

T.C.

FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

POSTMENOPOZAL KADINLARDA FİTOÖSTROJEN
TEDAVİSİNİN ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN (ADMA) ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. İkbal Kaygusuz

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK TURHAN

Ankara, 2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. ÖNSÖZ	1
2. KISALTMALAR	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
Kardiyovasküler Hastalıklar	6
Aterosklerozun Fizyopatolojisi	7
Aterosklerozun Patogenezi	11
Kardiyovasküler Hastalıklarda Risk Faktörleri	18
Dislipidemi	19
Hipertansiyon	20
Diyabetes Mellitus	20
Sigara	20
Obezite	21
Fiziksel İnaktivite	21
Ailesel Yatkınlık	21
Yaş ve Cinsiyet	22
Hemostaz	22
Enflamasyon	22
ADMA	23
Cinsiyete Özel Risk Faktörleri	27
Oral Kontraseptifler	27
Menopoz	27
Hormon Tedavisi İle İlgili Kardiyovasküler Çalışmalar	29

FİTOÖSTROJENLER	31
İsoflavonların Farmakokinetik Özellikleri	31
İsoflavonların Östrojenik Özellikleri	32
Fitoöstrojenlerin KVS Üzerine Etkisi	33
5. MATERYAL VE METOD	35
6. BULGULAR	37
7. TARTIŞMA	40
8. SONUÇ	44
9. ÖZET	45
10. İNGİLİZCE ÖZET	46
11. KAYNAKLAR	47

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel çalışma ilkeleri ile mesleki bilgi ve deneyimlerini bana aktaran ve her zaman desteğini hissettiğim, mesleki nosyonumun oluşmasında katkısı olan değerli hocam Prof. Dr. Nilgün Turhan'a,

Çalışma heyecanı ve coşkusunu bizlerle paylaşan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. Hasan Kafalı'ya,

Sağladığı olanaklar ile eğitimimi başarıyla sürdürmemi sağlayan Başhekim Yardımcımız Doç. Dr. Miktaf Bozer'e,

Eğitimimde emeği bulunan tüm uzmanlarımıza, birlikte çalıştığım asistan, hemşire ve sağlık personeline,

Sevgi ve özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan aileme, her konuda sınırsız destek sağlayan sevgili eşime,

Sonsuz teşekkür ederim....

Dr. İkbâl Kaygusuz

KISALTMALAR

1. ADMA : Asimetrik Dimetil Arjinin
2. AHA : Amerikan Kalp Derneği
3. ATP III : Erişkin Tedavi Paneli III
4. CRP : C-Reaktif Protein
5. DDAH : Dimetilarginin Dimetil Amino Hidroksilaz
6. DM : Diabetes Mellitus
7. DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
8. EDCF : Endotel Kaynaklı Kasıcı Faktör
9. EDRF : Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
10. eNOS : Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
11. EPT : Östrojen + Progesteron Tedavisi
12. ET : Östrojen Tedavisi
13. ET-1 : Endotelin-1
14. FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
15. FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü
16. HDL : Yüksek Dansiteli Lipoprotein
17. HERS : Kalp ve Östrojen-Progesteron Çalışması
18. HT : Hormon Tedavisi
19. ICAM : İntersellüler Adezyon Molekülü
20. IFN-γ : İnterferon Gama
21. iNOS : İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
22. KVH : Kardiovasküler Hastalık
23. LDL : Düşük Dansiteli Lipoprotein
24. Lp(a) : Lipoprotein (a)
25. MCP-1 : Makrofaj Kemotaktik Protein 1
26. M-CSF : Monosit Koloni Uyarıcı Faktör
27. mmLDL : Kısmi Değişmiş LDL
28. NCEP : Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
29. nNOS : Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
30. NO : Nitrik Oksit
31. NOS : Nitrik Oksit Sentaz
32. PDGF : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
33. PG-E : Prostaglandin E
34. PG-F : Prostaglandin F
35. PGI₂ : Prostaglandin
36. PRMT : Protein Arjinin Metiltransferaz
37. SAM : S - Adenozimetionin
38. SDMA : Simetrik Dimetil Arjinin
39. SERMS : Selektif Östrojen Reseptör Düzenleyicileri
40. SOD : Süperoksid Dismutaz
41. TG : Trigliserid
42. TGF-β : Transforming Growth Faktör-Beta
43. TK : Total Kolesterol
44. TNF-α : Tümör Nekroz Edici Faktör-Alfa
45. VCAM : Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
46. VLDL : Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
47. WHI : Kadın Sağlığı Çalışması

GİRİŞ VE AMAÇ

Menopoz kadın hayatında önemli dönüm noktalarından birisidir. Kadının üretken olduğu dönemden üretken olmadığı bir döneme geçişidir. Hem menopoza geçiş hem de menopoz sonrası dönem birtakım fizyolojik değişiklikleri ve sorunları beraberinde getirir. Erken dönemde ateş basması, terleme, sıkıntı gibi nörovejetatif semptomlar hastaların birincil problemi iken artmış kardiovasküler hastalık riski, osteoporoz ve ürogenital atrofi uzun vadede temel problemler olarak ortaya çıkmaktadır. Menopoz öncesinde KVH kadınlarda erkeklere göre daha az iken menopoz sonrasında vücut fizyolojisindeki değişimler sonucu risk artar. Altıncı dekada kadınlarda görülen KVH insidansı erkeklere erişmektedir. Kadınlarda KVH' ın premenopozal yıllarda daha az görülmesi ve menopozdan sonra bu riskin dramatik bir şekilde artması, endojen östrojenlerin KVH' dan koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Geçmişteki jinekoloji pratiğine baktığımızda menopoza giren kadınlara kalp hastalıkları, osteoporoz ve Alzheimer hastalığından korunmak için ömür boyu hormon tedavisi önerilirken 2002 yılında yapılan WHI çalışması bu konudaki görüşlerin tamamen değişmesine sebep oldu. Önerilen HT' sinin kalp hastalığına karşı korumadığı, tromboz eğilimi nedeniyle inme riskini artırdığı ve invaziv meme kanserinde artış gözlenmesi üzerine kullanımı oldukça kısıtlandı. Her ne kadar WHI çalışmasında HT ile kolorektal kanser ve osteoporotik kırık insidansında azalma olsa da negatif sonuçları daha çarpıcı oldu. Bu değişiklik hem hasta uyumunu belirgin olarak düşürdü hem de klinisyenleri klasik HT' e alternatif olabilecek yeni arayışlara zorladı. Epidemiyolojik çalışmaların fitoöstrojenden zengin diyetle beslenen toplumlarda (Asya) osteoporoz, kalp hastalığı, vazomotor şikayetler ve hormon bağımlı kanserlerin (meme, prostat) daha az olduğunu göstermesi diyet destek sektörünü hareketlendirerek soya ve kırmızı yonca içeren ürünlerin menopoz hastalarına önerilme sıklığını artırdı. Soya isoflavonlarını yüksek ve düşük miktarda tüketen toplumlar karşılaştırıldığında 40-69 yaş arasında KVH' a bağlı mortalite isoflavon alımı yüksek toplumlarda erkeklerde 6 kat, kadınlarda ise 8 kat daha azdır (1). 1999 yılında FDA günlük 25 gr soya proteini ile isoflavon alınımının kalp ve damar hastalıklarından korunma oluşturabileceğini bildirdi (2).

Fitoöstrojenler isoflavonlar, lignanlar ve kumestanlar olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Fitoöstrojenler içinde üzerinde en çok çalışılanlar isoflavonlar, isoflavonlar içinde ise genistein ve daidzeindir. Isoflavonlar 17- β östradiole yapısal olarak benzerler ve östrojenin β reseptörlerine kuvvetlice bağlanırlar. Kardiovasküler sistemde ER- β oranının yüksek olması isoflavonların bu sisteme olan olumlu etkilerini açıklamaktadır. Genistein en güçlü isoflavon olup, vasküler endotel hücrelerden NO üretimini uyarır. NO, lökosit adezyonunu, trombosit agregasyonunu ve düz kas hücre çoğalmasını inhibe ederek damarları ateroskleroza karşı korur. Vazodilatör etkisi

vardır ve LDL peroksidasyonunun kimyasal bir inhibitörü olduğu da gösterilmiştir. Genistein perimenopozda HDL/LDL oranını arttırarak plasma lipit profili üzerine olumlu etki göstermektedir. 38 kontrollü klinik çalışmanın meta analiz sonuçlarına göre soya proteini total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit düzeyini belirgin olarak azaltmaktadır (3).

Miyokard infarktüsü geçiren hastaların yaklaşık yarısında klasik risk faktörleri bulunmamaktadır. Bu nedenle birçok araştırmacı hastalığı daha önceden tahmin etmemizde yardımcı olabilecek risk faktörlerini araştırmaktadır. İskemik kalp hastalığı patogenezinin zaman içinde daha iyi anlaşılması, altta yatan ateroskleroz ve kardiovasküler riski gösteren yeni belirteçler için önemli gelişmelere yol açmıştır. Bunlar içinde en çok dikkat çeken ADMA' dır. ADMA plazmada dolaşan, hücre ve dokularda bulunan, doğal bir aminoasit olup, NOS' un endojen bir inhibitörüdür. Bundan dolayı vasküler etkilerini damar endotelinden salınan güçlü bir vazodilatör olan NO aracılığı ile gösteren genisteinin, NOS inhibitörü olan ADMA düzeyini düşürmesi beklenir. Bu bilgilerden yola çıkarak sağlıklı postmenopozal kadınlarda genisteinin ADMA düzeylerine etkisini araştırdık.

GENEL BİLGİLER

Menopoz kadında over aktivitesinin yitilmesi sonucunda menstruasyonun kalıcı olarak sonlanmasıdır. Eski Yunanca'daki men (ay) ve pausis (sonlanma) kelimelerinden köken almaktadır. Menopoz, klimakteryum içerisinde bir nokta olarak kabul edilir ve son menstruasyondan sonra ortalama bir yıl geçmesini ifade eder (4-5).

Menopoz dönemi DSÖ' nün sınıflamasına göre üçe ayrılmıştır (6). Premenopozal dönem, menstruasyonların düzenli veya düzensiz olarak olduğu dönemdir. Menopoz, son görülen adeti ifade eder ve üzerinden 1 yıl geçmiştir. Postmenopozal dönem ise menopozdan sonraki dönemdir ve menopozal dönem semptomlarının sona ermesine kadar devam eder. Bu dönemler için kesin zamanlar ve yaş sınırları vermek mümkün olmamakla birlikte dünya ortalamasına bakıldığında 50-52 yaş ortalama menopoz yaşıdır (7-9). Türk Menopoz Derneği tarafından 2002 yılında ülkemiz genelindeki çeşitli merkezlerden toplanan verilere göre, Türkiye'de menopoz yaşının 46,7 olduğu bildirilmiştir (10). 1994 yılında yayınlanan 1993 yılı Türkiye Nüfus Sağlık Araştırması' nda, yurt çapında 45-49 yaş grubu kadınların % 43' ünün doğal ya da cerrahi menopozda olduğunu bildirmiştir (11). Devlet İstatistik Enstitüsünün altı buçuk yıllık kalkınma planı nüfus öngörülerine göre ortalama yaşam süresi 73 yıldır. Bu verilere göre kadınlar hayatlarının yaklaşık son 25 yılını menopoz döneminde geçirmektedirler (12).

Menopozda kadınların yaklaşık olarak % 70-80' inde östrojen yetmezliği semptom ve bulguları ortaya çıkmaktadır. Over fonksiyonlarının azalması ile östrojen eksikliğine bağlı semptomlar hemen ortaya çıkar. Buna karşılık kadına postmenopozal dönemde ağır morbidite ve mortalite yükleyen kardiovasküler hastalıklar ve osteoporozla bağlı patolojiler geç dönemde ortaya çıkmaktadır (13-16). Klimakteryumda erken ve geç semptom ve bulgular Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1: Klimakteryumda erken ve geç semptom ve bulgular

1- Erken semptom ve bulgular	Vazomotor semptomlar
	Atrofik değişiklikler
	Psikolojik değişiklikler
2- Geç semptom ve bulgular	Osteoporoz
	Kardiovasküler sistem hastalıkları

KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR

Endüstrileşmiş dünyada mortalite ve morbiditeye yol açan en önemli neden kardiovasküler hastalıklardır (17). Kadınlardaki tüm ölümlerin yaklaşık üçte biri koroner arter hastalıklarına bağlıdır ve ilk sıradaki ölüm nedenidir (18). KVH' dan ölüm oranı kadınlarda meme kanseri ve akciğer kanseri ölüm oranlarından üç kat fazladır, 5 kadından birinde herhangi bir kalp veya damar hastalığı mevcuttur. ABD'de her yıl 600.000 kişi iskemik kalp hastalığından ölmektedir. Problemin büyüklüğüne rağmen 1978'den beri mortalitede azalma sağlanmıştır. Bu azalma, kolesterol seviyesi ve sigara içme oranındaki düşümlere, yaşam tarzındaki değişikliklere bağlıdır. Ayrıca, bu azalmada, hastane öncesi resusitasyon uygulanması, koroner yoğun bakım üniteleri, trombolitik tedavi, balon anjioplasti ve koroner by-pass cerrahisi gibi revaskülarizasyon girişimleri de etkili olmuştur (19). Son 20 yılda erkeklerdeki kardiovasküler mortalitedeki düşüş oranları, kadınlarda beklenen ölçüde olmamıştır (18).

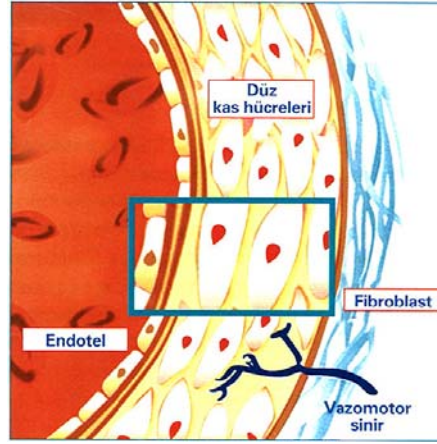
Genel olarak erkekler aterosklerotik koroner arter hastalığına kadınlardan dört kat daha fazla yakalanırlar. Erkeklerde görülme sıklığı 40 yaşından önce kadınların sekiz katı iken, 40-60 yaş arası dört katıdır (19). Kadınlar yaşlandıkça azalan östrojen düzeyi ile kalp hastalıkları ve inmeye karşı olan direnç azalır, 60 yaşın üzerinde insidans her iki cinsiyette eşitlenir ve 4 kişiden birinde bu hastalık görülür (19, 20).

Koroner arter hastalığı hemen daima ateroskleroz sonucu gelişir. Diğer nadir sebepler arterit, embolizm, koroner mural kalınlaşma, lümen daralması ve konjenital koroner arter hastalığıdır (19).

Aterosklerozun Fizyopatolojisi

Normal arter duvarının yapısı

Normal arter duvarı Şekil 1'de gösterildiği gibi 3 tabakadan oluşur (50). En içte lümeni çevreleyen tabaka intima'dır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelial matriks ve bazal membran intimayı oluşturur. Diğer memelilerden farklı olarak insan intimasında az sayıda düz kas hücresi de bulunmaktadır (21-23).



Şekil 1: Normal arter duvarı

Orta tabakaya media adı verilir. Kollajen, elastik lifler ve glukozaminoglikanlardan oluşan bir matriks içinde konsantrik olarak dizilmiş düz kas hücreleri vardır.

En dış tabaka adventisyadır. Gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vaza vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur (24).

Vasküler yapıdaki hücrelerin fonksiyonları

Endotel hücresi

Endotel, arter duvarı ile kan elemanları arasında düzgün ve kesintisiz bir sınır oluşturan tek sıra biçimde dizilmiş çok fonksiyonlu bir doku, hatta bir endokrin bezdir. Endotel dolaşım ile çevre dokular arasında yalnızca yapısal bir bariyer olma özelliği göstermez aynı zamanda, vasküler tonusu, hücre çoğalmasını, trombositlerin ve lökositlerin damar duvarı ile etkileşimini düzenleyen, trombaregülatör molekülleri ve büyüme faktörlerini sentezleyebilen, fiziksel ve kimyasal uyarılara yanıt verebilen vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş bir dokudur (25).

Endotel hücreleri NO, EDCF, PGI-2 ve ET-1 salgılamaktadır. Endotelden salınan vazokonstriktör ile vazodilatör maddeler vasküler tonüsün düzenlenmesinde rol alır (26, 27).

Nitrik Oksit; Endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak da bilinen nitrik oksit eşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz bir moleküldür. NO' in bu özelliği onu eşsiz bir mesajcı yapar. Yani yüksüz olduğu için membranlardan kolayca geçer, eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile hızlı reaksiyona girer, "serbest radikal" özelliktedir. Yarı ömrü 6-10 sn dir (28, 29). NO, L-Arginin ve oksijenden NOS enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile sentezlenir ve bilinen en güçlü vazodilatatördür.

NO oluşumunu katalizleyen en az 3 farklı enzim tanımlanmıştır. Tip I (nNOS) beyinde bulunur, Tip III (eNOS) endotele özgüdür ve her iki tip NOS enzimi de kalsiyum ve kalmodüline bağımlı yapısal tiplerdir. Ayrıca vücutta kardiovasküler fizyolojide rol oynayan birçok hücrede bulunurlar. Makrofajlarda oluşan sitokinler ve endotoksin tarafından sentezi arttırılan iNOS enzimi (tipII), kalsiyum ve kalmodüline bağımlı değildir. Tip I ve Tip III enzimi sinyal iletiminde görev alırken, Tip II sitotoksik, sitostatik ve sitoprotektif etkilidir (30-32).

Endotel kaynaklı NO kardiovasküler sistemde çeşitli etkilere sahiptir. NO, endotel hücrelerinden sentezlendikten sonra damar düz kas hücrelerine diffüzyonla girer. Burada sitozolik enzimlerden solübl guanilat siklazı stimüle eder, cGMP artar ve damar düz kas hücrelerinde gevşeme meydana gelir. Endotel hücresi, NO' i sadece damar düz kaslarına doğru değil, damar lümenine doğru da salgılar. Bu sayede NO, trombositlerin ve lökositlerin endotel üzerine adezyonunu inhibe eder. Prostaglandinle sinerjik çalışarak trombosit agregasyonunu inhibe eder. Ayrıca damar düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe eder. Endotel katmanın geçirgenliğini azaltarak damar duvarından lipoproteinlerin geçmesini engeller (30-33).

NO' in salınımı fiziksel ve humoral uyarılarla düzenlenir. Fiziksel uyarılardan "shear stress" (kan akımının damarlara yaptığı mekanik kuvvet) lokal olarak NO salınımına neden olur (31).

Kimyasal uyarılar: Dolaşımdaki hormonlar (katekolaminler, vazopressin)
Damar duvarındaki otokoidler (bradikinin, histamin)
Trombositlerden salınan mediyatörler (serotonin, ADP)
Koagülasyon sırasında oluşan trombin

Düz kas hücreleri

Media tabakasındaki düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın gelişiminde mediadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alırlar. Bu yüzden düz kas hücrelerinin intimada birikmesi, ilerlemiş lezyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (34). Düz kas hücrelerinde 2 fenotip vardır.

I. Kontraktıl fenotip; media tabakasında yerleşiktir. Endotelin, katekolamin, anjiotensin II gibi vazokonstriktörlere ve PG-E, PGI₂, NO, nöropeptitler, lökotrienler gibi vazodilatatörlere yanıt verir, PG-F gibi mitojenlere yanıt vermez. Kontraktıl fenotip uyarıldığında sentetik fenotip oluşur.

II. Sentetik fenotip; aterosklerozda yer alan fenotiptir ve vazoaktif maddelere yanıtsız kalırken, PG-F gibi mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alırlar. Bazı proteinlerin salgılanmasında ve bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumludurlar. Düz kas hücreleri, makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip, kolesterol esterleri şeklinde depolayarak köpük hücrelerini oluştururlar.

Makrofajlar

Dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Dokuya geçen monosit, M-CSF etkisi ile makrofaja dönüşür. M-CSF de okside LDL'nin uyarıcılığı ile endotelden salgılanır. Monositi kandan intimaya çeken güç, okside LDL partiküllerinin uyarısı ile oluşan bazı kemotaktik faktörlerdir. MCP-1, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından salgılanır (35). Makrofajlar lezyona girdikten sonra pek çok madde salgılayarak yeni makrofajların gelmesini sağlarlar; düz kas hücreleri, fibroblastlar ve monositlerin çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar. Köpük hücrelerini asıl oluşturan makrofajlardır. Daha öncesinde endotel tarafından başlatılan LDL oksidasyonu, makrofajlar tarafından tamamlanır. Bu oksidasyon sonucunda lipoprotein partikülü üzerindeki Apo B proteini, çöpçü reseptörler tarafından tanınacak şekle dönüşürler. Düz kas hücreleri üzerinde çöpçü reseptörler vardır; ama plaktaki asıl fagositik hücreler makrofajlardır. Makrofajlar çöpçü reseptörler aracılığı ile okside LDL'yi fagosite edip parçalarlar. Oluşan kolesterol bileşikleri kolesterol esterleri şeklinde depolanır. Çöpçü reseptörlerde down regülasyon olmadığı için depolanma işlemi hücre ölümüne kadar devam eder. Böylece lipit damlacıkları ile dolan makrofajlardan köpük hücreleri oluşur. Aterosklerotik plaktaki makrofajın ömrü kesin olarak bilinmemektedir. Ya plak içinde ölür ve bir diğer makrofaj tarafından fagosite edilir; ya da plak üzerindeki endotelin sıyrılması ile kana karışır, lenfatik dolaşım ile temizlenir (34).

Trombositler

Endotel hasarı gibi uyarılarla tetiklenen trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, sonuçta trombositlerin granüllerindeki maddelerin (mitojenler, sitokinler, vazoaktif aminler) degranülasyonuna ve saliverilmesine neden olur. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigara trombosit agregasyonunu artırır (34). Kararlı koroner arter hastalıklarında, trombosit-monosit kümelerinin gösterilmesi ve trombosit yüzeyinde inflamasyonun bir göstergesi olan CD 40 ligand saptanması, bu hücrelerin büyük olasılıkla aterogenezde rol oynadığını düşündürmektedir (36).

T- lenfositleri ve immünite

Aterosklerotik lezyonlarda CD4 ve CD8 T hücrelerinin bulunması, aterosklerozun patogenezinde bağışıklık sisteminin, hatta otoimmünitenin rol oynayabileceği fikrini doğurmuştur (34). Yapılan bazı çalışmalar bağışıklık sistemini aktive eden temel antijenin okside LDL olabileceğini göstermiştir. B-lenfositlerin okside LDL' ye karşı ürettiği antikor düzeyi ölçülerek aterosklerotik olayın aktivite ve yaygınlığı belirlenebilir (37). T-lenfositlerinin salgıladığı IFN- γ ise, düz kas hücrelerinde apoptozise neden olarak plağın komplike olmasını sağlar (38).

Aterosklerozun Patogenezi

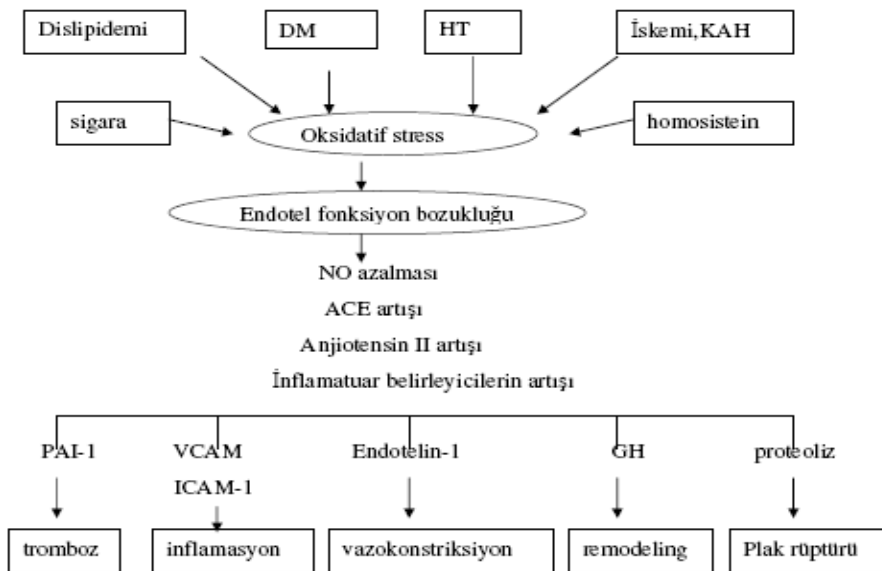
Ateroskleroz arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar - fibroproliferatif yanıttır.

Aterogeneizde temel basamaklar;

- Endotel disfonksiyonu
- LDL' nin oksidasyonu
- Köpük hücre oluşumu
- Lipit çekirdeği'nin oluşumu
- Fibröz kılıf oluşumunu içerir.

Endotel disfonksiyonu

Aterosklerozun patogenezinde ilk temel basamağı oluşturur. Şekil 2 ' de (58) gösterildiği gibi hiperlipidemi, sigara, hipertansiyon, Diabetes Mellitus gibi kardiovasküler risk faktörleri, oluşturdukları oksidatif stres yolu ile endotel disfonksiyonuna neden olurlar. Endotel disfonksiyonu sonucunda NO azalır ve fizyolojik antagonisti endotelin-1'in salınımı artar. Bu, endotelde NO üretiminin azalması ile veya süperoksit anyonlarının aşırı üretimi ile ilişkili olabilir (30, 31).



Şekil 2: Endotel disfonksiyonuna neden olan olaylar ve sonuçları

Serbest Radikaller

Serbest radikal olarak adlandırılan moleküllerin ortak özellikleri eşlenmemiş elektrona sahip olmalarıdır. Böyle moleküller stabil değildir ve elektron alarak, elektron vererek ya da diğer bir radikal molekülün eşleşmemiş elektronunu paylaşarak stabil hale geçme eğilimindedirler. En reaktif radikal molekül hidroksil radikalidir ve hemen yanındaki molekül ile reaksiyona girer. Bu nedenle in vivo olarak daima zararlıdır. Oysa NO reaktivitesi daha az olduğu için hücre içine girip fizyolojik görevlerini yapar. NO' in diğer serbest radikaller ile tepkimeleri iki sonuç doğurmaktadır; ya diğer serbest radikalın etkisini ortadan kaldırmakta (anti-oksidan etki) ya da başlangıç molekülünden daha zararlı ürünler oluşturarak oksidan hasarı arttırmaktadır. NO' in antioksidan etkisine örnek olarak lipit peroksid radikalleri ile reaksiyonu verilebilir. Aterosklerozun patogenezinde başlıca yol arter duvarında lipit peroksid radikallerine bağlı bir reaksiyon ile LDL' nin oksidasyonudur. Bu nedenle lipit peroksid radikali arter duvarı için çok zararlıdır. NO lipit peroksid radikale yüksek reaktivite gösterdiği, lipit solubl olduğu ve arter duvarında sürekli olarak oluştuğu için damar duvarı için iyi bir antioksidandır. NO aynı zamanda oluşmuş süperoksidi temizleyerek antioksidan etki gösterebilir. Vasküler inflamasyon sırasında aynı anda endotelden NO ve aktive nötrofillerden süperoksid yapılabilir veya aktive nötrofiller her iki radikali de birlikte üretebilir (39). NO' in bu etkisi anti-aterojenik etkisine katkıda bulunmaktadır.

NO' in antioksidan etkileri yanında oksidan etkileri de vardır. NO süperoksid radikali ile reaksiyona girerek peroksinitrit anyonu oluşturabilir. Kendisi aslında doğrudan toksin olmayan bu bileşik azot dioksit ve hidroksil radikalleri oluşturarak başlangıç molekülleri olan NO ve süperoksitten daha zararlı olmaktadır (40). Hücrenin güçlü antioksidan sistemi olan SOD enzimleri süperoksid radikaliyi temizleyerek bu reaksiyonların oluşmasını azaltmaktadır (41). NO fizyolojik konsantrasyonları olan 1-5 pikomolar düzeylerinde, SOD enzimlerinin fazla süperoksidi temizlemesi nedeni ile peroksinitrit oluşturamamaktadır (40). iNOS enziminin uyarılması sonucu devamlı ve yüksek miktarda yapılması durumunda ise hücrenin antioksidan sistemlerinin kapasitesi aşılmakta ve peroksinitrit oluşturan reaksiyonlara girerek zararlı olmaktadır.

LDL'nin oksidasyonu

Endotelde disfonksiyon gelişmesinden sonra dolaşımda bulunan LDL, subendotelyal dokuya geçer. Transendotelyal geçirgenliğin arttığı, arteriyel ağacın dallanma bölgelerinde bu süreç hızlanır. LDL'nin intimadan temizlenmesi sınırlıdır, çünkü bu bölgede mikrodamarlar eksiktir. Bu nedenle LDL hücre dışı matriks içinde tutulur. Matriks proteoglikanlarının LDL'ye ilgisi vardır. Böylece LDL matrikse bağlanır ve LDL havuzu oluşur (42). LDL'nin ilk oksidasyonu endotel hücreleri

tarafından yapılır. Bu aşamada LDL'nin yapısındaki apo B-100 değişmediğinden "mmLDL" adı verilir. MmLDL daha sonra makrofajlardan salgılanan lipooksijenaz, reaktif oksijen radikalleri ve malondialdehitin etkisi ile tekrar oksitlenir. Malondialdehit, apo B proteininin lizin halkasını değiştirirerek lipoprotein molekülünü, makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörlerce daha kolay tanınabilecek yönde şekillendirir (43, 44).

Okside LDL'nin aterogenezdaki etkileri şu şekilde sıralanabilir (24):

- Çöpçü reseptörlerce tanınarak makrofajlar ve düz kas hücrelerince fagosite edilir.
- Endotel hücreleri ve düz kas hücrelerine sitotoksik etki gösterir.
- Dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir.
- Endotel adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1) üretimini uyararak monosit ve T-lenfositlerinin damar duvarına yapışmasını kolaylaştırır.
- Plak içindeki makrofajların hareketini inhibe ederek, lezyondaki makrofaj sayısının artmasına yardımcı olur.
- Bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanmasını uyarır.
- İmmünojeniktir, antikor oluşumunu etkiler.

Köpük hücre oluşumu

Makrofaj, aterosklerotik lezyonun oluşmasında çok önemli bir rol oynar. Okside lipoproteinleri içine alma kapasitesi nedeni ile kolesterolü biriktirir ve lipit dolu köpük hücrelerine dönüştürür. Köpük hücresi aterosklerozun öncü hücresidir. Makrofajlar çöpçü reseptörler yoluyla büyük miktarlarda okside LDL'yi içlerine alırlar (45). Okside LDL lizozomların içine alınır kolesterol esterleri hidrolize olur ve serbest kolesterol sitoplazma içine kaçar. Sitosolik enzimler tarafından yeniden esterifiye olur ve kolesterol ester havuzu, makrofaj içinde damlacıklar oluşturmaya başlar. Okside LDL'nin alımının devam etmesi ile makrofaj, lipit yüklü köpük hücrelerine dönüşene kadar bu lipit damlacıkları birikir. Makrofaj yüzeyindeki çöpçü reseptörlerinin sayısı, hücre içi kolesterol içeriği tarafından kontrol edilmez. Bu nedenle makrofaj sitoplazması kolesterol esteri ile dolana kadar okside LDL'yi içine almaya devam edecektir (46, 47). Yağlı çizgilenme, sağlam endotelde köpük hücrelerinin bir miktar T hücresi ve hücre dışı kolesterolle birlikte birikmesiyle oluşur.

Makrofajlar bir kez lezyona yerleştikten sonra, TNF- α ve metalloproteinazlar gibi inflamatuvar sitokinler ve prokoagülan faktörler salgırlar (48). Ayrıca düz kas hücreleri ve fibroblastların çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar.

Lipit çekirdeğinin oluşumu

Lezyon ilerledikçe hücre dışında da lipit birikmeye başlar. Ekstrasellüler lipidin olası iki kaynağı vardır: dolaşımdaki LDL'nin doğrudan doğruya intima tabakasındaki proteoglikanlara bağlanması ya da, köpük hücrelerinin ölmesi sonucu depolanmış olan kolesterol esterlerinin açığa çıkması. Hücre dışı lipidin çoğunluğunun bu ikinci yoldan kaynaklandığı kabul edilmektedir (49).

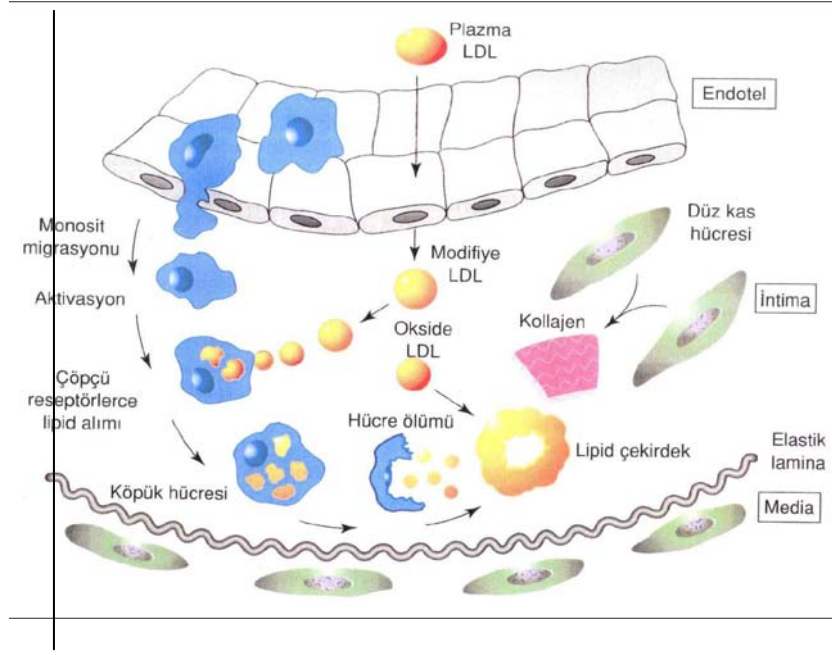
Köpük hücre oluşumunda rol alan iki hücre tipinin, yani makrofaj ve düz kas hücresinin yaşam süresi bilinmemektedir. Ancak ileri lezyonlarda düz kas hücre proliferasyonunun oldukça sınırlı olduğu gösterilmiştir ki, bu da bu hücrelerin uzun ömürlü olduklarını düşündürmektedir.

Buna karşılık makrofajların aterosklerotik plaklarda çoğaldıkları ve dolaşımdaki monositlerin de sürekli olarak plak içine girdikleri bilinmektedir. Bu yüzden plaktaki makrofaj sayısının kontrolsüz olarak artmasını engelleyen faktörün hücre ölümü olduğu fikri mantıklı görünmektedir. Nitekim ilerlemiş aterosklerozda hücre ölümünün yaygın bir özellik olduğu gösterilmiştir (24).

Makrofajların ölümünde, LDL oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin de etkisi olmakla beraber asıl mekanizma apoptozdur. Apoptozda, MCSF-1 gibi büyüme faktörlerindeki azalmanın yanı sıra TNF- α 'nın rolü vardır.

Aktif plakta lipit çekirdek çevresinde metalloproteinaz üreten makrofaj kümeleri vardır. Metalloproteinazlar bağ dokusunun yıkımından sorumludur.

Sonuçta oluşan lipit çekirdek, intima tabakasının bağ dokusu yapısı içinde kolesterol ve hücre yıkım ürünleri ile dolu boşluklardır. Bu aşama da lipit çekirdeğin üzerinde henüz fibrotik bir tabaka yoktur. Şekil 3' te temel ateroskleroz süreci özetlenmiştir (50).



Şekil 3: Temel Ateroskleroz Süreci. Plazmadaki LDL intimaya girer, modifiye olur ve endotelde monosit migrasyonu ile sonuçlanan değişiklikleri başlatır. İntimada daha da fazla okside olan LDL, makrofajlar tarafından aktif biçimde alındığında köpük hücreleri oluşur. Makrofaj ölümüyle, lipitler serbest kalarak çekirdeği oluşturur. Endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından salınan büyüme faktörleri, düz kas hücrelerinde büyümeyi ve bağ dokusu matrisinde sentezi uyarırlar.

Fibröz kılıf oluşumu

Olgunlaşmış aterom plağında lipit çekirdeğinin üstü fibröz bir başlıkla örtülüdür. Fibröz başlık çoğunlukla düz kas hücreleri ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur (51). Lezyonun yaşı ilerledikçe düz kas hücrelerinin sayısında artar. Düz kas hücrelerinin mediadan göçü ve proliferasyonu, PDGF, FGF gibi büyüme faktörlerinin uyarısı ile gerçekleşir. Bu faktörler aterogenezde rol alan hemen her hücre tarafından üretilebilir. Aynı faktörler, bu hücrelerin bağ dokusu proteinlerinin sentezlemesini uyarırlar. Stimülatör ve inhibitör bu maddeler arasındaki etkileşim, düz kas hücrelerinin proliferatif cevabını belirler. Bugün artık fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Bir yandan düz kas hücreleri tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer taraftan proteazlar tarafından sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır. Bu yapım ve yıkım arasında çok sayıda sitokin tarafından kontrol edilen bir denge vardır. Lipit çekirdek ve etrafındaki fibröz başlıktan ilerlemiş lezyona fibroaterom denir. Lipit çekirdek ve etrafındaki fibröz tabakanın miktarı, plağın zedelenebilirliğini ve komplikasyon gelişimine ne kadar açık olduğunu belirleyen esas etkindir. Fibröz başlık ne kadar kalınsa plak o kadar stabil, fibröz başlık ne kadar ince ise yırtılmaya o kadar yatkın ve dolayısı ile plak da komplikasyona o kadar açıktır (24).

Ateroskleroz patogenezinde makroskopik olarak görülen 3 plak tipi aterosklerozun değişik safhalarını yansıtır (52).

Yağlı çizgi

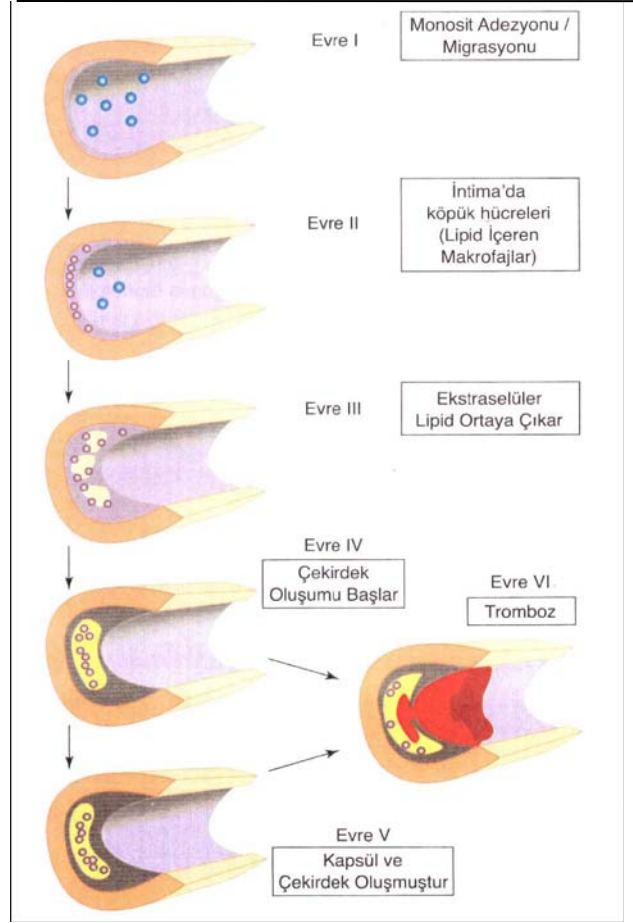
En erken aterosklerotik lezyon olan yağlı çizgiler, makroskopik olarak damar yüzeyinden kabarık çizgilerdir. Ancak lümeninde obstrüksiyon oluşturmazlar klinik önemi yoktur. Bu görüntü endotel altında birikmiş olan içleri yağ damlacıkları ile dolu köpük hücrelerinden kaynaklanır. On yaşındaki çocuklarda bile görülebilir. Kandaki LDL düzeyinin azaltılması ile geriler ve yerinde skatris dokusu kalır. Lezyona giren LDL artarsa lezyon ileri evrelere geçer.

Fibröz plak

Zaman içinde risk faktörlerinin devam etmesi ile subendotelyal depolanma giderek artar. Lezyon makroskopik olarak beyaz renklidir, lümenine doğru büyür ve lümeni daraltır. Bu lezyonda en dışta endotel hücreleri, altında düz kas hücreleri, makrofajlar ve T-lenfositler bulunur. Kolesterolde zengin hale gelip büyüyen erken lezyonda mediadan intimaya düz kas hücre göçü başlar ve hücre proliferasyonu olur. Hücrelerin mikrozomal içerik ve aktiviteleri artar ve kollajen, elastin ve mukopolisakkarit salgılanması artar; bu arada PDGF, bağ dokusu proliferasyonunun tetiğini çekmektedir. Subendotelyal lipit depolanması ile lezyon giderek büyür ve arter lümenini kısmen tıkamaya başlar (53-56). Fibröz başlığın temel işlevi lümendeki kan ile lezyonun merkezindeki aterojenik lipit çekirdeğini birbirinden ayırmaktır. Bu aşamada klinik olayları başlatacak plak rüptürü henüz yoktur.

Komplike lezyon

Aterosklerotik plak bir yanda mekanik stresle risk faktörlerinin devam etmesi ile dıştan yıpranırken, bir taraftanda içten yıpranır. Devam eden inflamatuvar süreç nedeni ile plak içindeki makrofajlar metalloproteinazlar salarak plağın fibröz çatısını yıpratır. Fibröz yapıda yapım ile yıkım dengededir. Plağın lipit çekirdeği içeriği % 40'ı aştığında zedelenebilir plaktan bahsedilir. Komplike plak dört değişikliğe uğrayabilir. Odaksal veya masif kalsifikasyon, luminal yüzeyin fissürleşmesi veya ülserasyonu ile plağın rüptürü, fissürleşmiş veya ülser lezyonların üzerine trombüs gelişmesi, plak içine kanama (53). Plağın üstündeki endotel ayrılınca, subendotelyal doku kan ile temasa geçer. Subendotelyal doku; faktör VII ve lipoprotein a' dan zengin olup trombojenik özelliktedir. Bu şekilde trombüs gelişir. Oluşan trombüs damar duvarını tam veya parsiyel olarak tıkayarak akut kardiovasküler olaylara neden olur (25, 34, 57). Şekil 4' de Amerika Kalp Birliği' ne göre plak evrelerini şema halinde gösterilmektedir (50).



Şekil 4: AHA' ya göre plak evreleri. Şemada hem evrenin derecesi, hem de her evrede rol oynayan faktörler yer almaktadır.

Aterosklerozda klinik, plak içeriğine bağlıdır. Plak ne kadar lipitten zengin, inflamatuvar komponenti fazla ve düz kas çatası (kapsülü) ince ise rüptüre olmaya ve klinik olaylara yol açmaya eğilimli demektir (58).

KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARDA RİSK FAKTÖRLERİ

Koroner arter hastalığı risk faktörlerinin kadın ve erkeklerde eşit oranda önemli olmasına rağmen yol açtıkları etkilerin şiddeti cinsler arasında farklılık göstermektedir (Tablo II) (59). Risk faktörleri iki cinsten ortak olanlar ve cinsiyete özgü olanlar diye sınıflandırılabilir. Kuşkusuz bu ikisinin kombinasyonu da olabilir. Kadınlar genellikle risk ve müdahale çalışmalarında daha az temsil edilirler ve elde edilen veriler kadınlardan yorumlanmakta çoğu zaman güçlük çekilerek genellikle erkeklerden elde edilen veriler kadınlara genelleştirilirler (60).

Tablo II: Kardiyovasküler Hastalıklar İçin Kadınlardaki Risk Faktörleri

DEĞİŞKEN RİSK FAKTÖRLERİ	DEĞİŞMEZ RİSK FAKTÖRLERİ
Dislipidemi	Artan Yaş
Hipertansiyon	Cinsiyet
Diabetes Mellitus	Genetik
Sigara	Irksal Faktörler
Obesite	Menopoz *
Fiziksel İnaktivite	Ekzojen Hormon Kullanımı
Genetik*	

* kesinleşmemiş risk faktörleri

DİSLİPİDEMİ

Kanda total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri yükseldikçe kardiovasküler risk artar. Trigliserid ile birlikte bu iki değişkenin normal ve diğer dilim sınırları Tablo III' de özetlenmiştir (61).

Tablo III. Lipit düzeylerinin sınıflandırılması (NCEP ATP III)

	Total Kolesterol (mg/dl)	LDL-Kolesterol (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
Optimal		< 100	
Normal	< 200	100-129	<150
Sınırdan Yüksek	200-239	130-159	150-199
Yüksek	≥ 240	160-189	200-499
Çok Yüksek		≥ 190	≥ 500

Artmış total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri 65 yaşın altındaki kadınlarda koroner arter hastalığı ile çok az ilişkilidir. Bu yaş grubundaki koroner arter hastalığı ile daha çok HDL kolesterol ilişkili olup arada ters bir orantı bulunmaktadır (62). HDL-kolesterol düzeyinin 35 mg/dl olmasıyla 45 mg/dl olması arasında KVH riski % 50 artmaktadır. Türkiye'de ortalama HDL-kolesterol düzeyi erkeklerde 37 mg/dl, kadınlarda ise 43 mg/dl'dir. Türklerin tüm bölgelerdeki değişik diyet tüketimlerine bakılmaksızın, dünya toplumlarında rastlanılan en düşük HDL-kolesterol'a sahip oldukları gözlemlenmiştir. Düzeyler Avrupa ve Amerikalılarda görüldenden 10-15 mg/dl aşağıdadır. TK /HDL-kolesterol oranı KVH riskinin oldukça duyarlı bir göstergesidir. Ortalama TK/HDL-kolesterol oranları Türkiye' de erkeklerde 5.5, kadınlarda 4.2'dir (63).Trigliseridler 65 yaş üstü kadınlarda koroner arter hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür (64).

Genel anlamda kadınlarda ve erkeklerde tavsiye edilen terapötik yaşam tarzı değişiklikleri ve farmakolojik lipit düşürücü stratejiler aynıdır ve agresif olarak uygulanmalıdır. Bununla beraber hormon tedavisi düşük HDL kolesterol düzeyi olan kadınlarda primer tedavi olarak uygulanabilir (65). Östrojenin etkileri konvansiyonel lipit düşürücü tedaviye yardımcı olabilir (66, 67). Östrojenin lipit düşürücü etkilerinin yanında koroner vazodilatasyon ve antioksidan özellikleri de bulunur (68, 69). Yeni tedavi seçenekleri arasında ise SERMS, soya flavanoidleri ve fitoöstrojenler gelir. Hepsinin lipitler üzerindeki olumlu etkileri ispatlanmış olup kullanımları konusunda tartışmalar devam etmektedir (70-72).

HİPERTANSİYON

Hipertansiyonun kadınlardaki koroner arter hastalıkları ile güçlü bir ilişkisi vardır. Hipertansiyonun prevalansı kadınlarda yaşla birlikte artar. 75 yaş üstü kadınların yaklaşık %80 'i hipertansiftir (73). Hipertansiyon, KKH riskini beş kat arttırır; 45 yaş üzerinde kalp hastalığında hiperlipidemiden daha önemlidir ve kadınlardaki cinsiyet avantajını ortadan kaldırır (13). Yükselmiş kan basıncı vasküler endotelde hasar oluşturarak lipoproteinlerin damar duvarına geçişini arttırabilir (74). Hipertansiyon kadınlar ve erkekler açısından KKH açısından bağımsız bir risk faktörü olup hiperlipidemi, sigara içimi, obezite ve diyabet ile birlikte olduğunda risk daha da artar. Antihipertansif tedavi genel mortaliteyi, kardiyak morbiditeyi ve inme insidansını azaltır, bu etki yaşlılarda daha belirgindir (75).

DIABETUS MELLİTUS

Diabet koroner kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür ve kadınlardaki KKH riskini üç kat artırarak cinsiyete bağlı korunma avantajını nötralize etmektedir (76). Diabetik kadınlardaki KKH mortalite oranları, diabetik olmayanlara oranla yedi kat daha fazladır. Diabetik erkeklerde ise bu oran dört kattır (77).

Diabet aynı zamanda özellikle kadınlarda trigliseritte artış ve kadınlarda seviyesi yüksek olan HDL de azalmadan sorumludur (78). Diabetli hastalarda LDL kolesterol seviyeleri sıklıkla normale yakın seyrederken, LDL parçacıklarının daha küçüldüğü ve yoğunlaştığı ve böylece daha aterosjenik olma eğilimi kazandığı saptanmıştır (79). Diabet ayrıca trombosit anormallikleri ve endotel disfonksiyonu gibi KKH'a katkıda bulunan faktörleri tetikler (80).

SİGARA

KKH riski 20 (adet /gün) den fazla sigara içen kadınlarda içmeyenlere oranla 4 kat fazladır. Sigara içen kadınlardaki miyokard infarktüsü riski de içmeyenlere oranla üç ile altı kat daha fazladır (81). Hafif içicilerde (günde <5 adet) bu risk 2 kat artmaktadır. Sigara içen ve aynı zamanda hipertansif ve diabetik olan, oral kontraseptif kullanan veya hiperkolesterolemisi olan kadınlarda bu risk daha da artmaktadır (82).

Sigaranın bırakılması sağlıklı ve miyokard infarktüsü geçirmiş kadınlarda yaşam süresini uzatmakta ve üç ile beş yıl içinde koroner arter hastalığı riskini %50-80 oranında azaltmaktadır (82).

OBEZİTE

Obezite AHA tarafından koroner kalp hastalığı için majör bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (83). Obezite, prevalansı bütün dünyada giderek artan ve birçok ülkede epidemik boyutlara ulaşan bir sağlık sorunu haline gelmiştir (84). Obezitenin ülkemizdeki prevalansı 30 yaş üzerinde erkeklerde % 21, kadınlarda % 43'tür. (85). Obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve sol ventrikül hipertrofisi ile birliktelik gösterir (86). Obezite artmış kardiovasküler ve tüm sebeplere bağlı mortalite ile beraberdir (87, 88).

Bütün obez kişilerde koroner risk aynı değildir. Obezitenin türü ve derecesi de önemlidir. Tür olarak abdominal (santral) obezitenin insülin rezistansı ile ilişkili olduğu, metabolik sendromun bir parçası olduğu ve koroner arter hastalığı için artmış risk göstergesi olduğu bilinmektedir (89).

Randomize çalışmalardan elde edilen bilgiler, az miktarda kilo kaybının bile koroner riski azaltmak ve metabolik risk faktörlerini düzeltmek açısından önemli olduğunu göstermiştir. Yüzde onluk bir kilo kaybı bile, kan basıncı, kolesterol ve kan şekeri anlamı düzelmelere yol açabilmektedir (90).

FİZİKSEL İNAKTİVİTE

Sedanter hayat biçimi hem kadınlarda hem de erkeklerde koroner arter hastalığı riskini artırmaktadır (91). Düzenli fiziksel aktivite ile kilo azalmakta (92), LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri düşmekte, HDL kolesterol düzeyleri yükselmekte (93), insüline duyarlılık artmakta (94), kan basıncı düşmekte (95, 96), endotele bağlı vazodilatasyon (97) ve fibrinolitik aktivite artmaktadır (98). Aynı zamanda kalbin oksijen tüketimini ve koroner arter çapını artırır (17).

Fiziksel inaktivite, düzeltilebilecek majör risk faktörleri arasında sıralanmış ve terapötik yaşam tarzı değişiklikleri girişiminde odaklanılacak ana hedef olarak kabul edilmiştir (61).

AİLESEL YATKINLIK

Baba veya diğer birinci derece erkek akrabalarda 55 yaşından önce, anne veya diğer birinci derece kadın akrabalarda 65 yaşından önce erken koroner arter hastalığı gelişiminin olması, o kişide ateroskleroz gelişim riskini 1,3- 1,6 kat artırmaktadır (99, 100). Erken yaşta koroner kalp hastalığına sahip yakın sayısı arttıkça veya ailede koroner kalp hastalığına yakalanma yaşı azaldıkça, aile öyküsünün tahmin edici değeri artar (101, 102). Bu risk genellikle diğer risk faktörlerinin düzeltilmesinden sonra da devam eder (103).

YAŞ VE CİNSİYET

Koroner kalp hastalığı insidansı ve prevalansı yaş ile artar, böylece yaş en önemli risk faktörü olarak düşünülebilir (99). Aterosklerozun erken lezyonlarının çocukluk çağında ortaya çıkmasına rağmen koroner kalp hastalığından ölüm oranı ile belirlenen klinik olarak aşikar hastalığın görülmesi ileri yaşlarda, her dakadda artar. Örneğin 40 yaşından 60 yaşına kadar myokard infarktüsü insidansında 5 kattan fazla artış vardır (81). Erkeklerde 45 yaş, kadınlarda 55 yaş üzeri koroner kalp hastalığı için güçlü bir risk faktörüdür (100).

Diğer risk faktörleri eşitse, erkekler ateroskleroza kadınlardan çok daha fazla eğilimlidirler. Kadınlar menopoza kadar, hastalık yapan ileri aterosklerozdan bir miktar korunurlar ki, diabet veya az görülen (olasılıkla ailesel) hiperlipidemi formları veya ciddi hipertansiyon gibi predispozan durumlar olmadığı sürece premenopozal kadında myokard infarktüsü nadirdir (53). Erkeklerdeki KKH insidansı oranları 10 yaş daha yaşlı olan kadınlar ile aynıdır (104). 35-55 yaşları arasında KKH'ından ölüm oranı beyaz kadınlarda beyaz erkeklerin beşte biridir. Kadınlar lehine olan bu korunma, menopozdan sonra, myokard infarktüsü sıklığının her iki cinsiyette de aynı olduğu yedinci sekizinci dekada doğru yavaş yavaş azalır (53).

HEMOSTAZ

Kadınlarda yeterince veri olmamasına rağmen artmış fibrinojen seviyesi hem kadınlarda hem de erkeklerde koroner arter hastalıkları açısından bağımsız bir risk faktörüdür (105). Hipertansiyon, diyabet, sigara, obezite, hiperlipidemi ve menopoz gibi risk faktörleri yüksek fibrinojen düzeyleri ile ilişkili bulunurken egzersiz, hormon tedavisi ve yüksek HDL kolesterol durumunda fibrinojen düzeyleri düşük bulunmuştur (106). Fibrinojen karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Trombin gibi pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonu, trombosit agregasyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu stimüle eder (17).

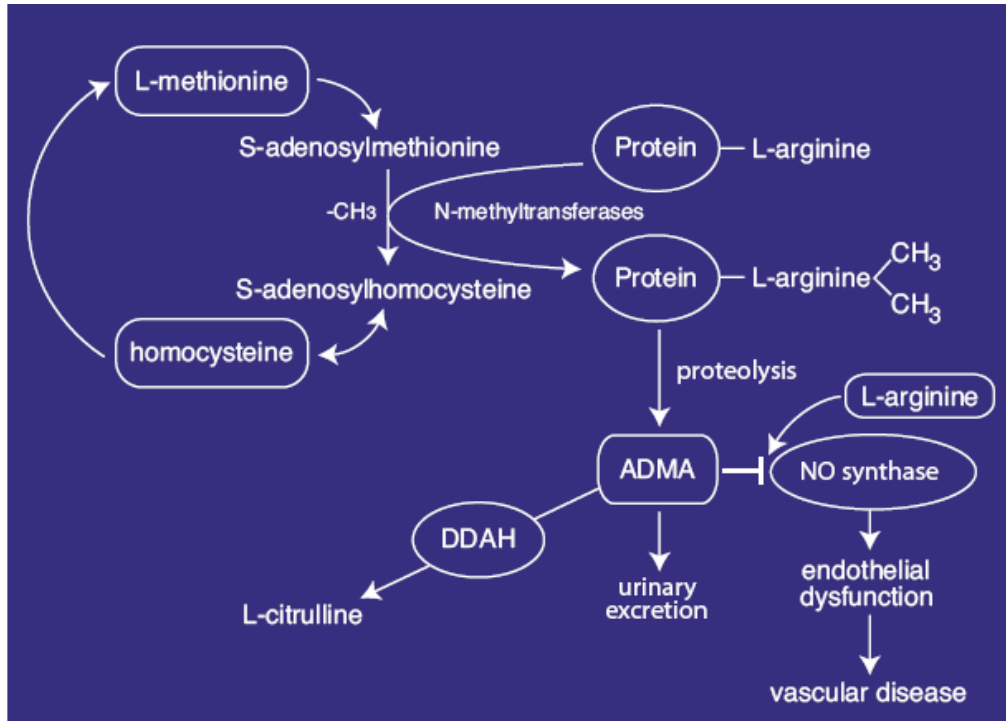
ENFLAMASYON

Enflamasyon kadınlar için yeni tanınan bir risk faktörüdür. WHI' da CRP diğer sayılan bağımsız risk faktörleri kadar güçlü bir faktör olarak tanımlanmıştır (107). Yüksek CRP yüzdesine sahip kadınlarda 3 yıllık yapılan izlem sonucu kardiyak ve vasküler olaylar açısından 5-7 kat daha fazla risk artışı görülmüştür (108). Ayrıca yüksek CRP düzeyleri ile artmış ölüm riski arasında ilişki bulunmuştur. CRP dışında yeni risk faktörleri olarak değerlendirilen Lipoprotein a ve homosistein koroner arter hastalığının gelişiminde etkili bulunmuştur. Hiperhomosisteinemi endotel hücrelerinden NO salınımını bozarak, aterojenik düz kas hücre proliferasyonunu stimüle ederek trombojeneze katkıda bulunur (17).

ADMA

ADMA plazmada dolaşan, hücre ve dokularda bulunan, doğal bir aminoasit olup idrarla atılmaktadır. Vallance ve ark.(109) ADMA' yı 1992' de nitrik oksit sentazın endojen bir inhibitörü olarak tanımlamalarının ardından bu molekülün endotel fonksiyon üzerindeki patofizyolojik düzenlemedeki rolü gün geçtikçe dikkatleri üzerine çekmektedir. Özellikle kardiovasküler sistem üzerine önemli biyolojik etkiler yapabileceği düşünülmüştür. Nitekim yapılan pek çok çalışma ADMA' nın endotelial disfonksiyon ve kardiovasküler hastalıklarda bir risk belirteci olduğunu ayrıca pek çok hastalıklarla (renal yetmezlik, diabet, hipogonadizm, preeklampsi vs.) ilişkili olabileceğini göstermektedir (109-116).

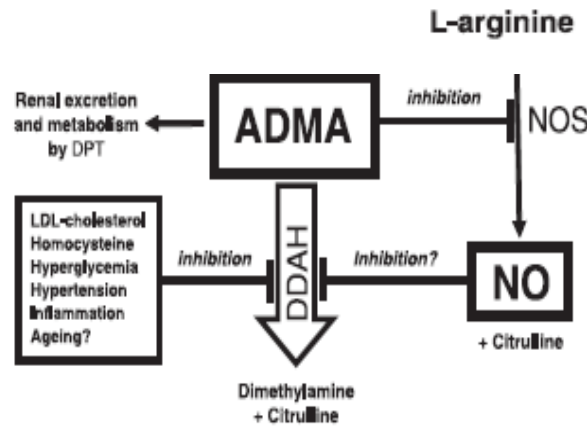
Proteinlerdeki arjinin kalıntılarının, PRMT' lerin hareketi ile metillenmeleri sırasında ADMA sentez edilmektedir. Metil grupları homosistein metabolizmasında bir ara ürün olan metil vericisi SAM' dan sağlanır (115). ADMA ile ilgili biyokimyasal yolların şematik görünümü şekil 5' te özetlenmiştir (121). Proteinlerdeki arjininlerin metilasyonu bir posttransisyonel modifikasyon olup proteinlerin içinde yer alan arjinin aminoasitinin guanidin azotlarına 1-2 metil grubu eklenmesi şeklindedir (117-119). PRMT' lerin genel olarak 2 tipi vardır. Tip I ADMA oluşumunu katalizlerken, tip II her iki guanidin azotunu da metilleyerek SDMA oluşumunu sağlar (120).



Şekil 5: ADMA ile İlgili Biyokimyasal Yolların Şematik Görünümü

Tip I PRMT'lerin substratı olan çok fazla sayıda proteinler vardır ve bu substrat proteinler ile enzimler vücut içinde geniş bir dağılım gösterirler. Proteinlerin metilasyonun rolü henüz tam açık olmamakla beraber bu işlem; RNA bağlanmasının düzenlenmesi, transkripsiyonel düzenleme, DNA tamiri, protein lokalizasyonu, protein-protein etkileşimi, sinyal transdüksiyonu ve reseptörlerin duyarsızlaştırılması veya devridaimi ile ilişkilendirilmektedir. Hücre içinde meydana gelen ADMA miktarı, proteinlerdeki arjinin metilasyonunun ölçüsüne ve proteinlerin turnover hızına bağlı kalmaktadır.

Renal atılım, ADMA için tespit edilen ilk atılım mekanizması olmasına rağmen, ADMA'nın metabolik inaktivasyonu farklı vücut bölgelerinde konsantrasyonun ayarlanmasında önemli bir mekanizma olabilir. DDAH ile L-sitrülin ve dimetilamine metabolize olur (122, 123). Enzimin tersiyer yapısında aktive edilmiş haldeki sistein, NO tarafından regüle edilmeye ve oksidasyona müsaittir. Oksidatif stresin DDAH aktivitesini geri dönüşsüz olarak inhibe edip etmediği henüz tam açık değildir ancak, nötralizasyonun geri dönüşlü olduğu muhakkaktır. Böylece yüksek NO üretimi DDAH enzimini nitrözasyona uğratar ve inhibe eder. Bu önemli bir homeostatik mekanizma olup NO üretimi fazlalaşınca daha fazla NO üretimini engeller. Gelişmiş organizmalarda ve insanda 2 tip DDAH izoformu tanımlanmıştır. DDAH-1 ile nNOS ve DDAH-2 ile eNOS ekspresyonları arasında bir örtüşme vardır. Ama her iki DDAH enzimi de geniş şekilde eksprese olup NOS eksprese eden hücre ve dokularla sınırlı kalmadıkları bilinmektedir (124, 125). Okside LDL ve TNF ile oluşturulan oksidatif stres DDAH aktivitesini azaltır (126). Homosistein, yükseltgenme indirgenme aracılıklı mekanizmalar yolu ile DDAH aktivitesini azaltarak ADMA seviyelerini de artırır ve hücreden serbest sistemlerde izole edilmiş DDAH'yı doğrudan engeller. Yükselmiş ADMA konsantrasyonları hiperhomosisteineminin yanı sıra hiperkolesterolemi, kronik böbrek yetmezliği, kronik kalp yetmezliği ve hipertansiyon gibi çeşitli kardiovasküler ve metabolik hastalıklarda da bulunmuştur (Şekil 6) (119).



Şekil 6. ADMA İnaktivasyonunun Biyokimyasal Yolları

ADMA endotele bağlı vasküler fonksiyonun bir endojen belirteçidir. Endotel fonksiyonunun devamında en önemli yolak NOS aracılığı ile üretilen NO varlığı olarak kabul edilmektedir (127). ADMA tarafından üretimi belirgin olarak azaltılan NO sadece vazodilatör etkiye sahip değil aynı zamanda da vasküler hastalığın gelişiminde önemli olan lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu ve damar düz kas hücre proliferasyonunu da engellemektedir. Bu yolak üzerine ise en etkin molekül olarak ADMA gözlenmiştir. Sonuçta tüm risk faktörleri ADMA artışı üzerinden anahtar role sahip endotel disfonksiyonuna yol açabilmektedir. Bu durum ADMA' yı risk faktörlerinin etkilerinin kavşak noktası haline getirmektedir (121).

İnsanlarda ADMA' nın yüksekliğinin varlığı ilk kez böbrek fonksiyonları bozulmuş bireylerde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (124). Daha sonra bu yüksekliğin bu tip hastalarda sıklıkla gözlenen kalp ve damar hastalıklarına katkısının olabileceği öne sürülmüştür. 225 son dönem böbrek yetmezlikli hastada yapılan prospektif bir inceleme sonucunda, yüksek plazma ADMA konsantrasyonlarının sadece karotit aterosklerozu ve sol ventikül disfonksiyonu ile ilişkili olmadığı aynı zamanda tüm geleneksel ve geleneksel olmayan risk faktörleri içerisinde yaştan sonra ikinci en önemli kardiovasküler nedenle ölüm için prediktör olduğu gösterilmiştir (128-130). İlk zamanlarda böbrek yetmezlikli hastalarda ADMA yüksekliği gösterildiği için, bir üremik toksin olarak değerlendirilmiş ve kardiovasküler tıp açısından pek göz önüne alınamamıştır. ADMA metabolizması aydınlatıldıkça molekülün kaderinin tayininde böbreğin tek organ olmadığı iyice anlaşılmıştır. Sonuçta pek çok hastalıkta yükselmesinin olabileceğine dair çalışmaların yapılmasına neden olmuştur (117).

Hiperlipidemi ADMA seviyelerini arttırır, artmış ADMA düzeyleri ise endotel disfonksiyonu ve karotid arterin intimal kalınlığının derecesi ile ilişkilidir(131). Kültür ortamında endotel hücrelerine patofizyolojik dozda ADMA uygulanması NO düzeyini azaltmakta, süperoksit miktarının ve monositlerin endotel hücrelerine yapışmasını arttırmaktadır. Ayrıca hiperkolesterolemik hastalardaki mononükleer hücre adezivitesindeki artış ADMA konsantrasyonları ile pozitif ilişkili bulunmuştur (132).

ADMA'nın vasküler rezistansını düzenlediğine dair pek çok kanıt mevcuttur. İnsan ön koluna intraarteriyel ADMA infüzyonu, endotel bağımlı vazoditasyonu inhibe etmiştir (133, 134). Dahası kan ADMA konsantrasyonunu yaklaşık 3 kat arttıracak kadar intravenöz yolla ADMA verilmesi sağlıklı bireylerin sistemik damar direncini yaklaşık % 24 artırmıştır. Artmış plazma ADMA konsantrasyonları yaşlılık, kalp yetmezliği ve hipertansiyon durumlarında gözlenen artmış renovasküler rezistans için prediktif değere sahiptir. Böbrek yetmezlikli hastalardaki plazma ADMA

düzeyleri sol ventrikül kalınlığı ile doğru ve ejeksiyon fraksiyon ile ters orantılı olup bu durum ADMA' nın sistemik direnci arttırıcı etkisi ile uyumludur (117, 135, 136).

Adma Kardiovasküler Hastalık İçin Bir Risk Faktörüdür

İnsan ve hayvan modellerindeki çalışmalarda vasküler hastalıkların henüz klinik olarak belirti vermeden ADMA seviyelerinin arttığı ileri sürülmüştür. Birçok klinik çalışma artmış ADMA seviyeleri ile vasküler hastalıkların klinik göstergeleri arasında ilişki kurmuşlardır. ADMA seviyeleri yaş, ortalama arteriyel basınç, glukoz toleransı ve karotit arterin intima–media kalınlığı ile koreledir (129, 137). İleri yaş ve yüksek ADMA seviyeleri kardiovasküler hastalık ve mortalitenin en güçlü habercisidir (128,138).

ADMA konantrasyonları artmış hastaların teşhisinden sonra ne tür bir tedavi yaklaşımının yapılması gerektiği tam olarak bilinmemektedir. Bir ihtimal ADMA' nın vasküler yapı üzerindeki ters etkilerini tesirsiz hale getirmek için birçok farklı klinik çalışmada test edilen NO sentazın yarışmalı inhibisyonunun düzeltilmesi için eksojen L-arginine verilmesidir. L-argininle tedavi yüksek ADMA düzeyi olan hastalarda sadece endotele bağlı vasküler fonksiyonu değil aynı zamanda kardiovasküler hastalığı olan hasta subgruplarının klinik durumlarını da düzeltti (139).

CİNSİYETE ÖZEL RISK FAKTÖRLERİ

ORAL KONTRASEPTİFLER

Günümüzde düşük doz oral kontraseptifler genellikle etinil östradiol gibi sentetik bir östrojen türevi ve sentetik bir progestinden oluşur. Bir çok kadın için bu kombinasyon kardiovasküler açıdan ihmal edilebilir bir risk taşıır (140). Arteryal-venöz tromboz riski düşük olup artan yaş ve sigara içimi ile risk artar. 35 yaş üstü ve sigara içen kadınlarda miyokard infarktüsü riski artar. Bu enfarktüs aterosklerozdan ziyade tromboemboli ile ilişkili gözükmektedir zira oral kontraseptif kullanan kadınlarda anjiyografik koroner plak oranı daha azdır. Bir çok oral kontraseptif, kombinasyon formunda olduğundan lipit metabolizmasına etkileri östrojenik etki ile (yüksek HDL ve TG, düşük LDL) progestajenik etkinin (düşük LDL, düşük HDL) toplamı olarak dolaşıma yansır. Günümüzde kullanılan preparatlarda gestajenik etki minimaldir (141).

MENOPOZ

Menopozla kadar overler hem östrojen hem de androjenik hormonlar üretirler. Üretim menopozla birlikte birden bire durmayıp yıllar içerisinde giderek azalır. Menopozda kadınlarda klinik kardiovasküler hastalık insidansının hızla arttığı bilinmektedir. Östrojen yetmezliğinin bu artışla ilişkili olabileceği, erken cerrahi menopozla giren ve özellikle 35 yaşın altında ooforektomi yapılanlarda göreceli riskin 7 kat fazla olduğu bildirilmiştir (13).

20 yaşında erkek ve kadınlarda ortalama total kolesterol düzeyleri aynıdır. Ortalama total kolesterol düzeyleri 40 yaşlarına kadar erkeklerde hızla artarken kadınlarda 50 yaşından sonra artar. Bu değişiklikler LDL düzeylerindeki değişiklikleri yansıtır. Kadınlarda ortalama HDL düzeyleri ise yaşla azalsa da ve erkeklerden belirgin bir şekilde yüksektir. Kadınlarda ortalama serum trigliseridleri yaşla artar ve 70 yaş civarında erkeklerle aynı düzeye ulaşır. Menopozdan sonra östrojen eksikliği LDL katabolizmasında düşüşe ve kolesterol yapımında azalmaya yol açar. Sonuçta ortaya çıkan lipit profili ateroskleroza katkıda bulunur. Artan LDL arter duvarlarına daha fazla kolesterol taşıırken azalmış olan HDL arter duvarlarından kolesterolü uzaklaştırmakta yetersiz kalır (66, 142-144).

Progesteronlar ise dokulara kolesterol taşınmasında rol alan bütün lipoprotein transport basamaklarını inhibe eder. Olağan tedavi dozlarında progestinle kombine edilen östrojenlerin plazma LDL ve HDL üzerine olan etkileri yalnızca östrojen kullanımına oranla daha düşük

seviyededir. Ancak bu etki myokard enfarktüsü riskini arttırmamaktadır (145). Tablo IV' te postmenopozal dönemde lipit/lipoprotein değişimleri gösterilmiştir.

Tablo IV: Postmenopozal dönemde lipit/lipoprotein değişimleri
HDL- kolesterol azalır
LDL- kolesterol artar
Total kolesterol artar
Trigliserit artar
Lipoprotein (a) azalır

Vasküler Duvar ve Myokarttaki Değişimler

Menopozdan hemen sonra östrojen eksikliğine bağlı olarak periferik damar direncinde artış gözlenir. Endotelin-I sentezi artışı bu değişimin başlıca nedenidir. NO sentezi azalır. Bu madde damar endoteli tarafından sentez edilir ve Endotelin-1'in vazokonstrüktör etkisini bloke eder. Aynı zamanda trombositlerdeki cGMP düzeylerini arttırarak trombosit agregasyonunu ve adezyonunu önleyici etki gösterir. Salınımı östrojen tarafından regüle edildiği için postmenopozal dönemde azalarak damar üzerindeki olumlu etkileri yavaşlar. Damar duvarında postmenopozal değişimler Tablo V' te gösterilmiştir (5).

Tablo V: Damar duvarında postmenopozal değişimler	
Endotelial	Nonendotelial
Endotelin-I artar	Damar düz kasına kalsiyum girişi artar
EDRF azalır	Myointimal hiperplazi artar

Bunların haricinde östrojenin doğrudan myokard üzerindeki olumlu etkileri de azaldığı için myokard kontraktilesi yavaşlar, kalbin atım hacmi düşer ve sol ventrikül duvarı kalınlaşarak rölatif sol ventrikül hipertrofisi gelişir. Kısacası kalbin inotrop aktivitesi yavaşlar ve bu olay vasküler dirençteki artış ile birleşerek myokard ve diğer önemli organlarda iskemiye neden olur. Aynı zamanda plazma kolesterol yoğunluğuna bağlı meydana gelen myointimal hiperplazi sonucu damar duvarı kalınlaşır ve damar lümeni daralarak kan akım hızı yavaşlar.

HORMON TEDAVİSİ İLE İLGİLİ KARDİYOVASKÜLER ÇALIŞMALAR

Östrojen tedavisinin postmenopozal kadınlarda kardiovasküler risk faktörleri üzerine olumlu değişiklikler yaptığı bilinmektedir. Hormon tedavisi ile ilgili geniş randomize çalışmalar ancak son yıllarda yapılmaya başlanmıştır.

Epidemiyolojik gözlemlerde östrojen tedavisinin kardiovasküler hastalık insidansını % 50 civarında azalttığı görülmüştür (146). 1991 yılından sonra östrojen kullanımı ile kardiovasküler mortalitede % 30-50 azalma gösteren çalışmalar ard arda yayınlanmıştır. Yapılan klinik araştırmalar lipit profilindeki düzelme ve vasküler iyileşmenin buna katkıda bulunduğunu göstermiştir (147-153). Birçok çalışmada östrojen tedavisinin kardioprotektif olduğu bildirilmiştir (154-164). Bu çalışmalar doğrultusunda HT' nin vasomotor semptomların tedavisi, ürogenital afrofinin önlenmesi ve tedavisi ve osteoporozun önlenmesi dışında kardiovasküler hastalıklardan korunması amacı ile de kullanımı önerilmekte idi (165).

Son yıllarda yapılan çalışmalar postmenopozal dönemde hormon kullanımının kardiovasküler risk üzerine olumlu etki yaptığı tezini köklü bir şekilde değiştirmiştir. Bu konudaki ilk yankı uyandıran prospektif, randomize çalışma HERS çalışması olmuştur (166). 20 merkezde yapılan bu prospektif, randomize çift kör, plasebo kontrollü çalışmada amaç HT' nin sekonder kardiovasküler koruma için etkinliğini denetlemek idi. Ortalama 4.1 yıllık takip sonucunda HT kullanan grupta faydalı bir etki gözlenmedi. Her ne kadar HT alan grupta almayanlara göre HDL ve LDL kolesterol düzeylerinde iyileşme görülse de HT grubunda ilk bir yıl içinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha sık kardiovasküler problemler gözlendi (RR: 1.52), buna karşılık 3. ve 4 yıllarda (RR:0.87. RR:0.67) HT alan grupta risk azalması olduğu saptandı. HERS çalışmasının devamında da (HERS II) ortalama 6.8 yıllık takip sonucunda HT kullanan grupta bir fayda sağlamadığı gözlendi (165).

2002 yılında yapılan WHI çalışması ile beraber postmenopozal hormon tedavisinde köklü değişiklikler olmuştur. Bu çalışma öncesinde kalp hastalıkları, osteoporoz ve Alzheimer hastalığından korunmak için, ömür boyu kullanılması önerilen hormon preparatlarının kalp hastalığı riskinde primer koruyucu etki oluşturmadığı gösterildi (107). WHI' in sonuçlarına baktığımızda EPT kullanan grubun kardiovasküler hastalıklar açısından korunmadığı bunun tersine riskin arttığı, sadece ET kullanan grupta ise kalp krizi riskini arttırmadığı, buna karşılık venöz tromboemboli ve inme riskinde artış olduğu gözlendi.

Bu çalışmadan sonra araştırmacılar eski ve yeni verileri yeniden gözden geçirmiş ve ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve östrojen kullanımı arasındaki ilişkiyi moleküler düzeyde irdelemeye başlamışlardır.

Üzerinde tartışmalara rağmen kanıta dayalı yeni verileri ortaya çıkaracak çalışma sonuçlarına kadar bugün için kabul olunan görüş HT'nin primer ve sekonder kardiovasküler koruma için kullanılmamasıdır (167).

HT' nin artmış yan etkileri (endometrium kanseri, meme kanseri ve tromboembolik olaylar) hasta uyumunu belirgin olarak düşürmüş ve klinisyenler yeni alternatif arayışlarına girmişlerdir. Postmenopozal HT' ne bir alternatif olarak kardiovasküler hastalık, osteoporoz ve hormon ilişkili kanserlerden korunma sağlayacak fitoöstrojenler gündeme gelmiştir. İstenilen, östrojenin vazoprotektif etkilerini taklit etmesi ancak reproduktif sistem ve diğer nonvasküler dokuları etkilememesidir.

FİTOÖSTROJENLER

Fitoöstrojenler östrojenik aktivitesi olan veya metabolize edildiklerinde östrojenik aktivite gösterebilen nonsterodial maddelerdir. Fitoöstrojenler Tablo VI' da özetlendiği gibi 3 sınıfa ayrılırlar: İzoflavonlar, lignanlar ve kumestanlar (168, 169). Yaklaşık 300 bitkide bulunurlar ve östrojen reseptörlerine bağlanırlar. İnsanlar için major izoflavon kaynağı soya fasulyesidir. 1 gr soya fasulyesinde 800 µg daidzein ve 500 µg genistein bulunur. 1 gr soya proteininde ise 150 µg daidzein ve 250 µg genistein bulunur (170).

Tablo VI: Fitoöstrojen Grupları	
İzoflavonlar (genistein, daidzein, glisitin)	Soya fasulyesi, mercimek, nohut
Lignanlar	Keten tohumu, mısır gevreği, sebzeler, meyvalar
Kumestanlar	Ayçiçeği tohumları, fasulye filizleri

İsoflavonların Farmakokinetik Özellikleri

İsoflavonlar bitkilerde glikozid halinde (inaktif form), genistein, daidzein, ve bunların metil esterleri biokanın A ve formononetin olarak bulunurlar (171). İsoflavonların GİS' den emilebilmesi için aglikon formunda olması gerekir (172-175). GİS' den emilim için izoflavonların öncelikle glikozidik formun glikozid bağlarının barsak florası tarafından hidroliz edilmesi gerekmektedir. Bu hidrolizi kataliz eden β -glukozidaz enzimi ile biyoaktif aglikonlar olan daidzein ve genisteine dönüşür (175).

Aglikonların barsaklardan absorpsiyonu bireysel olarak barsaktan geçiş zamanı, floranın aktivitesi ve diyetdeki lif miktarı gibi faktörlerden etkilenerek büyük farklılıklar gösterirler (176). Barsaktaki glikozidazlar tarafından hidrolizi takiben yine bireysel farklılık göstererek distal barsak kısmında daha ileri metabolizasyon gösterebilirler (demetilasyon, dehidroksilasyon veya reduksiyon) ve spesifik metabolitler oluşur (177).

Genistein ve daidzein aglikon halinde barsaktan emildikten sonra portal venöz sistem ile karaciğere taşınır ve burada % 95 oranında glukronik asit ve daha az oranda sülfat ile konjuge edilirler (178), safra ve idrar ile atılırlar (179). İsoflavonların bir kısmı enterohepatik sirkülasyona girerler. Oral alımı takiben pik plazma konsantrasyonuna 4-8 saatte ulaşır, 24

saat sonra ise çoğu idrar yolu ile atılır (180, 181). Genistein son metabolit olarak kolonda p- etilfenol' e dönüşür. Genistein kanda ve idrarda tespit edilebilir. (177).

İnsan vücudunda isoflavonların % 5' den daha az bir kısmı serbest halde bulunurlar. Bir kısmı SHBG gibi plazma proteinlerine bağlı olabilir. Düzenli olarak soya alımı ile (ör. 50 mg/gün isoflavon) plazma isoflavon seviyesi 50-800 ng/ml düzeyine ulaşarak normal östradiol seviyesi olan 40-80 pg/ml düzeyini aşabilmektedir (182). Genistein plazma yarılanma ömrü 8 saat ve pik konsantrasyonlara oral alımı takiben 6-8 saatte ulaşmaktadır (183). Genisteinin barsaklarda daidzeine göre daha iyi emildiği ve kan dolaşımında uzun süre kaldığı görülmektedir.

Equol daidzeinin hormonal aktif olan tek metabolitidir (184). Equol oluşumu tamamen intestinal mikrofloraya bağlıdır; bir fitoöstrojen değildir. Equol nonsteroidal bir östrojendir, Yüksek doz alsalar bile erişkinlerin % 30-50' si equal üretmez (185). Bu sebeble equol üretenler ve üretmeyenler olarak insanlar farklıdır. Equol üretenlerin üretmeyenlere göre fitoöstrojenlerden daha fazla yararlanıp yararlanmadığı anahtar sorudur (186). Genistein metabolizması ise bu yönü ile daidzeinden üstündür.

İsoflavonların Östrojenik Özellikleri

Soya fasulyesinin içinde birçok isoflavon bulunmaktadır, bunlardan genisteinin hayvan deney çalışmalarında en etkili molekül olduğu gösterilmiştir (187). Genistein en potent östrojen olan 17- β östradiol ile özellikle fenol halkası ve 4'- ve 7- hidroksil grupları arası mesafe açısından benzer yapısal özelliktedir.

Meme ve uterus, ER- α ' dan zengindir, bunun yanında kemik, beyin, vasküler endotel ve mesanede ER- β oranı ER- α ' ya oranla çok daha zengindir. Bir hipoteze göre isoflavonlar ER- β selektif östrojenler gibi menopozal semptomları önleyebilirler, bunun yanında meme ve endometrial hücreler gibi ER- α ile uyarılan dokularda stimülasyon yapmaması beklenir (188).

Fitoöstrojenler hedef dokuya bağlı olarak karışık östrojenik ve antiöstrojenik etkiler gösterirler. Aktivitedeki bu değişiklik soya fitoöstrojenlerinin östrojen reseptör betaya daha yüksek afinite göstermesine bağlı olabilir. Benzer kimyasal yapı nedeni ile östrojen ve SHBG' e affinite gösterirler. Böylece genistein hem östrojenik hem de östrojen ile yarışarak ve bağlanmasını engelleyerek anti-östrojenik etki gösterebilir. Genistein SHBG' lere bağlı halde olan östrojen

ve testosteronu ayırarak yerine geçebilir. Dolayısıyla genistein ve diğer fitoöstrojenler androjen ve östrojenlerin klirensini etkileyebilir, bunun yanında target hücelere ulaşan hormon miktarını da etkilerler (189). Diyet ile alınan genisteinin hipotalamus-hipofiz aksında östrojenik etki gösterdiği, prolaktin düzeyini artırdığı ratlarda gösterilmiştir (190). Bunun yanında GnRH stimülasyonu ile cAMP miktarını artırdığı ve GH salımını uyardığı bildirilmiştir (191). Yüksek dozlarda isoflavonlar östrojen antagonisti gibi davranabilirler. Östrojen reseptörlerine daha düşük affinite gösterirler ve 17 β -estradiol ile karşılaştırıldığında östrojenik etkiler oluşturma konusunda daha düşük potansiyel taşırlar. Böylece isoflavonlar 17 β -östradiol' ün yerine geçerek gerçek östrojenlerin fonksiyonlarını azaltırlar (192).

Fitoöstrojenlerin KVS Üzerine Etkisi

Fitoöstrojenlere olan ilgi asyali postmenopozal kadınlarda vazomotor semptomlar ve kardiovasküler hastalıkların daha düşük gözlenmesi ve bunun geleneksel beslenme şekli olan soya tüketimlerinin fazla olması ile ilişkilendirilmesi sonrasında başlamıştır (193).

Fitoöstrojenlerin lipit ve lipoprotein metabolizması üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. 1995 yılında yayınlanan bir metaanalizde günde 47 gr soya proteini tüketenlerde total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinin azaldığını bildirmiştir (194). Bu bulgu Ton Clark Son'un maymunlar üzerinde yaptığı çalışmada izoflavonun HDL kolesterolü artırdığı, vazodilatasyonu sağladığı ve ateroskerozu azalttığı şeklindeki bulgularla da desteklenmiştir (195).

Sadece intakt soya proteinin lipitler üzerine yararlı etkisi vardır. Protein komponentinin ayrılması ile diyetdeki soya proteini bu etkiyi kaybeder. Bu etki non-izoflavon proteinin kolesterol emilimini inhibe etmesi ile oluşur (196, 197). Bu etkinin mekanizması ise LDL kolesterol reseptörlerinin artışı ve LDL kolesterolün katabolizması ile safraya atılımının artması şeklindedir. Soya peptidi safra asitlerine bağlanır ve emilimini engeller. Alkol ekstraksiyonu izoflavonları soya proteininden çıkarır ve maymunlarda ateroskleroz üzerine olan yararlı etki kaybolur (1). Kardiovasküler etkilerin görülebilmesi için hem isoflavon hem de protein komponenti gereklidir. Alkol olmayan yıkama yöntemleri ile işleme sokulmuş soya proteini ekstraktları maymunlarda geniş şekilde çalışılmıştır. Bu preparat total kolesterol ve LDL kolesterolü düşürürken HDL kolesterolü yükseltmiştir (198, 199), koroner arter vazodilatasyonu yapmıştır (200), trombosit agregasyonu ve serotonin salınımı ile oluşan koroner arter akım azalmasını inhibe etmiştir (201), ve östrojen kadar olmasa da ateroskerozu durdurmuştur (195, 199, 202).

Kadınlarda soya proteini total ve LDL kolesterolü azaltır, trigliserid ve HDL kolesterolü

etkilemez; etanol ile ekstrakte edilmiş soya proteininin lipit profili üzerine etkisi yoktur (203-206). Genistein' in hepatik lipit sentezini baskılayarak hipolipidemik etki oluşturduğunu gösterilmiştir (207). Etkili olabilmesi için LDL kolesterolün 130 mg/dl den yüksek olması gerekir. Sağlıklı kadın ve erkeklerde yapılan çalışmalarda fitoöstrojenlerin (50 mg. ve 80 mg. isoflavon/gün) lipitler üzerine ya da brakial vazodilatasyon üzerine etkileri bulunmamıştır (208, 209).

Genisteinin vasküler etkilerinin bir kısmını damar endotelinden salınan güçlü bir vazodilatör olan NO aracılığı ile göstermektedir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sonucunda genisteinin NO sentezini artırdığı bulunmuştur. Ooferektomi yapılan ratlarda genistein ve 17 β estradiolun etkilerini karşılaştıran bir çalışmada genisteinin endotelial disfonksiyonu düzeltmesi ve eNOS aktivitesini arttırmasında östrojen kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etkiyi NO/cGMP yolağını uyararak göstermiştir (210).

KVS' de ER- β oranının yüksek olması genisteinin bu sistem üzerindeki olumlu etkilerini açıklamaktadır. Rat karotid arterinde zedelenme oluşturulan modelde ER- β ' nın ER- α ' dan 40 kat fazla olduğu ve damar koruyucu etkisini ER- β ' ya bağlanarak oluşturduğu gösterilmiştir (211). Genisteinin myokardial iskemi-reperfüzyon yaralanması deneysel modelinde ratlarda endotelial disfonksiyonu düzelttiği, infarkt boyutunu düşürdüğü ve iskemik alana lökosit göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir (212). Genistein miyokardiyal iskemi patogenizinde rol alan inflamasyon sürecini inhibe ederek de kardioprotektif etki gösterir.

Ateroskleroz gelişim sürecinde LDL oksidasyonu en önemli basamaktır. Hayvan ve insan çalışmalarında genisteinin deneysel olarak oluşturulan LDL oksidasyonunu inhibe ettiği ve okside LDL'nin damarlar üzerindeki olumsuz etkisini düzelttiği gösterilmiştir (213, 214). Genistein ayrıca trombosit agregasyonunu inhibe eder, PDGF gibi spesifik büyüme faktörlerinin ve çeşitli sitokinlerin aktivitesini değiştirir (215).

Yapılan çalışmalarda genisteinin vasküler etkilerini damar endotelinden salınan güçlü bir vazodilatör olan NO aracılığı ile gösterdiği bilinmektedir, ADMA nitrik oksit sentaz (NOS)' ların endojen bir inhibitörüdür. Bundan dolayı genisteinin NOS inhibitörü olan ADMA düzeyini düşürmesi beklenir ve özellikle kardiovasküler sistem üzerine önemli biyolojik etkiler yapabileceği düşünülmüştür. Bu bilgilerden yola çıkarak sağlıklı postmenopozal kadınlarda genisteinin ADMA düzeylerine etkisini araştırdık.

MATERYAL VE METOD

Fatih Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Menopoz Kliniğine Temmuz 2006 - Eylül 2007 tarihleri arasında başvuran 74 postmenopozal kadın çalışmaya dahil edildi. Çalışma prospektif ve vaka kontrollü olarak planlandı.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- 1-7 yıl arasında menopoz süresi
- Hormon veya fitoöstrojen kullanılmaması veya en az 3 ay ara vermiş olması
- Cerrahi menopoz olmaması
- Ciddi bir sağlık problemi olmaması
- PAP smear sonuçlarının negatif olması
- Bilateral mamografide patoloji saptanmamış olması
- Ailede kalp hastalığı öyküsü olmaması
- Hikayesinde HT'nin kontrendike olduğu akut tromboemboli, geçirilmiş MI vb hastalıklar olmaması

Çalışmaya toplam 74 hasta ile başlandı ancak bu hastalardan on dördü başlangıç kan örneklerini tamamlamadığı için çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 60 hastanın otuzikisine 50 mg/gün genistein (Gynogen tablet, Mikro-gen İlaç San. Tic. Ltd. Şti.) başlandı (Grup I). Genistein tablet kullanmayı kabul etmeyen 28 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya alındı (Grup II). Çalışma başlangıcında tüm kadınlar Helsinki Deklarasyonuna uygun şekilde bilgilendirilerek, yazılı onam formu imzalatıldı. Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesinden çalışma onayı alındı.

Genistein tablet başlanan 32 kadından onbiri çalışmadan çıkartıldı. Bunlardan dokuzu ilaçlarını düzenli kullanmadığı için, bir hastada tedaviye başladıktan sonra flebit gelişmesi ve diğer bir hastada ise şiddetli baş dönmelerinin olması nedeniyle ilaç kesildiği için çalışma dışı kaldılar. Kontrol grubuna dâhil edilen 28 kadının onbiri şehir dışında olduğu için 6. ay kontrolüne gelmedi ve çalışma dışı kaldı. 38 hasta ile çalışma sonlandırıldı (Grup I=21 hasta, Grup II=17 hasta). Hastaların yaş, menopoz süreleri, eğitim durumu, sigara, diyet ve egzersiz alışkanlıkları, diabet,

hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve tiroid hastalıkları gibi kronik rahatsızlıkları ve ailede kalp hastalığı öyküleri sorularak kaydedildi. Hastaların genel fizik ve jinekolojik muayeneleri yapıldı. Hastaların boy ve kiloları ölçülerek vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplandı, kan basıncı ölçülerek kaydedildi.

Her iki grup hastadan ilk başvuruda ve 6 aylık tedavi sonrasında kan numuneleri alındı. Kanlar en az 10 saat açlıktan sonra antekübital fossadan düz tüplere alındı. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumlar saklama tüplerine ayrılarak -20°C'de analiz gününe kadar saklandı. Çalışma günü kanlar çözüldükten sonra ADMA ELİSA kit (İmmundiagnostik AG, Germany), ile Dynex ELİSA cihazında (Dynex Technologies, Inc., Chantilly, VA, USA) ADMA çalışıldı. Sonuçlar pmol/l cinsinden ifade edildi.

İstatiksel analiz SPSS versiyon v11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı. İstatiksel analiz için Ki kare, bağımlı ve bağımlı olmayan gruplarda Student's t testi kullanıldı. % 95 güvenlik aralığında $p < 0.05$ değeri istatiksel anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmayı 38 kadın tamamladı. Genistein grubunun (Grup I, n=21) yaş ortalaması 53 ± 3.6 yaş, ortalama menopoz yaşı 50 ± 3.05 yaş ve menopoz süresi 2 ± 1.92 yıl iken, kontrol grubunun (Grup II, n=17) yaş ortalaması 51 ± 4.01 yaş, menopoz yaşı 48 ± 2.3 yaş ve menopoz süresi 2 ± 2.37 yıl idi ve her iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo I: Genistein ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	Grup I (n=21)	Grup II (n=17)	P
YAŞ	53 ± 3.60	51 ± 4.01	>0.05
KİLO	67 ± 12	69 ± 9	>0.05
GRAVİDA	2 ± 2.04	3 ± 2.42	>0.05
PARİTE	1 ± 1.41	2 ± 1.02	>0.05
MENARŞ YAŞI	13 ± 1.09	13 ± 1.09	>0.05
MENOPOZ YAŞI	50 ± 3.05	48 ± 2.99	>0.05
MENOPOZ SÜRESİ	2 ± 1.92	2 ± 2.37	>0.05

Sigara kullanımına göre gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte genistein grubunda ≥ 5 adet/gün sigara kullanma oranı (% 14.2) kontrol grubundan (% 11.7) daha yüksek idi ($p>0.05$).

Tablo II: Sigara kullanımına göre grupların dağılımı

SİGARA	İÇMİYOR		<5 adet/gün		≥ 5 adet/gün	
GENİSTEİN (n=21)	15	% 71.4	3	% 14.2	3	% 14.2
KONTROL (n=17)	12	% 70.6	3	% 17.6	2	% 11.7

Egzersiz yapma oranlarına göre gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte genistein grubunda yeterli egzersiz yapma oranı (% 38) kontrol grubundan (% 23.5) daha yüksek idi ($p>0.05$).

Tablo III: Egzersiz yapma oranlarına göre grupların dağılımı

EGZERSİZ	YAPMIYOR		YETERSİZ		YETERLİ	
GENİSTEİN (n=21)	9	% 42.8	4	% 19	8	% 38
KONTROL (n=17)	8	% 47	5	% 29.4	4	% 23.5

Eğitim durumlarına göre grupların dağılımı incelendiğinde genistein grubunda eğitim düzeyi anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0.05$). (Grup I:% 57.1;Grup II: %17.6).

Tablo IV: Eğitim durumlarına göre grupların dağılımı

EĞİTİM DURUMU	İLK		ORTA		YÜKSEK	
GENİSTEİN (n=21)	4	% 19	5	% 23.8	12	% 57.1
KONTROL (n=17)	4	% 23.5	10	% 58.8	3	% 17.6

İlave sistemik patolojilerin sorgusunda genistein grubunda 1 kadında nefrolithiazis, 3 kadında tiroid patolojisi ve 4 kadında hipertansiyon (ilaçla kontrol altında), kontrol grubunda 2 kadında tiroid patolojisi, 3 kadında hipertansiyon (ilaçla kontrol altında) vardı ve iki grup arasında fark bulunmadı. Aile öyküsü sorgulandığında genistein grubunda 4, kontrol grubunda ise 2 kadında 1. derece yakınlarında kalp hastalığı vardı ve iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

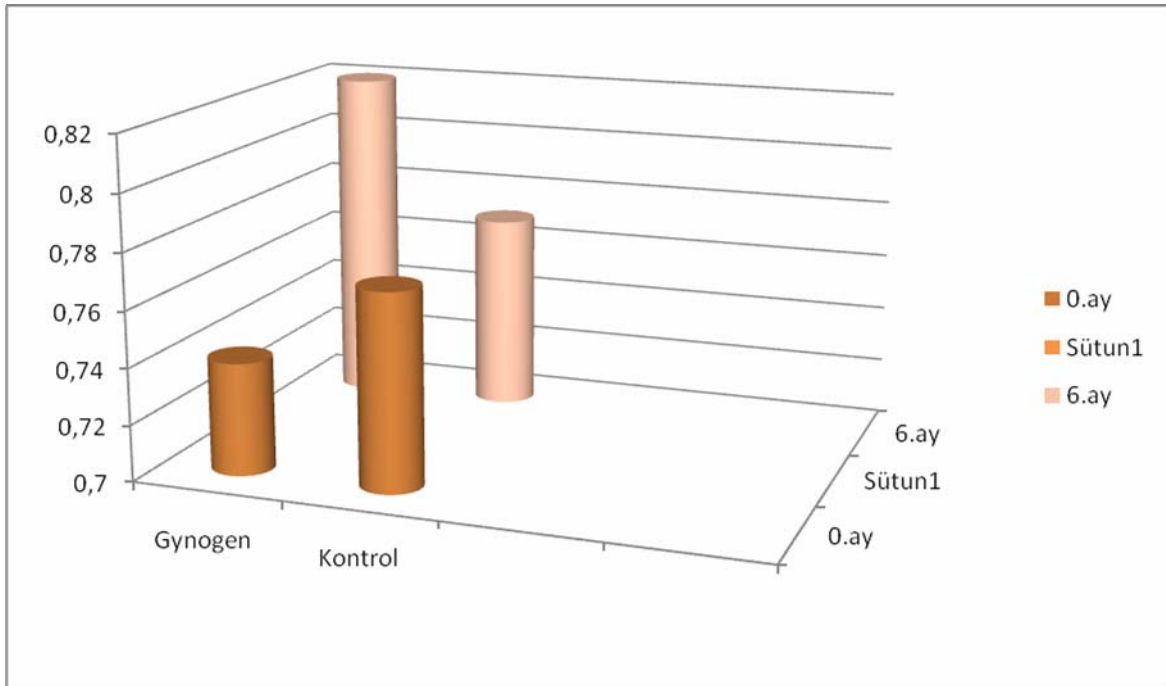
Tablo V: Grupların sistemik hastalık ve ailede kalp hastalığı öyküsünün karşılaştırılması

			GENİSTEİN (n=21)		KONTROL (n=17)	
			n	%	n	%
SİSTEMİK	YOK		13	62	12	71
HASTALIK	VAR		8	38	5	30
AİLEDE	KALP	YOK	17	81	15	89
HASTALIĞI	VAR		4	19	2	12

Her iki grup ADMA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Çalışma başlangıcında genistein grubunda ADMA düzeyi (0.74 ± 0.10), kontrol grubundan (0.77 ± 0.09) daha düşük iken ($p=0.44$) çalışma bitiminde genistein grubunda ADMA düzeyi (0.82 ± 0.14), kontrol grubundan (0.77 ± 0.07) daha yüksek bulundu ($p=0.26$). Kontrol grubunda başlangıç (0.77 ± 0.09) ve 6 ay sonrasında (0.77 ± 0.07) ADMA düzeylerinde bir değişiklik olmadı ($p=0.795$). Genistein grubunda ise ilginç olarak tedavi başlangıcındaki (0.74 ± 0.10) düşük ADMA düzeyi tedavi sonrasında (0.82 ± 0.14) daha yüksek bulundu ($p=0,058$).

Tablo VI: Başlangıç ve 6. ay ADMA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı

	GENİSTEİN	KONTROL	P
0.AY	$0,74 \pm 0,10$	$0,77 \pm 0,09$	0,44
6.AY	$0,82 \pm 0,14$	$0,77 \pm 0,07$	0,26
P	$p=0,058$	0.795	



Şekil I: Başlangıç ve 6. ay ADMA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı

TARTIŞMA

Ateroskleroz potogenezindeki, dolaşımdaki lipit profilinde bozulma, LDL oksidasyonu ile mmLDL oluşumu, makrofaj ve monositlerin kemotaksisi, makrofaj hareketliliğinin inhibe olarak intima tabakasında birikmesi, köpük hücrelerinin oluşumu, NO, PGI₂ üretimini etkileyen endotel hasarı, damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu basamaklarından her birinin östrojen ile pozitif yönde etkilendiği gösterilmiş, östrojene bağlı kardiovasküler koruyucu etki bu mekanizmalara bağlanmıştır.

Östrojen hiperkolesterolemi varlığında endotel fonksiyonlarını korur, LDL nin okside olmasını engeller ve okside olmuş LDL nin endotel üzerindeki toksik etkilerine karşı koruyucudur. Östrojenin bu basamaklar içinde etkilediği en önemli basamak vazodilatör ve antitrombotik aktivitelere sahip NO ve PGI₂ gibi mediyatörlerin üretimini pozitif yönde etkilemesidir.

Moini ve ark.(216) östrojenin endotel hücre kültürlerinde, hücre içi kalsiyum düzeylerini, NOS enzimini aktive edecek düzeyde artırdığını gösterdiler. Aynı şekilde Stefano ve ark.(217) fizyolojik dozda östrojenin Ca²⁺ artışına yol açarak NO salımını artırdığını gösterdi ve bu etkinin hücre yüzeyindeki östrojen reseptörleri aracılığıyla ile olduğu kanaatine vardılar. Hishikawa ve ark. (218) tarafından yapılan çalışma sonucunda kronik östrojen uygulamasının NO' i sentezleyen NOS geninin transkripsiyonunu artırdığı bildirildi. Van Buren ve ark.(219) tarafından yapılan çalışmada östrojenin neden olduğu vazodilatasyonunun NOS inhibitörleri ile antagonize edilebildiği bildirildi. Postmenopozal kadınlarda kombine EPT rejimlerinin NO seviyesini artırdığı gösterildi (220, 221).

NO sadece vazodilatör etkiye sahip değil aynı zamanda da vasküler hastalığın gelişiminde önemli olan lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu ve damar düz kas hücre proliferasyonunu gibi önemli mekanizmalarda öncül rol almaktadır. Öte yandan NO yolağı üzerine ise en etkin molekül olarak ADMA' yı gözlemliyoruz. ADMA plazmada dolaşan, hücre ve dokularda bulunan, doğal bir aminoasit olup Vallance ve ark.(109) ADMA' yı 1992' de nitrik oksit sentazın endojen bir inhibitörü olarak tanımlanmasının ardından endotel fonksiyon üzerindeki rolü gün geçtikçe dikkatleri üzerine çekmektedir. İnsan ve hayvan modellerindeki çalışmalarda vasküler hastalıkların henüz klinik olarak belirti vermeden ADMA seviyelerini artırdığı ileri sürüldü. Bundan başka birçok klinik çalışma artmış ADMA seviyeleri ile vasküler hastalıkların klinik göstergeleri arasında bir ilişki kurdular. Miyazaki ve ark.(137) ADMA seviyelerinin koroner ve periferel arter hastalığı olmayan 116 olguda yaş, ortalama arteryal basınç ve glukoz toleransı ile korele olduğunu buldular. En ilginç olanı ADMA düzeylerinin karotit arterin intima-media kalınlığı ile korele olduğudur. İleri yaş ve yüksek ADMA seviyeleri kardiovasküler hastalık ve mortalitenin en güçlü habercisi olarak bulundu (128).

Valkonen ve ark.(136) 150 orta yaşlı sigara içmeyen kişiyi içeren vaka-kontrol çalışmasında yüksek ADMA seviyeleri olanlarda akut koroner olay risk artışını 3.9 kat buldular. Sonuçta ADMA molekülü aterosklerozun kritik aşamaları ile yakın ilişkili görülmektedir. Yapılan tüm çalışmalarda ADMA molekülünün temel olarak kalp ve damar sisteminin sağlığını olumsuz yönde etkilediği ve ADMA' nın yeni bir kardiovasküler risk faktörü olduğu hipotezini desteklemektedir.

Menopozal geçiş süresindeki kadınlarda ADMA' nın plazma konsantrasyonu hakkındaki bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada (222) KVH' ı olan 33 kadında (ortalama yaş 58) ve KVH' ı olmayan 17 kadında (ortalama yaş 54) endojen östradiol konsantrasyonları analiz edildi. Multipl lineer regresyon analizi sonucunda ADMA konsantrasyonlarının endojen östrojen konsantrasyonu ile ters olarak ilişkili olduğu bulundu. Teerlink ve ark.(223) ilk olarak 2003 yılında ERT nin NO sentezini arttırarak kardiovasküler risk profilinde olumlu değişiklikler yaptığı fikrinden yola çıkarak, NOS inhibitörü olan ADMA' yı düşürüp düşürmediğini araştırdılar. Randomize çift kör çalışma planında, 40 histerektomize postmenopozal kadın konjuge ekin östrojen (CEE; 0.625 mg/gün; n =14), SERM raloksifen (150 mg/gün; n =13) veya plasebo (n =13) kullandılar. Toplam 24 aylık çalışma sonunda ADMA seviyesinde en belirgin etki KEE grubunda izlenirken (-7.8% (95% CI -12.8 % -2.9 %; P =0.003) raloksifen grubunda anlamlı bir etki izlemediler (P=0.50). Post ve ark.(224) ise 17 β östradiolün ADMA üzerindeki etkisini araştırdılar. Sağlıklı postmenopozal kadınlarda yapılan prospektif, randomize plasebo kontrollü çalışmada karşılanmamış oral 2 mg 17 β östradiolün 12 haftalık tedavi sonrasında NOS inhibitörü ADMA nın plazma seviyelerini düşürdüğünü buldular [-%5.2 (% 95 CI, -% 11.3 %0.8)].

Oral ve transdermal östrojenin ADMA üzerindeki etkisini kıyaslayan randomize, plasebo kontrollü çalışmada oral östrojen daha etkili bulundu [Transdermal 17 β östradiol, -4.0% (95% CI, -7.5 -0.6%), oral mikronize 17 β östradiol -7.7% (95% CI, -10.9 -4.4%), gestadon ile kombine 17 β östradiol -7.5% (95% CI, -10.8 -4.3%)] (225). Karşılanmamış veya gestadon ile kombine edilen 1mg oral 17 β östradiol plaseboyla kıyaslandığı zaman ADMA konsantrasyonlarındaki ortalama azalış oranı (\approx 7), 2 mg oral 17 β östradiol (\approx 5) ve 0.625 mg oral KEE (\approx 7) ile tedavi sonrasında erken dönemde bulunan azalma ile benzerdi. Yakın zamanlarda hem ratlarda hem de insanlarda ADMA' nın eliminasyonunda karaciğerin önemli bir rol oynadığı gösterildi. Oral östrojenlerden farklı olarak transdermal östrojenler karaciğerden ilk geçiş etkisini atlayarak direk sistemik dolaşıma geçerler. Oral tedavi ve transdermal arasındaki fark; karaciğerin ADMA eliminasyonundaki kritik rol oynaması ve HT nin DDAH aktivitesini uyarmasından dolayıdır.

Postmenopozal kadınlarda intranasal ve oral 17 β östradiol NETA kombinasyonunun ADMA üzerindeki etkisini karşılaştırmak için düzenlenen iki merkezli, randomize çift kör çalışmada (yaş

56.6+/-4.7 yıl), 1 yıl sonrasında oral tedavi ile ADMA konsantrasyonları azalırken, intranasal östrojenin hiçbir katkısı olmadığı tespit edildi (-7.4%; 95% CI -10.4 to -4.4%, -0.8%; 95% CI -3.7 to 2.1%) (226).

Verhoeven ve ark.(227) yaptıkları başka bir çalışmada selektif östrojen reseptör modülatörü HMR 3339' un farklı dozlarını, raloksifen ve plaseboyla kıyaslayarak ADMA üzerindeki etkisini araştırdılar ve HMR 3339'un yüksek dozlarda ADMA' yı azaltıcı etkisini daha fazla buldular. Raloksifenin ise ADMA üzerinde tespit edilen herhangi bir etkisi bulunmadı.

Bu çalışmada 6 aylık 50mg/gün genistein tedavisi sonrası ADMA düzeyinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). ADMA düzeyi genistein grubunda (0.82 ± 0.14), kontrol grubundan (0.77 ± 0.07) daha yüksek idi. Kontrol grubunda başlangıç (0.77 ± 0.09) ve 6 ay sonrasında (0.77 ± 0.07) ADMA düzeylerinde bir değişiklik olmadı ($p=0.795$). Genistein grubunda ise ilginç olarak tedavi başlangıcındaki (0.74 ± 0.10) düşük ADMA düzeyi tedavi sonrasında (0.82 ± 0.14) daha yüksek bulundu ($p=0.058$). Bizim sonuçlarımızla korele olarak literatürde fitoöstrojen ve ADMA ilişkisini inceleyen iki çalışma mevcuttur.

Reimann ve ark.(228) sağlıklı postmenopozal kadınlara soya isoflavonlarının ADMA üzerinde etkisini araştırdığı çok merkezli, çift kör çapraz karşılaştırmalı çalışmada 8 hafta süre soya isoflavanı içeren ve içermeyen tahıllar (50 mg/dl) verildi. İkinci ay sonunda her iki grupta başlangıca göre plazma total homosistein ve ADMA üzerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Verhoeven ve ark.(229) çift kör randomize plasebo kontrollü çalışmasında 124 postmenopozal kadında soya isoflavonu ve *Actaea racemosa L.* in total serum kolesterol, LDL düzeylerinde bir miktar azalmaya neden olduğunu bununla birlikte ADMA, trigliserid, lipoprotein(a) ve CRP düzeylerini değiştirmediğini saptadılar.

Her ne kadar genisteinin östrojen reseptörlerine bağlanarak ADMA seviyesini azaltacağı hipotezi ile bu çalışmaya başlamış olsak da, genistein' in kardiovasküler risk faktörü olan ADMA üzerinde olumlu etkisini gösteremedik. Bu durum tedavinin süresi, çalışmaya aldığımız bireylerin kardiyovasküler risk durumu, fitoöstrojenlerin barsak metabolizmalarındaki bireysel ve toplumsal farklılıkları ve çalışma popülasyonumuzun sayısal yetersizliğinden kaynaklanabilir. 6 aylık period uzun bir süre gibi görülsede hormonal tedavilerin başarısı için bazen daha uzun süreler gerekebilir.

Sağlıklı kadın ve erkeklerde yapılan çalışmalarda fitoöstrojenlerin (50 mg. ve 80 mg. isoflavon/gün) lipitler üzerine ya da brakial vazodilatasyon üzerine etkileri bulunmadığı (208, 209) ve etkili olabilmesi için LDL kolesterolün 130 mg/dl den yüksek olması gerektiğı tezi öne sürüldü. Aynı

durum ADMA için de geçerli olabilir. Çalışmaya dâhil ettiğimiz populasyon kardiovasküler hastalık riski taşımayan, sağlıklı postmenopozal kadınlardan oluşuyordu. Genistein belkide kardiovasküler risk taşıyan, yani başlangıçta yüksek ADMA değerleri olan kişilerde daha fazla etkili; ne yazık ki henüz literatüde bu soruya cevap verecek şekilde düzenlenmiş bir çalışma mevcut değil.

Birçok fitoöstrojende olduğu gibi genistein'in barsaktaki metabolizması da bireysel ve toplumsal farklılıklar gösterebilir bu da sonuçları etkileyebilir.

Bu çalışmayı kısıtlayan nedenlerden biri de hasta sayımızın az olmasıdır. Çalışmaya toplam 38 hasta dâhil edildi (Grup I=21 hasta, Grup II=17 hasta). Hasta sayımız arttırıldığında daha farklı sonuçlar elde edebiliriz.

Fitoöstrojenlerin kardiovasküler belirteçler üzerindeki etkisini araştıran daha geniş ve çok parametrelili randomize ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

1. Her hangi bir tedavi almayan postmenapozal kadınlarda 6 aylık takipte ADMA düzeyleri benzer bulundu.
2. Genistein tedavisi alan kadınlarda 6. ayın sonunda ADMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamı olmayan bir artış bulundu.

ÖZET

AMAÇ: Bu tezin amacı postmenopozal kadınlarda genistein tedavisinin nitrik oksit sentazın Asimetrik dimetilarjinin üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD: Fatih Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na Temmuz 2006 - Eylül 2007 tarihleri arasında başvuran 74 sağlıklı postmenopozal kadın çalışmaya dahil edildi. Çalışma prospektif ve vaka-kontrollü olarak planlandı. 38 hasta ile çalışma sonlandırıldı (Grup I=21 hasta, Grup II=17 hasta). Çalışma başlangıcında ve 6. ayda ADMA düzeylerine bakılarak hem gruplar arası hemde grup içi karşılaştırmalar yapıldı.

BULGULAR: Çalışma başlangıcındaki genistein ve kontrol grubunda ADMA seviyeleri sırasıyla 0.74 ± 0.10 ve 0.77 ± 0.09 idi. Çalışma bitiminde ise genistein ve kontrol grubunda ADMA seviyeleri sırasıyla 0.82 ± 0.14 ve 0.77 ± 0.07 idi. Her iki grup ADMA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Çalışma ve kontrol grubunda grup içi karşılaştırma yapıldığında (tedavi başlangıcı ve sonunda) ADMA seviyeleri kontrol grubunda benzerken, genistein grubunda ADMA seviyelerinde az ama beklenmeyen bir artış gözlemlendi fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

SONUÇ: Sağlıklı postmenopozal kadınlarda 6 aylık genistein tedavisinin kan ADMA düzeylerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi yoktur.

ANAHTAR KELİMELELER: Asimetrik dimetilarjinin, Genistein, Menopoz, Kardiovasküler Hastalık

SUMMARY

OBJECTIVE: This research work to investigate the effects of genistein therapy on asymmetric dimethylarginine in postmenopausal women.

MATERIAL AND METHODS: The study was conducted at the Fatih University Hospital, Department of Gynecology and Obstetrics where postmenopausal women recruited from July 2006 to September 2007. Seventy four healthy postmenopausal women were enrolled in this prospective and case-control study. The study was ended up with 38 patients. (Group I =21 patients, Group II = 17 patients). Levels of ADMA measured at baseline, and 6 months. Intergroup and intragroup comparison was made.

RESULTS: At the beginning of the study (baseline), ADMA level in genistein group and control group were 0.74 ± 0.10 and 0.77 ± 0.09 respectively. At the end of the study, ADMA level in genistein group and control group were 0.82 ± 0.14 and 0.77 ± 0.07 respectively. There were no statistically significant differences in ADMA levels between the two groups, due to concomitant genistein use ($p>0.05$). When intragroup comparison was made both in study and control group (before and after genistein treatment) ADMA levels of control group were found similar, on the other hand ADMA level's in genistein group showed a small, unexpected increase but it was not statistically significant.

CONCLUSIONS: In healthy postmenopausal women, 6 month genistein treatment has no statistically effect on plasma ADMA levels.

KEY WORDS: Asymmetric dimethylarginine, Genistein, Menopause, Cardiovascular disease

KAYNAKLAR

1. Anthony MS, Clarkson TB, Williams JK. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 68:1390S, 1998.
2. Food and Drug Administration. Food labeling, health claims, soy protein and coronary hearth disease. 1999, Fed. Regist. 57: 699-733
3. Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 73:225-31, 2001
4. Ertüngealp E, Seyisoğlu H. Menopoz ve osteoporoz. Ulusal menopoz ve Osteoporoz Derneği, İstanbul, 2000; s:28.
5. Ertüngealp E, Seyisoğlu H editör. Klimakterium ve Menopoz. Kişnişçi, Gökşin, Durukan, Üstay, Ayhan, Gürgan, Önderoğlu. Temel Kadın Hast. ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi; 1996; s: 1319 – 1351.
6. Research on the menopause in the 1990s. Report of a WHO Scientific Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1996;866:1-107
7. Koster A. Change-of-life anticipations, attitudes and experiences among middle-aged Danish women. *Health Care Women Int* 1991;12: 1-6
8. Wallach E, Zacur HA. Menopause Overview. *Reproductive Medicine and Surgery*, Mosby-Year Book, New York 1995, pp 969-981.
9. Utian HW. Overview on menopause. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1280-3
10. Türkiye Menopoz ve Osteoporoz Derneği ve Türkiye Jinekoloji Obstetrik Derneği:'Hormon Replasman Tedavisi 'Konsensus Sonuçları 2002:1-4
11. T.C. Sağlık Bakanlığı, Hacettepe Üniversitesi Nüfus Edütleri Enstitüsü. Macro International Inc. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması, Ankara 1993-1994.
12. Gezer A,Şentürk L,Ertüngealp E. Menopoz ve postmenopoz.In :Çiçek M, Akyürek C, Çelik Ç(Ed). Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi Ankara, Güneş Kitabevi; 2004:1163- 80
13. Speroff. L, Menopause and Postmenapausal Hormone therapy. In: Glass RH, Kasa NG,Speroff L(Eds).Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.5th ed.Baltimore, Williams and Wilkins;1996:583-649
14. Hammond CB. Climacteric. In: Scott JR, Disoio PJ, Hammond CB, Spellacy WN (Eds). *Danforhs Obstetrics and Gynecology.* 7th ed. Philadelphia, J.B. Lippincott Co.; 1994; p:771-789.
15. Yıldırım A. Menopozda Oluşan Fizyolojik Değişiklikler. İn: Hassa H (Ed). *Klinik Menopoz.* İstanbul, Orgonan Yayınları; 1996; p: 1-12.
16. Copeland, Lany. *Textbook of Gynecology*, Sounders Company 1993; 33:619-640
17. Griffin BP, Topol EJ. *Manual of Cardiovascular Medicine.* Lippincott Williams & Wilkins, 2th Edition, 525:540:545:550-555, USA, 2004.
18. Mosca L, Manson İE., Sutherland SE., et al: Cardiovascular disease in women. *Circulation*, 96: 2468, 1997.
19. Yang NN, Bryant HU, Hardikar S. Estrogen and raloxifene simulate transforming growth factor-Beta 3 gene expression in rat Bone; a potancial mechanism for estrogen of reloxifene mediated bone maintenance. *Endocrinology* 1996; 137: 2075-2084.
20. Roger VL., Jacobsen SJ., Weston SA., et al: Trends in Heart Disease Deaths in Olmstead Country Minesota. 1979-1994, *Mayo Clin proc* 74:651, 1999.
21. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis prone regions. *Circulation* 1992; 85:391-405.
22. Stary HC, *Atlas of atherosclerosis progression and regression.* 2.ed. New York: The Partheonon Pulishing Group; 2003.p.13-5.
23. Vallace P. Vascular endothelium, its physiology and pathophysiology. In: Weatherall DJ et al. *Oxford Text Book of Medicine*, 3.ed. Oxford, UK: Oxford Medical Publications; 1996;2: 2295-300.
24. Kültürsay H. Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Korunma; Argos Yayınları, İstanbul, s.31-61, 2001
25. Tokgözü L. Ateroskleroz Patogenezi. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz Dergisi. Tokgözü L ed. Argos İletişim Hizmetleri, İstanbul 2002: 22-27.

26. Vane JR, Anggard EE. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. Eng. J. Med*, 323: 27-36,1990
27. Anderson TJ, Gerhard MD, Merdith IT, Charbonneau F, Delagrance D, Creager MA, Selwyn A.P, Ganz P: Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am. J. Card.* 75:71B-74B,1995
28. Veszelovsky E. Holford NH, Thomsen LL, Knowles RG, Baguley BC. Plasman nitrate clearance in mice<. Modelling of the systemic production of nitrate following the induction of nitric oxide synthesis. *Cancer Chemother Pharmacol*:36:155-159,1995.
29. Nathan C: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Foseb J*; 63051-3064,1992.
30. Karatas Y. Endotel ve nitrik oksid. San M, ed. Yaşamin gizli gücü Endotel ve Sistemlerimiz. 1.baskı İstanbul Printas Basım; 2005.p.33-50.
31. Vanhoutte PM, Perrault LP, Vilaine JP. Endothelial dysfunction and vascular disease. The endothelium and clinical practice. Eds. Gabor M Rubanyi, Victor J. Dzau, Marcel Dekker Inc, NY,1997.
32. Webb D, Vallance P. Endothelial function in hypertension. Nitric oxide and hypertension: Physiology and pathophysiology. Eds. Vallance P, Moncada S.Springer, NY, 1997.
33. Baron A.D: Vascular reactivity. *Am. J. Card.*,84: 25J-27J,1999
34. Öngen Z, Yılmaz Y. Aterosklerozun Patogenezi. Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Koruma 2001. Kültürsay H(ed). Argos İletişim Hizmetleri, İstanbul 2001:31-66.
35. Farugi RM, Di Corleto PE. Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *BHJ* 1993;69:19-29.
36. Henn V, Shinsky JR, Grafe M, et al. CD 40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cell. *Nature* 1998; 391:591-4.
37. Salonen JT, Yla Hertkuala S, Yamamoto R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992;339:883-7.
38. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
39. Moncada S. Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochemical Pharmacol*:38 (11):1709-1715,1989
40. Boger RH, Bode-Boger SM. asymmetrical dimethyl arginine, derangements of the endothelial nitric oxide synthase pathway, and cardiovascular diseases. *Semin Thromb Hemost* 26:539-545,2000
41. Lentz AR, Rodionov RN, Dayal S Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. *Atheroscler Suppl*;4: 61-65,2003
42. Camejo G, Hurt-Camejo E, Olsson U, Bondjers G. Proteoglycans and lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1993;4: 385-391.
43. Steinberg D.Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 1997; 95 :1062-71.
44. Parthasarathy S.Low density lipoproteins in atherogenesis. In Wilson PWF. Atlas of atherosclerosis.2nd ed.Current Medicine, Philadelphia 2000;91-109.
45. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983;52: 223-261.
46. Geng YJ, Hansson GK. Interferon-g inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest* 1992;89:1 322-1330.
47. Tontonoz P, Naggy L, Alvarez JGA, T homazy VA, Evans RM. PPARg promotes monocytes/macrophages differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 1998;93:241-252.
48. Davies MJ, Richardson PD,Woofl N,Katz DR,Mann J.Risk of thrombosisin human atherosclerotic plaques:Role of extrasellüler lipid, macrophage and smooth muscle cell content. *BHJ* 1993;69:377-81.
49. Ball RY, Stower EC, Burton JH, Cary NR. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis* 1995;114:45-54.
50. Atlas of Coroner Artery Disease, Lippincott - Publishers Türkçesi Yelkovan Yayıncılık 2000; Sayfa 23-54
51. Raines EW, Ross R. Smooth muscle cell and pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *BHJ* 1993; 69:30-7.
52. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. Braunwald E.Heart Disease. 5.ed. Philadelphia: WB Saunders; 1997.p.1105-25.
53. Basic Pathology, Kumar, Cotran, Robbins Türkçesi, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. Temmuz 2000. Sayfa 283-289

54. Jackson CM, Nemerson Y. Blood coagulation. *Annu Rev Biochem.* 1980; 49: 765
55. Heldin CH, Westermark B, Wasteson A. Platelet-derived growth factor, purification and partial characterization. *Proc Natl Acad Sci* 1979; 76: 3722-3726
56. Majerus PW, Miletich JP, Kane WP, et al. The formation of thrombus platelet surface. In Mann KG, Taylor FB Jr eds. *The regulation of coagulation.* New York: Elsevier 1980; 215
57. Weissberg PL, Rudd JHD. Atherosclerotic biology and epidemiology of disease. *Topol Textbook Of Cardiovascular Medicine*, 2004:1-24.
58. Van Der Wal A, Becker AE. Atherosclerotic plaque rupture – pathologic basis of plaque stability and instability. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 334-344
59. Higginbottom MB., Morris KG., Coleman RE., Cobb FR.: Sex related differences in the normal cardiac response to upright exercise. *Circulation*, 7:33:62:70, 1984.
60. Khaw KT: Where are the women in studies of coronary heart disease. *Br Med J*, 306 1145– 6, 1993
61. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02-5215 September 2002
62. Millers VT: Lipids, lipoproteins, women and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 108 573, 1994.
63. Levenson AS, Jordan VS. The key to antiestrogenic mechanism of raloxifene is amino acid 351(aspartate) in the estrogen receptor. *Cancer Res* 1998;58(9): 1872-1875.
64. La Rosa JC: Triglycerids and coronary risk in women and the elderly. *Intern Med* 157:961, 1997.
65. Summary of the second report of the national cholesterol education programme (NCEP). *JAMA*, 269:3015, 1993.
66. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, et al: Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Eng J Med*, 325:1196 – 1204, 1991.
67. Darlin GM, Johns JA, McCloud PI, Davis SR: Estrogen and progestin compared with simvastatin for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *N Eng J Med*, 337:595, 1997.
68. Kok KK, Cardilla C, Bui Mn, et al: Vascular effects of cholesterol lowering therapies in hypercholesterolemic post menopausal women. *Circulation* 99:354, 1999.
69. Herrington DM., Werbel DC., Riley WA., et al: Individual and combined effects of estrogen / progestin and therapy and lovastatin lipids and flow mediated vasodilation of menopausal with coronary artery disease. *Jam Coll Cardiol*, 332 030, 1999.
70. Walsh BW, Kuller Lh, Wild RA, et al: Effects of raloxifene on serum lipids and coagulation factors in healthy postmenopausal women. *JAMA*, 279:1445, 1998.
71. Potter SM, Baum JA, Teng H, et al: Soy Protein And Isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 68:13775, 1998.
72. Wagner JD, Cefalu WT, Anthony MS, et al: Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardiovascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Metabolism* 46:698, 1997.
73. Bittner V, Oparil S: Hypertension in douglas PS (ed): *Cardiovascular health and disease in women.* Philadelphia, WB Saunders, 63, 1993.
74. Yang NN, Bryant HU, Hardikar S. Estrogen and raloxifene simulate transforming growth factor-Beta 3 gene expression in rat Bone; a potancial mechanism for estrogen of reloxifene mediated bone maintenance. *Endocrinology* 1996; 137: 2075-2084.
75. Hayes SN, Taler SJ: Hypertension in women: Current understanding of gender differences. *Mayo Clin proc*, 73:157, 1998.
76. Griffin BP, Topol EJ: *Manual of Cardiovascular Medicine.* Lippincott Williams & Wilkins, p:482, USA, 2000
77. Manson SE, Colditz GA, Stamdfers et al: A prospective study of maturity onset diabetes mellitus and risk of kah and stroke in women. *Arch Intern Med*, 151:1141 – 7, 1991.
78. Diabetic control and complications trial research group, the effect of intensive treatment of on development of the progression of longterm complications in insulin dependent diabetic mellitus. *N Eng J Med*, 329:977, 1993.
79. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. 15th Edition. Sayfa: 1377-1387

80. Sowers JR: Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease in women. *Arch Intern Med*, 158:617, 1998.
81. Parish S, Collins R.: Petoral cigarette smoking tar yields and nonfatal MI 10.000 Cases And 32.600 Controls in UK. *Br Med J*, 311:471 – 7, 1995.
82. Roserberg L., Palmer JR, Shapiro S.: Declinc in the risk of MI among women who stop smoking. *N Eng J Med*, 322 213 – 17, 1990.
83. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: Obesity as a major risk factor. *Circulation* 1998; 97: 2099.
84. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. Dieting and the development of eating disorders in overweight and obese adults. *Arch Int Med* 2000;160: 2581-9.
85. Onat A, Şenocak M. Obesity in Turkish adults: prevalence, validity as a coronary risk factor and interrelation with other risk factors. *Int J Ang* 1995; 4: 94-8.
86. Joint National Committee on Prevention, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7 Report). National Institutes of Health; National Heart, Lung and Blood Institute. *JAMA* 2003; 289: 2560-2572.
87. Van den Hoogen PCW, Feskens EJM, Jaglekerke NJD. The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. *N Eng J Med* 2000; 342: 1.
88. Calle EE, Thun MJ, Petrilli JM, et al. Body- mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Eng J Med* 1999; 341: 1097.
89. Alpert JS, Flinn RS, Flinn IP. So what's wrong with being fat? *Eur Heart J* 2001; 22: 10-1.
90. Andersen RE, Wadden TA, Bartlett SJ et al. Relation of weight loss to changes in serum lipids and lipoproteins in obese women. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 350-7.
91. Toole MC.: Exercise and physical activity in douglas PS (ed) *Cardiovascular health and disease in women*. Philadelphia, WB Saunders, 253, 1993.
92. Scholler DA, Shay K, Kushner RF: How much physical activity is needed to minimize weight gain in previously obese women? *Am J Clin Nutr* 1997;66:239-46.
93. Williams PT: High-density lipoprotein cholesterol and other risk factors for coronary heart disease in female runners. *N Eng J Med* 1996;334:1298-1303.
94. Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger RD. Jr: Physical activity and reduced occurence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1991;325:147-52.
95. Kelley GA, Kelley KS: Progressive resistance exercise and resting blood pressure: a meta- analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 2000;35:838-43.
96. Chakravarthy MV, Joyner MJ, Booth FW: An obligation for primary care physicians to prescribe physical activity to sedantary patients to reduce the risk of chronic health conditions. *Mayo Clin Proc* 2002;77:165-73.
97. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, et al: Effect of exercise on coronary endotelial function in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med* 2000;342:454-60.
98. Stratton JR, Chandler WL, Schwartz RS, et al: Effects of physical conditioning on fibrinolytic variables and fibrinogen in young and old healthy adults. *Circulation* 1991;83:1692-7.
99. Hurt's The Heart. Valentin Fuster, R. Wayne Alexander, Robert O'Rourke. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 1. Basım. 2002 Sayfa, 1065-1109.
100. İç Hastalıkları. İliçin, Biberoğlu, Süleymanlar, Ünal. Güneş Kitabevi, 2. baskı, 2003. Sayfa, 449-474.
101. Rissanen AM. Familial aggregation of coronary heart disesase in a high incidence area. *Br Heart J* 1979; 42:294.
102. Williams RR, Hopkins PN, Wu LL, et al. Evaluating family history to prevent early coronary heart disease. In: Person TA, ed. *Primer in Preventive Cardiology*. Dallas: American Heart Association; 1994:93.
103. Hopkins PN, Williams RR. Human genetics and coronary heart disease: A public heart perspective. *Annu Rev Nutr* 1989; 9:303.
104. Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: The Framingham Heart Study. *Am J Med* 1984; 76:4
105. Eriksson M., Egberg N., Wamala S., et al: relationship between plasma fibrinogen and coronary heart disease in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:67, 1999.

106. Weksler BB.: Hemostasis and thrombosis in douglas PS (ed): Cardiovascular health and disease in women. Philadelphia, WB Saunders, 231, 1993.
107. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healty postmenopausal women. Principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 288:321-333, 2002.
108. Ridker PM., Buring SE., Shih J, et al: Prospective study of CPR and the risk of future cardiovascular events among apperently healty women. *Circulation*, 98:731-33, 1998.
109. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20:S60-S62
110. Siroen MP, Teerlink T, Nijveldt RJ, Prins HA, Richir MC, van Leeuwen PA. The clinical significance of asymmetric dimethylarginine. *Annu Rev Nutr.* 2006;26:203-28. Review.
111. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Fukami K, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a novel emerging risk factor for cardiovascular disease and the development of renal injury in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2007 Jun;11(2):115-21. Epub 2007 Jun 28
112. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842-1847.
113. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990;323:22-27.
114. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-2155.
115. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993;88:2510-2516.
116. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997;95:1119-1121.
117. Fliser D. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): the silent transition from an 'uraemic toxin' to a global cardiovascular risk molecule. *Eur J Clin Invest.* 2005 Feb;35(2):71-9. Review
118. Najbauer J, Johnson BA, Young AL, Aswad DW. Peptides with sequences similar to glycine, arginine-rich motifs in proteins interacting with RNA are efficiently recognized by methyltransferase (s) modifying arginine in numerous proteins. *J Biol Chem* 1993; 268:10501-9.
119. Tang J, Kao PN, Herschman HR. Protein-arginine methyltransferase I, the predominant protein-arginine methyltransferase in cells, interacts with and is regulated by interleukin enhancer-binding factor 3. *J Biol Chem* 2000;275:19866-76
120. MacAllister RJ, Fickling SA, Whitley GS, Vallance P. Metabolism of methylarginines by human vasculature; implications for the regulation of nitric oxide synthesis. *Br J Pharmacol* 1994; 112:43-8.
121. Boger RH, Ron ES. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev.* 2005 Mar;10(1):14-23. Review
122. Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS *et al.* Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deaminases. *Biochem J* 1999;343:209-14.
123. Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Phelan J, Tilley S, Santa Maria J *et al.* Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol* 2001;8:679-83.
124. Xiao S, Wagner L, Schmidt RJ, Baylis C. Circulating endothelial nitric oxide synthase inhibitory factor in some patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 2001; 59:1466-72.
125. Tojo A, Welch WJ, Bremer V, Kimoto M, Kimura K, Omata M *et al.* Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int* 1997;52:1593-601.
126. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation.* 1999 Jun 22;99(24):3092-5.
127. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation* 2004; 109 (Suppl. 1):II27-II33.
128. Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L *et al.* Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358:2113-7.

129. Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS *et al.* Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:490–6.
130. Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS *et al.* Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62:339–45.
131. Boger RH, Bode-Boger SM, Mugge A, et al. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 1995;117:273-284.
132. Chan JR, Boger RH, Bode-Boger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF *et al.* Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1040–6.
133. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339:572–5
134. Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J Hum Hypertens* 1993; 7:193–4
135. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC *et al.* Cardiovascular effects of systemic NO synthase inhibition with asymmetric dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109 :172–7.
136. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R *et al.* Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1455–9.
137. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-1146
138. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001;358:2127-2128.
139. Piatti P, Fragasso G, Monti LD, Setola E, Lucotti P, Fermo I *et al.* Acute intravenous L-arginine infusion decreases endothelin-1 levels and improves endothelial function in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms: correlation with asymmetric dimethylarginine levels. *Circulation* 2003;107:429–36.
140. Chason-Taberl Stampfer MJ.:Epidemiology of oral contraceptives and myocardial infarction: results of the MICA Case Control Study. *BMJ*, 318:1579, 1999.
141. Dunn N, Thorogood M., Faragher et al: Oral contraceptives and Myocardial Infarction: Results of the MICA Case Control Study. *BMJ*, 318:1579, 1999.
142. Sencer E, Alagöl F. Lipoprotein Metabolizması Bozuklukları. İn: Büyüköztürk K (Ed). İç Hastalıkları. İstanbul, Bayda Basın Yayın; 1992; p:166-179.
143. Gotto AM, Hoffman AS, Lipid metabolism and menopause. In: Lorrain J (Ed). *Comprehensive Management of Menopause*; 1994; p: 215-226.
144. Wahl P, Wolden C, Knopp R. Effect of estrogen/progestin patency on lipid/lipoprotein cholesterol N *Engl J Med* 1983; 308:862-867
145. Psaty RM, Heckbet SR, Atkins D. The risk of myocardial infarction associated with the kombine use of estrogens and progestins in postmenopausal woman. *Arch Intern Med* 1994; 154:1333–1339.
146. Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. 1997 Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med.* 336:1769–1775.
147. Stampfer MJ, Colditz GA. Estrogen replacement and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med.* 1991;20:47-63.
148. The Writing Group for the PEPI trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. *JAMA.* 1995;273:199-208.
149. Lieberman EH, Gerhard D, Uehata A, et al. Estrogen improves endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1994:121:936-941.
150. Grady D, Ruben SB, Pettiti DB, et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1992;117:1016-1037.

151. Rijkema AH, van der Sanden AA, Ruijs AH. Effects of postmenopausal estrogen-progesterone therapy on serum lipids and lipoproteins: a review. *Maturitas*. 1990;12:259-285.
152. Adams MR, Kaplan JR, Manuck SB, et al. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17-beta estradiol in ovariectomized monkeys: lack of an effect of added progesterone. *Arteriosclerosis*. 1990;10:1051-1057.
153. PEPI Trial: Effect of estrogen or estrogen / progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen Progestin Interventions Trial. *JAMA*, 273:199-208, 1995.
154. Stampfer MJ, Willett WC, Colditz GA, et al. A prospective study of post-menopausal estrogen therapy and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1985;313:1044-1049.
155. Bush TL, Barrett-Connor E, Cowan LD, et al. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipid Research Clinics Program Follow-up Study. *Circulation* 1987;75:1102-1109.
156. Petitti DB, Perlman JA, Sidney S. Noncontraceptive estrogens and mortality: Long-term follow-up of women in the Walnut Creek Study. *Obstet Gynecol* 1987;70:289-293.
157. Boysen G, Nyboe J, Appleyard M, et al. Stroke incidence and risk factors for stroke in Copenhagen, Denmark. *Stroke* 1988;19:1345-1353.
158. Criqui MH, Suarez L, Barrett-Connor E, et al. Postmenopausal estrogen use and mortality. *Am J Epidemiol* 1988;128:606-614.
159. Henderson BE, Paganini-Hill A, Ross RK. Estrogen replacement therapy and protection from acute myocardial infarction. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:312-317.
160. Van der Giezen AM, Schopman-Geurts van Kessel JG, Schouten EG, et al. Systolic blood pressure and cardiovascular mortality among 13,740 Dutch women. *Prev Med* 1990;19:456-465.
161. Wolf PH, Madans JH, Finucane FF, et al. Reduction of cardiovascular disease-related mortality among postmenopausal women who use hormones: evidence from a national cohort. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:489-494.
162. Falkeborn M, Persson L, Adami HO, et al. The risk of acute myocardial infarction after oestrogen and oestrogen-progestogen replacement. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:821-828.
163. Psaty BM, Heckbert SR, Atkins D, et al. The risk of myocardial infarction associated with the progestins in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 1994;154:1333-1339.
164. Folsom AR, Mink PJ, Sellers TA, et al. Hormonal replacement therapy and morbidity and mortality in a prospective study of postmenopausal women. *Am J Public Health* 1995;85:1128-1132.
165. Grady D., Herrington D., Bittner V., et al: Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy. heart and estrogen / progestin replacement study follow-up. *JAMA*, 288:49-57, 2002.
166. Hulley S., Grady D., Bush T., et al: Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA*, 280:605-612,1998.
167. ASRM: A PRACTICE COMMITTEE REPORT. A Committee Opinion Estrogen and Progestogen Therapy in Postmenopausal Women October 2003
168. Murkies AL, Wilcox G, Davis SR, Phytoestrogens, *J Clin endocrinal Metab* 83:297,1998.
169. Tham DM, Gardner CD Haskell WL, Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence, *J Clin Endocrinal Metab* 83:2223, 1998
170. Dixon RA, Ferreira D; Molecules of interest, *Phytochemistry* 2002,60; 205-211
171. Price KR, Fenwick GR. *Food Addit Contam* 1985; 2(2); 73-106
172. Sfakianos J, Coward L, Kirk M, Barnes S. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J. Nutr.* 1997;127:1260-8
173. Watanabe S, Yamaguchi M, Sobue T, Takahashi T, Miura Y, Arai Y, Mazur W, Wahaha K, Adlercreutz H. Pharmacokinetics of soybean isoflavonoids in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J.Nutr.* 1998 ; 128:1710-5
174. Kelly GE, Nelson C, Waring MA, Joannou GE, Reeder AY. Metabolites of dietary (soya) isoflavones in human urine. *Clin. Chim. Acta* 1993; 223:9-22.
175. Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM, Slavin JL. Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*1998; 217: 335-9
176. Coward L, Barnes NC, Setchel KDR, Barnes S, *J Agric Food Chem*, 1993; 41: 1961-1967

177. Bhatena SJ, Velasquez MT. Beneficial Role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Nutr* 2002; 76:1191-1201
178. Lundh T, Metabolism of estrgenic isoflavones in domestic animals. *Proc soc Exp Biol Med* 1995;208:33-39.
179. Zhang Y, Wang G-J, Song TT, Murphey PA, Hendrich S, Urinary disposition of the soybean isoflavones daidzein, genestein and glycitein differs among humans with moderate fecal isoflavones degradation activity. *J Nutr* 1999;129:957-962.
180. Xu X, Wang HI, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein is a more bioavailable soy isoflavone than is genistein in adult women. *J Nutr* 1994;124:825-832.
181. Lu LI, Anderson KE sex and long-term soy diets affect the metabolism and excretion of soy isoflavones in humans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1500S-1504S
182. Adlercreutz H, Markkanen H, Watanabe S. Plasma concentrations of phyto-oestrogens in Japanese men. *Lancet* 1993;342:1209-10
183. Setchell KDR, Adlercreutz H, In the role of the gut flora in toxicity and cancer. *Academic press in London, UK*, pp 315-345
184. Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Masamune Y, Interaction of phytoestrogens with estrogen receptor α and β . *Biol Pharm Bull* 24:351, 2001.
185. Setchell KDR, Brown NM, Lydeking-Olsen E, The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones, *J Nutr* 132:3577, 2002.
186. Rowland IR, Wiseman H, Sanders TA, Adlercreutz H, Bowey EA. *Nutr Cancer* 2000; 36 (1): 27-32
187. Anderson JJ, Anthony MS, Cline JM, Washburn SA, Garner SC. Health potential of soy isoflavones for menopausal women. *Public Health Nutr* 1999; 2:489-504
188. An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, et al. Estrogen receptor B-selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem* 2001; 276:17808-14.
189. Barnes S, Kim H, DarleyUsmar V, Patel R, Xu J, Boersma B, Luo M. Beyond ER alpha and ER beta: estrogen receptor binding is only part of isoflavone story. *J Nutr*. 2000;130;656. S-657S.
190. Santell RC, Chang YC, Nair MG, Helferich WG. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mamary gland and the hypothalamic pituitary axis in rat. *J Nutr* 1997;27:263-269.
191. Ogivara T, Chilk CL, Ho AK tyrosine kinase inhibitors enhance GHRH- stimulated cAMP accumulation and GH release in rat anterior pituitary cells. *J Endocrinol* 1997;152:193-199.
192. Setchel KD, Cassidy A. Dietary isoflavones biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 1999;129:7585-7675.
193. Gooderham MH, Adlercreutz H, Olala ST, Wahala K, Holub BJ. *J.Nutr.*1996,126,2000
194. Anderson JW, Johnstone B, Cook-Newell ME. Meta- nalyist of the effects of soy protein intake on serum lipids, *New Engl J Med* 333:276,1995.
195. Clarkson TB, Anthony M, Morgan TM, Inhibition of postmenopausal atherosclerosis progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens, *J Clin Endocrinol Metab* 86:41,2001.
196. Greaves KA, Parks JS, Williams JK, Wagner JD, Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ariectomized cynomolgus monkeys. *J Nutr*129:1585,1999.
197. Greaves KA, Wilson MD, Rudel LL, Williams JK, Wagner JD. Consumption of soy protein reduces cholesterol absorption compared to casein protein alone or supplemented with an isoflavone extract or conjugated equineestrogen in ovariectomized cynomolgus monkeys. *J Nutr*. 130:820,2000.
198. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL JR, Morgan TM, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr*. 126: 43, 1996.
199. Anthony MS, Clarkson TB, Comparison of soy phytoestrogens and conjugated equine estrogens on atherosclerosis progression in postmenopausal monkeys, *Circulation* 90:829,1998.
200. Honore EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil.Steril.* 67:148,1997.
201. Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Interactive effects of soy protein and estradiol on coronary artery reactivity in atherosclerotic, ovariectomized monkeys. *Menopause* 8:307,2001.

202. Clarkson TB, Anthony MS. Effect of hormone replacement therapy on internal carotid artery atherosclerosis of postmenopausal monkeys (abstract), *Circulation* 97:830,1998.
203. Crouse JR, III., Morgan T, Terry JG, Ellis J, Vitolins M, Burke GL, Arandomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins, *Arch Intern Med* 159:2070,1999.
204. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW Jr. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 68(suppl):1375S,1998.
205. Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause.* 6:7,1999.
206. Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 71:1462,2000
207. Kojima T, Uesugi T, Toda T, Miura Y, Yagasaki K. *Lipids*, 2002, 37, 261.
208. Simons LA, von Konigsmark M, Simons J, Celermajer DS. Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal women *Am J Cardiol.* 11:1297, 2000.
209. Lichtenstein AH, Jalbert SM, Adlercreutz H, Goldin BR, Rasmussen H, Schaefer EJ, Ausman LM. Lipoprotein response to diets high in soy or animal protein with and without isoflavones in moderately hypercholesterolemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22:1852 2002.
210. Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Saitta A, Cucinotta D, Minatoli L, Deodato B, Ferito M, Campo GM, Bova A, Caputi AP. *Cardiovasc. Res.* 2000, 45, 454.
211. Makela S, Savolainen H, Aavik E, Myllarniemi M, Strauss L, Taskinen E, Gustfasson JA, Hayry P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 7077.
212. Deodato B, Altavilla D, Squadrito G, Campo GM, Arlotta M, Minutoli L, Saitta A, Cucinotta D, Calapai G, Caputi AP, Miano M, Squadrito F. *Br. J. Pharmacol.* 1999, 12, 1683.
213. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Heringer H, Gmeiner BMK *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 1997, 17, 2868.
214. Wei H, Bowen R, Cai O, Bames S, Wang Y. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995, 208, 124.
215. Kondo K, Suzuki Y, Ikeda Y, Umemura K. *Eur. J. Pharmacol.* 2002, 455, 53.
216. Moini H, Bilsel S, Bekdemir T, Emerk K. 17 beta-Estradiol increases intracellular free calcium concentrations of human vascular endothelial cells and modulates its responses to acetylcholine. *Endothelium.* 1997;5(1):11-9.
217. Stefano GB, Cadet P, Breton C, Goumon Y, Prevot V, Dessaint JP, Beauvillain JC, Roumier AS, Welters I, Salzet M. Estradiol-stimulated nitric oxide release in human granulocytes is dependent on intracellular calcium transients: evidence of a cell surface estrogen receptor. *Blood.* 2000 Jun 15;95(12):3951-8.
218. Hishikawa K, Nakaki T, Marumo T, Suzuki H, Kato R, Saruta T. Up-regulation of nitric oxide synthase by estradiol in human aortic endothelial cells. *FEBS Lett.* 1995 Mar 6;360(3):291-3.
219. Van Buren GA, Yang DS, Clark KE. Estrogen-induced uterine vasodilatation is antagonized by L-nitroarginine methyl ester, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Sep;167(3):828-33.
220. Saitta A, Altavilla D, Cucinotta D, Morabito N, Frisina N, Corrado F, D'Anna R, Lasco A, Squadrito G, Gaudio A, Cancellieri F, Arcoraci V, Squadrito F 2001 Randomized, double-blind, placebo-controlled study on effects of raloxifene and hormone replacement therapy on plasma NO concentrations, endothelin-1 levels, and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1512–1519.
221. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, Tsuda M, Kodama I, Kimura M, Chayama K, Ohama K 2002 Hormone replacement effects on endothelial function measured in the forearm resistance artery in normocholesterolemic and hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4634–4641
222. Teerlink T, Neele SJ, de Jong S, Netelenbos JC, Stehouwer CD. Oestrogen replacement therapy lowers plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in healthy postmenopausal women. *Clin Sci (Lond).* 2003 Jul;105(1):67-71.

223. Post MS, Verhoeven MO, van der Mooren MJ, Kenemans P, Stehouwer CD, Teerlink T. Effect of hormone replacement therapy on plasma levels of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine: a randomized, placebo-controlled 12-week study in healthy early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Sep;88(9):4221-6
224. Li XP, Zhou Y, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YS. Effect of endogenous estrogen on endothelial function in women with coronary heart disease and its mechanism. *Clin Chim Acta.* 2004 Jan;339(1-2):183-8.
225. Verhoeven MO, Hemelaar M, van der Mooren MJ, Kenemans P, Teerlink T. Oral, more than transdermal, oestrogen therapy lowers asymmetric dimethylarginine in healthy postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled study. *J Intern Med.* 2006 Feb;259(2):199-208.
226. Verhoeven MO, Hemelaar M, Teerlink T, Kenemans P, van der Mooren MJ. Effects of intranasal versus oral hormone therapy on asymmetric dimethylarginine in healthy postmenopausal women: A randomized study. *Atherosclerosis.* 2006 Nov 3.
227. Verhoeven MO, Teerlink T, Kenemans P, Vogelvang TE, van der Mooren MJ; for the HMR 3339 Research Group. Effects on asymmetric dimethylarginine of HMR 3339, a novel selective estrogen receptor modulator: a 12-week, randomized, placebo-controlled, double-blind, dose-ranging study in healthy postmenopausal women. *Menopause.* 2007 Mar-Apr;14(2):235-42.
228. Reimann M, Dierkes J, Carlsohn A, Talbot D, Ferrari M, Hallund J, Hall WL, Vafeiadou K, Huebner U, Branca F, Bugel S, Williams CM, Zunft HJ, Koebnick C. Consumption of soy isoflavones does not affect plasma total homocysteine or asymmetric dimethylarginine concentrations in healthy postmenopausal women. *J Nutr.* 2006 Jan;136(1):100-5.
229. Verhoeven MO, Teerlink T, Kenemans P, Zuijdgeest-van Leeuwen SD, van der Mooren MJ. Effects of a supplement containing isoflavones and *Actaea racemosa* L. on asymmetric dimethylarginine, lipids, and C-reactive protein in menopausal women. *Fertil Steril.* 2007 Apr;87(4):849-57.