₃'e çevrilmesini de artıracaktır(138,139). Çünkü HL, HDL-FL'leri ve HDL-TG'leri hidrolizleyerek HDL₂'yi HDL₃'e çevirmekte, böylece HDL'nin iki alt gruba ayrılmasını düzenleyen bir enzim olmaktadır(76,159,170).

Hormonal kontrol altında sentezlenen HL, genelde, bayanlara göre erkeklerde daha yüksektir(75,159,174). Hem endojen hem de ekzojen seks steroidlerinin HL'ı modüle ettiği bilinmektedir(172,173,174).

Estrojenlerin postheparin HL aktivitesini azaltarak HDL-kol, HDL-TG, HDL₂-kol, HDL₂-FL seviyelerini artırdığı bildirilmiştir(157,172). TIKKANEN ve ark(174), doğal hormon 17-β estradiolün küçük dozlarının, LDL-kol'ü azaltıp HDL₂-kol'ü artırmalarını, estrojen tarafından HL aktivitesinin bastırılmasına bağlamışlardır. Ayrıca, normal siklus düzeninde, estrojenin yüksek olduğu lüteal fazda, postheparin HL aktivitesinin azaldığı da gösterilmiştir (174).

Doğal projesteronun HL üzerine bir etkisi olmamasına rağmen, 19-nor testosteron türevleri, HL'ı aktive ederek HDL-kol, HDL-TG, HDL₂-kol ve HDL₂-FL'leri azaltmakta ve böylece estrojene zıt etki yapmaktadır(157,172,192).

Kontraseptif steroidlerin postheparin HL aktivitesi üzerine etkilerini inceleyen klinik çalışmalar, farklı görüşler bildirmişlerdir: BERR ve ark(14)'nın çalışmasında, EE/NET kombinasyonu verilen sağlıklı genç kadınlarda, total postheparin lipolitik aktivite ve LpL aktivitesi azalırken, HL aktivitesinin arttığı, plazmada HDL₂/HDL₃-kol oranının azaldığı gözleendiğinden; HL'ın HDL₂ klirensini artırdığına ve/veya Lp-TG hidrolizinin azaldığına karar verilerek, bu değişiklikler projestinin etkisine bağlanmıştır. Buna karşılık, LEUVEN ve ark(103), EE/LNG içeren preparatın, HDL-kol seviyelerini değiştirmeyip HL aktivitesini azalttığını gözleyerek; kombinasyondaki komponentlerin birbiriyle dengede olduğuna, fakat estrojenin HL'ı azaltıcı etkisinin ağır bastığına karar vermişlerdir.

Ayrıca, HL aktivitesi ölçmedikleri halde, bulgularını HL'a bağlayarak yorumlayan klinik çalışmalar da vardır: NOTELOWITZ(130)'e göre, LNG ve NET preparatları arasında istatistiksel bir fark olmamasına rağmen, LNG grubunda HDL₂-kol seviyelerinin daha düşük bulunması, LNG'nin HL üzerinde daha etkili olmasına bağlanabilir. Gene aynı şekilde, başka bir çalışmada, düşük HDL₂-kol ve HDL₂-Apo A₁ seviyeleri, LNG'nin etkisi olarak yorumlanmıştır (69). Zaten, kombinasyonlarda LNG'nin, estrogenin etkisini baskıladığı; buna karşılık, estrogenin NEA'nın etkisini zayıflattığı bilinmektedir(192). Bu yüzden, LNG, diğer 19-norsteroid türevlerine göre, HDL₂'nin klirensini artıracak şekilde, HL'ı daha çok stimüle ediyor olabilir(69). Fakat, NET kombinasyonlarıyla da, HDL-kol değerleri sabit kalırken, HDL₂- ve HDL₃-kol seviyeleri, birbirine zıt olarak değişebilmektedir(110,140). PATSCH(140)'a göre, HDL-alt fraksiyonunda gözlenen değişiklikler, muhtemelen VLDL-TG ve HL'ın artmasının sonucudur. HL tarafından, TG'den zengin HDL₂, HDL₃'e çevrileceğinden (138); HDL₂ azalırken, HDL₃ seviyeleri yükselmektedir(140). İşte bu yüzden, KVH'larda, HDL₃'ün önemi daha az olmasına rağmen, E/P kombinasyonlarıyla HDL₃'ün yükselmesi, HDL₂'nin düşmesini kompanse etmekte ve sanki kontraseptif steroidlerin HDL-kol seviyelerini etkilemediği izlenimini vermektedir(37).

Kısa süreli çalışmamızda düşük ve yüksek dozda kullanılan LNG'nin, kontrol grubuna göre, HL aktivitesini azalttığı; NEA'nın ise, sadece YD'da aktiviteyi önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür. Buna karşılık uzun süreli çalışmada, YD LNG grubu dışında, diğer gruplarda HL aktivitesinin azaldığı, fakat YD NEA grubunda görülen azalmanın istatistiki bakımdan önemli olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda NEA'nın etkisi, doza ve süreye göre değişmektedir. Kısa sürede DD NEA'dan fazla etkilenmeyen HL aktivitesi, sürenin uzamasıyla önemli ölçüde düşmektedir. YD'larda ise, NEA kısa sürede aktiviteyi düşürürken, uzun sürede artırmaktadır. Buna karşılık LNG, DD'larda süreye bağımlı olmayarak aktiviteyi düşürürken, YD'larda süreye bağlı bir şekilde aktiviteyi etkilemekte; kısa sürede YD uygulanmasıyla azalan aktivite, sürenin uzamasıyla, tam tersi, çok yükselebilmektedir.

İki preparat arasında HL aktivitesi üzerindeki etki farkı, kısa süreli çalışmada, DD'da belirgin olmakla beraber, dozun yükselmesiyle ortadan kalkmaktadır. YD'da her ikisi de aktiviteyi düşürmektedir. Uzun sürede ise, DD'larda her iki preparat da aktiviteyi düşürürken, YD'larda NEA'nın aktiviteyi düşürmesine karşılık, LNG çok yükseltmektedir.

Literatürde, E/P kombinasyonlarının hayvan modeli üzerinde, HL aktivitesini nasıl etkilediğini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Fakat, estrogenlerin HL aktivitesini azalttığını, projestinlerin ise artırdığını gösteren çalışmaların(157, 172,174) yanısıra, E/P kombinasyonlarının etkilerini inceleyen klinik çalışmaların sonuçları(14,103), bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Sentetik seks steroidlerinin Lp'ler üzerindeki etkilerini inceleyen literatür bilgilerini birleştirecek olursak; estrogenler TG ve Apo B'nin hepatik sentezini ve VLDL'nin KC'den salınımını artırırken; projestinler, antiestrogenik özellikleriyle, inhibe etmektedir. Estrogenler ayrıca, VLDL artıklarının ve IDL'nin dolaşımdan uzaklaşmasını sağlayarak, IDL'nin LDL'ye çevrilmesini kısmen önlemektedir. Estrogen, bu etkileri Apo B/E reseptörlerinin sayısını, LDL'nin hepatik reseptör klirensini artırarak ve HL aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirir. Diğer taraftan, kuvvetli androjenik özellikleri olan 19-nortestosteron türevi projestinler, HL aktivitesini artırarak, IDL'nin LDL'ye dönüşümünü hızlandırırlar ve LDL-kol seviyelerini yükseltirler.

HDL sistemi, estrogenler ve androjenik projestinlerin zıt etkilerine daha duyarlıdır. Estrogenler HDL-apoprotein ve FL sentezini artırmakta böylece henüz olgunlaşmamış HDL'nin hepatik sekresyonunu indüklemektedir. Ayrıca estrogenler, HDL₂-TG ve HDL₂-FL'i hidroliz eden HL'ın aktivitesini azaltarak, HDL₂'de bir artışa ve Apo A₁'in plazmada bulunma (depolanma) süresinin uzamasına yol açarlar.

Androjenik projestinler, kombinasyonlarda çok düşük dozlarda kullanılsalar bile, HL aktivitesini artırdıklarından, HDL₂ alt fraksiyonunu düşürebilirler.

Tüm bu gözlemler dikkate alındığında, kontraseptif steroid kombinasyonundaki estrogen ve projestin komponentlerinin dozu, tipi ve kombinasyondaki oranları plazma Lp profilini etkileyebilecek faktörleri oluşturacaktır.

Bizim çalışmamızda, kısa süre uygulanan DD ve YD NEA ile gene aynı şekilde DD ve YD LNG ve uzun süre DD verilen NEA gruplarında, doza bağlı olarak plazma TG, FL, Apo A₁ seviyelerinin yükselmesi, HDL₃-kol seviyelerinin azalması, HDL₂-kol değerlerinde önemli bir değişiklik olmaması, bu gruplarda HL aktivitesinin azalmış ya da düşmeye meyilli olduğu bulgusuyla kısmen açıklanabilir ve bu kombinasyonların estrogen ağırlıklı etkileri şeklinde yorumlanabilir.

Uzun süre YD'da NEA verilen grupta ise, plazma TG seviyelerindeki çok hafif yükselme, HL aktivitesinin düşmeye meyilli olmakla beraber önemli ölçüde değişmemesi, HDL₂-kol ve Apo A₁ seviyelerinin azalması, birbiriyle uyumlu görünmektedir. Bulgular, YD'da ve uzun süre verilen bu kombinasyonda, NEA'nın da doza ve süreye bağlı olarak, etkisini bir miktar gösterdiği ve estrogeni nispeten baskıladığı şeklinde yorumlanabilir.

Uzun süre verilen DD LNG grubunda ise, HL aktivitesinin azalması, Apo A₁, TG, FL seviyelerinin yüksek olması estrogenik aktiviteyle açıklanabilirken, HDL₂-kol seviyelerindeki düşme, LNG'nin etkisine bağlanabilir. Buna karşılık, uzun süre YD'da kullanılan LNG kombinasyonu, HL aktivitesinin çok yükselmesine yol açmış, Apo A₁ seviyeleri önemli ölçüde ve HDL₂-kol seviyeleri de nispeten azalmıştır. Bu grupta, LNG kombinasyonunun projestin komponenti ağır basıyor gibi düşünülebilir. Zaten, LNG'nin NEA'ya göre, çok daha güçlü bir projestin olması ve YD'da uzun süre kullanılmakla, androjenik etkilerini daha belirgin şekilde göstermesi beklenebilir. Ancak şimdiki bulgularımız ve literatür bilgileri ile, plazma TG ve FL seviyelerindeki artışı, LNG'ye bağlayarak açıklamak mümkün değildir. Bununla beraber, LA ROSA(99),T-kol ve TG seviyelerindeki artışın, kombinasyonda bulunan projestin tipinden etkilenmeyip estrogenin tipine, dozuna bağlı olarak değiştiğini; buna karşılık, LDL-, HDL-, HDL₂-kol ve Apo A₁ seviyelerinin projestin komponentinin tipine göre değiştiğini ve en çok LNG gibi, androjenik aktivitesi yüksek projestinlerle etkilendiğini öne sürmektedir.

Serbest radikallerle indüklenen lipid peroksidasyonu, hücre membranı hasarında, aterosklerozda, kanser ve yaşlanmada, etiyolojik bir faktör olarak öne sürülmektedir(67,142). Peroksidasyon sonucu oluşan yağ asidi hidroperoksitlerinin başka bir toksik etkisi de, araşidonik asit metabolizmasında görülmekte-

dir(54,112). Prostaglandin ve lökotrienlerin biyosentezinde ara bileşikler olarak ortaya çıkan hidroperoksitler, prostasiklin ve tromboksan sentezinden sorumlu sentaz enzimlerini, farklı feed-back mekanizmalarla inhibe etmektedirler(112,142). Lipid peroksit üretimi ve katabolizması arasındaki denge, normal prostasiklin seviyesinin sürdürülmesini sağlamaktadır. Yüksek lipid peroksit seviyeleri ise, araşidonik asit metabolizmasının tromboksan sentezine doğru yeniden düzenlenmesine neden olmaktadır(90,142).

Yüksek plazma TG, lipid peroksitleri (MDA seviyeleri) tespit edilen aterosklerozlu hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda(100,165), TG-T-kol; TG-lipid peroksitleri(165); MDA-T-kol, MDA-TG(100) seviyeleri arasında pozitif ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Bu ilişkiler, lipid peroksitin diğer metabolik yollara karışabileceği ihtimalini düşündürmektedir(100).

İnsan plazma Lp'leri arasında, en çok LDL'lerin peroksidasyona maruz kaldığı gösterilmiştir. Peroksidasyon, LDL'nin bileşimini ve biyolojik özelliklerini değiştirerek, "modifiye LDL" oluşumuna yol açmaktadır(165). Modifikasyon, FL'ler başta olmak üzere, lipidlerin oksidasyonunu ve Apo B'nin farklılaşmasını içerir. Son yıllarda okside olmuş modifiye LDL'nin, aterojenizde önemli bir rol oynayabileceği üzerinde durulmaktadır(38). Endotelial hücreler gibi spesifik hücreler ya da bakır gibi redoks metalleriyle LDL'nin inkübasyonuna dayanan in vitro model deneylerinde, modifiye LDL'nin endotelial hücreler, fibroblastlar, aortik düz kas hücreleri üzerine sitotoksik etkisi gösterilmiş ve bu toksisitenin lipid peroksidasyonu aracılığıyla olabileceği öne sürülmüştür (90). Okside olmuş modifiye LDL'ler, normal apoprotein reseptörlerinden farklı, toplayıcı reseptörler tarafından tanınmakta; bu durum, hücrelerde kontrolsüz kolesterol birikimine yol açarken, ACAT'ı da aktive etmektedir(38, 165).

LDL oksidasyonunun önlenmesinin, ateroskleroz gelişimini azaltabileceği öne sürülmektedir(38). Çünkü in vitro çalışmalarla, Apo A₁ içeren Lp'lerin, özellikle HDL'nin, oksidatif olarak modifiye edilen LDL'nin üretimini önlediği gösterilmiştir(131,135). Başka bir çalışmada da, HDL'nin in vitro olarak serbest oksijen radikallerinin toplayıcısı olduğu; süperoksit anyonlarının enzimatik (ksantin oksidaz,peroksidaz) ve non-enzimatik üretimini önlediği ve mikrozomlarda askorbatla stimüle edilen MDA oluşumunu baskıladığı bildirilmiştir (26).

Sağlıklı genç kişilerde, yüksek lipid peroksit seviyelerinin, düşük serum HDL₂-kol konsantrasyonları ve düşük HDL₂/HDL₃-kol oranlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan, yüksek HDL₂ seviyelerinin, HDL₂/HDL₃ ve Apo A₁/A₂ oranlarının, düşük peroksit seviyeleriyle ilişkili olması, HDL-Apo A₁'in muhtemel antioksidan etkisini yansıtabilir(109). Lipid peroksidasyonunun Apo A₁'in antijenitesini ve konformasyonunu değiştirdiğini gösteren in vitro çalışmalar da mevcuttur(115).

Seks steroidlerinin lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar, farklı görüşler bildirmişlerdir:

Mikrozomal lipid peroksidasyonu üzerine dişi seks hormonlarının etkilerini incelemek amacıyla yapılan in vitro model çalışmalarında, peroksidasyona yol açan radyasyon gibi çevresel faktörlere karşı, fenolik hidroksil grubu içeren dişi seks hormonların (özellikle estradiol), antioksidan etki yaparak, lipid peroksidasyonunu inhibe edebileceği öne sürülmüştür(195). Buna karşılık, dişi ratlara EE/linesterol kombinasyonu uygulayan CIAVATTI ve ark(28)'nin çalışmasında ise, plazma MDA ve konjuge dien seviyelerinin önemli derecede yükseldiği gözlenmiştir. CIAVATTI ve ark(28), yükselmiş plazma lipid hidroperoksit seviyelerinin, platelet agregasyonunu stimüle ettiğini öne sürmektedir. Gene aynı grup, bayanlar ve ratlar üzerinde yaptıkları diğer çalışmalarda, kontraseptif steroid uygulanmasından sonra, plateletlerin agregasyona cevabı ve platelet-lipid biyosentezi arasında yakın bir ilişki olduğunu gözlemişler; kolesterolün prekürsörleri olan lanosterol ve dihidrolanosterol fraksiyonlarında artış kaydetmişlerdir(28).

Ayrıca, dişi ratlarda halojen alkanlar gibi nekrotik ajanlarla indüklenen hepatotoksikoz üzerine, seks hormonlarının etkisi incelendiğinde, peroksidatif bozunmaya karşı projesteronun etkisinin olmadığı, KC'de yüksek MDA seviyelerinin varlığıyla saptanmıştır. Ratlara haloalkan verilmesini takiben projesteron uygulanması, peroksidasyon işlemi stimüle etmektedir(144).

Çalışmamızda NEA ve LNG'nin düşük ve yüksek dozları, hem kısa hem de uzun süre uygulandığında, kontrol gruplarına göre, eritrositlerde lipid peroksidasyonunun önemli ölçüde yükselmesine yol açmıştır. Her iki preparatın da kısa ve uzun süre aynı dozda (düşük ya da yüksek) kullanılması, lipid perok-

sidasyonunu hemen hemen aynı şekilde etkilediğinden, NEA ve LNG'nin etkileri süreye bağımlı görünmemektedir. Buna karşılık, kısa ve uzun süreli çalışmada, NEA'nın düşük ve yüksek dozlarının lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri birbirinden farklıdır. Dozun artmasına bağlı olarak, peroksidasyonun derecesi de artmaktadır. LNG ise, ancak uzun süreli çalışmada, doza bağımlı olarak, etkide farklılık göstermektedir. Bu preparatlar, içerdikleri projestin tipine göre karşılaştırıldığında, hem kısa hem de uzun sürede düşük dozlarda aynı etkiye sahipken, yüksek dozlarda NEA, LNG'ye göre, peroksidasyonu daha çok artırmaktadır.

Literatürde, sentetik seks steroidlerinin eritrosit zarlarında meydana gelen lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlayamadığımız için, bulgularımızı karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Bununla beraber, CIAVATTI(28) ve RANA(144)'nın çalışmalarının birlikte değerlendirilmesi, sentetik seks steroidlerinin lipid peroksidasyonuna yol açabileceğini göstermektedir.

Ayrıca, LE PETIT-THÈVENIN ve ark(101), dişi ratların eritrositleri üzerine EE'nin etkilerini inceledikleri çalışmada, eritrositlerde lipid bileşiminin ve fosfatidiletanolamin metabolizmasının değiştiğini gözlemişlerdir. EE'nin etkisiyle, kolesterol miktarı azalırken FL'lerin yükseldiği ve kol/FL oranının azaldığı, poliansatüre yağ asitlerinin fosfatidiletanolamine daha çok inkorpore olduğu gözlemlendiğinden; EE'nin yol açtığı bu değişikliklerin membran fonksiyonlarını etkileyebileceği sonucuna varılmıştır(101). Bilindiği gibi, membranlarda poliansatüre yağ asidi içeriğinin artması, peroksidasyona olan duyarlılığı artırırken, kolesterolün varlığı peroksidasyonu baskılamaktadır(67). Normal insan eritrositlerinde, lipid peroksidasyonunun derecesi ile membran-kolesterol konsantrasyonu arasında belirgin negatif bir ilişkinin olduğu da bildirilmiştir(31). LE PETIT-THÈVENIN ve ark(101)'nin çalışmasında, her ne kadar lipid peroksidasyonu ölçülmemişse de, yukardaki bulgulara dayanarak, EE'nin eritrosit membranında lipid peroksidasyonuna yol açtığı söylenebilir.

Uzun süre çeşitli E/P kombinasyonlarını kullanan bayanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, serum ferritin seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir(49). Peroksidasyonun başlaması, serbest bir geçiş metalinin (özellikle demir) varlığına bağlı olduğundan(24,58) ve süperoksit anyonunun ferritinden demiri mobilize

edebildiği gösterildiğinden(90), kontraseptif steroid kullanımıyla yükselen ferritin seviyeleri(49), belki de lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir.

Sonuç olarak, Lp metabolizması üzerine, estrogen ve projestinlerin etkileşme mekanizmaları hakkında, hâlâ çok az bilgi olmasına rağmen, ratlardan elde edilen bulgular, klinik çalışmaların sonuçlarıyla tamamen paralel değildir. Bununla beraber, kontraseptif steroidlerin hem insanlarda hem de ratlarda lipid ve lipoprotein metabolizmasını etkilemesi, dikkate değer bir bulgudur.

Rat modelinden elde edilen selüler seviyedeki çalışmaların kliniksel korelasyonu yapıldığında, enzim seviyesinde (örneğin; HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz, hepatik lipaz gibi) gözlenen değişikliklerin, kontraseptif steroid kullanımıyla ilişkili, klinik olarak bilinen serum lipid ve Lp seviyelerindeki değişikliklere ve buna bağlı olarak selüler kolesterol sentezi ve kolesterol metabolizmasındaki değişikliklere yol açabileceği veya bu etkileşme mekanizmalarından sorumlu olabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmada, E/P kombinasyonlarıyla HL aktivitesi bastırılırken kolesterol sentezi ile ilgili enzim (HMG-KoA sentaz, AcAc-KoA tiyolaz) aktivitelerinin yükselmesi, hücresel seviyede önemli bir bulgudur. Kolesterolün periferik dokulardan KC'e geri taşınma siklusunu tamamlayan HL'in inhibisyonu, kolesterolün KC'e akışını azaltacak ve bunu takiben KC'de de novo kolesterol sentezi hızlanacaktır. Rat KC'inde, HL'in in vivo inhibisyonu ile, hem de novo kolesterol sentezinin arttığı hem de tüm plazma Lp fraksiyonlarının etkilediği gösterilmiştir(78).

Lipid peroksidasyonunun lipid (TG, FL, kol), lipoproteinler (LDL, HDL ve alt fraksiyonları) ve Apo A₁ ile yakın ilişkili olduğunu vurgulayan çalışmalar da dikkate alınacak olursa, E/P kombinasyonlarının kullanımının, hücre membranı hasarında, aterosklerozda, kanser ve yaşlanmada etiyolojik bir faktör olarak öne sürülen lipid peroksidasyonuna yol açması, göz önünde tutulması gereken diğer bir husustur.

Tüm bu etkiler birarada değerlendirilecek olursa, sentetik seks steroidlerinin kullanımından kaçınılması, ancak mutlaka rutin olarak kullanılması gereken durumlarda ise, E/P kombinasyonlarında dozun azaltılmasının, fizyolojik bir denge sağlamak üzere komponentlerin oranlarının değiştirilmesinin ve daha az

androjenik aktivite gösteren projestasyonal ajanların seçilmesinin, uygulama süresinin kısaltılmasının, plazma lipid ve Lp'leri üzerine hormonal kontraseptiflerin etkisini modifiye edebileceği ya da beraberce ortadan kaldıracabileceği kanaatine varılmıştır.

Ayrıca, E/P kombinasyonlarının kullanımı sırasında, kişisel metabolik farklılıklar da söz konusu olabileceğinden, kullanılan preparatın metabolizma üzerindeki etkilerinin belirli aralıklarla kontrolü (örneğin: lipid, lipoprotein, apolipoprotein, asetoasetat, lipid peroksidasyonu ve post heparin hepatik lipaz aktivitesi ölçümlerinin yapılması gibi) faydalı olabilir.

6. ÖZET

Sentetik seks steroidlerinin lipid metabolizması üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılan bu çalışmada rat modeli kullanılmıştır. Toplam 102 dişi rat, kısa(15 gün) ve uzun (120 gün) çalışma için iki gruba ayrıldıktan sonra, her bir grup da kendi içinde oral olarak düşük ve yüksek doz EE/NEA (etinil estradiol/noretisteron asetat) ile EE/LNG(etinil estradiol/levonorjestrel) kombinasyonları verilen gruplar şeklinde 4 alt gruba bölünmüştür. Ratlara verilen her iki kombinasyon da EE içerdiğinden, grupların adlandırılması projestin komponentine (NEA,LNG) göre yapılmıştır. Ayrıca kısa ve uzun süreli kombinasyonlar için, birer kontrol grubu oluşturulmuştur.

Deney sürelerinin bitiminde, ratlardan elde edilen plazma örneklerinde, asetoasetat, trigliserid (TG), fosfolipid (FL), total kolesterol (T-kol), LDL-kol, HDL-kol, HDL₂-kol, HDL₃-kol, apolipoprotein A₁ (Apo A₁) ve Apo B seviyeleri; eritrosit zarlarında lipid peroksidasyonu ve karaciğer (KC)'lerinde hidroksi-metilglutaril-koenzim A (HMG-KoA) sentaz, asetoasetil-koenzim A (AcAc-KoA) tiyolaz ve hepatik lipaz (HL) aktiviteleri ölçülmüştür.

Tüm çalışma gruplarında plazma LDL-kol seviyeleri, kontrollere göre, daha yüksek bulunurken; düşük doz (DD) LNG grupları dışında, T-kol seviyeleri de yükselmiştir. NEA'nın LDL-kol üzerindeki etkisi doza ve süreye bağlı olarak artarken; NEA, T-kol seviyelerini süreye bağlı olarak artırmakta, fakat kısa süreli çalışmada doz da önemli olmaktadır. LNG'nin LDL- ve T-kol üzerindeki etkileri doza bağımlı olmakla beraber, yüksek doz (YD) LNG gruplarında süre de önemlidir. Fakat NEA, LNG'ye göre, LDL- ve T-kol seviyelerini daha çok artırmaktadır.

Kısa süreli çalışmada düşük ve yüksek dozda uygulanan NEA ve LNG kombinasyonları, kontrol gruplarına göre, HMG-KoA sentaz ve DD LNG grubu dışında, AcAc-KoA tiyolaz aktivitelerini artırmaktadır. Yani, enzim aktivitelerinde gözlenen değişiklikler, plazma T-kol seviyelerine yansımış gibi görünmektedir. Uzun süreli çalışmada ise, DD NEA ve YD LNG gruplarında enzim aktiviteleri baskılanırken, YD NEA ve DD LNG gruplarında aktivite değişmemiştir. Bu bulgular, kısa süreli çalışmada yükselen enzim aktivitelerinin plazma T-kol seviyelerini artırdığı ve sürenin ilerlemesiyle gittikçe yükselen plazma T-kol seviyelerinin feed-back inhibisyonla enzim aktivitelerini baskıladığı şeklinde yorumlanabilir.

Plazma FL, asetoasetat seviyeleri ve eritrosit zarlarında ölçülen lipid peroksidasyonu, çalışma kapsamına alınan tüm gruplarda, kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. NEA'nın FL üzerindeki etkisi süreye bağlı görünürken LNG hem süreye hem de doza bağlı olarak FL

seviyelerini artırmaktadır. Asetoasetat üzerinde ise, her iki preparat da aynı etkiye sahip olup, NEA için doz ve süre önemli değilken; LNG, yüksek dozlarda sürenin uzamasıyla daha etkili olmaktadır. NEA ve LNG'nin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri süreye değil, doza bağımlı olarak artmaktadır.

Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, kısa sürede tüm preparatlar doza bağımlı olarak plazma TG seviyelerini önemli ölçüde yükseltirken, uzun sürede plazma TG seviyesi her grupta yükselmesine rağmen sadece DD NEA ve LNG gruplarında istatistiki önem taşımaktadır. İki preparat arasındaki etki farkı, düşük dozlarda görülmezken, ancak YD'de ve uzun sürede ortaya çıkmaktadır.

Çalışma süresi boyunca NEA, kontrollere göre, HDL- ve HDL₃-kol seviyelerini düşürürken, HDL₂-kol seviyelerini ancak YD'da ve uzun süre kullanıldığında azaltmaktadır. LNG ise, DD'da uzun süre kullanıldığında, HDL-kol seviyesini azaltmakta; YD'da ise, süreye bağlı olmaksızın HDL-kol ve alt fraksiyonlarını düşürmektedir. NEA ve LNG arasında kısa sürede görülmeyen etki farkı, uzun sürede ortaya çıkmakta ve doza bağımlı olmaksızın, NEA, LNG'ye göre, HDL- ve HDL₃-kol seviyelerini daha fazla düşürmekte; DD'da kullanılan LNG ise, HDL₂-kol seviyesini daha çok etkilemektedir.

Kısa süreli çalışma gruplarında, kontrollere göre, plazma Apo A₁ seviyeleri yükselmesine rağmen, bu artış ancak YD'larda istatistiki önem taşımaktadır. Uzun süreli çalışmada ise, DD'da uygulanan NEA ve LNG, Apo A₁ seviyelerini artırırken, YD kombinasyonları düşürmektedir. Kontrollere göre, sadece YD'da uzun süre uygulanan NEA'nın etkisiyle yükselen Apo B değeri ve azalan Apo A₁/B oranı, diğer gruplarda çalışma süresi boyunca, istatistiki bakımdan değişmeden kalmıştır. NEA, Apo A₁ ve B değerlerini doza ve süreye göre etkilerken; LNG sadece Apo A₁'i doza ve süreye göre değiştirmektedir. Her iki preparat da YD'larda süreye bağımlı olarak Apo A₁/B oranını düşürmektedir.

Kısa süreli çalışmada DD ve YD'da kullanılan LNG'nin HL aktivitesini azalttığı, uzun sürede YD'da yükselttiği gözlenmiştir. NEA'nın etkisi ise, doza ve süreye göre değişmekte, DD NEA ancak uzun sürede aktiviteyi düşürürken, YD'da kısmen artırmaktadır. İki preparat arasındaki etki farkı, uzun sürede ve YD'larda ortaya çıkmakta ve LNG, NEA'ya göre HL'ı çok yükseltmektedir.

Sonuç olarak, E/P kombinasyonlarında dozun azaltılmasının, fizyolojik bir denge sağlamak üzere komponentlerin oranlarının değiştirilmesinin ve daha az androjenik aktivite gösteren projestasyonal ajanların seçilmesinin, uygulama süresinin kısa tutulmasının, lipid metabolizması üzerine hormonal kontraseptiflerin etkisini modifiye edebileceği ya da beraberce ortadan kaldırabileceği kanaatine varılmıştır.

7. SUMMARY

In this study, the effects of synthetic sex steroids on lipid metabolism were examined in adult female rats. A total of 102 adult female rats were divided into 2 groups for short (15 days) and long (120 days) time investigations, and each group was then subdivided into 4 subgroups, according to orally given low and high doses of EE/NEA (ethinyl estradiol/norethisterone acetate) and EE/LNG (ethinyl estradiol/levonorgestrel) combinations. Since EE was included in each combination, the groups were named according to the progestin (NEA, LNG) components. Control groups were also formed for short and long period investigations.

At the end of the experiment period, acetoacetate, triglyceride (TG), phospholipid (PL), total cholesterol (T-chol), LDL-chol, HDL-chol, HDL₂-chol, HDL₃-chol, apolipoprotein A₁ (Apo A₁) and Apo B levels in plasma samples and lipid peroxidation in erythrocyte membranes and hydroxy-methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) synthase, acetoacetyl-Coenzyme A (AcAc-CoA) thiolase and hepatic lipase (HL) activities in the livers of rats were determined.

In all study groups, plasma LDL-chol levels were found to be higher than in controls, and except low dose (LD) LNG groups, plasma T-chol levels were also increased. While the effect of NEA on LDL-chol was both dose and time dependent, it increased T-chol levels by time, and the dose was important in only short period groups. The effect of LNG on LDL-, and T-chol levels was dose dependent, and time was also important at high dose (HD) LNG groups. However, NEA increased both LDL-, and T-chol levels more than LNG.

In short period investigation, the activity of HMG-CoA synthase was increased in both LD and HD combinations, and except in LD LNG group, the AcAc-CoA thiolase activities were also increased. The changes in enzyme activities seem to be reflected on plasma T-chol levels. In long periods, enzyme activities were suppressed in LD NEA and HD LNG groups; but there was no change in HD NEA and LD LNG group enzyme activities. It is suggested that the increased enzyme activities in short periods may result in high plasma T-chol levels and by the time, these gradually rising chol levels may then cause feed-back inhibition on enzyme activities.

In all study groups, plasma PL, acetoacetate levels and lipid peroxidation in erythrocyte membranes were higher than the values in controls. The effects of NEA on PL seems to be time dependent, but the rise in PL levels with LNG was both time and dose dependent. Both

combinations had the same effect on acetoacetate; time and doses were not important for NEA, but at high doses, as the time increases, LNG was more effective. The effect of NEA and LNG on lipid peroxidation was not time, but dose dependent.

When compared to the controls, in short period, all combinations significantly increased plasma TG levels by dose. In long period, plasma TG levels in each group were increased, while this increase was statistically important only in LD NEA and LD LNG groups. Difference in the effect of two combinations on TG levels were not seen at low doses, but were present at high doses and long period.

When HDL₁-, HDL₂-, HDL₃-chol levels were compared to controls, NEA lowered HDL₁-, and HDL₃-chol, in all groups, but HDL₂-chol levels were lower only at high dose and long period. When LD LNG was used for long period, the HDL₁-chol levels were decreased. High doses of LNG independent from time, lowered the levels of HDL₁-chol and its subfractions. Different effects of NEA and LNG on HDL and its subfractions were not detected in short period, but were present in long period and independent from doses, NEA lowered HDL₁-, and HDL₃-chol levels more than LNG. However, LD LNG was more effective on HDL₂-chol levels.

In short study groups, plasma Apo A₁ levels were higher than the values in control group, but this increase was statistically important only at high doses. In long period investigation, Apo A₁ levels were increased by LD NEA and LD LNG applications, but it decreased at high dose combinations. Apo B levels were increased and Apo A₁/B ratio was decreased in only high dose-long period NEA group, but not changed in the other groups. While NEA effected the Apo A₁ and B levels by time and dose, the effect of LNG was time and dose dependent only on Apo A₁ levels. At high doses both combinations of steroids lowered the Apo A₁/B ratio and this decrease was time dependent.

When compared to the controls, the HL activities were decreased with high and low doses of LNG in short period, whereas an increase in enzyme activity was observed at HD LNG in long period. The effect of NEA showed changes with dose and time and while the LD NEA lowered HL activities only in long period, high doses had a relatively increasing effect. The different effects of two combinations were present only with high doses in long period, and LNG increased the HL activities more than NEA.

In conclusion, it is suggested that decreasing the doses in E/P (estrogen/progestin) combinations, changing the component ratios to reach a physiological state, selecting the progestins having less androgenic activities as well as administrating for short periods may modify or remove the effects of these hormonal contraceptive agents on lipid metabolism.

8. KAYNAKLAR

1. ADAMS MR, CLARKSON TB, SHIVELY CA, PARKS JS, KAPLAN JR: Oral contraceptives, lipoproteins and atherosclerosis. *Am J Obstet Gynecol* 163:1388-1393,1990.
2. ALBERS JJ: Immunoassay of apoproteins-an overview. In: Lippel K (ed). *Proceedings of the Workshop on Apolipoprotein Quantification*. NIH Publication No 83-1266,1983,pp 225-229.
3. ALBERS JJ, WAHL PW, CABANA VG, HAZZARD WR, HOOVER JJ: Quantification of apolipoprotein A-1 of human plasma high density lipoprotein. *Metabolism* 25:633-644,1976.
4. ALBERS JJ, BANGDIWALA SI, TYROLER HA, WALDEN CE, SCHONFELD G, LIPPEL K: Relationship of apolipoproteins and risk of cardiovascular death: The Lipid Research Clinics program follow-up study. *Circulation* 70(Suppl II):268,1984.
5. AMEIS D, STAHNKE G, KOBAYASHI J, McLEAN J, LEE G, BUSCHER M, SCHOTZ MC, WILL H: Isolation and characterization of the human hepatic lipase gene. *J Biol Chem* 265:6552-6555,1990.
6. ARAS K, ERŞEN G: Klinik Biyokimya (5.Baskı), AÜ Basımevi, Ankara, 1975, ss 17-18.
7. ASMANN G, KRAUSS RM, FREDRICKSON DS, LEVY RI: Characterization, subcellular localization, and partial purification of a heparin-released triglyceride lipase from rat liver. *J Biol Chem* 248:1992-1999,1973.

8. AVOGARO P, CAZZOLATO G, BITTOLO BON G, QUINCI GB: Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis? *Lancet* 1:901-903,1979.
9. AYTE J, GIL-GOMEZ G, HARO D, MARRERO PF, HEGARDT FG: Rat mitochondrial and cytosolic 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthases are encoded by two different genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 3874-3878,1990.
10. AZNAR J, SANTOS TM, VALLÉS J, MARTINEZ-SAUSOR V: Effect of oral contraceptives on plasma and platelet lipid composition. *Acta Obstet Gynecol Scand* 65:33-40,1986.
11. BAKER HN, GOTTO AM, JACKSON RL: The primary structure of human plasma high density apolipoprotein glutamin I (Apo A-1). *J Biol Chem* 250:2725-2733,1975.
12. BECK P: Contraceptive steroids: Modifications of carbohydrate and lipid metabolism. *Metabolism* 22:841-855,1973.
13. BERGSTROM JD, WONG GA, EDWARDS PA, EDMOND J: The regulation of acetoacetyl-CoA synthase activity by modulators of cholesterol synthesis in vivo and the utilization of acetoacetate for cholesterologenesis. *J Biol Chem* 259:14548-14553,1984.
14. BERR F, ECKEL RH, KERN F: Contraceptive steroids increase hepatic uptake of chylomicron remnants in healthy young women. *J Lipid Res* 27:645-651,1986.
15. BERTOLINI S, ELICIO N, CORDERA R, GABITANIO GL, MONTAGNA G, CROCE S, SATURNINO M, BALESTRERI R, DE CECCO L: Effects of three low-dose oral contraceptive formulations on lipid metabolism. *Acta Obstet Gynecol Scand* 66:327-332,1987.
16. BHATTACHARYA S, BALASUBRAMANIAM S, SIMONS LA: Regulation of low-density lipoprotein metabolism in the rat. *Biochem J* 234:493-496, 1986.
17. BOVET P, DARIOLI R, ESSINGER A, GOLAY A, SIGWART U, KAPPENBERGER L: Phospholipids and other lipids in angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis* 80:41-47,1989.
18. BREWER HB, GREG RE, HOEG JM, FOJO SS: Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma: an overview. *Clin Chem* 34(B): B4-B8, 1988.
19. BROWN KH, HAMMOND CB: The risks and benefits of oral contraceptives. *Adv Intern Med* 34:285-305,1989.
20. BROWN MS, GOLDSTEIN JL: Receptor-mediated control of cholesterol metabolism. *Science* 191:150-154,1976.

21. BROWN MS, GOLDSTEIN JL: Familial hypercholesterolemia. A genetic defect in the low-density lipoprotein receptor. *N Eng J Med* 294: 1386-1390,1976.
22. BURKMAN RT, ROBINSON JC, KRUSZON-MORAN D, KINBAL AW, KWITEROVICH P, BURFORD RG: Lipid and lipoprotein changes associated with oral contraceptive use: A randomized clinical trial. *Obstet Gynecol* 71: 33-38,1988.
23. BUSH TL, FRIED LP, BARRET E: Cholesterol, lipoproteins, and coronary heart disease in women. *Clin Chem* 34(B):B60-B70,1988.
24. CADENAS E: Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 58: 79-110,1989.
25. CAREW TE, HAYES SB, STEINBERG D: A mechanism by which HDLs may flow the atherogenic process. *Lancet* I:1313-1317,1976.
26. CHANDER R, KAPOOR NK: High density lipoprotein is a scavenger of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 40:1663-1665,1990.
27. CHAO YS, WINDLER EE, CHEN GC, HAVEL RJ: Hepatic catabolism of rat and human lipoproteins in rats treated with 17- α -ethinyl estradiol. *J Biol Chem* 254:11360-11366,1979.
28. CIAVATTI M, BLACHE D, RENAUD S: Hormonal contraceptive increases plasma lipid peroxides in female rats. Relationship to platelet aggregation and lipid biosynthesis. *Arteriosclerosis* 9:84-89,1989.
29. CISAR LA, BENSADOUN A: Characterization of the intracellular processing and secretion of hepatic lipase in FU 5 AH rat hepatoma cells. *Biochim Biophys Acta* 927:305-314,1987.
30. CLAY MA, RYE KA, BARTER PJ: Evidence in vitro that hepatic lipase reduces the concentration of Apolipoprotein A-1 in rabbit high density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1044:50-56,1990.
31. CLEMENS MR, WALLER HD: Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids* 45:251-268,1987.
32. CLINKENBEARD KD, SUGIYAMA T, MOSS J, REED WD, LANE MD: Molecular and catalytic properties of cytosolic acetoacetyl coenzyme A thiolase from avian liver. *J Biol Chem* 248:2275-2285,1973.
33. CLINKENBEARD KD, REED WD, MOONEY RA, LANE MD: Intracellular localization of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A cycle enzymes in liver. *J Biol Chem* 250:3108-3116,1975.
34. CLINKENBEARD KD, SUGIYAMA T, LANE MD: Cytosolic 3-hydroxy 3-methylglutaryl-CoA synthase from chicken liver. In: Lowenstein JM(ed). *Lipids, Part B*. In: Colowick SP, Kaplan NO(eds). *Methods in Enzymology*. Volume XXXV, Academic Press Inc, New York, San Francisco, London 1975, pp 160-173.

35. CLINKENBEARD KD, REED WD, MOONEY RA, LANE MD: Cytoplasmic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase from liver. Purification, properties, and role in cholesterol synthesis. *J Biol Chem*, 250:3124-3135, 1975.
36. COOPER AD, NUTIK R, CHEN J: Characterization of the estrogen-induced lipoprotein receptor of rat liver. *J Lipid Res* 28:59-68, 1987.
37. CROOK D, GODSLAND IF, WYNN V: Oral contraceptives and coronary heart disease: Modulation of glucose tolerance and plasma lipid risk factors by progestins. *Am J Obstet Gynecol* 158:1612-1620, 1988.
38. DAVIS RA: Hepatic lipoprotein and cholesterol metabolism. Report of a conference. *J Lipid Res* 29:1603-1611, 1988.
39. DAVIS RC, STAHNKE G, WONG H, DOOLITTLE MH, AMEIS D, WILL H, SCHOTZ MC: Hepatic lipase. Site-directed mutagenesis of a serine residue important for catalytic activity. *J Biol Chem* 265:6291-6295, 1990.
40. DEMANT T, CARLSON LA, HOLMQUIST L, KARPE F, NILSSON-EHLE P, PACKARD CJ, SHEPHERD J: Lipoprotein metabolism in hepatic lipase deficiency: Studies on the turnover of apolipoprotein B and on the effect of hepatic lipase on high density lipoprotein. *J Lipid Res* 29:1603-1611, 1988.
41. DERMAN R: Oral contraceptives: A reassessment. *Obstet Gynecol Surv* 44:662-668, 1989.
42. DORMANDY TL: In praise of peroxidation. *Lancet* ii:1126-1128, 1988.
43. DOUCET C, FLAMENT C, SAUTIER C, LEMONNIER D: Effect of hypercholesteremic diet on the level of several serum lipids and apolipoproteins in nine rat strains. *Reprod Nutr Develop* 27:897-906, 1987.
44. EDÉN S, OSCARSON J, JANSSON JO, SVANBORG A: The Influence of Gonadal steroids and the pituitary on the levels and composition of plasma phospholipids in the rat. *Metabolism* 36:527-532, 1987.
45. ELLEFSON RD, CARAWAY WT: Lipids and lipoproteins. In: Tietz NW(ed) *Fundamentals of Clinical Chemistry* (2.ed). WB Saunders Co, Philadelphia, London-Toronto 1976, pp 474-538.
46. ENDEMAN G, GOETZ PG, ENDMOND J, BRUNENGRABER H: Lipogenesis from ketone bodies in the isolated perfused rat liver. *J Biol Chem* 257:3434-3440, 1982.
47. ENDEMAN G, GOETZ PG, TOMERA JF, RAND WM: Lipogenesis from ketone bodies in the perfused rat liver: effects of acetate and ethanol. *Biochem Cell Biol* 65:989-996, 1987.

48. ERICKSON SK, JAECKLE S, LEAR SR, BRADY SM, HAVEL RJ: Regulation of hepatic cholesterol and lipoprotein metabolism in ethinyl estradiol-treated rats. *J Lipid Res* 30:1763-1771,1989.
49. FAGGINELLI-GUNDERSON EP, MARGEN S, BROWN JR: Iron stores in users of oral contraceptive agents. *Am J Clin Nutr* 41: 703-712, 1985.
50. FAHRAEUS L: The effects of estradiol on blood lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 72:185-225,1988.
51. FARISH E, FLETCHER CD, HART DM, DAGEN MM, PARKIN DE: Lipoprotein and apoprotein levels in postmenopausal women during treatment with norethisterone. *Clin Chim Acta* 159:147-151,1986.
52. FARISH E, FLETCHER CD, DAGEN MM, HART DM, PARKIN DE: Lipoprotein and apolipoprotein levels in postmenopausal women on continuous oestrogen/progestogen therapy. *Br J Obstet Gynaecol* 96:358-364, 1989.
53. FERRERILF, NAITO HK: Effects of estrogens on rat serum cholesterol concentrations: Consideration of dose, type of estrogen and treatment duration. *Endocrinology* 102:1621-1627,1978.
54. FEUERSTEIN G, GOLDSTEIN RE: Lipid peroxides and the coronary circulation. *Am Rev Respir Dis* 136:485-487,1987.
55. FOTHERBY K: A metabolic assessment of different oral contraceptives. *J Obstet Gynaecol* 3(Suppl 2):77-82,1983.
56. FOTHERBY K: Effect of oral contraceptives on serum apoprotein levels. *Adv Contracept* 2:65-69,1986.
57. FOTHERBY K: Oral contraceptives and lipids. *Br Med J* 298:1049-1050,1989.
58. FREEMAN BA, CRAPO JD: Biology of disease, Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47:412-426,1982.
59. FRIEDEWALD WT, LEVY RJ, FREDRICKSON DS: Estimation of the concentration by Low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499-502,1972.
60. GASPARD UJ: Metabolic effects of oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 157:1029-1041,1987.
61. GEELEN MJH, LOPES-CARDOZO M, EDMOND J: Acetoacetate: a major substrate for the synthesis of cholesterol and fatty acids by isolated rat hepatocytes. *FEBS LETT* 163:269-273,1983.

62. GOEBELSMANN U, HOFFMAN D, CHIANG S, WOUTERSZ T: The relative bio-availability of levonorgestrel and ethinyl estradiol administered as a low-dose combination oral contraceptive. *Contraception* 34: 341-351, 1986.
63. GOLDZIEHER JW: Hormonal contraception: Benefits versus risks. *Am J Obstet Gynecol* 157:1023-1028, 1987.
64. GOLDZIEHER JW: Pharmacology of contraceptive steroids. *Am J Obstet Gynecol* 160:1260-1264, 1989.
65. GOTTO AM: High density lipoproteins biochemical and metabolic factors, Symposium on high-density lipoproteins and coronary artery disease, Effects of diet, exercise and pharmacologic intervention. *Am J Cardiol* 52:2B-4B, 1983.
66. GROSSER KJ, SCHRECKER Q, GRETEN H: Plasma apoprotein changes after selective inhibition of hepatic triglyceride lipase in rat. *Atherosclerosis* 53:233-239, 1984.
67. GUTTERIDGE JMC, HALLIWELL B: The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 15: 129-135, 1990.
68. HANSSON P, LINDFELDT J, EKELUND M, KULLENDORFF CM, HOLMIN T, NILSSON-EHLE P: Hepatic lipase activity increases after liver denervation in the rat. *Biochim Biophys Acta* 833:351-353, 1985.
69. HARVENGT C, DESAGER JP, GASPARD U, LEPOT M: Changes in lipoprotein composition in women receiving two low-dose contraceptives containing ethinyl estradiol and gonane progestins. *Contraception* 37: 565-575, 1988.
70. HAYASHI K, KOIDE K, HIRATA Y, OHTANI H, YAMADA K, KAJIYAMA G: Metabolic changes in lipids of rat plasma and hepatocytes induced by 17- α -ethinyl estradiol treatment. *Biochim Biophys Acta* 879:140-148, 1986.
71. HEIS G, JOHNSON NJ, REILAND S, DAVIS CE, TYROLER AT: The epidemiology of plasma high density lipoprotein cholesterol levels: The Lipid Research Clinics Program Prevalance Study: Summary. *Circulation* 62 (Suppl IV):116-136, 1980.
72. HENRIKSSON P, STAMBERGER M, ERIKSSON M, RUDLING M, DICZFALUSY U: Oestrogen-induced changes in lipoprotein metabolism: Role in prevention of atherosclerosis in the cholesterol-fed rabbit. *Eur J Clin Invest* 19:395-403, 1989.
73. HERMIER D, FORGEZ P, WILLIAMS J, CHAPMAN MJ: Alterations in plasma lipoproteins and apolipoproteins associated with estrogen-induced hyperlipidemia in the laying hen. *Eur J Biochem* 184:109-118, 1989.

74. HOPKINS GJ, BARTER PJ: Role of triglyceride-rich lipoproteins and hepatic lipase in determining the particle size and composition of high density lipoproteins. *J Lipid Res* 27:1265-1276,1986.
75. HROMADOVÁ M: The role of hormones in the regulation of lipoprotein metabolism (review). *Endocrinol Exp (Bratisl)* 19:318-330,1985.
76. JACKSON RL, McLEAN LR, PONCE E, RECHTIN A, DEMEL RA: Mechanism of action of lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Adv Exp Med Biol* 210:73-77,1987.
77. JAIN SK: Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 937:205-210, 1988.
78. JANSEN H: Inhibition of liver lipase in vivo leads to induction of de novo cholesterol synthesis in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 131:574-578,1985.
79. JOHNSON AN: Comparative aspects of contraceptive steroids. Effects observed in Beagle Dogs. *Toxicol Pathol* 17:389-395,1989.
80. KAPLAN AL, PESCE AJ: *Clinical Chemistry. Theory, analysis, and correlation.* CV Mosby Company, St Louis, Toronto, Princeton 1984, pp 550-580.
81. KAWAKAMI M, MURASE T, ITAKURA H, YAMADA N, OHSAWA N, TAKAKU F: Lipid metabolism in endotoxic rats: Decrease in hepatic triglyceride lipase activity. *Microbiol Immunol* 39:849-854,1986.
82. KAY CR: Progestogens and arterial disease-Evidence from the Royal College of General Practitioners' Study. *Am J Obstet Gynecol* 142: 762-765,1982.
83. KAYAALP OS: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 3.Cilt, 4. baskı, Feryal Matbaacılık San ve Tic Ltd, Ankara 1989, ss2573-2638.
84. KHOKKA R, WOLFE B: Hypotriglyceridemic effects of levonorgestrel in rats. *Atherosclerosis* 52:329-338,1984.
85. KHOKKA R, WALTON PA, POSSMAYER F, WOLFE B: Effects of levonorgestrel on enzymes responsible for synthesis of triacylglycerols in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 918:120-125,1987.
86. KLOOSTERBOER HJ, Van WAYJEN RGA, Van den ENDE A: Comparative effects of monophasic desogestrel plus ethinyl oestradiol and triphasic levonorgestrel plus ethinyl oestradiol on lipid metabolism. *Contraception* 34:135-144,1986.
87. KNOPP RH, WALDEN CE, WAHL PW, HOOVER JJ: Effects of oral contraceptives on lipoprotein triglyceride and cholesterol: Relationships to estrogen and progestin potency. *Am J Obstet Gynecol* 142:725-731, 1982.

88. KNOPP RH: Cardiovascular effects of endogenous and exogenous sex hormones over a woman's life time. *Am J Obstet Gynecol* 158:1630-1643,1988.
89. KOMAROMY MC, SCHOTZ MC: Cloning of rat hepatic lipase cDNA: Evidence for a lipase gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:1526-1530,1987.
90. KOSTNER JF, BIEMOND P, STAM H: Lipid peroxidation and myocardial ischemic damage. Cause or consequence? *Basic Res Cardiol* 82(Suppl 1): 253-260,1987.
91. KOVANEN PT, BROWN MS, GOLDSTEIN JL: Increased binding of low-density lipoprotein to liver membranes from rats treated with 17- α -ethinyl estradiol. *J Biol Chem* 254:11367-11373,1979.
92. KÖSE K, ÜSTDAL KM, KÖKER AH: AMI (Akut miyokard infarktüsü)'lü hastalarda lipid, lipoprotein, apolipoprotein değerleri. *DOĞA Tıp ve Ecz D* 11:264-274,1987.
93. KRAUSS RM, ROY S, MISHHELL D, CASAGRANDE J, PIKE MC: Effects of two low-dose oral contraceptives on serum lipids and lipoproteins: Differential changes in high-density lipoprotein subclasses. *Am J Obstet Gynecol* 145:446-451,1983.
94. KUSWAHA RS, FOSTER DM, BARRET PHR, CAREY KD: Effect of estrogen and progesterone on metabolism of apoprotein B in baboons. *Am J Physiol* 258 (Endocrinol Metab 21):E172-E183,1990.
95. KUSWAHA RS, FOSTER DM, MURTHY VN, CAREY KD, BERNARD MG: Metabolic regulation of apoproteins of high-density lipoproteins by estrogen and progesterone in the baboon (*Papio sp*). *Metabolism* 39:544-552, 1990.
96. LANDAU E, LESSING JB, WEINTRAUB M, MICHOWITZ M: Acute myocardial infarction in a young woman taking oral contraceptives. *J Reprod Med* 31:1008-1010,1986.
97. LANDRISCINA C, PETRAGALLO V, MORINI P, MARCOTRIGIANO GO: Lipid peroxidation in rat liver microsomes. I. Stimulation of the NADPH-cytochrome P-450 reductase-dependent process in hyperthyroid state. *Biochem Int* 17:385-393,1988.
98. LAPOSATA EA, LABODA HM, GLICK JM, STRAUSS JF: Hepatic lipase synthesis, processing and secretion by isolated rat hepatocytes. *J Biol Chem* 262:5333-5338,1987.
99. LA ROSA JC: The varying effects of progestins on lipid levels and cardiovascular disease. *Am J Obstet Gynecol* 158:1621-1629,1988.

100. LEDWOZYW A, MICHALAK J, STEPIEN A, KADZIOLKA A: The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 155:275-284,1986.
101. LE PETIT-THEVENIN J, RAHMANI-JOURDHEUIL D, NOBILI O, BOYER J: Ethinyl estradiol alters lipid composition and phosphatidylethanolamine metabolism in red blood cells. *J Steroid Biochem* 25:601-603,1986.
102. LETTERIE GS, KLEIN TA, WINKEL CA: Modulation of hepatic cholesterol metabolism by ethinyl estradiol and norgestrel. *Contraception* 37 : 405-413,1988.
103. LEUVEN JA, HAVEKES L, KOOIJ-POINTER HA, STARMANS RJH, JANSEN H, BOUWHUIS ML, HESSEL LW: Effect of low-dose oral contraceptives on lipoproteins and lipolytic enzymes: Differences between two commonly used preparations. *Metabolism* 33:1039-1042,1984.
104. LEVY RI: Cholesterol, lipoproteins, apoproteins, and heart disease: Present status and future prospects. *Clin Chem* 27:653-662,1981.
105. LOBO RA: Cardiovascular implications of estrogen replacement therapy. *Obstet Gynecol* 75(4 Suppl):18S-25S,1990.
106. LOPES-VIRELLA MF, STONE P, ELLIS S, COLWELL JA: Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin Chem* 23:882-885,1977.
107. LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275,1951.
108. LUOMA PV, HEIKKINEN JE, EHNHOLM C, YLÖSTALO PR: One year study of effects of an oestrogen-dominant oral contraceptive on serum high-density lipoprotein cholesterol, apolipoproteins A-I and A-II and hepatic microsomal function. *Eur J Clin Pharmacol* 31:563-567,1987.
109. LUOMA PV, STENGARD J, KORPELA H, RAUTIO A, SOTANIEMI EA, SUVANTO E, MARNIEMI J: Lipid peroxides, glutathione peroxidase, HDL-subfractions and apolipoproteins in young adults. *J Intern Med* 227: 287-289,1990.
110. LUSSIER-CACAN S, DAVIGNON J, NESTRUCK AC, KAFRISSSEN ME, ARSLANIAN H, CHAPDELAIN A, XHICNESSE M: Influence of a triphasic oral contraceptive preparation on plasma lipids and lipoproteins. *Fertil Steril* 53:28-34,1990.
111. MACIEJKO JJ: Apolipoprotein A-I in coronary artery disease. *N Eng J Med* 310:123-124,1984.
112. MADDIPATI KR, MARNET LJ: Characterization of the major hydroperoxide reducing activity of human plasma. *J Biol Chem* 262:17398-17403,1987.

113. MANN JI, INMAN WHW: Oral contraceptives and death from myocardial infarction. *Br Med J* 2:245-248,1975.
114. MANZ W, GROSS W, GAHN G, ROMBERG G, TAUBERT HD, KAHL H: A randomized crossover comparison of two-low-dose contraceptives: Effects on serum lipids and lipoproteins. *Am J Obstet Gynecol* 153:287-93,1985.
115. MARCEL YL, JEWER D, LEBLOND L, WEECH PK, MILNE RW: Lipid peroxidation changes the expression of specific epitopes of apolipoprotein A-I. *J Biol Chem* 264:19942-19950,1989.
116. MATHEWS CK, VAN HOLDE KE: *Biochemistry*. The Benjamin Cummings Publishing Company Inc, Redwood City, California, Fort Collins, Colorado 1990, pp 298-301, 571-633.
117. Mc CONNELL RF: Comparative aspects of contraceptive steroids. Effects observed in rats. *Toxicol Pathol* 17:385-388,1989.
118. Mc GILL HC: The pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chem* 34(B): B33-B39,1988.
119. Mc KENZIE BE: Guidelines and requirements for the evaluation of contraceptive steroids. *Toxicol Pathol* 17:377-383,1989.
120. MEHRABIAN M, CALLAWAY K, CLARKE C, TANAKA R, GREENSPAN M, LUSIS AJ, SPARKES RS, et al: Regulation of rat liver 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A synthase and the chromosomal localization of the human gene. *J Biol Chem* 261:16249-16255,1986.
121. MILLER GJ, MILLER NE: Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischemic heart disease. *Lancet* I:16-19,1975.
122. MISHELL DR: The pharmacologic and metabolic effects of oral contraceptives. *Int J Fertil* 34 (Suppl):21-26,1989.
123. MIZIORKO HM, LOIB FE, BEHNKE CE: Evidence for substrate channeling in the early steps of cholesterologenesis. *J Biol Chem* 265:9606-9609, 1990.
124. MONDOLA P- SANTANGELO F, FALCONI C, BELFIORE A: The serum Apo B and Apo E in rats following cholesterol diet and thymus treatment. *Horm Metab Res* 19:407-410,1987.
125. MURRAY RK, GRANNER DK, MAYES PA, RODWELL VW: *Harper's Biochemistry*. (21.ed). Lange medical publications, Norwalk, Connecticut, San Mateo, California 1988, pp 130-138, 226-258, 487, 536-541.
126. MYANT NB: *The biology of cholesterol and related steroids*(I.ed). Acford Ltd, Chichester, London 1981, pp 435-439, 507-537.

127. NAGELKERKE JF, BAKKEREN HF, KUIPERS F, VONK RJ, BERKEL TJC: Hepatic processing of the cholesteryl ester from low-density lipoprotein in the rat. *J Biol Chem* 261:8908-8913, 1986.
128. NAQVI RH, MITRA SB, SAKSENA JF, LINDBERG MC: Pharmacokinetics of levonorgestrel in the rat. *Contraception* 30:81-88, 1984.
129. NIKKILA M, KOIVULA T, NIEMELA K, SISTO T: High density lipoprotein cholesterol and triglycerides as markers of angiographically assessed coronary artery disease. *Br Heart J* 63:78-81, 1990.
130. NOTELOWITZ M, FELDMAN EB, GILLESPIE M, GUDAT J: Lipid and lipoprotein changes in women taking low-dose, triphasic oral contraceptives: A controlled, comparative, 12-month clinical trial. *Am J Obstet Gynecol* 160:1269-1280, 1989.
131. OHTA T, TAKATA K, HORIUCHI S, MORINO Y, MATSUDA I: Protective effect of lipoproteins containing apoprotein A-1 on Cu^{+2} -catalyzed oxidation of human low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 257:435-438, 1989.
132. OSTER P, ARAB L, KOHLMEIER M, MORDASINI R, SCHELLENBERG B, SCHLIERF G: Effects of estrogens and progestogens on lipid metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 142:773-775, 1982.
133. OTTOSSON UB, JOHANSSON BG, SCHOULTZ B: Subfractions of high-density lipoprotein cholesterol during estrogen replacement therapy: A comparison between progestogens and natural progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 151:746-750, 1985.
134. PARKS JS, PELKEY SJ, BABIAK J, CLARKSON TB: Contraceptive steroid effects on lipids and lipoproteins in cynomolgus monkeys. *Arteriosclerosis* 9:261-268, 1989.
135. PARTASARATHY S, BARNETT J, FONG LG: High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1044:275-283, 1990.
136. PASQUALE SA: Oral contraceptives: Significance of their effects in man and relationship to findings in animal models. *Toxicol Pathol* 17:396-399, 1989.
137. PATSCH JR, GOTTO AM, OLIVECRONA T, EISENBERG S: Formation of high density lipoprotein₂-like particles during lipolysis of very low density lipoprotein in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:4519-4523, 1978.
138. PATSCH JR, PRASAD S, GOTTO AM, BENTSSON-OLIVECRONA G: Postprandial lipemia. A key for the conversion of high density lipoprotein₂ into high density lipoprotein₃ by hepatic lipase. *J Clin Invest* 74:2017-2023, 1984.

139. PATSCH JR, PRASAD S, GOTTO AM, PATSCH W: High density lipoprotein, Relationship of the plasma levels of this lipoprotein species to its composition, to the magnitude of postprandial lipemia, and to the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase. *J Clin Invest* 80:341-347, 1987.
140. PATSCH W, BROWN SA, GOTTO AM, YOUNG RL: The effect of triphasic oral contraceptives on plasma lipids and lipoproteins. *Am J Obstet Gynecol* 161:1396-1401, 1989.
141. PATSCH W, BROWN SA, MORRISET JD, GOTTO AM, PATSCH JR: A dual precipitation method evaluated for measurement of cholesterol in HDL subfractions HDL₂ and HDL₃ in human plasma. *Clin Chem* 35:265-270, 1989.
142. PIOTROWSKI JJ, HUNTER GC, ESKELSON CD, DUBICK MA, BERNHARD VM: Evidence for lipid peroxidation in atherosclerosis. *Life Sci* 46: 715-721, 1990.
143. RAMASARMA T: Generation of H₂O₂ in biomembranes. *Biochim Biophys Acta* 694:69-93, 1982.
144. RANA SV, KUMAR S: Effect of sex hormones on lipid peroxidation in the necrotic liver of rat. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* 133:657-663, 1987.
145. RAWN JD: *Biochemistry*. Carolina Biological Supply Company, Burlington, North Carolina 1989, pp 421-426, 537-579.
146. REALINI JP, GOLDZIEHER JW: Oral contraceptives and cardiovascular disease: A critique of the epidemiologic studies. *Am J Obstet Gynecol* 152:729-798, 1985.
147. REGULATION of cholesterol biosynthesis. *Nutr Rev* 45:92-94, 1987.
148. RIEPPONEN P, MARNIEMI J, RAUTAOJA T: Immunoturbidimetric determination of apolipoproteins A-1 and B in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 47:739-744, 1987.
149. ROZENBAUM H: Relationships between chemical structure and biological properties of progestogens. *Am J Obstet Gynecol* 142:719-724, 1982.
150. RUDLING MJ: Role of the liver for the receptor-mediated catabolism of low-density lipoprotein in the 17 α -ethinyl estradiol - treated rat *Biochim Biophys Acta* 919:175-180, 1987.
151. RUSINOL AE, BLOJ B: Estrogen treatment increases phospholipid transfer activities in chicken liver. *J Biol Chem* 264:6612-6614, 1989.
152. SALAM WH, CAGEN LM, HEIMBERG M: Regulation of hepatic cholesterol biosynthesis by fatty acids. Effect of feeding olive oil on cytoplasmic acetoacetyl-coenzyme A thiolase, β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA synthase, and acetoacetyl-coenzyme A ligase. *Biochem Biophys Res Commun* 153:422-427, 1988.

153. SAMSTOE G, SKRYTEN A, SILFVERSTOLPE G: Oral contraception with a nonalkylated estrogen component. Effects of lipid metabolism. *Gynecol Obstet Invest* 15:275-282,1983.
154. SAPERSTEIN S, EDGREN RA, LEE GJL, LUNG D, FRATIS A, KUSHINSKY S, MROSZCZAK E, DORR A: Bioequivalence of two oral contraceptive drugs containing norethindrone and ethinyl estradiol. *Contraception* 40:581-590,1990.
155. SCHAEFER EJ, EISENBERG S, LEVY RI: Lipoprotein apoprotein metabolism. *J Lipid Res* 19:667-682,1978.
156. SCHAEFER EJ: Disorders of lipoprotein metabolism associated with apolipoprotein deficiencies. In: Lippel K(ed). *Proceedings of the Workshop on Apolipoprotein Quantification*. NIH Publication No 83-1266,1983,pp 54-70.
157. SCHAEFER EJ, FOSTER DM, ZECH LA, LINDGREN FT, BREWER HB, LEVY RI: The effects of estrogen administration on plasma Lipoprotein Metabolism in premenopausal females. *J Clin Endocrinol Metab* 57:262-267,1983.
158. SHI YE, CHANG-HAI H,JIANG G, FOTHERBY K: Pharmacokinetics of norethisterone in humans. *Contraception* 35:465-475,1987.
159. SIMARD G: Hepatic triglyceride lipase. *Ann Biol Clin (Paris)* 48:61-76,1990.
160. SPEROFF L, GLASS RH, KASE NG: *Clinical gynecologic endocrinology and infertility* (4.ed). Williams and Wilkins,Baltimore,Maryland 1989,pp 1-49,461-498.
161. STANCZYK FZ, LOBO RA, CHIANG ST, WOUTERSZ TB: Pharmacokinetic comparison of two triphasic oral contraceptive formulations containing levonorgestrel and ethinyl estradiol. *Contraception* 41:39-53,1990.
162. STEIN Y, HALPERIN G, STEIN O: The fate of cholesteryl linoleyl ether and cholesteryl linoleate in the intact rat after injection of biologically labeled human low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 663:569-574,1981.
163. STOCKS J, DORMANDY TL: The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *B J Haemat* 20:95-111,1971.
164. STRAYER L: *Biochemistry* (3.ed). WH Freeman and Company, New York 1988,pp 467-469,478-480,554-569.
165. STRINGER MD, GÖRÖG PG, FREEMAN A, KAKKAR VV: Lipid peroxides and atherosclerosis. *Br Med J* 298:281-284,1989.

166. STUBBLEFIELD PG: Choosing the best oral contraceptive. *Clin Obstet Gynecol* 32:316-327,1989.
167. SULTAN F, LAGRANGE D, JANSEN H, GRIGLIO S: Inhibition of hepatic lipase activity impairs chylomicron remnant-removal in rats. *Biochim Biophys Acta* 1042:150-152,1990.
168. SÜMBÜLOĞLU K, SÜMBÜLOĞLU V: Biyoistatistik. Çağ Matbaası, Ankara 1987,ss 48-173.
169. TAM SP, ARCHER TK, DEELEY RG: Biphasic effects of estrogen on apo-lipoprotein synthesis in human hepatoma cells: Mechanism of antagonism by testosterone. *Biochemistry* 83:3111-3115,1986.
170. TASKINEN MR, KUUSI T: Enzymes involved in triglyceride hydrolysis. *Baillière's Clin Endocrinol Metab* 1:639-666,1987.
171. TIETZ NW: Textbook of Clinical Chemistry. WB Saunders Company, Philadelphia 1986,pp 829-900,1094-1103,1532-1534.
172. TIKKANEN MJ, NIKKILA EA, KUUSI T, SIPINEN S: High density lipoprotein, and hepatic lipase: Reciprocal changes produced by estrogen and norgestrel. *J Clin Endocrinol Metab* 54:1113-1117,1982.
173. TIKKANEN MJ, KUUSI T, NIKKILA EA, SANE T: Very low-density lipoprotein triglyceride kinetics during hepatic lipase suppression by estrogen. *Studies on the physiological role of hepatic endothelial lipase. FEBS Lett* 181:160-164,1985.
174. TIKKANEN MJ, KUUSI T, NIKKILA EA, STENMAN UH: Variation of post heparin plasma hepatic lipase by menstrual cycle. *Metabolism* 35: 99-104,1986.
175. TKOCZ R, SCHMIDT G, HILLESHEIM HG: Interactions between progestins and estradiol on serum lipids in the rat. *Exp Clin Endocrinol* 86: 237-240,1985.
176. TKOCZ R, HILLESHEIM HG, SCHMIDT G, HOFFMANN H: Serum lipoprotein changes in female rats treated with progesterone or synthetic gestagens alone or in combination with estradiol. 1.Total and Fractioned cholesterol and lipoprotein pattern .*Exp Clin Endocrinol* 91:319-326,1988.
177. TKOCZ R, HILLESHEIM HG, SCHMIDT G, HOFFMANN H: Serum lipoprotein changes in female rats treated with progesterone or synthetic gestagens alone or in combination with estradiol. 2.Serum triglycerides and hepatic triglyceride release. *Exp Clin Endocrinol* 92: 7-12,1988.
178. UPTON GV, CORBIN A: The relevance of the pharmacologic properties of a progestational agent to its clinical effects as a combination oral contraceptive. *Yale J Biol Med* 62:445-457,1989.

179. UPTON CV: Lipids, cardiovascular disease, and oral contraceptives: a practical perspective. *Fertil Steril* 53:1-12,1990.
180. VANGE NV, KLOOSTERBOER HJ, HASPELS AA: Effects of seven low-dose combined oral contraceptives on high density lipoprotein subfractions. *Br J Obstet Gynaecol* 94:559-567,1987.
181. WADKINS CL, LEHNINGER AL: Preparation and assay of phosphorylating submitochondrial particles. In: Colowick SP, Kaplan NO(eds). *Methods in Enzymology*. Volume VI (3.ed). Academic Press, Inc, New York and London 1970, pp 265-270.
182. WAHL P, WALDEN C, KNOPP R, HOOVER J, WALLACE R, HEISS G, RIFKIND B: Effect of estrogen/progestin potency on lipid/lipoprotein cholesterol. *N Eng J Med* 308:862-867,1983.
183. WARNICK GR, BENDERSON JM, ALBERS JJ: Quantification of HDL subclasses after separation by dextran sulphate and Mg^{2+} precipitation (Abstract). *Clin Chem* 28:1574,1982.
184. WARNICK GR, BENDERSON JM, ALBERS JJ: Dextran sulphate- Mg^{2+} precipitation procedure for quantitation of HDL. *Clin Chem* 28:1379-1388, 1982.
185. WEINSTEIN I, TURNER FC, SOLER-ARGILAGA C, HEIMBERG M: Effect of ethinyl estradiol on serum lipoproteins in male and female rats. *Biochim Biophys Acta* 530:394-401,1978.
186. WEINSTEIN I, WILCOX HG, HEIMBERG M: Effects of high-dose ethinyl-estradiol on serum concentrations and hepatic secretion of VLDL, triacylglycerol, cholesterol, and apolipoprotein A-1 in the rat. *Biochim Biophys Acta* 876:450-459,1986.
187. WHO: A randomized double-blind study of the effects of two low-dose combined oral contraceptives on biochemical aspects. *Contraception* 32:223-236,1985.
188. WHOLE Rat Catalog. Harvard Bioscience An Ealing Division, USA 1983.
189. WILLSON RL: Hydroxyl radicals and biological damage in vitro: what relevance in vivo. *Ciba Found Symp* 65(new series) 1979, pp 19-42.
190. WINDLER EE, KOVANEN PT, CHAO Y-S, BROWN MS, HAVEL RJ, GOLDSTEIN JL: The estradiol stimulated lipoprotein receptor in rat liver. *J Biol Chem* 255:10464-10471,1980.
191. WOUTERSZ TB, BUTLER AJ, COHEN M, KORBA VD, CANAVAN RC: A low-dose triphasic oral contraceptive. *Fertil Steril* 47:425-430,1987.
192. WYNN V, NITHTYANANTHAN R: The effect of progestins in combined oral contraceptives on serum lipids with special reference to high-density lipoproteins. *Am J Obstet Gynecol* 142:766-772,1982.

193. YAGER JD, YAGER R: Oral contraceptive steroids as promoters of hepatocarcinogenesis in female Sprague -Dawley rats. *Cancer Research* 40:3680-3685, 1980.
194. YAGI K: Assay for blood plasma or serum. *M Enzymol* 105:328-331, 1984.
195. YAGI K, KOMURA S: Inhibitory effects of female hormones on lipid peroxidation. *Biochem Int* 12:1051-1055, 1986.
196. YOSHIDA Y, FURUYA E, TAGAWA K: A direct colorimetric method for the determination of phospholipids with dithiocyanatoiron reagent. *J Biochem* 88:463-468, 1980.

EK TABLOLAR

EK TABLO 1. Kısa ve Uzun Süreli Kontrol Gruplarının Değerleri

Rat No	TG mg/dl	FL mg/dl	T-kol mg/dl	LDL-kol mg/dl	HDL-kol mg/dl	HDL ₂ -kol mg/dl	HDL ₃ -kol mg/dl	Apo A ₁ mg/dl	Apo B mg/dl	Aseto Asetat mmol/ml	Lipid Per mmol-MDA/g Hb	HL mU/mg prot	HMG-KoA Sentaz mU/mg prot	AcAc-KoA TiyoLaz mU/mg prot
A. KONTROL GRUBU-KISA SÜRE														
1	44	42.0	72	24.01	41.71	16.75	24.96	26.74	16.68	54.6	1.503	120.02	2.507	214.15
2	46	44.5	70	16.03	47.4	16.20	31.2	42.46	18.06	50.4	1.911	81.25	1.984	203.36
3	43	41.0	61	12.20	42.66	15.62	27.04	38.09	14.62	41.16	1.756	66.45	2.120	277.53
4	30	42.5	51	9.75	36.97	16.17	20.8	29.36	12.55	67.2	2.151	44.08	1.770	257.57
5	37	48.5	76	27.11	43.61	12.41	31.2	43.33	24.27	57.96	1.435	63.90	1.877	226.39
6	47	51.25	77	24.79	45.5	17.42	28.08	48.57	27.72	30.24	1.342	107.56	1.476	211.73
7	33	46.75	74	17.15	52.14	24.06	28.08	31.11	20.13	47.88	1.324	33.66	2.006	201.56
8	33	43.5	56	10.53	40.76	11.12	29.64	33.73	13.24	45.36	2.253	40.36	1.868	230.99
9	27	45.0	68	18.18	45.97	14.77	31.2	45.95	30.48	32.76	1.336	31.39	2.591	240.88
10	32	39.5	49	9.83	34.6	11.2	23.4	31.11	11.86	63.00	2.165	102.02	1.593	200.25
\bar{X}	37.2	44.45	65.4	16.96	43.13	15.57	27.56	37.04	18.96	49.05	1.717	69.07	1.979	226.44
SD	7.23	3.58	10.41	6.52	5.07	3.75	3.56	7.66	6.56	12.16	0.377	32.43	0.356	25.85
B. KONTROL GRUBU-UZUN SÜRE														
1	35	55.0	77	24.6	47.4	18.28	29.12	48.57	16.68	43.68	1.408	94.17	1.535	167.18
2	39	41.0	53	14.25	33.18	9.78	23.4	45.08	24.96	59.64	1.270	110.82	1.655	218.85
3	30	45.0	63	12.75	45.97	17.89	28.08	43.33	27.72	45.36	1.255	73.65	2.363	207.02
4	32	43.5	68	13.19	50.24	14.88	35.36	31.10	16.0	65.52	1.846	113.14	2.422	269.45
5	46	56.5	92	26.66	58.77	22.37	36.4	39.84	34.62	31.92	1.326	38.37	2.346	273.13
6	34	35.0	53	11.17	36.97	19.29	17.68	37.22	18.06	70.56	1.880	50.85	2.360	268.77
7	32	42.5	58	12.67	40.76	16.84	23.92	51.19	20.82	42.0	1.279	53.97	2.135	218.83
8	43	43.5	76	15.83	54.03	20.75	33.28	39.84	18.06	33.6	1.862	55.69	2.491	241.13
9	32	45.5	64	14.88	44.55	18.55	26.0	50.32	18.06	44.52	1.583	39.01	2.092	170.21
10	40	45.0	76	26.21	44.08	13.40	30.68	41.58	31.86	66.36	1.639	45.04	2.242	239.36
\bar{X}	36.3	45.25	68.0	17.23	45.59	17.20	28.39	42.81	22.68	50.32	1.535	67.47	2.164	227.39
SD	5.39	6.31	12.36	6.09	7.64	3.68	5.85	6.26	6.71	14.04	0.260	28.82	0.325	38.53

EK TABLO 2. Kısa Süre-Düşük Doz İlaç Verilen Grupların Değerleri

Rat. No	TG mg/dL	FL mg/dL	T-kol mg/dL	LDL-kol mg/dL	HDL-kol mg/dL	HDL ₂ -kol mg/dL	HDL ₃ -kol mg/dL	Apo A ₁ mg/dL	Apo B mg/dL	Aseto		Lipid		HL mü/mg prot	HMG-KoA Sentaz mü/mg prot	AcAc-KoA Tiyolaz mü/mg prot
										mmol/l	mmol/l	MDA/g Hb	Per mmol-			
A. NEA GRUBU																
1	77	91.5	93	39.34	42.66	19.78	22.88	43.33	28.41	100.8	1.916	1.916	25.58	2.137	220.84	
2	41	67.0	73	29.22	37.93	21.29	16.64	34.6	16.68	77.28	3.293	3.293	79.96	2.457	233.18	
3	76	81.5	87	32.54	43.61	18.65	24.96	45.08	22.89	100.8	3.209	3.209	54.32	2.305	222.04	
4	39	72.5	74	37.15	31.28	10.48	20.8	50.32	18.75	78.12	2.376	2.376	61.74	2.627	349.02	
5	47	89.5	86	48.48	30.81	14.17	16.64	33.72	23.58	93.24	2.248	2.248	40.36	2.217	270.48	
6	47	74.75	78	41.43	29.86	6.46	23.4	38.09	18.06	72.24	2.484	2.484	40.62	2.913	318.97	
7	43	64.5	79	38.73	34.13	12.29	21.84	40.71	18.06	81.48	2.570	2.570	54.84	2.245	210.93	
8	41	68.75	87	46.55	34.6	11.2	23.4	48.57	22.2	47.04	2.744	2.744	83.20	2.558	221.34	
9	45	71.75	92	40.08	45.5	16.38	29.12	48.57	26.34	89.04	1.953	1.953	65.62	3.523	323.55	
10	43	52.0	72	37.90	27.96	13.40	14.56	47.7	23.58	62.0	2.718	2.718	88.59	3.359	286.87	
\bar{X}	49.9	73.37	82.1	39.14	35.83	14.41	21.42	43.07	21.85	80.20	2.551	2.551	59.48	2.634	265.72	
SD	14.25	11.82	7.86	5.73	6.26	4.62	4.41	6.03	3.88	17.01	0.463	0.463	20.52	0.484	51.14	
B. İNG GRUBU																
1	62	74.75	88	31.75	47.4	13.08	34.32	37.22	23.58	78.12	2.480	2.480	24.90	3.493	304.95	
2	42	71.5	86	29.76	50.24	27.36	22.88	40.71	26.34	89.88	3.462	3.462	17.48	1.900	173.10	
3	33	53.5	55	17.11	33.18	15.50	17.68	50.32	16.68	44.52	1.703	1.703	17.41	2.049	233.32	
4	51	67.5	69	29.49	32.23	11.43	20.8	39.84	18.75	94.92	2.739	2.739	49.33	2.478	216.69	
5	47	54.5	57	14.27	36.02	14.18	21.84	38.09	15.31	50.4	2.00	2.00	25.64	2.393	223.21	
6	65	76.5	76	22.17	44.55	18.55	26.0	38.09	19.44	84.0	2.258	2.258	20.31	2.673	259.22	
7	45	69.0	76	27.87	41.71	25.07	16.64	43.33	20.82	67.2	2.167	2.167	37.77	2.664	172.13	
8	34	64.75	63	12.65	45.5	14.3	31.2	41.58	15.31	92.4	1.449	1.449	23.63	2.193	194.20	
9	48	66.0	68	28.92	32.23	15.59	16.64	44.2	16.0	52.92	2.003	2.003	40.62	2.507	233.18	
\bar{X}	47.44	66.44	70.88	23.77	40.34	17.23	23.11	41.48	19.13	72.70	2.250	2.250	28.56	2.483	223.33	
SD	10.94	8.04	11.68	7.38	7.03	5.48	6.32	4.08	3.87	19.51	0.595	0.595	11.31	0.462	42.10	

EK TABLO 3. Kısa Süre-Yüksek Doz İlaç Verilen Grupların Değerleri

Pat. No	TG mg/dl	FL mg/dl	T-kol mg/dl	LDL-kol mg/dl	HDL-kol mg/dl	HDL ₂ -kol mg/dl	HDL ₃ -kol mg/dl	Apo A ₁ mg/dl	Apo B mg/dl	Aseto mmol/ml	Lipid Per mmol- MDA/g Hb	HL mü/mg prot	HMG-KoA Sentaz mü/mg prot	AcAc-KoA Tiyolaz mü/mg prot
A. NEA GRUBU														
1	47	61.25	82	45.9	29.39	5.47	23.92	46.82	22.89	69.72	2.536	22.13	1.885	261.33
2	46	56.25	73	35.05	31.28	16.72	14.56	76.52	18.06	128.52	2.783	17.17	2.405	365.23
3	61	88.5	89	48.06	32.23	17.67	14.56	45.08	20.13	77.28	3.413	15.94	3.001	405.76
4	60	72.25	83	40.30	34.13	11.25	22.88	71.28	21.51	106.68	3.073	16.19	3.525	453.72
5	83	84.0	101	63.56	25.59	4.79	20.80	46.82	31.86	97.44	3.563	55.04	3.238	376.79
6	59	81.5	86	48.19	29.39	12.75	16.64	67.79	19.44	139.44	2.668	43.57	3.140	297.90
7	72	99.5	121	72.79	37.93	17.13	20.80	46.82	34.62	103.32	3.933	20.72	2.470	396.71
8	55	74.5	99	60.82	30.33	15.77	14.56	65.17	23.58	71.40	4.00	16.36	3.075	301.89
9	73	75.25	97	63.83	22.75	7.15	15.6	65.17	26.34	70.56	3.226	18.72	4.051	527.14
10	69	93.75	111	68.92	32.23	14.55	17.68	53.81	27.72	98.28	3.989	38.57	2.376	345.64
\bar{X}	62.5	78.67	94.2	54.74	30.52	12.32	18.20	58.53	24.61	96.26	3.319	26.44	2.917	373.21
SD	11.79	13.62	14.51	12.85	4.23	4.94	3.61	11.90	5.46	24.52	0.553	14.03	0.637	78.81
B. İNG GRUBU														
1	82	84.0	83	33.37	37.92	18.16	19.76	48.57	22.20	131.04	3.003	32.72	3.056	300.55
2	80	81.75	94	48.46	34.12	15.4	18.72	50.32	27.72	131.88	2.182	20.24	3.244	382.64
3	48	61.0	68	31.77	29.38	8.58	20.8	45.95	12.55	123.48	2.178	37.53	2.627	324.09
4	51	70.5	76	36.49	32.23	16.63	15.6	44.21	19.44	119.28	3.305	19.80	2.868	357.25
5	54	93.25	100	52.48	39.81	11.73	28.08	40.71	24.27	159.60	2.865	20.11	3.097	283.95
6	82	94.0	102	49.53	40.76	9.56	31.2	43.33	29.10	99.96	2.655	18.33	1.000	302.94
7	53	75.75	81	46.89	26.54	13.02	13.52	54.68	21.51	75.6	3.133	33.15	2.333	241.51
8	70	91.0	84	49.36	24.64	11.12	13.52	39.84	23.58	105.0	3.053	10.79	2.470	248.84
9	55	85.0	74	32.97	33.18	11.34	21.84	41.58	14.62	107.52	2.313	35.32	2.660	292.12
10	85	91.0	103	56.74	34.12	16.44	17.68	52.07	29.79	90.72	2.357	15.94	1.980	202.87
\bar{X}	66.0	82.72	86.5	43.80	33.27	13.20	20.07	46.13	22.47	114.41	2.704	24.39	2.624	293.68
SD	15.15	10.81	12.5	9.20	5.35	3.27	5.82	5.09	5.77	23.9	0.422	9.36	0.460	53.83

EK TABLO 4. Uzun Süre-Düşük Doz İlaç Verilen Grupların Değerleri

Rat No	TG mg/dl	FL mg/dl	T ₁ -kol mg/dl	LDL-kol mg/dl	HDL-kol mg/dl	HDL ₂ -kol mg/dl	HDL ₃ -kol mg/dl	Apo A ₁ mg/dl	Apo B mg/dl	Aseto mmol/ml	Lipid Per mmol- MDA/g Hb	HL mü/mg prot	HMG-KoA Sentaz mü/mg prot	AcAc-KoA Tiyolaz mü/mg prot
A. NEZA GRUBU														
1	70	115.5	133	81.76	41.24	13.16	28.08	56.43	27.72	98.28	2.164	22.20	1.059	150.78
2	44	102.5	114	79.32	28.4	12.8	15.6	45.08	19.44	115.92	2.080	15.86	2.030	210.14
3	50	97.5	103	68.37	27.49	12.93	14.56	51.19	18.75	78.12	3.520	40.69	1.462	194.27
4	66	120.0	143	90.91	42.66	18.22	24.44	60.8	37.37	85.68	3.525	41.67	1.879	186.58
5	42	102.25	109	68.4	34.6	18.48	16.12	47.7	24.96	92.71	1.804	22.52	2.020	241.52
6	38	114.75	126	86.44	34.13	17.49	16.64	47.7	27.72	68.88	1.895	32.21	1.552	216.04
7	40	112.5	121	82.59	32.7	16.06	16.64	65.17	23.58	75.6	2.825	22.77	0.975	133.21
8	40	92.25	93	49.37	37.92	22.32	15.6	54.68	20.82	109.2	2.040	19.80	1.028	170.21
9	45	91.75	97	57.39	33.18	9.26	23.92	62.55	23.58	112.56	2.462	20.23	1.236	191.00
10	45	121.25	128	78.91	42.66	17.7	24.96	46.82	20.82	65.52	2.730	16.44	1.950	210.92
11	40	86.5	89	59.59	23.70	11.22	12.48	62.55	15.31	67.20	1.391	19.27	1.098	187.58
\bar{X}	47.27	105.15	114.18	73.00	34.42	15.42	19.00	54.61	23.64	88.15	2.403	24.88	1.481	190.20
SD	10.81	12.25	17.58	13.30	6.31	3.85	5.25	7.33	5.92	18.76	0.687	9.13	0.426	30.60
B. İNG GRUBU														
1	30	87.5	82	26.53	51.19	12.71	38.48	45.95	24.27	65.52	2.088	21.00	2.374	285.37
2	50	97.5	91	31.72	52.14	10.54	41.6	46.82	27.72	61.32	1.556	24.97	2.463	232.10
3	32	66.0	63	22.41	36.02	13.14	22.88	58.18	23.58	100.8	1.659	22.25	2.135	182.38
4	44	95.5	83	29.32	47.4	14.12	33.28	48.57	22.2	77.28	2.182	24.21	2.064	170.94
5	31	76.0	59	10.98	43.6	14.48	29.12	46.82	15.31	98.28	2.088	28.31	1.447	188.27
6	48	86.25	74	20.7	46.45	15.25	31.2	61.67	31.86	124.32	1.786	56.65	1.747	143.69
7	52	101.0	99	39.43	52.14	10.54	41.6	45.95	37.37	63.0	2.144	27.26	1.742	198.31
8	42	76.25	76	18.81	51.19	15.83	35.36	52.06	22.2	51.24	2.195	54.52	2.563	291.82
9	35	85.0	69	21.34	42.66	7.30	35.36	50.32	18.06	71.4	2.394	31.78	1.664	178.40
10	44	73.25	75	27.01	41.71	8.43	33.28	61.67	20.13	43.68	2.048	33.90	3.025	222.91
11	43	70.5	65	20.94	37.92	14.0	23.92	41.58	18.75	53.76	3.002	42.20	3.318	255.32
\bar{X}	41.0	83.15	76.0	24.47	45.67	12.39	33.28	50.87	23.76	73.69	2.104	33.37	2.231	213.59
SD	7.82	11.66	12.13	7.52	5.74	2.81	6.25	6.79	6.43	24.6	0.388	12.51	0.586	48.20

EK TABLO 5. Uzun Süre-Yüksek Doz İlaç Verilen Grupların Değerleri

Ret No	TG mg/dl	FL mg/dl	T-kol mg/dl	LDL-kol mg/dl	HDL-kol mg/dl	HDL ₂ -kol mg/dl	HDL ₃ -kol mg/dl	Apo A ₁ mg/dl	Apo B mg/dl	Aseto Asetat mmol/ml	Lipid Per mmol- MDA/g Hb	HL mü/mg prot	HMG-KoA Sentaz mü/mg prot	AcAc-KoA Tiyolaz mü/mg prot
A. NEA GRUBU														
1	37	109	133	102.13	25.59	16.23	9.36	34.6	27.03	70.56	2.812	50.40	3.014	216.79
2	31	76.0	113	76.35	32.23	15.59	16.64	28.48	23.58	110.04	2.364	74.52	2.318	255.32
3	42	97.5	128	99.25	22.75	10.27	12.48	35.47	31.86	79.8	3.475	80.96	1.207	171.74
4	34	96.5	118	81.87	31.28	7.36	23.92	38.09	27.72	73.92	3.550	89.42	1.813	217.30
5	54	115.5	143	106.33	18.96	9.6	9.36	35.47	40.13	134.4	2.797	22.43	2.659	250.96
6	40	90	126	94.7	25.59	12.07	13.52	24.99	29.79	119.28	2.769	26.74	2.620	262.49
7	46	99	113	84.63	21.80	8.28	13.52	34.6	24.96	82.32	2.910	27.42	2.940	279.04
8	33	106.5	138	103.91	29.38	9.62	19.76	32.85	33.24	75.6	2.482	45.25	2.008	212.76
9	36	74	103	78.90	18.96	4.4	14.56	32.85	25.65	80.64	2.808	29.25	2.928	260.53
10	36	123	158	122.53	30.33	12.65	17.68	25.86	34.62	94.92	3.536	39.6	2.618	197.25
\bar{X}	38.9	98.70	127.3	95.06	25.68	10.60	15.08	32.33	29.86	92.15	2.950	48.60	2.412	232.42
SD	6.92	15.80	16.41	14.61	4.98	3.64	4.55	4.40	5.13	21.86	0.426	24.64	0.580	34.18
B. İNG GRUBU														
1	50	78	82	41.68	33.18	11.34	21.84	27.61	18.06	78.12	2.817	56.64	2.178	135.24
2	48	94.75	87	49.82	30.33	9.53	20.8	37.42	20.82	71.4	2.248	103.92	1.679	171.02
3	68	99.5	111	71.13	30.16	8.32	21.84	26.74	29.10	73.08	2.591	78.72	2.180	198.89
4	76	120.25	116	63.55	41.6	15.6	26.0	41.58	31.86	115.08	2.990	119.09	2.522	231.84
5	77	82.5	95	52.72	31.28	13.6	17.68	24.12	22.2	100.8	1.714	72.48	1.630	119.88
6	53	69.5	81	42.15	31.28	10.48	20.8	31.98	18.75	87.36	2.240	131.34	2.360	192.67
7	63	111.75	113	74.62	29.38	13.78	15.6	29.36	26.34	105.84	2.671	79.57	1.513	155.34
8	46	94.75	78	45.84	25.59	5.83	19.76	47.7	16.0	118.44	2.985	117.22	1.629	185.47
9	87	110.75	121	73.51	35.07	13.23	21.84	34.6	42.2	100.8	2.372	87.07	1.584	131.14
10	71	94.5	108	71.32	26.54	5.74	20.8	41.58	22.2	81.48	2.118	124.82	1.188	120.22
11	49	93.25	101	65.56	28.44	8.68	19.76	44.21	24.96	90.72	2.531	124.50	1.122	165.30
\bar{X}	62.54	95.40	99.36	59.26	31.16	10.55	20.61	35.17	24.77	93.01	2.479	99.58	1.780	164.82
SD	14.16	15.11	15.52	13.02	4.39	3.28	2.62	7.87	7.49	16.36	0.389	25.59	0.464	36.21