

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

11505.

**TESTOSTERON VE E VİTAMİNİNİN TAVŞANLARDA
BAZI PIHTILAŞMA FAKTÖRLERİ, LİPİT PEROKSİDASYONU
VE LİPİT PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

115053

DOKTORA TEZİ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

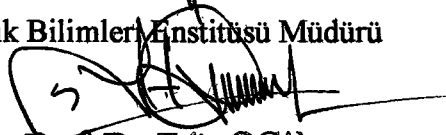
Nurettin AYDİLEK

ELAZIĞ - 2002

ONAY SAYFASI

T.C. Fırat Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü


Prof. Dr. Halis OCAL

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Mesut ARSAKAL

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

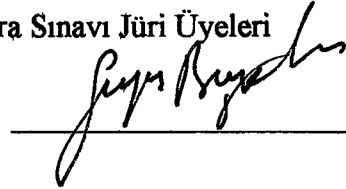
Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mesut ARSAKAL 

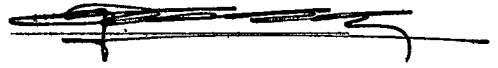
Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ



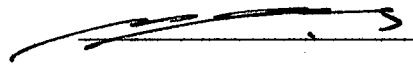
Doç. Dr. A. Ziya KARAKILIK



Doç. Dr. Mustafa NAZIROĞLU



U. Doç. Dr. Mehmet ÇAY



.....

.....

TEŐEKKÜR

Doktora tez konumun seçiminde ve tez çalışmalarım sırasında gerekli destek ve yardımı esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mesut AKSAKAL'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarını sırasında yardımlarını gördüğüm Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Doç. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ ve Anabilim dalmız elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. ÖZET -----	1
2. ABSTRACT -----	3
3. GİRİŞ -----	5
3.1. Hemostaz-----	6
3.2. Testosteron-----	11
3.3. Lipitlerin Özellikleri ve Metabolizması-----	16
3.4. Serbest Radikaller-----	21
3.5. Lipit Peroksidasyon (LPO)-----	24
3.6. E Vitamini-----	27
4. GEREÇ VE YÖNTEM -----	33
5. BULGULAR -----	37
6. TARTIŞMA VE SONUÇ -----	47
7. KAYNAKLAR -----	58
8. ÖZGEÇMİŞ -----	66

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Lipoprotein Tipleri ve Kompozisyonu -----	19
Tablo 2. Tavşan Yemi Bileşimi -----	33
Tablo 3. Çalışma Gruplarına Ait Veriler -----	46



ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Pıhtılaşma Mekanizması -----	9
Şekil 2. Testosteronun Kimyasal Yapısı -----	12
Şekil 3. Lipoproteinlerin Oluşum ve Taşınması -----	18
Şekil 4. Lipit Peroksidasyon (LPO) -----	26
Şekil 5. Tokoferollerin Kimyasal Yapısı -----	28
Şekil 6. Ateroskleroz Gelişimi -----	31
Şekil 7. Trombosit Sayısı -----	37
Şekil 8. Kanama Zamanı -----	38
Şekil 9. Pıhtılaşma Zamanı -----	38
Şekil 10. Protrombin Zamanı -----	39
Şekil 11. Fibrinojen Miktarı -----	40
Şekil 12. Plazma MDA Seviyesi -----	40
Şekil 13. Total Kolesterol Seviyesi -----	41
Şekil 14. Trigliserit Seviyesi -----	42
Şekil 15. HDL Kolesterol Seviyesi -----	42
Şekil 16. LDL Kolesterol Seviyesi -----	43
Şekil 17. VLDL Kolesterol Seviyesi -----	43
Şekil 18. HDL Kolesterol /LDL Kolesterol Oranı -----	44
Şekil 19. Total Kolesterol/HDL Kolesterol Oranı -----	45

KISALTMALAR LİSTESİ

DHT: Dihidrotestosteron

HDL (High Density Lipoprotein): Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HTGL: Hepatik Trigliserit Lipaz

IDL (Intermediate Density Lipoprotein): Orta Yoğunluklu Lipoprotein

LDL (Low Density Lipoprotein): Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LPL: Lipoprotein Lipaz

LPO: Lipit Peroksidasyon

MDA: Malondialdehit

NO: Nitrik Oksit

PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1): Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1

PKC: Protein Kinaz C

PF 3 (Platelet Factor 3): Trombosit Faktör 3

PGG₂: Prostaglandin G₂

PGI₂: Prostoglandin I₂

PLA₂: Fosfolipaz A₂

PLC: Fosfolipaz C

PTZ: Protrombin Zamanı

PUFA (Poliunsaturated Faty Acid): Çoklu Doymamış Yağ Asiti

t-PA (Tissue Plasminogen Activator): Doku Plazminojen Aktivatörü

TXA₂: Tromboksan A₂

VLDL (Very Low Density Lipoprotein): Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

1. ÖZET

Bu çalışmada, kastre, normal ve ilave testosteron ile bunlara ek olarak E vitamini verilmesinin koagülasyon parametreleri, lipit peroksidasyonu ve lipit profili üzerindeki etkileri araştırıldı.

Bu amaçla 46 erkek Yeni Zellenda tavşanı; 1. Kontrol (n=8), 2. Testostron (n=8), 3. Testosteron-E vitamini (n=8), 4. E vitamini (n=8), 5. Kastrasyon-E vitamini (n=7) ve 6. Kastrasyon grubuna (n=7) ayrılarak 10mg testosteron propionat ve 100 mg/kg dl- α tokoferil asetat 40 gün, gūnaşırı uygulanmıştır.

Trombosit sayısı, kontrole göre 2. grupta artarken 6. grupta azalmıştır (p<0.05). E vitamini trombosit sayısını etkilememiştir.

Kanama zamanı gruplarda farklılık göstermemiştir. Pıhtılaşma zamanı istatistiksel olmasa da 2. grupta kısalmıştır (p=0.068). 6. grupta 2. gruba kıyasla kanama ve protrombin zamanları uzamıştır (p<0.05).

Kontrol grubuna kıyasla 2. grupta plazma MDA seviyesi artmış, 4. grupta ise MDA ve fibrinojen konsantrasyonu azalmıştır (p<0.05).

Kontrol ve 2. gruba kıyasla kastrasyon grubunda, total kolesterol seviyesi artmıştır (p<0.05). E vitamini lipit profilini etkilememiştir.

HDL kolesterol seviyesi, 2. grupta düşerken 6. grupta yükselmiştir (p<0.05). LDL ve VLDL kolesterol seviyeleri değişmemiştir.

HDL/LDL kolesterol oranı, kontrole kıyasla 2. grupta düşmüştür (p<0.05). Total kolesterol/HDL kolesterol oranı, kontrol ve kastrasyon grubuna göre 2. grupta artmıştır (p<0.05).

Sonuç olarak testosteron, trombosit sayısı, plazma MDA seviyesi ve total kolesterol/HDL kolesterol oranını artırmış, HDL kolesterol ve HDL/LDL oranını ise azaltmıştır. Testosteron, koagülasyon ve protrombin zamanında istatistiksel olmasa da kısalmaya neden olmuştur. Testosteronun, MDA, fibrinojen ve lipit profilindeki olumsuz etkileri sonucu hiperkoagülasyona neden olabileceği düşünülmektedir.

E vitamini, plazma MDA ve fibrinojen seviyesini azaltırken, lipit profili ve trombosit sayısını etkilememiştir. E vitamini, pıhtılaşma ve protrombin zamanlarını uzatma eğiliminde olduğundan yüksek dozlarında hipokoagülatif etki gösterebileceği tahmin edilmektedir.

Testosteronun koagulasyon ve lipit profili üzerindeki olumsuz etkileri, E vitamini ilavesiyle anlamlı bir iyileşme ile sonuçlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler:

E vitamini, testosteron, pıhtılaşma, lipit profili, lipit peroksidasyon



2. ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the effects of testosterone and vitamin E on the haemostatic system, lipid profiles and lipid peroxidation levels in rabbits.

For this purpose, 46 New Zealand White male rabbits were classified to 6 groups as follows; 1. Control (n=8), 2. Testosterone (n=8), 3. Testosterone-Vitamin E (n=8), 4. Vitamin E (n=8), 5. Castration-Vitamin E (n=7) and 6. Castration (n=7) groups and were fed for 40 days. 10 mg testosterone propionate and 100 mg dl- α tocopheryl acetate injected to animals every other day.

The number of platelet was observed to increase in the 2nd group, was decreased in 6th group ($p < 0.05$). Vitamin E administration did not change the platelet number.

No significant differences were detected among groups in terms of bleeding time. While clotting time was shortened in the 2nd group, it was prolonged in the 6th group nonsignificantly.

Prothrombin time was prolonged in the 4th group nonsignificantly. Prothrombin time was longer in the 6th group than in the 2nd group ($p < 0.05$).

Compared with control group, fibrinogen concentrations were lower in the 4th group ($p < 0.05$).

While MDA levels increased in the 2nd group, it decreased in 4th group ($p < 0.05$).

Total cholesterol value increased in the 6th group ($p < 0.05$). There was no effect of vitamin E on lipid profiles. While HDL cholesterol value decreased in the 2nd group, it increased in the 6th group ($p < 0.05$). No significant differences observed among all the groups in LDL and VLDL cholesterol levels.

HDL cholesterol/LDL cholesterol ratio was decreased in the 2nd group ($p < 0.05$), in contrast it was tended to increase in the 6th group ($p > 0.05$).

Total cholesterol /HDL cholesterol ratio increased in the 2nd group ($p < 0.05$). This ratio was significantly higher in the 2nd group when compared with the 6th group ($p < 0.05$).

In summary, it was observed that testosterone was able to increase the platelet number, plasma MDA levels and total cholesterol/HDL cholesterol ratio. Whereas it decreased HDL cholesterol and HDL cholesterol/LDL cholesterol ratio.

It was observed that testosterone shortened the clotting time nonsignificantly. In the light of the results, testosterone may lead the hypercoagulation because it affects the oxidant-antioxidant balance and lipid profiles negatively.

Vitamin E decreased fibrinogen and MDA levels, while there no effects on the lipid profile and platelet number. Bleeding and prothrombin time tended to prolonge in the 4th group. It was considered that high doses of Vitamin E may show hypocoagulative effects.

It was observed that Vitamin E did not recover the negative effects of testosterone on the lipid profiles, MDA level and coagulation parameters.

Key Words:

Vitamin E, testosterone, coagulation, lipid profiles, lipid peroxidation

3. GİRİŞ

Canlılarda hayatın devam edebilmesi için bir bütün olarak homeostazisin sağlanması gereklidir. Homeostazis terimi, tüm sistemlerin en iyi şekilde çalıştığı iç ortam koşullarının korunması ve devam ettirilmesi anlamına gelir. Vücuttaki tüm organ ve dokular bu optimum koşulların korunmasına yardım eden kendilerine has görevler üstlenmiştir. Örneğin, akciğerler hücreler tarafından kullanılmak üzere hücreler arası sıvıya sürekli oksijen sağlar, böbrekler hücreler arası sıvının elektrolit dengesini sabit tutmaya çalışır ve sindirim sistemi hücrelerin ihtiyaç duyduğu besinleri sağlar (44). İç ortamı oluşturan ve onun homeostazisini sağlayan, hücreler arası sıvı, lenf sıvısı ve kan plazması gibi beden sıvılarıdır. Bu nedenle homeostazisin devamına yönelik en önemli sistemlerden biri dolaşım sistemi ve kan dokusudur. Hemostatik mekanizma, damar bütünlüğünü koruyup, kanın damar dışına çıkışını engelleyerek dolaşım sisteminin normal fonksiyonlarınının devam etmesinde büyük rol oynar. Hemostazın yetersizliği yanında aşırı aktive oluşu da kanın hemen pıhtılaşarak dolaşımını engellemesiyle sonuçlanır (11,123).

Dünya sağlık örgütü raporları, son yıllarda kardiyovasküler hastalık insidensinin hızla arttığını bildirmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna neden olan birçok faktör vardır. Serum lipit profilindeki olumsuz değişim, hiperkoagulatif durum, sigara, antioksidan-oksidan dengenin bozulması, cinsiyet, stres ve kan basıncı gibi etkenler bu hastalığın riskini artıran faktörlerdendir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, trombotik lezyon insidensinin yüksek olduğu kardiyovasküler hastalıkların tedavi seçeneklerinde, aktive olan trombosit fonksiyonları, koagulasyon ve fibrinolitik mekanizmaların normal seviyeye düşürülmesi gerektiğini bildirmektedir (92).

Proflaksi veya tedavi amacıyla yapılan çalışmalarda, plazma antioksidan seviyesi ve hiperkoagulasyon arasında ters bir ilişki olduğu gözlenmiş ve bu nedenle, antioksidanların koagulasyon üzerindeki etkisini araştıran çalışmalara ağırlık verilmiştir (52,53,58,75,124).

Kardiyovasküler hastalıkların risk faktörleri arasında belirtildiği gibi, cinsiyetin koagulasyon mekanizması üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (92).

Androjenlerin erkeklerde koagulasyon riskini artıran bir faktör olduğu sanılmaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda testosteronun indirekt olarak, özellikle lipit profilindeki olumsuz etkilerinden dolayı koagulasyon mekanizmasını aktive ettiği bildirilmektedir (31).

Bu noktalardan hareketle bu çalışmada, testosteron verilmesinin hemostatik mekanizmayı ne yönde etkilediği, E vitamininin hipokoagulatif bir etkisinin olup olmadığı ve eğer testosterondan kaynaklanan hiperkoagulatif bir etki varsa E vitamininin bunu ne düzeyde etkileyeceğinin araştırılması amaçlandı.

3. 1. HEMOSTAZ

Herhangi bir sebeple oluşan vasküler tahribattan sonra kan kaybının kontrol edilebilmesi, hayatın devamı için gerekli gerekli bir özelliktir. Yaralanmış damarlarda akan kanın pıhtılaşması, tahrip olan dokunun iyileşmesi ve pıhtının çözülmesi hemostaz olarak adlandırılır. Hemostaz; vasküler spazm, trombosit tıkaçı oluşumu, koagulasyon, hasarlı bölgede fibröz doku şekillenmesi ve fibrinoliz gibi bir dizi reaksiyondan oluşmuştur. Bu reaksiyonlar aşağıda izah edilmiştir.

3.1.1. Vazokonstriksiyon

Ezilme, yırtılma gibi damar zedelenmelerinde, bu bölgeden kaynaklanan sinirsel uyarımlar sonucu vasokonstriksiyon meydana gelir. Vasokonstriksiyon lokal kan akımını yavaşlatarak kan kaybını geciktirir ve trombositlerin subendotelyal yüzeye yapışıp koagulasyonu aktive etmesini sağlar (44).

3.1.2. Trombosit Tıkaçı Oluşumu

Normalde damar endotel hücreleri pürüzsüz ve üzerleri negatif yüklerle kaplandığından trombositler damar endoteline yapışmazlar (79). Fakat damar zedelendiğinde bütünlüğü kaybolur ve subendotelyal kollagen açığa çıkar. Trombositler, güçlü bir trombosit agonisti olan kollagen tarafından fazlaca uyarılır ve düzensiz çıkıntılar yaparak bu bölgeye yapışırlar. Trombositlerin böyle yabancı yüzeylere yapışmasına *adhezyon* denir. Trombosit adhezyonu, kan akış hızının yüksek olduğu yerlerde von Willebrand Faktörü ile, kan akış hızının düşük olduğu yerlerde ise fibrinojen vasıtası ile sağlanmaktadır. Kollagene adhezyon yapan trombositlerde Fosfolipaz A₂ (PLA₂) ve Fosfolipaz C (PLC) enzimleri aktive olur ve membran fosfolipitlerinden araşidonik asitin salınımını artırır. Sonra

siklooksigenaz enzimi, araşidonik asiti oksijenleyerek siklik endoperoksitlere (Prostaglandin G₂) ve ardından da bir hidrojen atomu kopararak Prostaglandin H₂'ye (PGH₂) dönüştürür. PGH₂, trombositlerde baskın olarak bulunan tromboksan sentaz enzimi tarafından Tromboksan A₂ (TXA₂)'ye metabolize edilir. TXA₂ güçlü bir vazokonstriktör ve trombosit agonistidir (50). Bu reaksiyonlar sırasında siklooksigenaz enzimi belirli bir oksidatif tonuya ihtiyaç duyar.

Adezyon yapan trombositler, stoplazmalarında bulunan α ve yoğun granül içeriklerini (ADP, ATP, serotonin, Trombosit Faktör 3, fibrinojen, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, β -tromboglobulin ve asit hidrolazlar gibi) ve uyarım sonucu sentezledikleri TXA₂ gibi maddeleri dışarı salgırlar. TXA₂ ve ADP güçlü bir trombosit agonisti olduğundan bölgede uyarılmamış trombositleri de stimüle ederek birbirlerine yapışmalarını sağlarlar. Trombositlerin böyle birbirlerine yapışmalarına *agregasyon* denir. Trombosit agregasyonu hemostatik tıkaçın hacmini artırır. Her gün küçük damarlarda yüzlerce küçük yırtık meydana gelir ve bunlar sadece trombosit tıkaçı oluşmasıyla kapatılır. Fakat damardaki yırtık trombosit tıkaçının kapatamayacağı kadar büyük olursa hemostatik tıkaç ile birlikte kanın pıhtılaşması da gereklidir (44).

3.1.3. Pıhtılaşma

Kanın pıhtılaşması, normalde plazmada inaktif halde bulunan çeşitli pıhtılaşma faktörlerinin birbirlerini aktive etmesi sonucu oluşan kompleks bir reaksiyonlar zinciridir. Pıhtılaşma reaksiyonu ekstrinsik veya intrinsik olmak üzere iki farklı mekanizma ile başlatılır. Daha sonra bu mekanizmalar belirli bir noktada birleşerek ortak bir yol takip ederler. Ekstrinsik ve intrinsik mekanizmalar daima etkileşim içinde olup birbirlerini kuvvetlendirirler (13). (Şekil 1)

3.1.3.1. Ekstrinsik Mekanizma

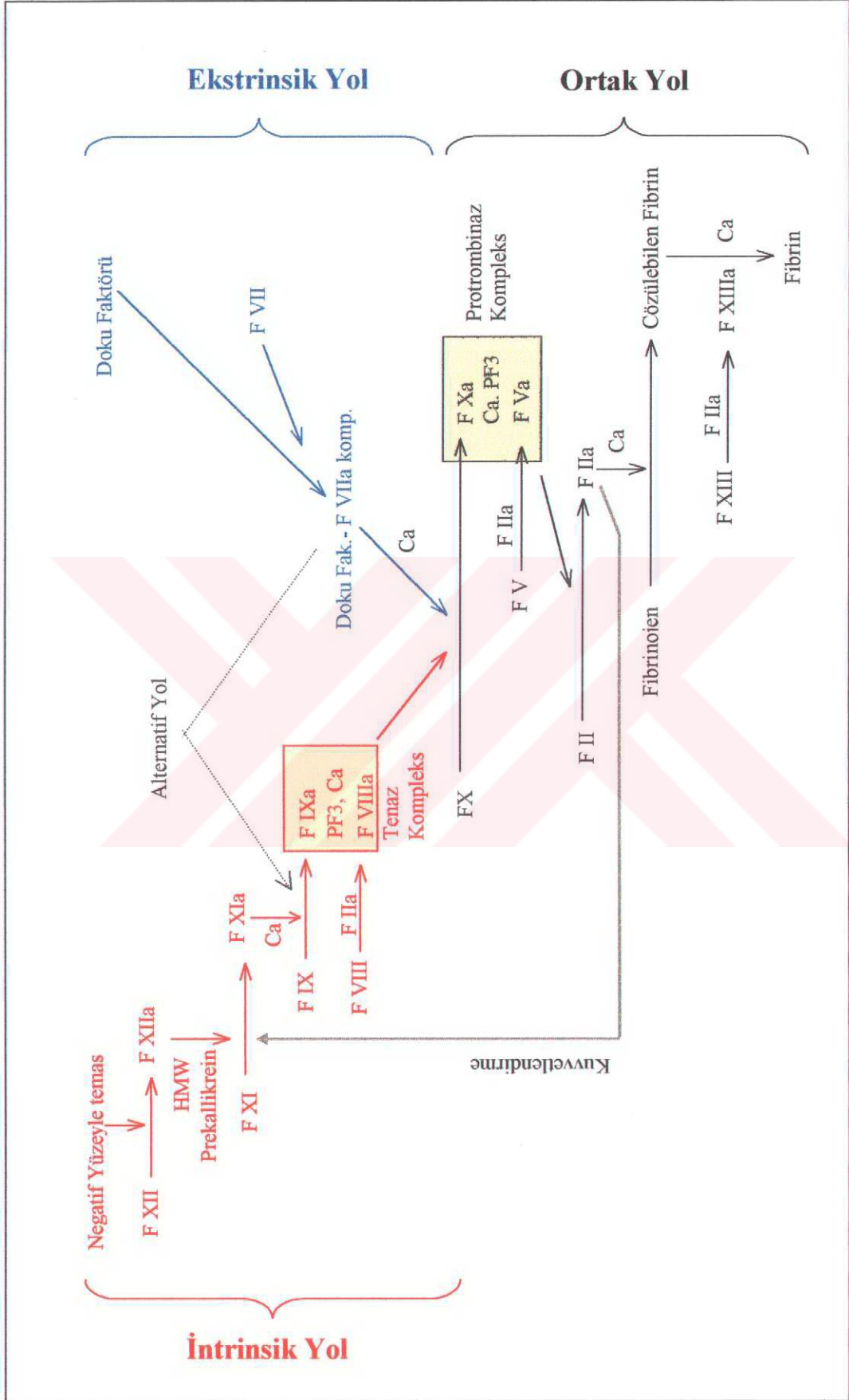
Tahribata uğrayan bir dokudan fosfolipit-glikoprotein yapısındaki doku tromboplastini (doku faktörü-F III) serbestlenir. Doku faktörü, plazmada bir serin proteaz olan Faktör VII'ye bağlanarak onu aktive eder. Aktif F VII (F VIIa), doku tromboplastini ve plazmadaki Ca⁺⁺ iyonları bir kompleks oluşturarak F X'u aktive ederler. Bundan sonraki aşamalar intrinsik mekanizma ile aynı olduğundan ortak yol adı altında incelenecektir.

3.1.3.2. İntrensik Mekanizma

Bu mekanizmada rol oynayan ilk protein, Faktör XII'dir. F XII, negatif yüklü bir yüzeye temas ederek veya bazı proteaz enzimler tarafından parçalanarak aktive olur. F XII'nin fizyolojik aktivatörü subendotelyal dokudur. Fakat cam, kaolin, çeşitli yağ asitleri, sodyum ürat kristalleri ve endotoksinler de F XII'yi aktive edebilirler. Buna *kontak aktivasyon mekanizması* da denilir (103). Aktive olan F XII (F XIIa), prekallikrein, yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK) ve F XI'yi aktive eder. Prekallikreinin parçalanması sonucu açığa çıkan kallikrein, F XII'nin aktivasyonunu hızlandırırken HMWK'yi de aktive ederek bradikinin serbestleşmesini sağlar. HMWK, XIIa ve F XIa oluşması için kofaktör görevi yapar. F XII ve HMWK trombositleri de etkileyerek PF₃ salınımı uyarır ve intrinsik sistemi aktive edebilirler. Bu basamak F XII'nin parçalanması ile sınırlandırılır. Kontak sistem aynı zamanda güçlü bir fibrinoliz aktivatörüdür. Kallikrein ve F XII, plazminojeni direkt olarak plazmine dönüştürürken bradikinin ise doku plazminojen aktivatörünü (t-PA) güçlü bir şekilde uyarır. İntrensik yol, hemostazisten ziyade fibrinoliz, inflamasyon ve vasküler modülasyon olaylarında rol oynar. Çünkü ekstrinsik sistemdeki aksaklıklar şiddetli kanamalara yol açarken intrinsik sistemde görülen defektler önemli kanama bozukluklarına sebep olmamaktadır. F XIIa, zincirleme olarak F XI'yi aktive eder. F XIa ise Ca⁺⁺ iyonları varlığında proteolitik bir etki ile F IX'u aktive eder. F IX, PF₃, Ca⁺⁺ iyonları ve F VIIa ile birleşerek tenaz kompleksi meydana getirirler. Tenaz kompleks ise inaktif F X'u aktive eder. Bundan sonra intrinsik ve ekstrinsik mekanizmalar ortak bir yol takip ederler. Ayrıca ekstrinsik yolda açığa çıkan doku faktörü-F VIIa kompleksi direkt olarak F IX'u aktive ederek intrinsik sistemi uyarabilir. Alternatif yol olarak isimlendirilen bu yol pek önemli olmayıp intrinsik yolun asıl uyarıcısı trombindir (121).

3.1.3.3. Ortak Yol

F X, hem intrinsik hem de ekstrinsik mekanizmalarla aktif hale geldikten sonra F Va, Ca⁺⁺ iyonları ve trombositlerden salınan fosfolipitler (PF₃) ile birleşerek protrombinaz kompleksini meydana getirirler. Protrombinaz kompleksi, protrombini (F II) trombine çevirir. Bu reaksiyon antitrombin III ve protein C gibi inhibitörler ile hızla inhibe edilmeye çalışılır (79). Fakat bu inhibisyondan önce az da olsa üretilmiş olan trombin, intrinsik yoldaki F XI'yi aktive ederek koagulasyon reaksiyonunu



Şekil 1: Pıhtılaşma mekanizması

kuvvetlendirir. Buna *koagulasyon reaksiyonunun kuvvetlendirilmesi* denir.

Trombin, hem trombotik hem de antitrombotik bir özellik gösterdiğinden hemostazda önemli bir rol oynar. En önemli trombotik özelliği fibrinojenin fibrine dönüşümünde görülür. Trombin, trombosit agonisti olarak agregasyonunu stimüle eder. Tenaz kompleks için gerekli olan F V'i ve protrombinaz kompleks için gerekli F VIII'i de aktive eder. Ayrıca fibrin iplikçiklerinin daha stabil hale gelmesi için gerekli olan F XIII'ü aktive eder. Trombinin diğer bir özelliği de Protrombin Aktivatör İnhibitörü'nü (PAI-1) stimüle etmesidir. Trombinin antitrombotik özellikleri; trombin kendi kendini inhibe edebilir. Ayrıca, damar endotelinde bulunan trombomodülüne bağlanarak antikoagulant özellikteki protein C ve protein S'yi aktive eder. Protein C ve S ise F V ve F VIII aktivasyonunu inhibe eder.

Pıhtılaşma olayının son reaksiyonu, fibrinojenin fibrine dönüşümüdür. Trombin fibrinojene etki ederek fibrin monomerleri ve bunu takip eden birkaç saniye içinde fibrin iplikçikleri oluşur. Fibrin monomerleri başlangıçta zayıf hidrojen bağlarıyla birbirlerine bağlanmış olduğundan stabil değildir (105). Bir protransglutaminaz olan F XIII, Ca^{++} iyonları varlığında fibrin monomerlerindeki glutamil parçalarını katalizleyerek kovalent çapraz bağlarla birbirlerine bağlanmasını sağlar. Böylece F XIII daha stabil olan fibrin yumağı oluşturarak fibrin iplikçiklerini fibrinolizize karşı dirençli kılar (62).

Damar duvarının yenilenmesi ve hücrel rejenerasyondan sonra normal kan akımının devam edebilmesi için fibrin yumağı ortadan kaldırılmalıdır. Trombus, pıhtının kasılması (pıhtı retraksiyonu) ve fibrinin parçalanması (fibrinolizis) ile ortamdaki kaldırılır. Fibrinojen-trombosit yumağının büzülmesi için normal ve yeterli sayıda trombosit bulunması gereklidir. Pıhtı büzülmesi, trombositlerin adhezyonu sırasında yaptıkları pseudopodlar ve fibrin iplikçiklerinin kasılmasıyla şekillenir. Pıhtı büzülmesi sonucunda yara dudakları birbirine doğru çekilir ve pıhtının lizisi uyarılır (103).

3.1.4. Fibrinoliz

İn vitro ortamlarda kan pıhtısı kendiliğinden lize olur. Yani pıhtı içinde lizis oluşumuna sebep olan faktörler vardır. Fibrinolitik sistem, aktivatör ve inhibitör mekanizmalarla kontrol edilir. Plazmanın başlıca fibrinolitik elemanları plazminojen, plazmin, doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ve idrardaki fibrinolizden sorumlu olan ürokinazdır. Fibrinoliz aktivatörlerinden biri olan t-PA, endotel hücrelerinden

salgılanır. Fibrin yokluğunda t-PA, plazminojeni çok az aktive edebilir. Çünkü plazmada aktivitesi çok yüksek olan PAI-1 hemen t-PA'ı inkaktif eder. Fibrin varlığında ise t-PA hem plazminojen hem de fibrine bağlanarak üçlü bir kompleks oluştururlar. Bu kompleks, t-PA'nın katalitik aktivitesini 1000 kat artırır. Böylece t-PA, plazminojeni aktive ederek fibrinolizi hızlandırır.

Karaciğerde sentezlenen plazminojen, plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunur. Fibrinojen ve fibrin ile kompleks yapan plazminojen, pıhtılaşma sırasında pıhtı içinde kalır. Endotelial tahribat sırasında salınan plazminojen aktivatörleri pıhtı içine absorpsiyon veya difüzyonla girerler ve plazminojeni aktif bir serin proteaz olan plazmine dönüştürürler. Plazmin, pıhtıdaki fibrinojen ve fibrini proteolitik olarak parçalar ve fibrin parçalanma ürünleri meydana gelir. Bu parçalanma ürünleri, karaciğer ve böbrek yoluyla dolaşımdan uzaklaştırılır. Böylece tahribata uğrayan bir damar iyileştikten sonra bu bölgedeki pıhtı kaldırılarak kan dolaşımı normal haline dönmüş olur (79).

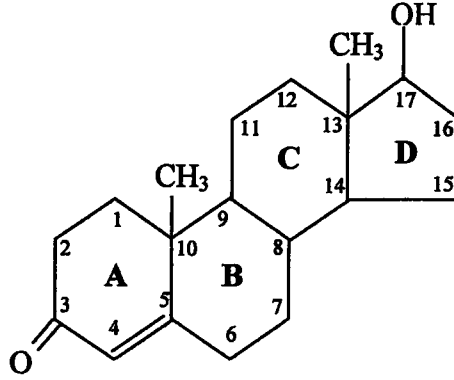
Plazma fibrinoliz inhibitörleri ise Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1 (PAI-1) ve α_2 -antiplazmindir (79). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1, linear bir glikoprotein olup trombosit ve endotel hücreleri tarafından sentezlenir. Hepatik hücreler tarafından dolaşımdan hemen uzaklaştırıldığından yarılanma ömrü çok kısadır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in görevi, ürokinaz ve t-PA ile bire bir bağlanarak bunları inhibe etmektir. Trombin tarafından uyarılan trombositler, bol miktarda PAI-1 salgırlar. Böylece pıhtı bölgesinde PAI-1'in lokal konsantrasyonu artarak olgunlaşmamış bir pıhtıyı lizisten korur (62).

Alfa₂-antiplazmin, fibrin lizisinin regülasyonunda önemli rol oynar. Fibrin şekillendiği zaman α_2 -antiplazmin hemen plazmine bağlanarak onu inaktif eder ve fibrini lizisten korur (24).

3. 2. TESTOSTERON

Testosteron, 19 karbon atomu içeren ve bir steroid olan androstenedion türevidir. Kimyasal adı 17 β -hidroksi-4-androsten-3-10 olup, dört halkaya sahip bir siklopentanoperhidrofenantren çekirdeği ihtiva eder. Ayrıca 17. karbon atomuna bir OH grubu bağlanmıştır (122).

Tüm steroid hormonlar gibi testosteron da kolesterolden sentezlenir. Steroid hormon sentezleyen tüm endokrin organlardaki sentez yolları birbirine benzer fakat bu organların içerdikleri enzim sistemleri farklıdır. Mesela, leydig hücrelerinde 17- α hidroksilazlar bulunurken sürrenal kortekste 11 ve 21 hidrolazlar mevcuttur (37).



Şekil 2: Testosteronun kimyasal yapısı

3.2.1. Testosteron Sentezi

Testosteron hormonunun sentezi LH hormonu tarafından kontrol edilir. LH, leydig hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak cAMP oluşumunu ve dolayısıyla protein kinazların etkinliğini artırır. cAMP, leydig hücrelerinde yağ damlacıklarındaki kolesterol esterlerinden kolesterol sentezini uyarır. Mitokondrilerdeki aktif protein kinazlar ise kolesterolün yan zincirlerini kopararak pregnenolona dönüşmesini sağlar. Bu aşama, testosteron sentezinin hız sınırlayıcı basamağıdır. Bundan sonraki basamaklarda pregnenolon iki ayrı yoldan testostere dönüşür. Birinci yolda pregnenolondan sırasıyla 17-hidroperoksipregnenolon, dehidroepiandrosteron, androstenediol ve testosteron sentezlenir. Bu yola Δ^5 yolu denir. 2. yolda ise pregnenolondan sırasıyla progesteron, 17-hidroksi progesteron, androstenedion ve testosteron sentezlenir. Bu yola ise Δ^4 yolu denir. İnsan testislerinde testosteron daha çok Δ^5 yoluyla sentezlenir (37,117).

3.2.2. Testosteronun Salınımının Düzenlenmesi

Testosteron başlıca Leydig hücrelerinde üretilir. Az miktarda sertoli ve epididimis hücrelerinde üretilen testosteron, buradaki lokal konsantrasyonun belirli bir seviyede kalmasını sağlarlar. Ayrıca adrenal kortekste de bir miktar testosteron sentezlenir. Testiste sentezlenen testosteron depolanmadan hemen kan dolaşımına verilir (37).

Testosteron sentezi, hipotalamustan salgılanan GnRH ve ön hipofizden salgılanan LH hormonu tarafından kontrol edilir. Testis ve hipotalamohipofizer sistem arasında negatif geri bildirim mekanizması vardır. Erkek ve dişilerdeki seksüel fonksiyonlar hipotalamustan GnRH salgılanmasıyla başlar. GnRH, hipofizial portal sistem vasıtasıyla hipofize ulaşarak burada FSH ve LH sentezini stimüle eder. Hipofizden salgılanan LH ise Leydig hücrelerini stimüle ederek testosteron üretimini artırır. Testosteron buradan seminifer tubüllere salınarak sertoli hücrelerini uyarır ve spermatogenezisi stimüle eder. Plazma testosteron miktarındaki artış, doğrudan hipotalamusa etki ederek GnRH salınımını inhibe eder. GnRH seviyesinin düşmesi, ön hipofizdeki LH ve FSH üretiminde azalmaya neden olur. LH seviyesindeki düşüş ise Leydig hücrelerindeki testosteron üretimini azaltır. Testosteron, ön hipofize de negatif geri bildirimde bulunur. Bu etki, özellikle LH salınımının azalması sonucu testosteron üretiminde küçük de olsa azalmaya sebep olur.

FSH, sertoli hücrelerinde sentezlenen inhibin vasıtasıyla negatif geri bildirimde bulunabilir. Inhibin ön hipofizden FSH salınımını inhibe ettiği gibi az da olsa hipotalamustan GnRH salınımını inhibe eder (44, 57).

3.2.3. Testosteronun Dağılım ve Metabolizması

Plazmadaki testosteronun %98'i proteinlere bağlanarak taşınır. Bunun % 44'ü androjen bağlayıcı protein olarak bilinen bir β globuline, % 54'ü ise albümin ve diğer proteinlere bağlanarak taşınır. Geriye kalan % 2-3'lük kısım ise plazmada serbest formda bulunur. Serbest testosteron hedef hücrelere girerek biyolojik cevabın oluşmasını sağlar. Testosteron, başta prostat, deri ve üreme organları olmak üzere hedef hücrelerde 5α -redüktaz enzimi tarafından dihidrotestosterona (DHT) (% 6-8) dönüştürülür. Ayrıca yağ doku, karaciğer ve beyindeki hedef hücrelerde ise aromataz enzimi ile östrojene (% 0,3) çevrilir. DHT ve östrojen aktif testosteron metabolitleridirler (117).

Testosteron metabolizmasının büyük bir kısmı karaciğerde gerçekleşir. Karaciğerde önce androstenediona çevrilen testosteron, daha sonra androstenedionun 17 β -hidroksi grubununun okside olmasıyla androsteron ve etiocholanolona (% 40) dönüşür. 17-ketosteroid olarak isimlendirilen bu üç metabolit idrarla dışarı atılır. Geriye kalan testosteron metabolitleri (% 50) ise polar yapıda olup karaciğerde sülfirik asit ve glukuronik asitle konjuge edilir. Konjugasyon ürünlerinin büyük kısmı üriner metabolitler halinde böbreklerden, geri kalanı ise feçesle dışarı atılır. Oral olarak alınan testosteron preparatları karaciğerde hemen metabolize edildiğinden etkinlikleri azdır. Bunun için testosteronun 17 metil grubu alkalize edilerek hepatik inaktivasyondan korunur (57, 117).

3.2.4. Testosteronun Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri

Leydig hücrelerinden salınan testosteron, kan dolaşımı ile hedef organlara taşınır. Hedef hücrelerin çoğunda etkin olmayan testosteron, 5 α -redüktaz enzimi ile DHT'a dönüştürülerek etkin hale getirilir. DHT, stoplazmada herhangi bir reseptörle birleşmeden doğrudan hücre çekirdeğine girer ve kromatinlerdeki reseptörlere bağlanır. Testosteron-reseptör kompleksi, DNA'dan mRNA oluşumunu uyararak hücre içi protein sentezini artırır. Hücre içinde çeşitli proteinlerin artışı, testosterona karşı oluşan hücresel cevap olarak bilinir (117,122).

3.2.4.1. Testosteronun Cinsel Karakterlere Etkisi

Testosteronun vücuttaki en önemli görevi, sekonder cinsiyet karakterlerinin oluşması ve bunların devam ettirilmesidir. Testosteron, fetal hayatta genital plaktan sonra da testislerden salgılanır. Fetal hayatta ürogenital kanalın erkeklere has bir görünüm kazanması ve skrotum, penis gibi yapıların gelişmesi testosteron tarafından gerçekleştirilir. Testosteron salınımı ergenlik dönemine kadar baskı altında tutulur. Ergenlikle birlikte testosteron sentezi ve salınımı artar ve ikincil cinsiyet karakterlerinin ortaya çıkmasına neden olur (117).

3.2.4.2. Testosteronun Metabolizma Üzerine Etkisi

Testosteron, protein sentezini artırırken, protein ve amino asitlerin yıkımını inhibe eder. Başta azot olmak üzere sodyum, potasyum, kükürt, klor ve fosfat tutulumunu artırır. Androjenler protein sentezini artırmaları ve azot tutucu etkilerinden dolayı malnutrisyon, alkolik hepatitis, gecikmiş puberte ve şiddetli

yanıklarda doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılır (74,97). Anabolik etkisine bağlı olarak çizgili kas kitlesi ve kas gücünü artırdığından sporcular tarafından doping ilacı olarak suiistimal edilebilir. Androjenik steroidlerin vücutta tuz ve su tutulumunu artırmaları nedeniyle besi hayvanlarında et verimini artırmak için kullanılabilirler (57).

Testosteron anabolik etkilerinden dolayı yalnız kas protein sentezini artırmakla kalmaz aynı zamanda plazma proteinlerinin sentezini de artırır. Testosteron uygulamasından sonra serum albümin, prealbümin ve transferrin miktarları artmaktadır (15).

Testosteron, yağların katabolizmasını artırır ve dağılımını düzenler. Kastre edilen hayvanlarda aşırı yağlanma görülür. Testosteron, plazma glikojen seviyesini artırır. Fazla miktarda testosteron alınması, bazal metabolizma hızını % 15 artırmaktadır (118).

3.2.4.3. Testosteronun Eritropoietik Etkisi

Androjenler direkt ve indirekt olarak eritropoiesisi stimüle eder. Eritropoietin üretiminde en önemli organlar böbrekler olduğundan testosteron uygulaması böbrek hipertrofisi ve buna paralel olarak da eritrosit sayısında artışa neden olur.

Deneysel çalışmalar, androjenler ve bazı 5 β -H derivatlarının direkt olarak eritropoietik kök hücreleri uyarak eritropoiesisi artırdığını kaydetmektedir. Hücre kültürü çalışmalarında sentetik androjen ve testosteron ilavesinin eritropoietin olmaksızın eritroid progenitör hücrelerini uyardığı görülmüştür. Sonuç olarak testosteron derivatları eritroid progenitörleri ve kısmen de myeloid progenitörlerin proliferasyonunu stimüle etmektedir (57,78).

3.2.4.4. Testosteronun Koagulasyon ve Fibrinolitik Sisteme Etkisi

Bazı 17 α -alkali androjenler, plazminojen aktivatör aktivitesi, serum plazminojeni, protein C ve antitrombin III seviyelerini artırmaktadır (61). Bu nedenle androjenlerin trombozise karşı koruyucu etkinliği akla gelebilir. Fakat yapılan çalışmalarda hiçbir koruyucu etkinlik gözlenmemiştir (14). Atipik bir androjen olan danazolun, hemofili hastalığında faktör VIII ve faktör IX düzeyini yükselttiği bildirilmiştir (57).

Androjenler fibrinojen seviyesi üzerine farklı etkiler göstermektedir. Bazı araştırmacılar testosteronun fibrinojen sentezini artırdığını söylerken (31), bazıları ise azalttığını bildirmektedir (5).

3.2.4.5. Testosteronun Serum Lipit Seviyesine Etkisi

Testosteron kullanımı, HDL kolesterol seviyesini önemli ölçüde düşürürken LDL kolesterol seviyesini artırmaktadır. Testosteron, hepatik trigliserid lipaz (HTGL) aktivitesini artırır. HTGL enzimi ise HDL katabolizmasını artırdığı için dolaylı olarak testosteron HDL seviyesinde düşüşe neden olmaktadır. Androjenler, lipit profilinde yaptığı olumsuz etkilerden dolayı kardiyovasküler hastalık riskini artırabilirler (39).

3. 3. LİPİTLERİN ÖZELLİKLERİ ve METABOLİZMASI

Lipitler, hidrofobik yapıları nedeniyle suda çözünmeyen, eter, kloroform gibi organik çözücülerde çözünen biyomoleküllerdir. Daha çok hücre bütünlüğünü sağlayan membranlarda bulunurlar. İnsan plazmasında bulunan başlıca lipitler; trigliseritler, fosfolipitler ve kolesterol esterleridir. Lipitler plazmada lipoproteinler (lipit-protein kompleksi) halinde bulunur (42).

3.3.1. Trigliseritler

Bir gliserol molekülüne üç yağ asiti bağlanması ile oluşmuştur. Trigliserit sentezi, karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yoluyla, ince bağırsaklarda ise yağ emilimi sırasında oluşur. Trigliseritler, karaciğerde VLDL'e dönüştürülerek salgılanır ve başta yağ dokusu olmak üzere çeşitli dokular tarafından alınır. Trigliseritler adipoz dokuda büyük yağ damlacıkları şeklinde depolanır ve gerektiğinde yağ asitlerine hidrolize edilerek enerji kaynağı olarak kullanılırlar (42).

3.3.2. Kolesterol

Kolestrol, perhidroksipentafenanerin çekirdeğinin 3 C atomuna hidroksit grubu bağlanmasıyla oluşan bir steroidtir. Vücutta serbest ya da kolesterol esterleri şeklinde bulunur. Serbest kolesterol, hücre membranının en önemli yapı taşı olup aynı zamanda safra asitleri, D vitamini ve steroid hormonlarının da ön maddesidir. Kolesterol ya dışardan diyetle alınır veya hücrelerde sentezlenir. Hayvansal besinler (et, süt ve yumurta) diyetteki tek kolesterol kaynağı iken bitkisel besinler kolesterol

İçermezler. Başta karaciğer olmak üzere birçok organ kolesterol sentezler. Karaciğer tarafından alınan kolesterolün birkaç akıbeti vardır. Bu kolesterolün bir kısmı membran ve VLDL sentezi için kullanılırken bir kısmı da safrada kolesterol ve safra asitleri halinde bağırsaklara atılır.

Plazma kolesterol seviyesi, başlıca LDL ve LDL reseptörleri aracılığı ile kontrol edilir. LDL reseptörleri karaciğer dahil olmak üzere bütün hücrelerin yüzeyinde bulunur ve LDL'nin hücre içine alınmasını sağlar. Böylece, kolesterol ihtiyacı duyan hücreler, hiç kolesterol sentezlemeye gerek kalmadan önceden sentezlenen LDL kolesterolleri hücre içine alırlar. Ayrıca karaciğer de bu yolla LDL kolesterol olarak kolesterolün vücuttan atılmasını sağlar. Kolesterol hücre içine alındıktan sonra asil-koenzim A kolesterol asiltransferaz (ACAT) enzimi tarafından esterleştirilerek damlacıklar şeklinde depolanır. Böylece hücreler serbest kolesterolün zararlı etkilerinden korunmuş olur. Hücrelerdeki kolesterol ester hidrosilaz enzimi ise depolanmış kolesterolü hidrolize ederek kullanılmasını sağlar. Bütün bunlar, hücrelerde dinamik bir kolesterol ve kolesterol ester havuzu bulunduğunu göstermektedir (117).

3.3.3. Plazma Lipoproteinleri

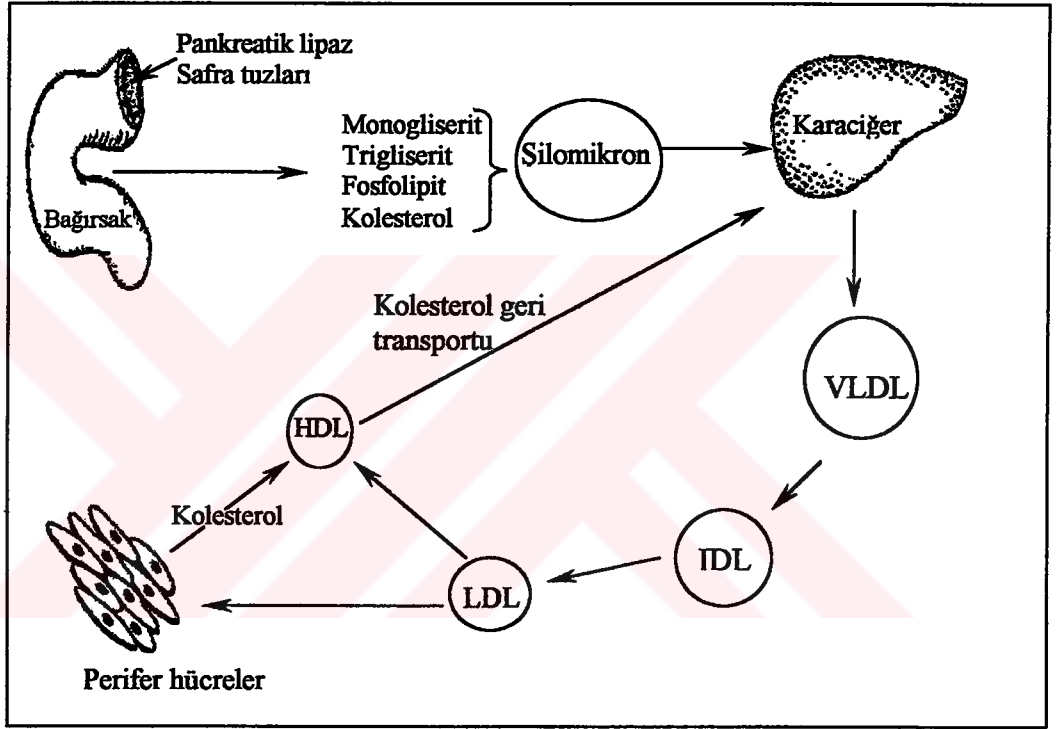
Besinlerle alınan veya karaciğerde sentezlenen triasilgliserol ve kolesterol gibi lipitler, proteinler ile birleşerek kanda çözünebilir lipoprotein kompleksi şeklinde taşınırlar. Lipitler, trigliserit, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipitleri içerir. Lipit taşınmasında farklı görevleri olan başlıca beş lipoprotein sınıfı vardır (Tablo 1). Yüzeylerinde apolipoprotein denilen yaklaşık on değişik protein partikülü içerdikleri için kendi aralarında alt tiplere ayrılırlar. Apolipoproteinler, lipoproteinlerin kaderini belirleyen en önemli yapılardır. Apolipoproteinlerde meydana gelen defektler, lipoprotein metabolizmasında bozukluklara neden olur (84).

3.3.3.1. Şilomikronlar

Şilomikronlar, kolesterol ve triasilgliserollerin vücuda alınması için intestinal mukozada oluşan en büyük lipoproteinlerdir. Besinsel yağlar incebağırsakta emülsifiye olduktan sonra pankreatik lipaz tarafından trigliseritler, serbest yağ asitleri, mono ve digliseritlere parçalanırlar. Yağ asitleri, mono ve digliseritler bağırsak hücreleri tarafından alınarak tekrar trigliseritler sentezlenir. Trigliseritler,

fosfolipitler ve kolesterol ince bağırsak epitel hücrelerinde şilomikron yapımında kullanılır. Şilomikronlar buradan mezenterik lenfe salınarak duktus torasikus yoluyla genel dolaşıma katılırlar.

Şilomikronlar tarafından taşınan trigliseritler, kas ve adipoz doku üzerindeki lipoprotein lipaz (LPL) tarafından serbest yağ asitlerine hidrolize edilir. Serbest yağ asitleri dokular tarafından alınırken, geriye kalan hacmi iyice küçülmüş kısım ise şilomikron artığı olarak kalıntı reseptörleri vasıtasıyla karaciğer tarafından plazmadan uzaklaştırılır (84). (Şekil 3)



Şekil 3: Lipoproteinlerin oluşum ve taşınması

3.3.3.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL)

Besinlerle vücudun ihtiyacından fazla alınan yağ ve karbonhidratlar karaciğerde triasilgliseritlere dönüştürülür. Karaciğerde sentezlenen VLDL'ler, endojen trigliseritleri dokulara (başta kas ve adipoz doku) taşımakla görevli moleküllerdir. Aşırı yağ ve karbonhidrat alımı, açlık, diabetes mellitus ve karaciğerde yağ asidi sentezinin arttığı durumlarda VLDL sentezi artar.

VLDL'lerdeki trigliseritler, lipoprotein lipaz (LPL) enzimi tarafından hidrolize edilir ve açığa çıkan yağ asitleri adipoz doku ve kas dokusu tarafından alınır. Böylece VLDL giderek kolesterolden zengin diğer lipoproteinlere dönüşür.

VLDL'nin yarısı LDL'e dönüşürken diğer yarısı ise karaciğer tarafından VLDL artıkları ve IDL olarak dolaşımdan temizlenir (106).

3.3.3.3. Orta Yoğunluklu Lipoprotein (IDL)

VLDL'lerden triasilgliserollerin çıkarılması ile meydana gelir. Bir LDL öncüsü olan IDL, VLDL katabolizmasını temsil eder. IDL'lerin iki türlü akıbeti vardır; ya LDL reseptörleriyle kompleks oluşturup endositozla karaciğere alınır ya da triasilgliserol içeriği iyice azalarak LDL'lere dönüşür (85).

	Yoğunluk (gr/ml)	Bileşim (%)					Apolipoprotein	Kaynak
		Pro.	SK	KE	TG	FL		
Şilomikron	< 0,95	2	2	3	90	3	B48, AI, AIV	Bağırsak
VLDL	0,95-1,006	8	4	16	55	17	B100, E, C	K.ciğer
IDL	1,006-1,019	10	5	25	40	20	B100, E	VLDL
LDL	1,019-1,063	20	7	46	6	21	B100	IDL
HDL	1,063-1,21	50	4	16	5	25	AI,AII,E,CI,CII CIII	K.ciğer, bağırsak, plazma

Kısaltmalar:

Pro; protein, SK: serbest kolesterol,KE: kolesteril esterleri, TG; trigliserit, FL; fosfolipit

Tablo 1: Lipoprotein tipleri ve kompozisyonları (37)

3.3.3.4. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)

VLDL hidrolizinin son ürünlerinden olan LDL, plazmada kolesterol taşıyan en önemli lipoproteindir. Plazmadaki LDL'nin yaklaşık % 75'i karaciğer, geri kalanı ise çeşitli dokular tarafından alınır. Bütün hücreler kolesterol sentez edebilir fakat, LDL kolesterol bir çok hücre tarafından kolesterol kaynağı olarak kullanılır. (Şekil 3)

Plazmaki LDL seviyesi çeşitli faktörler tarafından düzenlenir. Karaciğere giren serbest yağ asiti ve diyetle alınan lipitlerin artışı, LDL seviyesini yükseltir. Bunun yanında VLDL biyosentezi ve sekresyonunun artması da LDL miktarını

artırır. Karaciğer ve diğer dokulardaki LDL reseptörlerinin azalması, LDL katabolizmasını azaltarak kandaki LDL seviyesini yükseltir (85).

3.3.3.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)

HDL'ler karaciğer ve incebağırsaklarda proteince zengin diskler halinde sentezlenir. Yeni şekillenen HDL'ler çok az kolesterol ve kolesterol esteri içerdikleri için aşırı kolesterolü olan hücre ve lipoproteinlerden bol miktarda kolesterol alabilirler. Şilomikron kalıntıları ve VLDL'deki serbest kolesterol, bir karaciğer enzimi olan lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) tarafından esterleştirilerek HDL'ye alınabilir. Kolesterolce zengin HDL'ler endositozla karaciğere alınır. HDL'ler direkt olarak hücrelerden de kolesterol alır ve bunu ihtiyaç duyan hücrelere veya salgılanmak üzere karaciğere götürür. Bu şekilde kolesterolün HDL vasıtasıyla karaciğere taşınması, kolesterol geri transportu olarak isimlendirilir. (Şekil 3)

Birçok çalışma, HDL kolesterol seviyesi ve kardiyovasküler hastalıklar arasında ters bir ilişki bulunduğunu bildirmektedir. HDL'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki koruyucu etkinliği çok yönlü bir özellik taşımaktadır (110).

HDL yüzeyinde antioksidan özellikler taşıyan *paraoksanaz enzimi* bulunur. Bu enzim, HDL'yi oksidasyona karşı koruyarak HDL'nin kolesterol geri transport aktivitesinin devamını sağlar. Paraoksanaz enzimi ayrıca hidroperoksit ve hidrojen peroksitleri hidrolize ederek LDL'yi de oksidasyona karşı dirençli kılar (21). (Şekil 6) HDL antioksidan etkinliği ile endotel hücrelerinde sentezlenen ve vazodilatatör bir madde olan NO'nin oksidasyonunu önleyerek vasküler homeostazisin devamını sağlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, HDL'nin trombosit ve endotel hücrelerinde TXA₂ sentezini baskımlarken PGI₂ sentezini artırdığını bildirmektedir. LDL kolesterolün ise TXA₂/PGI₂ dengesi üzerinde tamamen ters bir etki gösterdiği bildirilmiştir (70,80,82).

Hücre kültürü çalışmalarında, LDL'nin trombin oluşumunu HDL'e kıyasla 17 kat, okside olan LDL'nin ise normal LDL'ye kıyasla trombin sentezini 12 kat artırdığı bildirilmektedir (94).

Lipoproteinlerin fibrinoliz mekanizması üzerindeki etkileri de farklılar gösterir. LDL kolesterol, t-PA aktivitesini düşürürken, PAI-1 aktivitesini artırmaktadır. HDL kolesterol ise t-PA aktivitesini artırırken PAI-1 aktivitesini düşürerek fibrinolitik bir aktivite sergiler (41).

Plazmada bulunan protein C ve protein S, pıhtılaşma faktörlerinden F V ve F VIII'i inaktive ederek antikoagulant etki gösterirler. HDL kolesterol, bu proteinleri aktive ederek antikoagulatif etkinliği artırır (41).

Tüm bu bildirimlerden anlaşıldığı gibi, HDL kolesterol antikoagulatif bir aktiviteye sahipken LDL kolesterolün hiperkoagulatif etkileri bulunmaktadır.

3. 4. SERBEST RADİKALLER

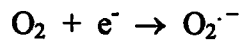
Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Son derecede reaktif bir yapıya sahip olan serbest radikaller, eşlenmemiş elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek kararlı bileşikler oluşturma eğilimindedirler. Serbest radikallerle reaksiyona giren moleküllerin bir elektronu azaldığı için etrafındaki moleküllerden bir elektron alacak derecede reaktif hale gelirler. Böylece serbest radikaller bir zincir reaksiyonu şeklinde çoğalır.

Hayatın devamı için mutlaka gerekli olan oksijen, biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikal kaynağıdır. Oksijenin iki elektronu eşlenmediğinden diradikal olarak da tanımlanır. Oksijen diradikal olmasına rağmen aynı anda iki elektron almaz. Elektronlarını tek tek alarak veya vererek reaksiyona girmeyi tercih ettiğinden, serbest radikal özelliği taşıyan reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesine sebep olur.

Serbest oksijen radikalleri, organik veya inorganik olabilir. Organik olan radikaller; çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) gibi kompleks moleküllerden türeyen peroksi (LOO[•]), allil (L[•]) ve alkoksil radikali (LO[•]), inorganik olanlar ise süperoksit (O₂^{•-}), hidroksil radikali (OH[•]) ve nitrik oksit (NO[•]) gibi radikallerdir (3,51).

3.4.1. Süperoksit Anyon Radikali (O₂^{•-})

Süperoksit radikali, tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur.



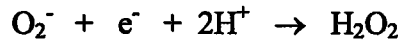
Süperoksit anyonu, bir radikal olmakla birlikte reaktivitesi azdır. Süperoksit radikali sıvı ortamlarda kendiliğinden dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit ve oksijene dönüşür. Eğer ortamda süperoksit dismutaz enzimi varsa bu reaksiyon daha yüksek bir hızla katalizlenir.

Süperoksit radikalının temel kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki elektron transport zinciridir. Bu zincirde indirgenmiş elektron taşıyıcılarından kaçan bir kısım elektronlar, direkt olarak moleküler oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit radikali oluştururlar. Fizyolojik şartlarda elektron transport zincirinden kaçan bu elektronların oranı % 5'tir. İkinci önemli üretim yeri ise aktive olmuş fagositik hücrelerdir. Fagositik hücreler bir bakteriyi yuttuğunda bunları ani bir solunum patlaması sonucu bol miktarda süperoksit radikali üreterek öldürürler. Ayrıca, hidrokionlar, lökoflavinler, ketoşalaminler ve hemoproteinlerin otooksidasyonu, ksantin oksidaz, mikrozomal hidroksilaz, galaktoz oksidaz gibi enzimlerin katalitik etkileri sonucunda da süperoksit radikali üretilmektedir (16).

Süperoksit anyonu bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi pek zararlı değildir. Bu radikalın asıl önemi, bir dizi tepkimeler sonucunda daha zararlı radikallere dönüşmesidir. Süperoksit radikali geçiş metalleri (Fe^{+2} , Cu^{+}) indirgeyerek hidrojen peroksit oluşumuna katılır (3).

3.4.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Süperoksit radikaline ikinci bir elektron ilavesiyle oluşan peroksit iyonu (O_2^{2-}) fizyolojik şartlarda protonlanarak H_2O_2 oluşur. Bunun yanında moleküler oksijenin iki elektron almasıyla da H_2O_2 meydana gelir. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl kaynağı süperoksit radikalının dismutasyonudur (45).



Hidrojen peroksit, eşlenmemiş elektron ihtiva etmediğinden serbest radikal olarak sınıflandırılmaz fakat, en zararlı bir bileşik olan hidroksil radikalının ($\cdot OH$) sentezine katıldığından radikal biyokimyasında incelenir.

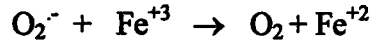
3.4.3 Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)

Hidroksil radikali, canlı hücrelerindeki her türlü molekülle çok yüksek hızda reaksiyona girdiğinden en toksik radikal olarak bilinir. $\cdot OH$ radikali, suyun yüksek enerjili iyonizasyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda oluşur. Haber-Weiss reaksiyonu; O_2^- ile H_2O_2 'nin reaksiyona girmesiyle $\cdot OH$ sentezlenmesi olarak bilinir.



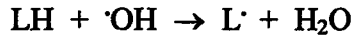
Eğer ortamda geçiş element iyonları bulunuyorsa bu reaksiyon daha hızlı şekillenir. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demire

(Fe⁺²) indirgenir. Sonra da ferro demir (Fe⁺²) fenton reaksiyonunda H₂O₂ ile birleşerek OH⁻ ve [·]OH oluşturur.



Yarılanma ömrü çok kısa olan [·]OH radikali olduğu yerlerde büyük hasarlara sebep olur;

a- Etrafındaki lipitlerden hidrojen atomu kopararak lipit peroksidasyonunu başlatır. Bunun sonucunda oluşan organik radikaller ise membranların yapısını bozar.



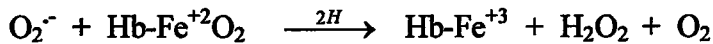
b- Hidroksil radikali, çift bağ içeren aromatik bileşiklere katılarak bunların hidroksilasyonu ve toksik aldehytlerin oluşumuna sebep olur. Bunun sonucu olarak DNA'nın pürin ve pirimidin gibi aromatik halka içeren yapıları zarar görür.

İstenmeyen zararlı etkileri yanında [·]OH'n normal fizyolojik sınırlar içinde üretilmeleri, organizmanın bazı biyolojik fonksiyonları için gereklidir. Hidroksil radikalının fagositoz ve birçok enzimatik reaksiyonlara doğrudan katılması gerekmektedir (29).

3.4.4. Reaktif Oksijen Türleri Ve Toksik Etkileri

Hücrelerde reaktif oksijen türlerine karşı gelişmiş savunma mekanizmaları bulunur. Serbest radikaller, hücredeki savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak olursa lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzimler gibi birçok hücre elemanlarında hasarlar görülür.

Proteinler, doymamış yağ asitlerine nazaran serbest radikallere karşı daha az hassastır. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden amino asitler serbest radikal tahribatından en fazla zarar gören amino asitlerdir. Örneğin serbest radikaller, Ig G ve albümin gibi sülfür bağı taşıyan proteinlerle reaksiyona girerek bunların yapısını bozar ve fonksiyon yapamaz hale getirirler. Hem proteinleri de serbest radikaller için önemli bir hedeftir. H₂O₂ ve O₂^{·-} gibi radikaller oksihemoglobin ile reaksiyona girerek oksijen taşıma yeteneği olmayan methemoglobin oluşumuna sebep olurlar.



Stoplazma ve membran proteinleri reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek yapıları bozulur ve çapraz bağlarla birbirlerine bağlanırlar (3).

3.5. LİPİT PEROKSİDASYONU (LPO)

Membranlardaki PUFA'nın (fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol gibi) serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksit, alkol, aldehit, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması LPO olarak isimlendirilir. LPO, kendi kendini devam ettiren zincirleme bir reaksiyondur. Bu reaksiyon, başlama, yayılma ve sonlanma olarak üç aşamada incelenir (3,64).

3.5.1. Başlama

Serbest radikaller, PUFA yan zincirlerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu kopararak LPO'yu başlatır. Reaksiyonun başlaması için demir, bakır gibi eşlenmemiş elektron içeren geçiş metali iyonlarına ihtiyaç vardır. Bu reaksiyon sonunda karbon merkezli dayanıksız bir lipit radikali (L \cdot) oluşur. Daha sonra bu radikal molekülündeki çift bağların dizilişinde bir takım değişiklikler olur ve konjuge dienler meydana gelir. Konjuge dienler hemen moleküller oksijenle birleşerek lipit peroksil radikalini (LOO \cdot) oluştururlar (3,43). (Şekil 4)

3.5.2. Yayılma

Lipit peroksil radikali, membranların yapısındaki proteinlerle veya diğer PUFA ile reaksiyona girer. PUFA ile reaksiyona giren LOO \cdot , komşu yan zincirlerden bir hidrojen atomu koparır ve yeni lipit radikalleri oluşturarak peroksidatif reaksiyonu zincirleme olarak devam ettirir. Bu reaksiyonda koparılan hidrojen atomları lipit radikalleri tarafından tekrar alınarak lipit hidroperoksitler (LOOH) ve yeni peroksitler meydana gelir.

Reaksiyon bir kere başladıktan sonra kendi kendini katalizleyerek devam eder ve bol miktarda lipit hidroperoksitler ve yağ asiti zinciri oluşur. Yayılma reaksiyonunun uzunluğu, lipit/protein oranı, yağ asiti bileşimi (PUFA miktarının fazlalığı lipit peroksidasyonunu artırır) ve oksijen konsantrasyonu gibi faktörlere bağlıdır. Bundan sonra LPO ya otokatalitik olarak devam eder veya toplayıcı bir reaksiyonla sona erdirilir (3,20,43).

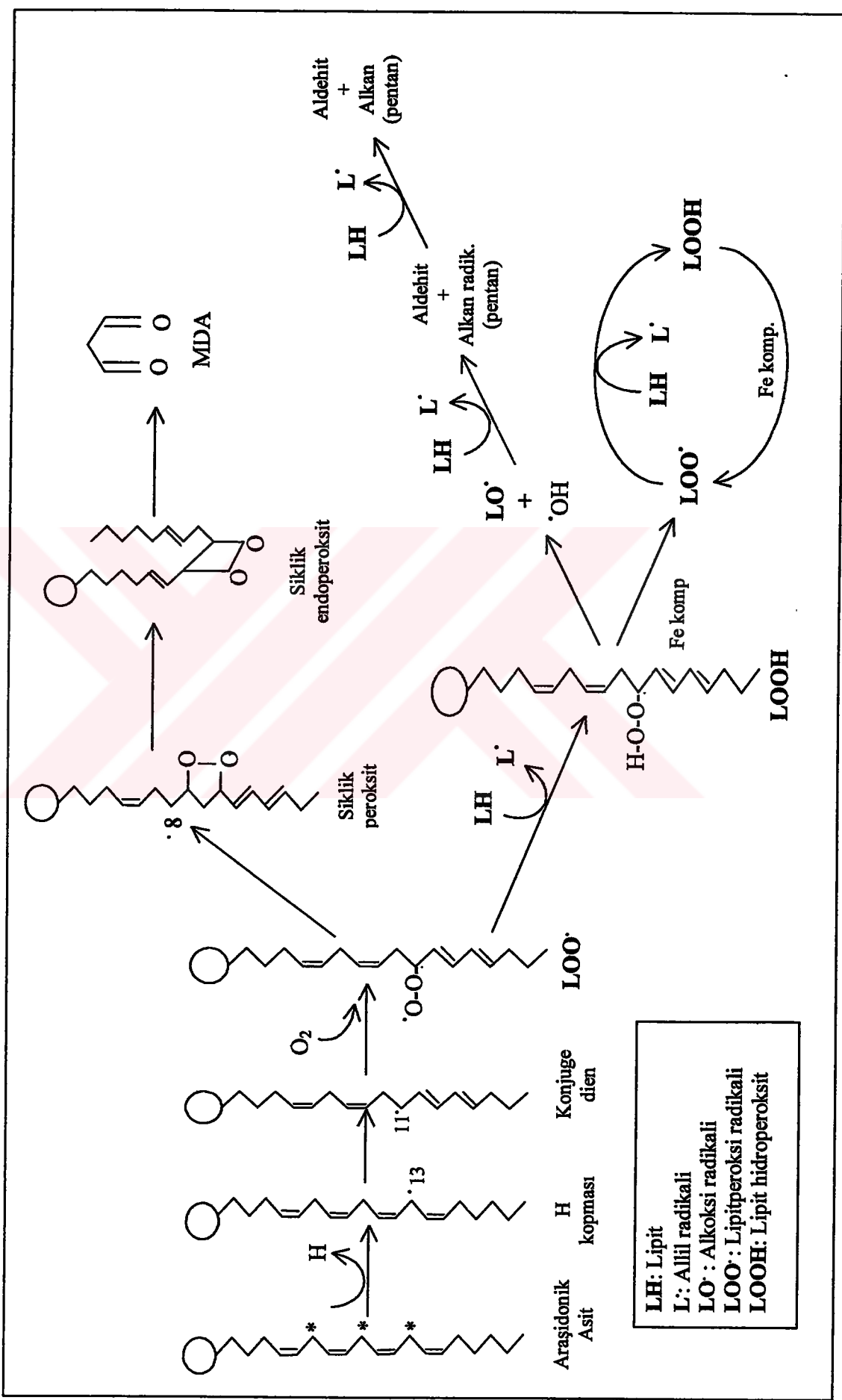
3.5.3. Sonlanma

Çeşitli demir kompleksleri H_2O_2 ile reaksiyona girerek $\cdot OH$ oluştururlar. Fakat bazı proteinlerin yapısında bulunan demir, ortama salınmadığı sürece H_2O_2 ve O_2^- ile reaksiyona girseler de $\cdot OH$ üretemezler. İşte bu nedenle serbest hem, methemoglobin, oksihemoglobin, metmyoglobin, laktoperoksidaz ve sitokrom P_{450} gibi demir ihtiva eden proteinler, radikaller ile reaksiyona girerek onların yapılarını bozar ve reaksiyonu sonlandırırlar. Bu bozulma reaksiyonu sonunda etan, pentan gibi gazlar ve kısa zincirli yağ asitleri meydana gelir (43,46).

Lipit hidroperoksitler (LOOH) ve lipit peroksi ($LOO\cdot$) radikalleri hücredeki bir çok komponentle reaksiyona girerek hücrenel ve metabolik fonksiyon bozukluklarına yol açarlar (87). Bu bozukluklar şöyle sıralanabilir;

- a- Hücre membranında bulunan reseptör ve enzimleri inaktive ederler.
- b- Membranın sekretuar fonksiyonlarını bozarlar.
- c- Transmembran iyon gradiyentini bozarak kalsiyum gibi iyonlara karşı nonspesifik permeabiliteyi artırır.
- d- Mitekondrideki oksidatif fosforilizasyonu bozar, mikrozomal enzim aktivitelerini azaltır ve lizozom gibi subselüler organellerin bütünlüğünün kaybolmasına neden olurlar.
- e- Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu toksik bir ürün olan malondialdehit (MDA) şekillenir. MDA, hücre yüzeyindeki yapıların çapraz bağlanması ve agregasyonu sonucu iyon transport enzimlerinin inaktivasyonuna sebep olur. Ayrıca kolayca diffüze olabilen MDA, DNA'daki azotlu bazlarla reaksiyona girerek mutajenik, kanserojenik etkiler gösterebilmektedir (64).

Serbest radikaller, oldukça değişik etkilere sahip olan araşidonik asit metabolizması üzerinde de etkilidir. Araşidonik asit, PLA_2 ve PLC enzimleri vasıtasıyla membran fosfolipitlerinden sentezlenir. Araşidonik asit, oluşur oluşmaz Prostaglandin H sentaz tarafından ileri basamaklara katalizlenir. Prostaglandin H sentaz, siklooksigenaz ve hidroperoksidaz olarak iki alt birimden meydana gelmiştir. Siklooksigenaz enzimi bir oksijenlenme reaksiyonu ile araşidonik asite 2 molekül oksijen katarak onu PGG_2 'ye dönüştürür. Siklooksigenazın aktive olabilmesi için ferrik demirin (Fe^{+3}) ferros demire (Fe^{+2}) indirgenmesi gerekir. LPO, ferrik hemi



Şekil 4: Lipit Peroksidasyon (54)

ferros heme indükleyerek siklooksigenazı aktive eder. Daha sonra bu enzim araşidonik asitten hidrojen atomu koparıp PGG₂ sentezi için gerekli peroksil radikalini şekillendirir. Hücrelerdeki peroksit tonu, siklooksigenaz aktivitesi üzerinde önemli denetleyici faktörlerden biridir. Siklooksigenaz, aktivasyon için peroksitlere ihtiyaç duyarken bunların fazlalığında ise inaktive olur. Yüksek konsantrasyonlardaki antioksidanlar, hidroperoksit oluşumunu engelleyerek siklooksigenaz aktivasyonunu inhibe ederler (113).

Prostaglandin H sentaz enziminin ikinci komponenti hidroperoksidazdır. Bu enzim, PGG₂'ye peş peşe iki elektron katarak PGH₂'ye dönüştürür. Hidroperoksidaz da aktive olabilmek için hidroperoksitlere ihtiyaç duyar.

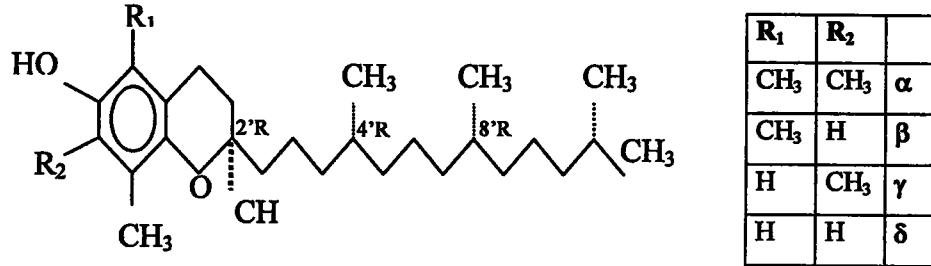
PGH₂'nin akıbeti dokuda hangi enzimin bulunduğuna bağlıdır. Örneğin trombositlerde tromboksan sentaz enzimi vasıtasıyla TXA₂, heptadekatrienoik asit (HHT) ve MDA'a çevrilirken, endotel hücrelerinde Prostaglandin I₂ (PGI₂)'ye dönüştürülür. TXA₂, güçlü bir vasokonstriktör ve trombosit agregasyon agonisti olmasına karşı PGI₂ tam tersi etkilere sahiptir. Yüksek LPO seviyesi, PGI₂ sentezini güçlü bir şekilde inhibe ederken TXA₂ sentezini artırır. Bu özelliklerinden dolayı TXA₂/PGI₂ dengesinin iyi ayarlanması birçok vasküler hastalığın önlenmesinde önemli bir faktördür (72).

3.6. E VİTAMİNİ

E vitamini, tokoferol ve tokotrienoller olarak bilinen iki farklı grubu ihtiva eden jenerik bir isimdir. Bütün tokoferoller tokol derivatları olup, 6-kromonal halka ve bu halkaya bağlanmış 4',8',12' trimetiltridecylphytol yan zincirinden oluşur. (Şekil 5) Tokoferol ve tokotrienoller kromonal halkadaki metil grubunun sayısı ve bulunduğu yere göre α , β , γ ve δ olarak 4 alt gruba ayrılır. Tokoferollerin fitol zincirindeki C2, C4 ve C8 bölgesinde 3 adet asimetric merkez bulunur. Bu merkezlere bağlanan metil gruplarının simetrisine göre biyolojik etkinlikleri farklı 8 tane stereoizomer meydana gelir. Biyolojik aktiviteyi en çok etkileyen faktör, fitil kuyruğunun kromonal halkaya bağlandığı C2 bölgesindeki simetri durumudur. Tabiatta en yaygın ve biyolojik aktivitesi en yüksek E vitamini formu α -tokoferoldür (115).

E vitamini, insan ve hayvan vücudunda sentezlenemediği için mutlaka dışardan alınmalıdır. Bitkisel yağlar, karaciğer, baklagil tohumları ve yeşil bitkilerin

çoğu doğadaki en zengin E vitamini kaynaklarıdır. E vitamini, sentetik olarak trimetilhidroquinon ve isofitol halkasının birleştirilmesi ile elde edilebilir (33).



Şekil 5: Tokoferollerin kimyasal yapısı

3.6.1. E Vitamininin Emilim ve Dağılımı

E vitamini, sadece organik çözücüler ve yağlarda çözünebildiğinden emilebilmesi için yağlara ihtiyaç duyar. Vücuda alınan yağlı besinlerin emilimi, ince bağırsaklarda safra ve pankreatik lipaz enzimi vasıtasıyla olur. Yağların lipoliz ve emülsifikasyonu sonucu E vitamini içeren miseller oluşur. Bu miseller bağırsak mukozasının fırçamsı kenarlarından pasif difüzyonla hücre içine alınır. Burada trigliserit, fosfolipit ve kolesterol ile birlikte şilomikronların yapısına katılır. Şilomikronlar ekzositoz ile lenf damarlarına verilir ve buradan duktus torasikus yoluyla kan dolaşımına katılırlar. E vitamini hidrofobik özelliğinden dolayı, plazmada başlıca LDL ve HDL lipoproteinler tarafından taşınır. Plazmada fosfolipitler ve diğer amfipatik bileşikler arasında lipit alışverişini sağlayan fosfolipit transfer protein (PLTP) bulunmaktadır. Bu protein, aynı zamanda HDL ve LDL arasındaki α-tokoferol değişimini de sağlar. Plazmadaki E vitamini LDL endositozu ile hücre içine alınır ve burada TAP (Tocopherol Associated Protein) ile birleşir. TAP, hücrelerde α- tokoferol regülasyonunu sağlayan bir proteindir. Alfa tokoferol, lipofilik bir yapıda olduğundan başta yağ dokusu olmak üzere adrenal bezler, testis, trombositler, kalp ve karaciğerde bulunur. Hücre içinde ise en çok lizozom, mitekondri iç ve dış membranı ve mikrozomlarda lokalize olmuştur (8,93,98,115).

Alfa tokoferol karaciğerde okside olursa bir radikal olan tokoferoksil meydana gelir. Alfa tokoferoksil radikali, peroksil radikali ile reaksiyona girerek α-tokoferil quinonu oluşturur. Alfa tokoferil quinonun bir kısmı glukronik asitle

konjuge olarak safra yoluyla feçesle atılır. Geri kalan kısmı ise böbreklerde mitokondrial enzimler aracılığıyla tokoferil hidroquinona indirgenir. α -tokoferil hidroquinon ise α -tokoferonik asit ve α -tokoferolaktona metabolize edilerek dışarı atılır.

Alfa tokoferolün idrardaki diğer bir metaboliti ise α -CEHC [2,5,7,8-tetrametil-2(2'-karboksietil)-6-hidroksikroman]'tir. α -CEHC'in kroman halka yapısı bozulmamış olup, fitil zincirinin kroman halkadan ayrılmasıyla şekillenmiştir. Plazmadaki E vitamini belirli bir seviyeyi aştığı zaman idrarda α -CEHC görülür ki bu durum, yeterli veya fazla E vitamini alınımının bir göstergesidir (32).

3.6.2. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları

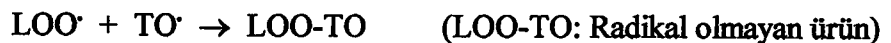
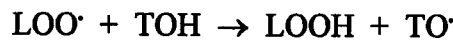
E vitamininin en önemli özelliği nonspesifik bir antioksidan olmasıdır. Bu vitamin, zincir kırıcı bir antioksidan olarak serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önler. Membran lipitleri bol miktarda doymamış bağ içerdiğinden oksidasyona karşı son derece duyarlıdır. Bir peroksil radikal süpürücüsü olan E vitamini, özellikle membran fosfolipitleri ve lipoproteinlerdeki PUFA'yı oksidasyondan korumada ilk savunma hattını oluşturur. Peroksil radikali, PUFA'dan 1000 kat daha hızlı bir şekilde E vitamini ile reaksiyona girer. E vitamininin fenolik hidroksil grubu ile organik peroksil radikalinin reaksiyonu sonucu organik hidroperoksitler ve tokoferoksil radikali meydana gelir. Tokoferoksil, nisbeten stabil ve lipit peroksidasyonunu başlatamayacak kadar reaktivitesi az bir radikaldir (3).



Tokoferoksil radikali bundan sonra 4 farklı reaksiyona maruz kalabilir;

a- C vitamini, glutatyon ve ubiquitin gibi antioksidanlar tarafından tekrar α -tokoferole indirgenir.

b- Tekrar peroksil radikali ile reaksiyona girerek radikal olmayan ürünlere dönüşür. Böylece 2 radikal birden ortadan kaldırılmış olur (111).



c- Okside olarak tokoferil quinona dönüşür.

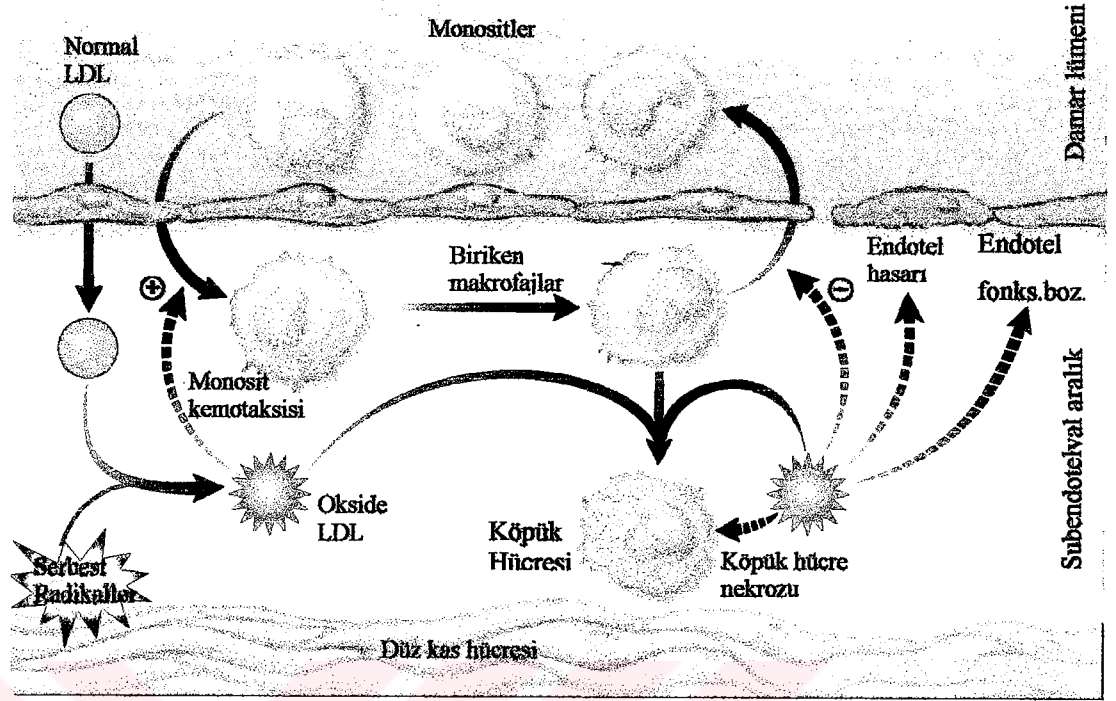
d- Tokoferoksil radikali eğer C vitamini veya ubiquitin tarafından redükte edilmezse, bir prooksidan olarak lipoproteinlerdeki lipitleri okside edebilir. Fakat bu reaksiyon fizyolojik şartlar altında pek görülmez (8,93,111).

Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında daha etkilidir. Bu nedenle E vitamini, eritrosit ve solunum membranı gibi yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında daha da yoğunlaşmıştır. Çift bağa sahip doymamış yağ asitleri, oksijen ile reaksiyona girerek peroksit ve hidroperoksitleri oluşturduğundan, doymamış yağ asiti tüketen canlılarda E vitamini ihtiyacı yüksektir (46).

Alfa tokoferolün antioksidan özelliği yanında antioksidatif olmayan spesifik moleküler fonksiyonları da vardır. Bunlardan en önemlisi düz kaslar, trombosit, monosit, nötrofil, fibroblast ve mesengial hücrelerde protein kinaz C (PKC)'yi inhibe etmesidir. Antioksidan özelliğe sahip β -tokoferol, böyle bir inhibisyona neden olmadığından α -tokoferolün PKC'yi inhibe etmesi onun antioksidan özelliğine bağlanmamaktadır. PP₂A enzimi, PKC'yi fosforile ederek yapısını bozar. E vitamini, PP₂A enzimini de aktive ederek PKC'yi inhibe eder. PKC, hücre çoğalması, hücre adhezyonu, immun cevap oluşumu ve gen ekspresyonu gibi bir çok hücre faaliyetinde önemli bir belirleyicidir. PKC inhibisyonu, hücre siklusunu ve trombosit aktivasyonunu yavaşlatır (93).

Epidemiyolojik çalışmalar, E vitamini alınması ile aterosklerozis belirtileri arasında ters bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur. Bu ilişki, LDL'nin oksidatif modifikasyon teorisi ile izah edilmektedir. Bu teoriye göre LDL, arterlerin subendotelial aralığına girer ve burada orta derecede okside olarak modifiye olmuş LDL'ye dönüşür. Modifiye LDL'ler, endotel hücrelerinden kemotaksik bir madde serbestlenmesini sağlayarak monositlerin damar duvarına göç etmesi ve makrofajlara dönüşmesine neden olur. Makrofajların arter duvarında birikmesi LDL oksidasyonunu iyice artırır. Bu reaksiyon LDL'deki apo B100 proteinini daha da negatif yüklü hale getirir. Okside LDL artan negatif yükü sebebiyle, makrofajlardaki süpürücü reseptörler tarafından tanınır ve hücre içine alınarak köpük hücreler oluşur. Makrofajlar hücre içine normal LDL aldıklarında negatif geri besleme ile bu alımın durdurulur. Fakat okside LDL'ler için böyle bir mekanizma söz konusu olmadığından makrofajlar okside LDL'ler ile birlikte bol miktarda kolesterol alarak damar lümeninin daralmasına sebep olurlar.

Okside LDL'ler direkt kemotaksik etki ile monositlerin endotel hücrelerine girişini artırır ve bunların arter duvarından ayrılmasını inhibe eder. Okside LDL'ler endotel hücreleri için de sitotoksiktir. Civar hücrelerdeki lipid ve lizozomal enzimlerin intimal



Şekil 6: Ateroskleroz gelişimi (22)

ekstrasellüler aralığa salınması sonucu aterosklerotik lezyonun genişlemesine neden olurlar (22). (Şekil 6)

Alfa tokoferol, aterosklerotik plaklara makrofajlar vasıtasıyla LDL birikimini inhibe eder. Alfa tokoferolün bu koruyucu özelliği LDL oksidasyonunu inhibe etmesi yanında makrofajlardaki LDL reseptörlerini PKC vasıtasıyla inhibe edilmesiyle de ilgilidir. Bu özelliği sayesinde E vitamini LDL oksidasyonu, damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve trombosit agregasyonunu azaltarak ateroskleroz için önemli bir risk oluşturan bu faktörleri azaltmış olur (35,67).

E vitamini, trombositlerde membran fosfolipitlerinden araşidonik asit sentezini sağlayan PLA_2 enzimini doza bağlı olarak inhibe eder (25). Araşidonik asit, trombositlerde çeşitli reaksiyonlardan sonra güçlü bir trombosit agregasyon agonisti olan TXA_2 'e dönüşür. Trombositlerdeki bu durum endotel hücrelerinde tamamen farklıdır. E vitamini, endotel hücrelerinde PLA_2 ve siklooksijenaz enzimini aktive ederek güçlü bir vasodilatatör ve trombosit agregasyon antagonistisi olan prostasiklin sentezini artırır. Bu özelliklerinden dolayı E vitamini, trombosit adhezyon ve agregasyon antagonistidir (18,32).

3.6.3. E vitamini Yetersizliği ve Fazlalığı

E vitamini yetersizliği, genellikle kronik beslenme bozuklukları ve E vitamini yönünden fakir gıdaların alınması sonucu açığa çıkar. İnsanlardaki en önemli semptomları, nöropati, refleks kaybı, kol ve bacaklarda his kaybı gibi nörolojik bozukluklardır. Yeni doğanlar (özellikle prematürel) yeterince E vitamini depoları olmadığı ve doğumdaki LDL miktarları düşük olduğundan E vitamini yetersizliğine karşı oldukça hassastırlar. İnsanlarda yetersizliğe bağlı olarak eritrosit ömrünün kısalması ve hemoliz de görülebilir (6).

Hayvanlarda E vitamini yetersizliği sonucu görülen en yaygın bozukluk beyaz kas hastalığıdır. Deney hayvanlarında E vitamini yetersizliği, erkeklerde testiste atrofi ve dejenerasyon sonucu sterilite, dişilerde ise fetal rezorbsiyon ve ölü yavru doğurma gibi üreme sistemi bozukluklarına yol açmaktadır.

E vitamini yönünden yetersiz rasyonlarla beslenen ruminantların zayıf yavru doğurduğu ve bu yavruların nutrisiyonel müküler distrofiye eğilimli oldukları görülmektedir. İleriki aşamalarda kalp ve diyaframada meydana gelen tahribat sonucu solunumun sıklaştığı ve kalp fonksiyonlarının bozulduğu gözlenebilir. Bununla birlikte retensio sekundarium, mastitis, metritis, fertilitate bozuklukları, immun sistem fonksiyon bozukluğu ve hemoliz gelişebilir (68).

Kanatlılardaki E vitamini yetersizliği ise ensefalomalasi, eksudatif diatez, mikrositer anemi ve muskuler distrofi gibi klinik bozukluklarla kendini gösterir.

İnsan ve hayvanlar E vitamininin yüksek dozlarını iyi tolere ederler. Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar, α -tokoferolün mutajenik, kanserojenik ve teratojenik olmadığını göstermiştir. Deney hayvanları ve kanatlılara uzun süre yüksek dozda E vitamini verilmesi sonucu protrombin zamanında uzama ve hemoraji gibi koagülasyon bozuklukları gözlenmiştir. Bu hemorajik etkiler K vitamini ilavesiyle ortadan kalkmaktadır. Yüksek dozlarda E vitamini trombosit agregasyonunu da inhibe etmektedir (1).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ortalama canlı ağırlığı 2600 ± 300 gr olan, 46 adet 3 aylık erkek Beyaz Yeni Zellanda tavşanı kullanıldı. Deney hayvanları Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edildi. Bütün hayvanlar 10 günlük bir adaptasyon sürecine tabi tutuldu. Yem materyali olarak Elazığ Yem Fabrikasından alınan tavşan yemi kullanıldı. Yem bileşimi Tablo 2'de gösterilmiştir Tavşanlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Hayvanlar, özel tavşan kafeslerine, her kafeste bir tavşan olacak şekilde yerleştirildi.

Yem Maddesi	%
Arpa	20
Mısır	48,8
B. Kepek	10
Soya	10,5
Balık Unu	2
Et Kemik Unu	4
Tuz	0,9
D. Fosfat	0,6
Kireç Taşı	2,8
Methionin	0,2
Vit.- Min Karması *	0,2

* Ca; % 1.5, P; % 0.8, Na; % 0.35, Mn; 8 mg/kg, Zn; 50 mg/kg

A Vit; 8000 IU/kg, E Vit; 10 mg/kg, K Vit; 1 mg/kg, D Vit; 800 IU/kg, B₂ Vit; 3 mg/kg, B₁₂ Vit; 5 mcg/kg

Tablo 2: Tavşan Yemi Bileşimi (50 kg)

4.1. Çalışma Grupları

Çalışmada kullanılan denekler aşağıdaki şekilde gruplara ayrıldı ve 40 gün boyunca uygulamalar yapıldı.

1- **Grup 1 (Kontrol grubu, n=8):** Kontrol grubundaki tavşanlara, diğer gruptaki hayvanlarla eşitlik sağlanması için 0.5 ml saf zeytinyağı gün aşırı deri altı (S.C.) enjekte edildi.

2- Grup 2 (Testosteron uygulama grubu, n=8): Her hayvana gün aşırı 10 mg dozunda testosteron propionat (0.5 ml zeytinyağında çözüldü) S.C. enjekte edildi.

3- Grup 3 (Testosteron + E vitamini grubu, n=8): Her hayvana gün aşırı 10 mg testosteron propionat ve 100 mg/kg dl- α tokoferil asetat (0.5 ml zeytinyağında çözüldü) S.C. enjekte edildi.

4- Grup 4 (E vitamini uygulama grubu, n=8): Her hayvana gün aşırı 100 mg/kg dl- α tokoferil asetat (0.5 ml zeytinyağında çözüldü) S.C. enjekte edildi.

5- Grup 5 (Kastrasyon + E vitamini grubu, n=7): Kastre edilen hayvanlara gün aşırı 100 mg/kg dl- α tokoferil asetat (0.5 ml zeytinyağında çözüldü) S.C. verildi.

6- Grup 6 (Kastrasyon grubu, n=7): Kastre edilen bu hayvanlara diğer gruptaki hayvanlarla eşitlik sağlanması bakımından 0.5 ml saf zeytinyağı S.C. enjekte edildi.

5. ve 6. gruplardaki tavşalar F.Ü. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında genel anestezi altında rutin kastrasyon yöntemleriyle bilateral kastre edildi.

4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck (Almanya), Sigma (A.B.D.), Acros (Belçika) ve Carlo Erba (İtalya) firmalarından temin edilmiştir. Testosteron propionat, Organon İlaçları A.Ş'den, dl- α tokoferil asetat ise Roche Müstahsarıları San. A.Ş'den temin edilmiştir. dl- α tokoferil asetat, ve testosteron propionat aseptik şartlar altında zeytinyağı içinde çözdürülerek hazırlanmıştır.

4.3. Kan Örneklerinin Alınması

Hayvanlar 12 saatlik açlık periyodundan sonra ketamin (25 mg/kg, İ.M.) ve Xylazin (2 mg/kg, İ.M.) ile anestezi edildi. Kan örnekleri, median laparotomi sonrasında vena abdominalisten alındı. Protrombin zamanı (PTZ) ve fibrinojen tayini için özel sitrathlı tüpler, trombosit sayımı için EDTA'lı tüpler kullanıldı. Trombosit sayımı, fibrinojen ve PTZ tayinleri, kan alındıktan sonra 1 saat içinde yapıldı. MDA tayini için antikoagulanlı tüplere alınan kanlar sentrifüj edilerek (1200 g'de 5 dakika) plazmaları elde edildi. Lipit profili için alınan kanlar ise boş tüplere konularak serumları çıkarıldı.

4.5. METOTLAR

4.5.1. Lipit Profili Tayini

Örnek serumlardaki total kolesterol (TK), trigliserit (TG), HDL kolesterol düzeyleri otoanalizör (Olympus AU-600 otoanalizörü) ile orijinal kitler (Randox Laboratories Ltd. İngiltere) kullanılarak ölçüldü. LDL kolesterol ve VLDL kolesterol değerleri Olympus AU-600 otoanalizöründe belirlendi.

4.5.2. Fibrinojen Tayini

Fibrinojen düzeyleri, Fibrinolitik kiti (Organon Teknika CO, ABD) kullanılarak Trombolyzer cihazı ile ölçüldü.

Prensip: Sitrathlı bir plazmaya trombin ilave edildiğinde, fibrinojen enzimatik olarak fibrine dönüşür. Fibrinin polimerizasyon sonucu fibrin ağları oluşur. Trombin tarafından aktive edilen Faktör XIII ise fibrini stabilize eder ve pıhtı şekillenir. Ortama trombin ilavesinden pıhtı oluşumuna kadar geçen süre kaydedilir. Bu süre ve fibrinojen miktarı ters orantılıdır (19).

4.5.3. Protrombin Zamanı (PTZ)

Protrombin zamanı, Simplastin kiti (Organon Teknika CO, ABD) kullanılarak Trombolyzer cihazı ile ölçüldü.

Prensip: Antikoagulan olarak kullanılan sodyum sitrat kan kalsiyumunu bağlayarak pıhtılaşmayı önler. Tavşan beyin dokusundan hazırlanan tromboplastin ve kalsiyum iyonlarının ortama ilavesi sonucu kan pıhtılaşır. Kanın pıhtılaşması için geçen bu süreye protrombin zamanı denir (89).

4.5.4. Trombosit Sayımı:

Cell Dyne 3700 (ABBOT) hematoloji otoanalizöründe yapıldı.

4.5.5. Plazma Malondialdehit (MDA) Tayini:

MDA tayini Matkovics (71) tarafından modifiye edilen Placer (86) metoduna göre yapıldı.

Prensip: Lipit peroksidasyonu son ürünü olan MDA, asidik ortam (pH 3,5) ve yüksek sıcaklık altında tiyobarbitürik asit ile inkübe edildiğinde pembe renkli bir

kompleks oluşur. Bu renkli kompleksin absorbansı spektrofotometrede 532 nm'de okunur. Ölçülen MDA değerleri nmol/ml olarak ifade edilmiştir.

4.5.6. Pıhtılaşma Zamanı

Pıhtılaşma zamanı, kapillar boru yöntemi ile tayin edildi. Kulak ucu traş edilip alkol ile temizlendi. Temizlenen bölge lanset ile delindi ve ilk çıkan kan silindi. Daha sonra çıkan kan, içi heparinlenmemiş kılcal tüpe dolduruldu ve iki dakika beklendi. Kılcal borunun bir ucuna yakın bir yerden cam testeresi ile kesilerek fibrin iplikçiklerinin bulunup bulunmadığı araştırıldı. Fibrin iplikçikleri oluşmamışsa birer dakika aralıklarla bu işlem tekrarlandı. Fibrin iplikçiklerinin ilk görüldüğü an pıhtılaşma süresi olarak değerlendirildi (123).

4.5.7. Kanama Zamanı

Kanama zamanı, Duke metodu ile belirlendi (123).

4.5.8. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 paket programında yapıldı. Trombosit sayısı, kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı, protrombin zamanı (PTZ), fibrinojen miktarı, plazma MDA seviyesi, total kolesterol (TK), trigliserit, HDL kolesterol ve VLDL kolesterol verilerinin grup ortalamaları arasındaki farklılıklar, parametrik test varsayımları yerine geldiği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile araştırıldı, gruplar arasında fark bulunduğunda ise farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığı LSD testi ile incelendi.

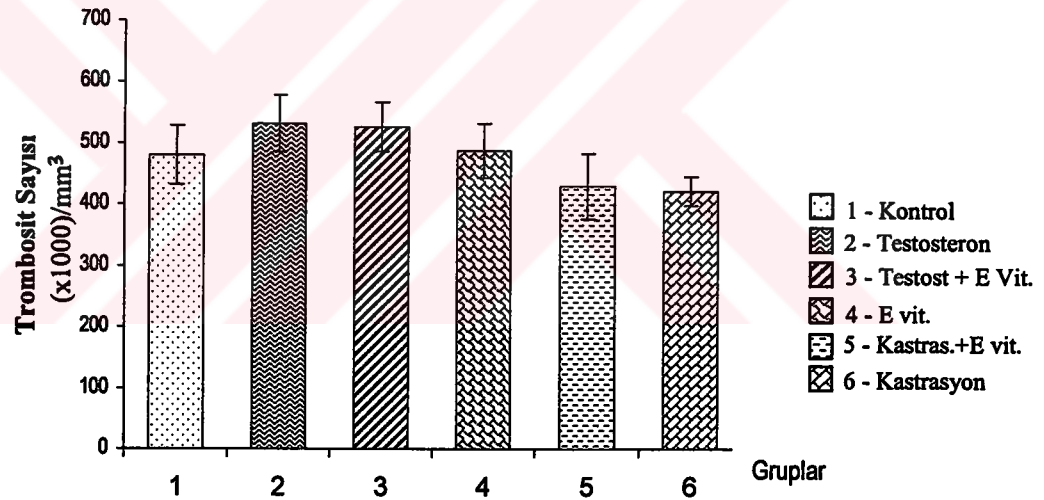
LDL kolesterol seviyesi, HDL kolesterol/LDL kolesterol ve TK/HDL kolesterol oranlarının grup ortalamaları, parametrik test varsayımları yerine gelmediğinden Kruskal Wallis Varyans Analizi ile karşılaştırıldı, gruplar arasında fark bulunduğunda ise farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığı Mann Whitney U testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Grafiklerde sadece istatistiksel olarak anlamlı olan grup karşılaştırmalarının p değerleri verilmiştir (2).

5. BULGULAR

Gruplara ait tüm veriler Tablo 3’de gösterilmiştir.

5.1. Trombosit Sayısı

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. grupta trombosit sayısının anlamlı olarak arttığı görüldü ($p=0.021$). 6. grupta trombosit sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p=0.014$). Kastre edilen 6. grup, testosteron verilen 2. grupta karşılaştırıldığında trombosit sayılarının oldukça düşük olduğu görüldü ($p=0.000$). E vitamini uygulanan 4. grupta kontrol grubuna kıyasla herhangi bir değişim gözlenmedi. (Tablo 3, Şekil 7)

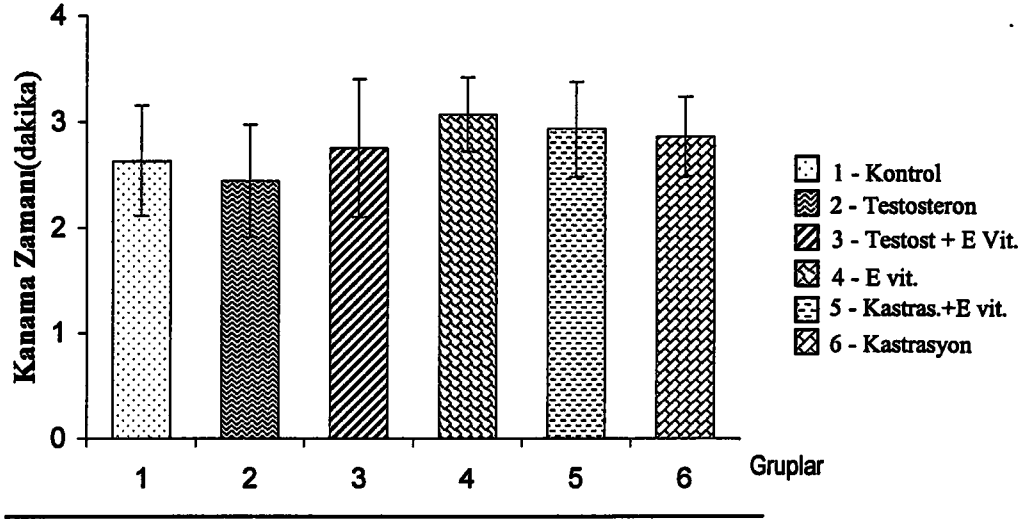


1↔2; $p=0.021$, 1↔6; $p=0.014$, 2↔6; $p=0.000$

Şekil 7: Trombosit Sayısı

5.2. Kanama Zamanı

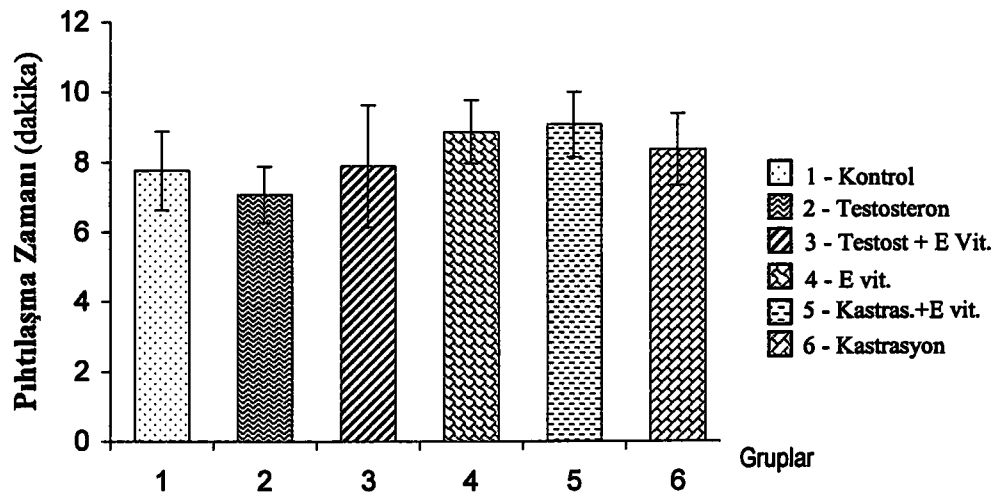
Kontrol grubu ile kıyaslandığında 4. grupta kanama zamanının istatistiksel anlamı olmamakla birlikte uzadığı görüldü ($p=0.090$). (Tablo 3, Şekil 8)



Şekil 8: Kanama Zamanı

5.3. Pıhtılaşma Zamanı

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 4. grupta pıhtılaşma zamanının uzama eğiliminde olduğu görülmüştür ($p=0.068$). Kastre edilen 6. grup, testosteron uygulanan 2. grup ile kıyaslandığında ise 6. grupta pıhtılaşma zamanının uzadığı görülmüştür ($p=0.029$). (Tablo 3, Şekil 9)

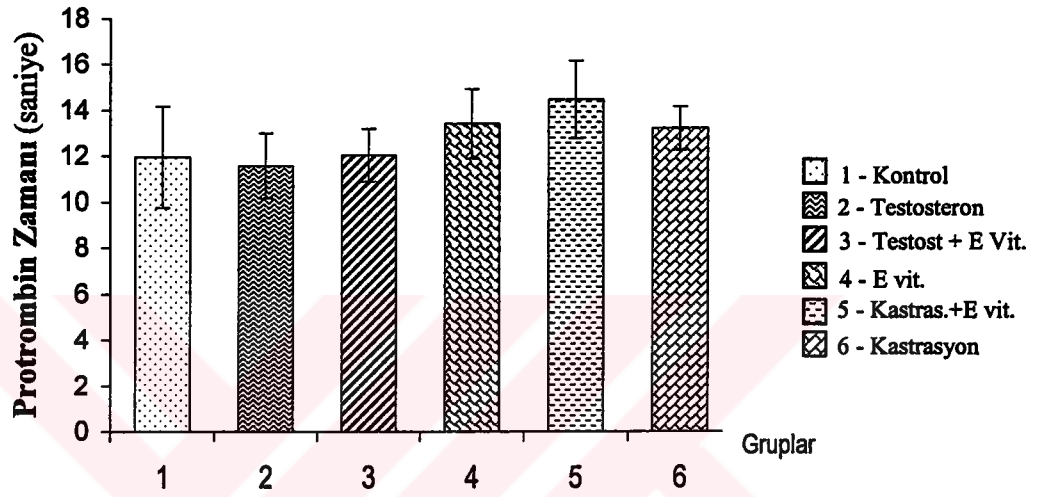


2↔6; $p=0.029$

Şekil 9: Pıhtılaşma Zamanı

5.4. Protrombin Zamanı (PTZ)

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 4. grupta protrombin zamanının istatistiksel olmasa da uzama eğiliminde olduğu görülmüştür ($p=0.075$). 6. grubun protrombin zamanının 2. gruba kıyasla uzun olduğu tespit edilmiştir ($p=0.041$). (Tablo 3, Şekil 10)

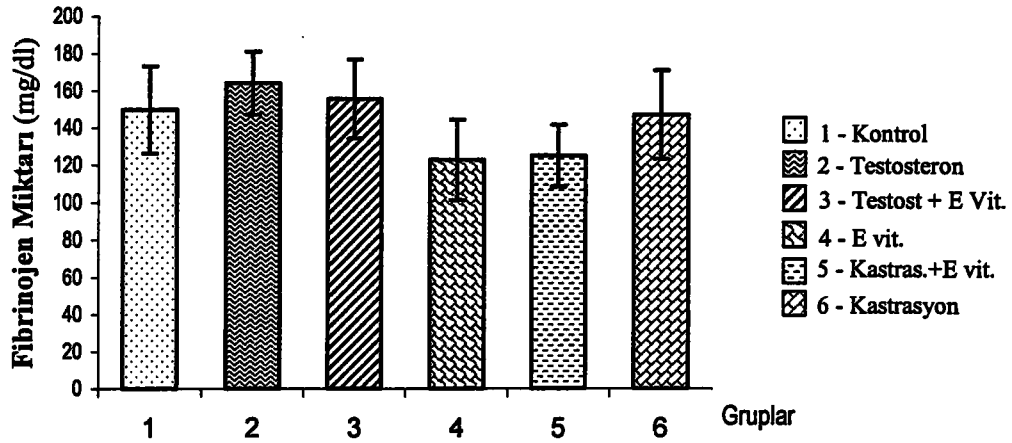


2↔6; $p=0.041$

Şekil 10: Protrombin Zamanı

5.5. Fibrinojen Miktarı

Kontrol grubuna kıyasla 4 grupta fibrinojen miktarının düştüğü gözlemlendi ($p=0.017$). 4. grup, 3. grupla karşılaştırıldığında fibrinojen miktarının anlamlı bir şekilde düşük olduğu gözlemlendi ($p=0.004$). (Tablo 3, Şekil 11)

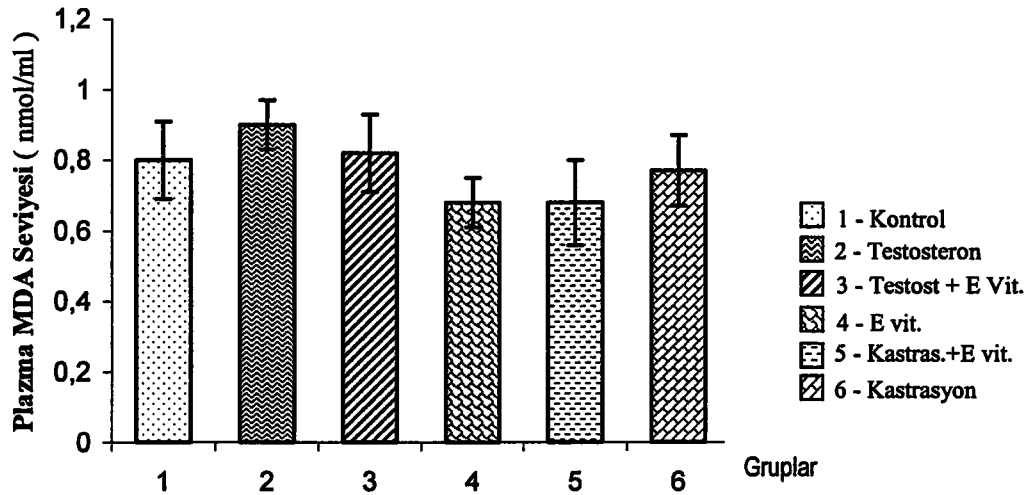


1↔4; p=0.017

Şekil 11: Fibrinojen Miktarı

5.6. Plazma Malondialdehit (MDA) Seviyesi

Testosteron uygulanan 2. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyesinin arttığı görülmüştür (p=0.034). E vitamini verilen 4. grup, kontrol grubu ile kıyaslandığında MDA seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p=0.030). Kastre edilen 6. grup, 2. grupla karşılaştırıldığında MDA seviyesinin anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir (p= 0.013). (Tablo 3, Şekil 12)

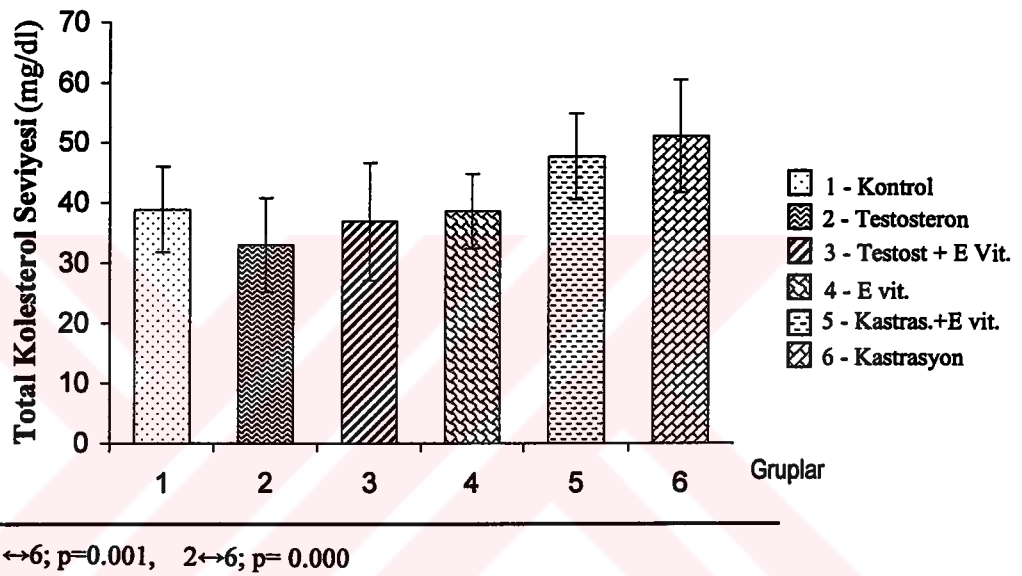


1↔2;p=0,034, 1↔4; p=0.030, 2↔6;p=0.013

Şekil 12: Plazma MDA Seviyesi

5.7. Total Kolesterol (TK) Seviyesi

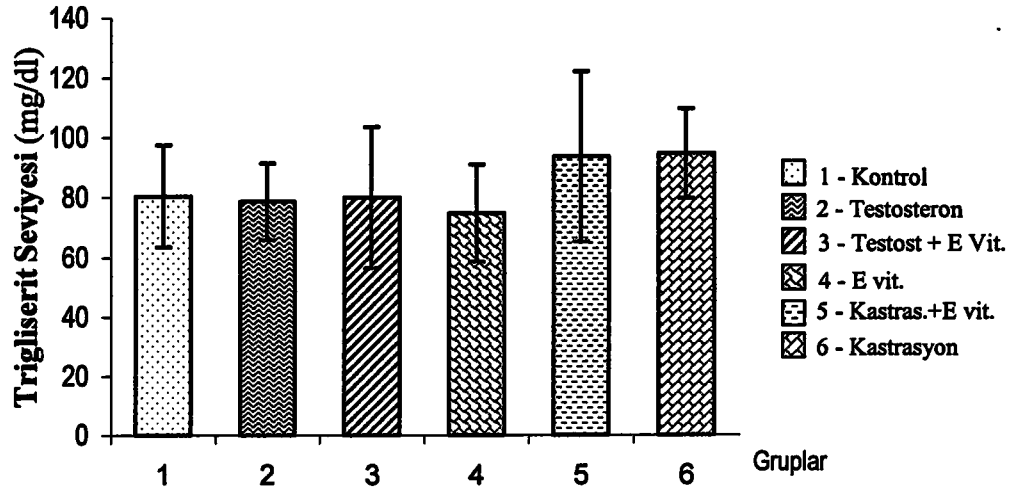
Kontrol grubu ile kıyaslandığında 6. grupta TK seviyesi yükselirken ($p=0.001$), 2. grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşmüştür. Kastre edilen 6. grup, testosteron uygulanan 2 grupla kıyaslandığında TK seviyesinin artmış olduğu görülmüştür ($p=0.000$). (Tablo 3, Şekil 13)



Şekil 13: Total Kolesterol Seviyesi

5.8. Trigliserit Seviyesi

Kontrol grubuna kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da E vitamin verilen 4. grupta trigliserit seviyesinin azaldığı, 6. grupta ise yükseldiği görülmüştür. Kastre edilen 6. grubun trigliserit seviyesi, testosteron uygulanan 2. gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.03$). (Tablo 3, Şekil 14)

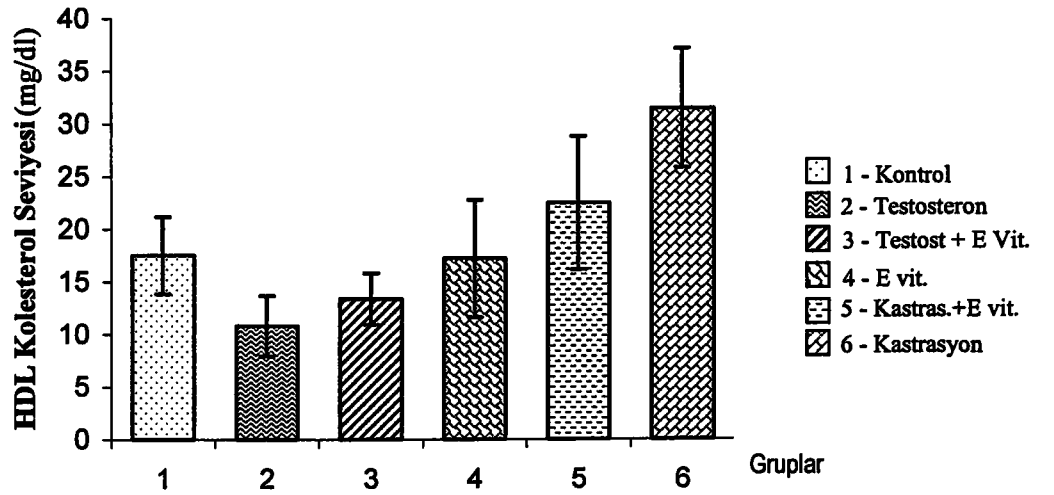


2↔6; p=0.030

Şekil 14: Trigliserit Seviyesi

5.9. HDL Kolesterol Seviyesi

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 2. grupta HDL kolesterol seviyesinin düştüğü (p=0.002), 6. grupta ise yükseldiği gözlenmiştir (p= 0.000). Kastre edilen 6. grubun HDL kolesterol seviyesi testosteron uygulanan 2. gruba kıyasla yüksek olduğu görülmüştür (p= 0.000). (Tablo 3, Şekil 15)

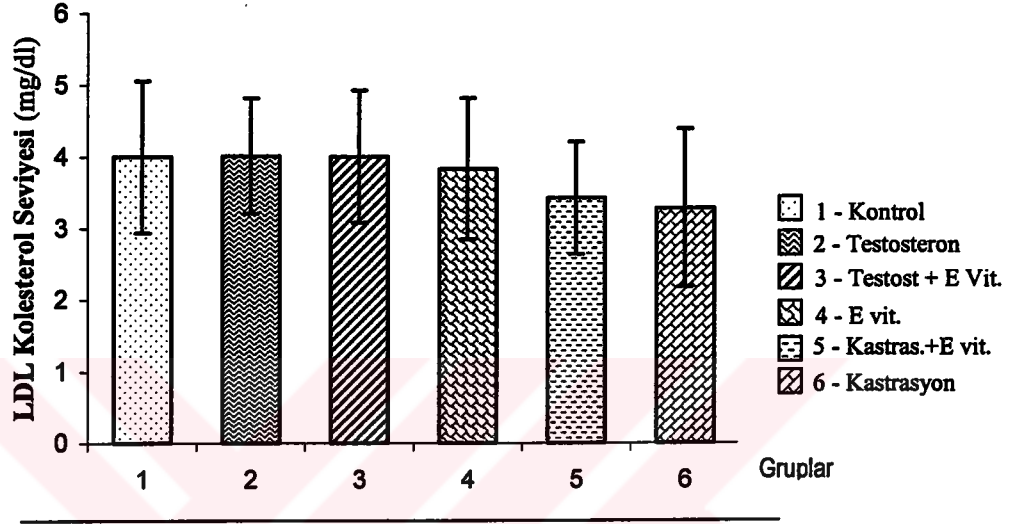


1↔2; p=0.002, 1↔6;p=0.000, 2↔6; p= 0.000

Şekil 15: HDL Kolesterol Seviyesi

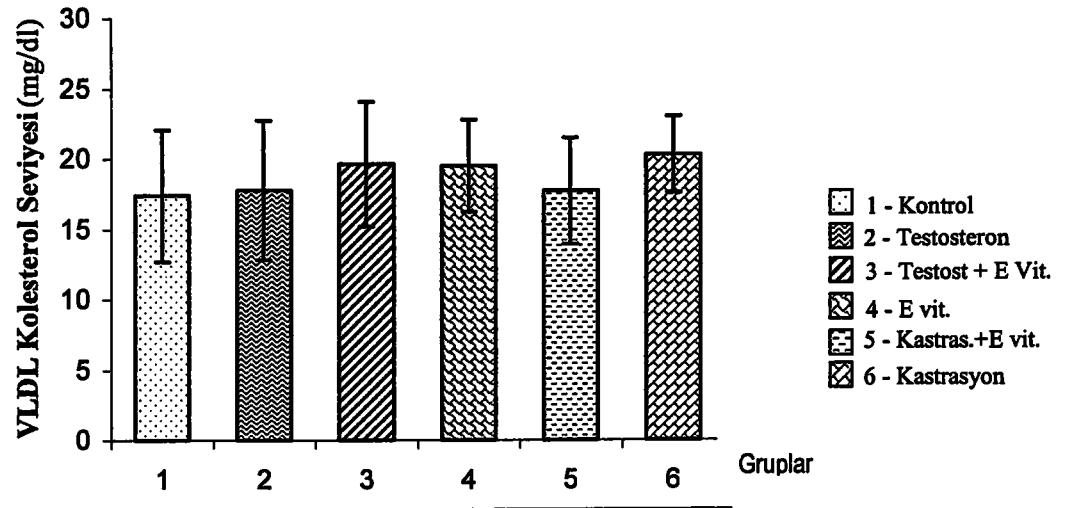
5.10. LDL Kolesterol Seviyesi

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubuna kıyasla 6. grubun LDL kolesterol seviyesindeki düşüş istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. (Tablo 3, Şekil 16)



Şekil 16: LDL Kolesterol Seviyesi

5.11. VLDL Kolesterol Seviyesi

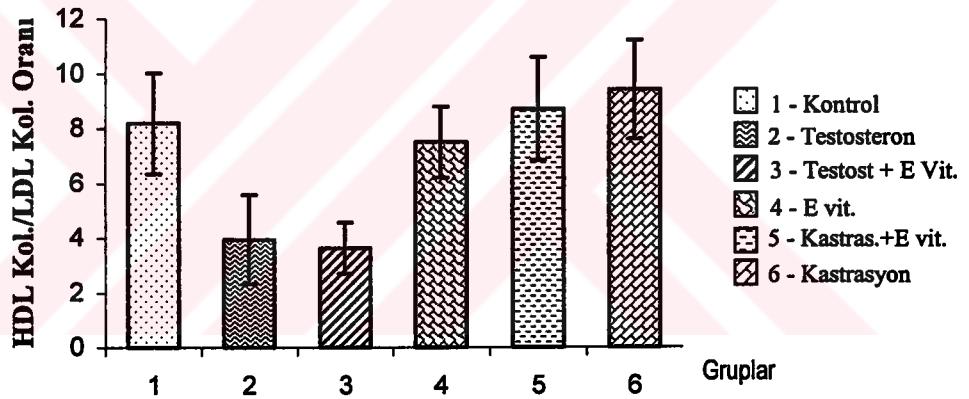


Şekil 17: VLDL Kolesterol Seviyesi

Tüm gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, VLDL kolesterol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. (Tablo 3, Şekil 17)

5.12. HDL Kolesterol / LDL Kolesterol Oranı (HDL/LDL)

Kontrol grubu ile kıyaslandığında HDL kolesterol/LDL kolesterol oranlarının 2. grupta azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.026$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında 6. gruptaki yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Testosteron uygulanan 2. grup, kastre edilen 6. grupta karşılaştırıldığında HDL kolesterol/LDL kolesterol oranının anlamlı şekilde düşük olduğu gözlenmiştir ($p= 0.002$). (Tablo 3, Şekil 18)

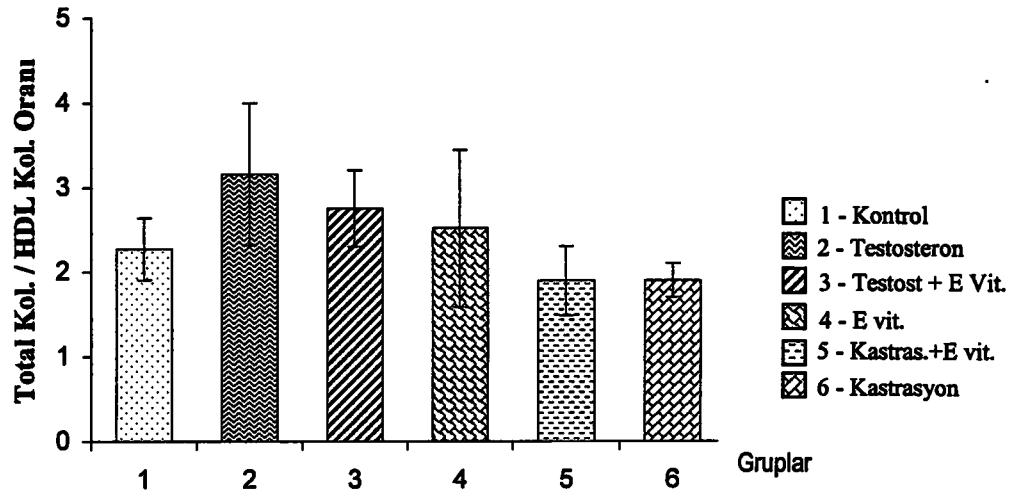


1↔2; $p=0.026$, 2↔6; $p= 0.002$

Şekil 18: HDL Kolesterol / LDL Kolesterol Oranı

5.13. Total Kolesterol / HDL Kolesterol Oranı (TK/HDL)

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 2. grupta TK/HDL kolesterol oranının yükseldiği görülmüştür ($p=0.009$). 6. gruptaki TK/HDL kolesterol oranının kontrol grubuna göre düşük oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 6. grup, 2. grupta kıyaslandığında TK/HDL kolesterol oranının anlamlı şekilde düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0.002$). (Tablo 3, Şekil 19)



1↔2;p=0.009, 2↔6; p=0.002

Şekil 19; TK/HDL Kolesterol Oranı

Trombosit Sayısı x1000/mm ³	Kanama Zamanı (Dakika)	Pıhtılaş. Zamanı (Dakika)	PTZ (Saniye)	Fibrinojen (mg/dl)	MDA (nmol/ml)	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)	HDL kol. LDL kol.	TK HDL kol.	
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	
Grup : 1 Kontrol (n=8)	480±48	2.63±0.5	7.75±1.1	11.95±2.2	149.8±23.4	0.8±0.11	38.9±7.0	80.4±16.9	17.5±3.7	4.0±1.06	17.4±4.7	8.18±1.83	2.27±0.37
Grup : 2 Testosteron (n=8)	531.3±46.6	2.4±0.53	7.06±0.81	11.57±1.4	164.1±16.87	0.9±0.07	33±7.8	78.5±9.7	10.8±2.9	4.1±0.78	17.8±4.9	3.94±1.62	3.16±0.8
Grup : 3 Testosteron + E Vitamini (n=8)	526.6±40.6	2.75±0.6	7.9±1.75	12.0±1.14	155.7±21.2	0.82±0.11	37.1±9.8	79.9±23.6	13.4±2.4	4.0±0.92	19.62±4.43	3.6±0.94	2.75±0.45
Grup : 4 E Vitamini (n=8)	487.7±44.6	3.0±0.35	8.86±0.9	13.4±1.5	123.0±21.67	0.68±0.07	38.67±6.2	74.67±16.3	17.2±5.6	3.83±0.98	19.5±3.27	7.5±1.3	2.52±0.9
Grup : 5 E Vitamini + Kastrasyon (n=7)	429.6±57.6	2.9±0.45	9.07±0.9	14.4±1.7	125.3±16.7	0.68±0.1	47.71±7.2	93.7±28.4	25.7±3.7	3.42±0.78	17.7±3.8	8.71±1.88	1.9±0.4
Grup : 6 Kastrasyon (n=7)	421.7±22.2	2.86±0.38	8.36±1.03	13.2±0.95	147.57±23.9	0.77±0.1	51.14±9.4	94.9±15	28.4±6.35	3.28±1.12	20.3±2.75	9.4±1.8	1.9±0.2

Tablo 3: Çalışma Gruplarına Ait Veriler

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklar hızla artmakta ve en önemli ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Bu sebeple son zamanlarda kardiyovasküler hastalıklara sebep olan faktörler, tedavi ve profilaksisi üzerine yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) teknik raporlarında, serum lipit profili, kan basıncı, trombojenik faktörler, beslenme alışkanlığı (yağ asitleri, bitkisel besinler, antioksidan kullanım), yaş, cinsiyet, sigara, fiziksel hareketsizlik, stres, sosyokültürel ve psikolojik durum gibi etkenlerin risk faktörleri olabileceği bildirilmektedir (92).

Androjenler, özellikle de testosteronun erkeklerde koagulasyon riskini artıran bir faktör olduğuna inanılmaktadır. Bu görüşün iki temel sebebi vardır. İlki, yüksek dozda sentetik testosteron uygulamasının erkeklerde prokoagulatif etki gösterebileceği, ikincisi ise cinsiyetin başlı başına bir risk faktörü olabileceğidir (34). Bu konuda yapılan bir çok çalışma, testosteronun indirekt olarak trombojenik bir etki gösterdiğini bildirirken (31), son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar ise testosteronun özellikle lipit profilindeki olumlu etkilerinden bahsetmektedir (4).

Son yıllarda 16 Avrupa ülkesi ve Amerika'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, besinlerle birlikte antioksidan alımı veya plazma E, A ve C vitaminleri ile trombotik hastalıklar arasında negatif bir ilişkinin olduğu görülmüştür (38). Ayrıca bazı deneysel çalışmalarda, E vitamininin trombosit adhezyon ve agregasyonunu inhibe ettiği, vasküler homeostaziste önemli rol oynadığı ve bunun sonucu olarak da hipokoagulatif bir etkiye sahip olabileceği belirtilmektedir (52,53,58,59,69,75,104,124) Bunun yanında E vitamininin trombosit agregasyonu, kanama ve pıhtılaşma zamanı üzerine hiçbir etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (77,99).

Bu noktalardan hareketle bu çalışmada, kastre, normal ve yüksek testosteron konsantrasyonlarında hemostatik mekanizmanın ne seviyede etkilendiği, E vitamininin hipokoagulatif bir etkiye sahip olup olmadığı ve eğer testosterondan kaynaklanan prokoagulatif bir etki varsa E vitamininin bunu ne düzeyde etkileyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Koagulasyonda oksidan/antioksidan denge önemli rol oynar. Özellikle trombosit ve damar endotel hücrelerinin normal fonksiyonlarının devamı, oksidasyona oldukça duyarlı olan TXA₂/Prostaglandin dengesine bağlıdır. Oksidatif stres artışı, TXA₂/Prostaglandin dengesini, TXA₂ yönüne kaydırır. TXA₂, güçlü bir vazokonstriktör ve trombosit adhezyon ve agregasyon agonisti olduğundan koagulasyon mekanizmasını tetikler (33,50,76). Ayrıca son zamanlarda yapılan hücre kültürü çalışmaları trombin, F VII, F VIII, F IX ve F XIII'ün oksidasyona duyarlı olduklarını ortaya koymuştur (10). Görüldüğü gibi koagulasyon mekanizmasının çeşitli şekillerde oksidasyondan etkilendiği bildirilmektedir.

Çalışmamızda tüm gruplara ait plazma MDA değerleri incelendiğinde (Tablo 3, Şekil 12) testosteron uygulanan 2. grupta bu seviyenin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür (p=0.034). Bu bulgular, testosteron hormonunun bir prooksidan olduğu yönünde daha önce yapılmış çalışmalarla uygunluk göstermektedir (56,114). Yapılan literatür taramalarında kastrasyonun plazma MDA seviyesi üzerindeki etkilerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat kastre edilen ratlarda yapılan çalışmalar, karaciğer ve adrenal bezlerde, MDA ile genelde ters bir ilişki gösteren E vitamini seviyesinin arttığını göstermektedir (30). Bizim çalışmamızda her ne kadar kastrasyon grubunda plazma MDA seviyesi düşük bulunsada bu, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bulunmamıştır. Fakat testosteron fazlalığı ve yetersizliği oluşturulan 2. ve 6. gruplar karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı bulunmuştur (p=0.013). Bu sonuç, testosteronun oksidasyonu artırabileceğini bildiren literatürlerle (30,56,114) paralellik göstermektedir.

E vitamini uygulanan 4. grubun plazma MDA seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında düşük olduğu görülmüştür (p=0.030). Daha önce yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda E vitamininin plazma MDA seviyesini azalttığı bildirilmiştir (81,88). E vitamininin antioksidan etkisi sonucu LPO'yu inhibe ettiğini bildiren literatür bilgileri ile çalışma sonuçlarımızın paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Testosteron uygulanan 3. grupta MDA seviyesinin E vitamini ilavesi ile düşmesi anlamlı bulunmamıştır.

Pıhtılaşma faktörlerinden biri olan fibrinojen, pıhtılaşma mekanizmasında önemli rol oynar. Pıhtı oluşumu sırasında fibrin ağının oluşumuna katılan fibrinojen, trombosit adhezyon ve agregasyonunda da bir kofaktör görevi yapar. Bunun yanında önemli bir akut faz proteini olup yangısel reaksiyonların lokalizasyonunu sağlar (27).

Çalışmamızda gruplara göre fibrinojen seviyelerini karşılaştırdığımızda, E vitamini uygulanan 4. ve 5. gruplarda fibrinojen seviyelerinin anlamlı şekilde düşük oluşu, daha önce yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarla (60,95,96) uygunluk göstermektedir. Kiserud ve ark. (60) hücre kültürü ortamında PUFA peroksidasyonunun fibrinojen üretimini artırdığını fakat, ortama ilave edilen E vitamininin bu üretimi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Sato ve ark. (96) parakuat uyguladığı ratlarda artan oksidatif stresin fibrinojen konsantrasyonunu artırdığını bildirmiştir. Ayrıca Santhamma ve ark. (95) Güney Afrika'da yaptıkları survey çalışmalarında lifli besinler, bitkisel protein ve E vitamini alan kişilerde plazma fibrinojen miktarının düşük olduğu sonucuna varmışlardır. Plazmaki LPO, E vitamini ve fibrinojen konsantrasyonu arasındaki ilişki şu şekilde izah edilmektedir; Sitokinler fibrinojen sentezinde önemli rol oynayan mediatörlerdir. İnterlökin-1 (İL-1), İL-6 ve Tümör Nerkoze Edici Faktör (TNF), fibrinojen sentezini uyarırken, İL-4, İL-10 ve İL-13 fibrinojen sentezini baskılar. Özellikle İL-6 fibrinojen geninin promotor bölgesine bağlanarak gen transkripsiyonunu artırır. Oksidatif stres, İL-6 sentezini artırırken, antioksidanlar ise İL-6 sentezini inhibe eder (17). Ratlarda oksidatif stres tarafından artırılan fibrinojen sentezinin, bir sitokin inhibitörü olan deksametazon tarafından inhibe edilmesi bu yorumu destekler niteliktedir (90,96). Bütün bu değerlendirmeler, çeşitli nedenlerle artan oksidatif stresin bir akut faz proteini olan fibrinojen miktarını artırdığı yönündeki bulguları desteklemektedir.

Testosteron hormonunun plazma fibrinojen seviyesi üzerine etkisini araştıran çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur. Anderson ve ark. (5) ve Dickinson ve ark. (23) normal erkeklerde yüksek dozlarda uygulanan testosteronun plazma fibrinojen seviyesini düşürdüğünü bildirirken, Zitzmann ve ark. (126) hormonal kontrasepsiyon amacıyla testosteron uygulanan erkeklerde fibrinojen, F XII ve antitrombin seviyelerinin arttığını gözlemiştir. Bunun yanında Owens ve ark. (83) rat karaciğeri hücre kültüründe yaptığı çalışmalarda, çeşitli dozlarda testosteron uygulamalarının fibrinojen sentezini değiştirmedeği bildirilmektedir. Çalışmamızda testosteron uygulanan 2. grupta fibrinojen konsantrasyonunun artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan bu sonuç Owens'in bulgularıyla (83) uyum göstermektedir.

Yaptığımız taramalarda kastrasyon ya da hipogonadizmin fibrinojen seviyesi üzerindeki etkisini gösteren literatüre rastlanmadı. Fakat Xu ve ark. (120) prostat kanseri olan 30 hastanın kastrasyon sonrasında fibrinojen seviyelerinde herhangi bir

değişim gözlememiştir. Bu bildirim, yaptığımız çalışmada, kastrasyonun plazma fibrinojen seviyesi üzerine etkisiz olduğu sonucunu desteklemektedir.

Koagülasyon mekanizmasında görev alan hücrelerden biri de trombositlerdir. Adhezyon, agregasyon reaksiyonları ve dışarı saldıkları mediatörlerle koagülasyon mekanizmasında önemli rol oynarlar.

Ansell ve ark. (7) doping amacıyla çeşitli testosteron türevi kullanan sporcularda trombosit sayısının kullanmayanlara göre yüksek olduğunu bildirmektedir. Sullivan ve ark. (102) ise farelerde yaptığı deneylerde erkek farelerin trombosit sayısının dişilerinkinden yüksek olduğunu görmüştür. Aynı çalışmada kastre edilen farelerde trombosit sayısı ve hematokrit değerlerinin düştüğü fakat, testosteron tedavisi sonucunda bu değerlerin tekrar yükseldiği bildirilmiştir. Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla testosteron uygulanan 2. grupta trombosit sayısının yükselirken ($p=0.0021$), kastrasyon yapılan 6. grupta ise azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.0014$). Bu sonuçların yukarıdaki literatür bildirimleri (7,102) ile paralellik gösterdiği görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar, Beran ve ark. (12) hücre kültürü çalışmalarında, testosteronun kemik iliği eritroit ve myeloid köken hücrelerini uyararak trombosit sayısını artırdığını gösteren bildirimleri ile açıklanabilir.

Uchida ve ark. (109) E vitamini bakımından yetersiz, normal ve takviye edilen yemlerle beslenen üç farklı rat grubunda trombosit yaşam süreleri ve sayıların değişmediğini gözlemişlerdir. Çalışmamızda E vitamini uygulamalarının trombosit sayısı üzerinde etkisi görülmemiş olup, sonuçların Uchida ve ark. (109) bildirimleri ile paralellik gösterdiği görülmüştür.

Uzun zamandır lipitlerin kan pıhtılaşmasını artırdığı yönünde görüşler bulunmaktadır (127). Pıhtılaşma faktörleri, trombosit ve endotel fonksiyonları, plazma lipit profilindeki değişimlerden olumlu ya da olumsuz yönde etkilenebilmektedir (80). Pıhtılaşma reaksiyonları, özellikle LDL ve HDL kolesterol seviyelerindeki değişimlere karşı duyarlıdır. LDL kolesterol (özellikle okside formu), endotel hücreleri ve trombositlerde TXA_2 / Prostasiklin dengesini bir vazokonstriktör ve trombosit agonisti olan TXA_2 yönüne kaydırarak prokoagulant bir etki gösterir. Ayrıca endotel hücrelerde NO salınımını azaltarak vazodilatasyonu inhibe eder. Buna karşın koagülasyon mekanizmasında HDL kolesterolün daha yaygın ve olumlu etkilerinden söz edilir. HDL kolesterol, TXA_2 / prostasiklin dengesini prostasiklinler yönüne kaydırıp vazodilatatör etki gösterirken, trombosit adhezyon ve

agregasyonunu da azaltır. Endotel hücreleri tarafından salınan NO'nun yıkılmasını önleyerek vazodilatasyona yardımcı olur. Ayrıca t-PA, protein C ve protein S'in aktivitelerini artırırken, PAI-1 aktivitelerini baskılayarak antikoagulant etkinlik gösterebilir (80,94).

Frisch ve ark. (36) ratlarda, Kantor ve ark. (55), sporcularda ve Tyagi ve ark (108) maymunlarda yaptıkları çalışmalarda testosteron uyguladıkları grupların HDL kolesterol seviyelerini kontrol gruplarına göre düşük bulmuşlardır. Çalışmamızda da, testosteron uygulanan 2. grubun HDL kolesterol miktarı, kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p=0.002$). Çalışmamızda bulunan sonuçlar yukardaki literatür bildirimleri (36,55,108) ile uygunluk göstermektedir.

Gonadal steroidler, plazma lipit seviyesini düzenleyen enzimlerin aktivitelerini etkiler. Testosteron, endotel yüzeyindeki lipoprotein lipaz (LPL) ve karaciğerdeki hepatik trigliserit lipaz (HTGL) aktivitesini artırır. Bu enzimler, HDL katabolizmasını hızlandırdığı için plazma HDL konsantrasyonu da hemen düşer (40,107). Sonuç olarak testosteron, HTGL ve lipoprotein lipaz aktivitelerini artırarak plazma HDL kolesterol seviyesini düşürmüştür diyebiliriz.

Haug ve ark. (47) çalışmalarında ratları, normal, kastre edilen ve kastrasyon sonrası testosteron uygulananlar olarak üç gruba ayırmış ve kastre edilen ratlarda HDL kolesterol seviyesinin önemli derecede yükseldiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda kastrasyon yapılan 6. grupta HDL kolesterol seviyesinin yüksek bulunması Haug ve ark. bildirimleriyle uygunluk göstermektedir (47). Bu sonuçlar, testosteron tarafından artırılan HTGL ve lipoprotein lipaz aktivitelerinin kastrasyon sonucu azalarak HDL katabolizmasını yavaşlatması ile izah edilebilir (55,107).

Hermann ve ark. (48) kontrolsüz olarak yaptıkları çalışmalarda 600 İU E vitamini alan kişilerde HDL kolesterolün arttığını bildirmektedir. Fakat Stampfer ve ark. (100) 800 İU/gün E vitamini alan insanlarda ve Stone ve ark. (101) diyetle E vitamini verdikleri ratlarda HDL kolesterol seviyesinin değişmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da yukardaki literatürlerde (100,101) bildirdiği gibi E vitamini uygulamalarının, plazma HDL kolesterol seviyesi üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Testosteronun plazma LDL kolesterol seviyesi üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Zemuda ve ark. (125) testosteron enantat alan vücut geliştiricilerde, Frisch ve ark. (36) 3 mg/kg testosteron propionat uygulanan ratlarda plazma LDL kolesterol seviyesinin değişmediğini

bildirmişlerdir. Diğer taraftan Tyagi ve ark. (108) 50 mg/kg testosteron enantat uyguladıkları maymunlarda, Enzi ve ark. (28) çeşitli testosteron türevi kullanan sporcularda yaptığı çalışmalarda LDL kolesterol seviyesinin arttığını bildirilmektedir. Tablo 3 ve Şekil 16'da görüldüğü gibi testosteron uygulanan gruplarda LDL seviyesi değişmemiş olup bu sonuç Zemuda ve ark. (125), Frisch ve ark. (36) bildirimleri ile paralellik göstermektedir.

Stampfer ve ark. (100) 800 İU/gün E vitamini alan kişilerde ve Oriani ve ark. (81) ise 60, 150 ve 375 mg/kg dl- α tokoferil asetat içeren diyetle besledikleri ratların plazma LDL kolesterol miktarlarının değişmediğini bildirmektedir. Komararat ve ark. (63) 21, 210,2100 İU/hafta E vitamini içeren diyetle beslenen tavşanlarda, diyetteki E vitamini artışına paralel olarak LDL kolesterol miktarının azaldığını bildirmektedir. Çalışmamızda E vitamini uygulanan gruplarda LDL konsantrasyonları değişmemiş olup, Stampfer ve ark. (100), Oriani ve ark. (81) bildirimleri ile uygunluk göstermektedir. Çalışmamızda kastrasyon yapılan grupların LDL kolesterol seviyelerinde de herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Kantor ve ark. (55) testosteron sipiyonat kullanan sporcularda ve Tyagi ve ark. (108) 50 mg testosteron enantat uyguladıkları maymunlarda total kolesterol (TK) seviyesinin kontrol grupları ile kıyaslandığında farklı olmadığını bildirmişlerdir. Ansell ve ark. (7) ise çeşitli testosteron türevi kullanan sporcularda TK seviyesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda testosteron uygulanan 2. grupta TK seviyesinin düşme eğiliminde olduğu fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. (Tablo3, Şekil 13) Bu sonuçların, Kantor ve ark. (55) ve Tyagi ve ark (108) literatür bildirimleri ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Hussein ve ark. (49) tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda, kastre edilen tavşanların TK seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu gözlemiştir. Çalışmamızda da kastre edilen tavşanların TK seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla artmış olup ($p=0.001$) Hussein ve ark. bildirimleri ile uyum göstermektedir.

Total kolesterol; HDL, LDL, IDL, VLDL gibi lipoprotein alt tiplerinin taşıdığı kolesterolün tümünü ifade eder. Bu nedenle lipoprotein alt tiplerinin seviyesindeki artış veya azalışlar, dolaylı olarak TK seviyesini etkiler. Testosteron uygulanan grupta TK seviyesi düşme eğiliminde iken kastrasyon yapılan grupta bu seviyenin artmış olması, aynen HDL kolesterol seviyesindeki değişimlerle paralellik

göstermektedir. TK seviyesindeki bu değişimin, HDL kolesterol miktarındaki değişime bağlı olarak ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 3 ve Şekil 13'de görüldüğü gibi E vitamini uygulanan 4. grupta TK seviyesi değişmemiştir. Aynı şekilde testosteron uygulanan 3. grupta ve kastrasyon yapılan 5. gruplarda E vitamininin TK seviyesi üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Oriani ve ark. (81) tavşanlarda, Stampfer ve ark. (100) insanlarda yaptığı çalışmalarda E vitamininin TK seviyesini etkilemediğini yönündeki bildirimleri ile uygunluk göstermektedir.

Frisch ve ark. (36) testosteron propiyonat uyguladıkları ratlarda, plazma trigliserit seviyesinin değişmediğini bildirmektedir. Tablo 3 ve Şekil 14 incelendiğinde testosteron uygulanan 2. gruptaki trigliserit seviyesi kontrol grubu ile farklılık göstermemektedir. Fakat testosteron uygulanan 2. grup ile kastrasyon yapılan 6. grup karşılaştırıldığında kastrasyon grubunda trigliserit seviyesinin artmış olduğu gözlenmiştir ($p=0.030$). Bu sonuç, Hussein ve ark. (49) kastre edilen tavşanlarda trigliserit seviyesinin arttığını gösteren bildirimleri ile paralellik göstermektedir. Endotel hücreleri üzerindeki LPL, trigliseritleri hidrolize ederek yağ asitlerinin dokulara geçişini sağlar. LPL enziminin inaktivasyonu, trigliseritlerin plazmada birikmesine neden olmaktadır (117). Daha önce belirtildiği gibi testosteron hormonu, LPL aktivitesini artırır. Kastrasyon ise tam tersi bir etki ile LPL aktivitesini azaltacağından, plazma trigliserit seviyesi indirekt olarak artmış olabilir.

Prasad ve ark. (88) 0,04 gr/kg E vitamini içeren yemle beslenen tavşanlarda trigliserit seviyesinin değişmediğini bildirilmiştir. E vitamini uygulanan 4. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında E vitamininin trigliserit seviyesini etkilemediği görülmüştür. Bu bulgular, Prasad ve ark. (88) bildirimleri ile uygunluk göstermektedir.

Androjenik steroidlerin kullanımı sırasında HDL ve LDL kolesterol seviyelerindeki artış ve azalmalar nedeni ile total kolesterol seviyesinde önemli bir değişim gözlenmez. Bu nedenle total kolesterol seviyesi güvenilir bir gösterge olmayıp, TK/HDL kolesterol veya HDL kolesterol/LDL kolesterol oranlarının değerlendirilmesi daha uygun görülmektedir (39,65). Frisch ve ark. (36) testosteron propiyonat uyguladıkları tavşanlarda TK/HDL kolesterol oranının arttığını gözlemiştir. Tyagi ve ark. (108) testosteron enantat uyguladıkları maymunlarda ve Enzi ve ark. (28) ise çeşitli testosteron türevi kullanan sporcularda yaptıkları çalışmalarda HDL kolesterol/LDL kolesterol oranının düştüğünü bildirmişlerdir.

Tablo 3 ve Şekil 18-19 incelendiğinde, testosteron uygulanan 2 grupta HDL kolesterol/LDL kolesterol oranının kontrol grubuna kıyasla azalmış olduğu görülmüştür ($p=0.026$). Aynı gruptaki TK/HDL kolesterol oranının ise arttığı gözlenmiştir ($p=0.009$). Testosteron uygulanan 2. grup, kastrasyon yapılan 6. gruba kıyaslandığında HDL kolesterol/LDL kolesterol oranı anlamlı bir düşüş gösterirken ($p=0.002$), TK/HDL kolesterol oranının ise tam tersi 2. grupta arttığı görülmüştür ($p=0.002$). Bu çalışmada gözlenen sonuçların, testosteronun TK/HDL kolesterol oranında artışa neden olduğuna dair literatür bilgileri (28,36,108) ile uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3 ve Şekil 18-19 incelendiğinde E vitamini uygulamalarının tüm lipit profilinde olduğu gibi HDL kolesterol/LDL kolesterol oranı ve TK/HDL kolesterol oranlarını etkilemediği görülmüştür.

Anabolik-androjenik steroidlerin protrombotik etkiye sahip olabileceği tartışmalı bir konu olup halen aydınlığa kavuşmamıştır. Yüksek dozlardaki androjenlerin lipit, karbonhidrat, trombosit, pıhtılaşma faktörleri ve damar fonksiyonlarını etkileyerek protrombotik etkiye sahip olabileceği tahmin edilmektedir. Bunun yanında androjenlerin fibrinolitik aktiviteyi artırdığına dair bir çok çalışma bulunmaktadır (73).

Hemostatik mekanizmanın değerlendirilmesinde çeşitli testler kullanılır. Bu testlerden biri olan protrombin zamanı (PTZ), daha çok pıhtılaşma mekanizmasındaki ekstrinsik ve ortak yol hakkında bilgi verir.

Ansell ve ark. (7) çeşitli testosteron türevi kullanan ve kullanmayan vücut geliştirici sporculardada PTZ de dahil birçok koagülasyon parametresinde farklılık olmadığını tespit etmiştir. Aynı şekilde Reel ve ark. (91) testosteron uyguladıkları ratlarda PTZ'nin değişmediğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da yukarıdaki bildirimlere (7,91) uygun olarak testosteron uygulanan 2. grubun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında fark tespit edilmemiştir.

Winn ve ark. (119) kastre ettikleri ratların PTZ'yi kontrol grubuna göre uzadığını bildirmektedir. Bu çalışmada ise kastrasyon grubunun PTZ'yi kontrol grubuna göre farklı bulunmadı. Fakat, kastrasyon grubu, testosteron uygulanan 2. grup ile karşılaştırıldığında PTZ'nin anlamlı olarak uzadığı görülmüştür ($p=0.041$). Bu sonuçlarla, testosteronun doza bağlı olarak PTZ üzerinde etkili olabileceğini düşünülmektedir.

Bakaltcheva ve ark. (9) farklı dozlarda E vitamini ilave ettiği insan plazmalarında PTZ'nin değişmediğini bildirmiştir. Abdo ve ark. (1) ise 13 hafta süreyle 125, 500 ve 2000 mg/kg E vitamini ile besledikleri erkek ratlardan 2000 mg/kg E vitamini uygulanan grupta PTZ'nin arttığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde Wheldon ve ark. (116) 500, 1000 ve 2000 mg/kg E vitamini ile besledikleri ratlarda 4. haftada PTZ'nin uzadığını, 18. haftada en küçük doz uygulanan grupta dahi hemorajilerin oluştuğunu fakat, K vitamini verilmesinin bu bozuklukları düzelttiği bildirmektedir.

Çalışmamızda E vitamini uygulanan 4. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark görülme de PTZ'nin artma eğiliminde olduğu görülmektedir ($p=0.075$). Bu sonuçların, Bakaltcheva ve ark. (9) sonuçları ile uyum içinde olduğu görülmektedir. Çalışma sonuçlarımızın Abdo ve ark. (1) ve Wheldon ve ark. (116) sonuçları ile uyum göstermemesi, bu araştırmacıların yüksek dozlar kullanırken çalışmamızda fizyolojik dozlarda (50 mg/kg) E vitamini kullanılmasına bağlı olduğu tahmin edilmektedir.

Lowe ve ark. (66) 9 gönüllü erkek üzerinde yaptığı çalışmada, sentetik bir testosteron türevi olan mesterolonenin pıhtılaşma zamanı, F VIII, fibrinojen gibi parametreleri değiştirmedeğini bildirmektedir. Uzunova ve ark. (112) tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda abdominal aortaya polietilen kanül ile ellagic asit vererek trombus oluşturmuşlar ve depo testosteron uyguladıkları deneklerde, tromboz oluşumunun arttığını gözlemişlerdir. Tablo 3 ve Şekil 9 incelendiğinde testosteron uygulanan 2. grupta pıhtılaşma zamanının değişmediği görülmüştür. Bu sonuçlar Lowe ve ark. (66) bildirimleri ile uygunluk göstermektedir. Fakat 2. grup, testosteron eksikliği oluşturulan 6. grup ile karşılaştırıldığında aradaki farkın önemli olduğu görülmüştür ($p=0.029$).

Marquez ve ark. (69) E vitamini verdikleri normal ratlarda, trombosit agregasyonu azalırken pıhtılaşma zamanının kısaltıldığını gözlemişlerdir. Metha ve ark. (75) ratlarda deneysel aortik tıkaç oluşturmuşlar ve 100 mg/kg dozda E vitamini uyguladıkları grupta trombus oluşumunun anlamlı olarak uzadığını bildirmişlerdir. Jain ve ark. (52) yeni doğan bebeklerin kord plazmasında E vitamini seviyesinin düşük olduğunu ve pıhtılaşma zamanının anne kana kıyasla daha kısa olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat kord plazmasına E vitamini ilave ettiklerinde pıhtılaşma zamanının uzadığını görmüşlerdir. Tablo 3 ve Şekil 9 incelendiğinde E vitamini uygulama grubu koagülasyon zamanının kontrol grubuna göre istatistiksel olmasa da ($p=0.068$)

uzadığı gözlenmiştir. E vitamininin antikoagulant ve hemorajik etkilerinin görüldüğü çalışmalarda 100, 500, 1000 mg/kg gibi yüksek E vitamini dozları kullanılırken, çalışmamızda 50 mg/kg E vitamini kullanılmıştır. Bu bilgiler ışığında yüksek dozlardaki E vitamininin koagülasyon süresini uzatacağı tahmin edilmektedir.

PTZ ve koagülasyon zamanının E vitamini verilen gruplarda uzama eğiliminde olması bu vitaminin çok yönlü etkisi ile açıklanabilir. Bunlardan en önemlisi, aktive olabilmek için belirli bir peroksit tonuya ihtiyaç duyan siklooksijenaz enzimi, E vitamininin antioksidan aktivitesi ile inhibe edilir. Trombosit ve endotel hücrelerde siklooksijenaz enziminin inhibe olması sonucu TXA₂/Prostaglandin dengesi prostaglandinler yönüne kayar. Prostaglandinler ise trombosit adhezyon ve agregasyon inhibitörü ve vazodilatatör etkileri sonucu antikoagülatif etki gösterirler (76). Siklooksijenaz substratı olan eikosanoidler, PLA₂ aktivasyonu ile hücre membranlarından elde edilir. E vitamini PLA₂ aktivitesini inhibe eder ve daha sonraki basamaklarda oluşacak TXA₂ oluşumu önler. E vitamini, K vitamini sentezi için gerekli olan karboksilaz enzimini inhibe ederek K vitamini ile ilişkili olan pıhtılaşma faktörlerinin (F II, VII, IX, X) sentezini azaltır (26). Ayrıca, çalışmamızda da tespit edildiği gibi, bir pıhtılaşma faktörü olan fibrinojenin sentezini inhibe eder. E vitamini antioksidan olmayan etkisi ile bir çok hücresel aktivitede rol oynayan PKC'yi inhibe eder. Trombositlerde PKC'nin inhibe olması sonucu adhezyon ve agregasyon reaksiyonları da inhibe olur (93).

Meydani ve ark. (77) diyetle 30 gün süreyle 60, 200 ve 800 İU E vitamini alan kişilerde, Stampfer ve ark. (99) ise erkek ve bayanlarda 5 hafta boyunca 800 İU E vitamini alan kişilerde kanama zamanının değişmediğini bildirmişlerdir. Şekil 6 Tablo 3 incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla hiç bir grupta kanama zamanının değişmediği tespit edilmiş olup, bu sonuç yukardaki literatür bilgileri (77,99) ile paralellik göstermektedir. Yapılan literatür taramalarında testosteronun kanama zamanı üzerine etkisini gösteren bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızda ise testosteron uygulanan ve kastre edilen gruplarda kanama zamanının değişmediği gözlenmiştir.

Yapılan çalışmada literatür bildirimleri ve bulduğumuz sonuçlar arasında çoğu değerinde bir bütünlük olsa da, bazı değerlerin farklı bulunması, uygulama dozlarının farklı oluşu, farklı ölçüm metotlarının kullanılması veya laboratuvar şartlarındaki farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; testosteron hormonunun, trombosit sayısı, plazma MDA seviyesi ve TK/HDL kolesterol oranını artırırken HDL kolesterol seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir. PTZ ve koagülasyon zamanı ise testosteron uygulaması ile kısalma eğilimi göstermişlerdir. Testosteron verilen 2. grup ve kastrasyon yapılan 6. grup karşılaştırıldığında, testosteronun PTZ ve pıhtılaşma zamanında kısalmaya neden olduğu daha iyi görülmüştür. Bu sebeplerle testosteron hormonunun protrombotik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir.

E vitamini ise trombosit sayısı ve lipit profili üzerinde hiçbir değişikliğe neden olmamış fakat, fibrinojen ve plazma MDA seviyelerini düşürmüştür. E vitamininin PTZ ve pıhtılaşma zamanlarını uzatma eğiliminde olduğu görülmüştür. Bu nedenlerle yüksek dozlarda E vitamininin hipokoagülatif bir etki göstereceğine inanılmaktadır.

Testosteron hormonunun plazma MDA seviyesi, fibrinojen miktarı, kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı ve PTZ üzerindeki olumsuz etkileri, E vitamini uygulaması ile düzelme eğiliminde olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Abdo KM, Rao G, Montgomeri CA, Dinowitz M, Kanagalingam K. (1986). Thirteen week-toxicity study of d α -tocopherol acetate (Vitamin E) in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol.* 24: 1045-1050.
2. Akgül A. (1996). *Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri: SPSS Uygulamaları.* Ankara.
3. Akkuş İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri.* Mimoza Yayınları, Konya.
4. Aleksandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H, Christiansen C. (1999). Natural androgens inhibit male atherosclerosis, a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res.* 84: 813-819.
5. Anderson RA, Ludlam CA, Wu FC. (1995). Haemostatic effects of supraphysiological levels of testosterone in normal men. *Thromb Haemost.* 74: 693-697.
6. Anon. (1998). Veris Research Summary. Erişim: <http://www.veris-online.org>. Erişim Tarihi: 07.04.2002
7. Ansell JE, Tiarks C, Fairchild VK. (1993). Coagulation abnormalities associated with the use of anabolic steroids. *Am Heart J.* 125: 367-371.
8. Azzi A, Stocker A. (2000). Vitamin E: non-antioxidan roles. *Prog Lipid Res.* 39: 231-255.
9. Bakaltcheva I, Gyimah D, Reid T. (2001). Effects of α - tocopherol on platelets and the coagulation system. *Platelets.* 12: 389-394.
10. Bayele HK, Murdock PJ, Perry DJ, Pasi KJ. (2002). Simple shifts in redox/thiol balance that perturb blood coagulation. *Febs L.* 510: 67-70.
11. Becker R. (1991). Seminars in thrombosis, thrombolysis, and vascular biology. *Cardiol.* 78: 257-266.
12. Beran M, Spitzer G, Verma DS. (1982). Testosterone and synthetic androgens improve the in vitro survival of human marrow progenitor cells in serum-free suspension cultures. *J Lab Clin Med.* 99: 247-253.
13. Berne RM, Levy MN. (1990). *Principles of Physiology.* Mosby Comp. ABD.
14. Blamy SL, McArdle BM, Burns P. (1984). A double blind trial of intramuscular stanozolol in the prevention of postoperative deep vein thrombosis following elective abdominal surgery. *Thromb Haemost.* 51: 71-74.
15. Bonkovsky HL, Singh RH, Jafri IH. (1991). A randomized, controlled trial of treatment of alcoholic hepatitis with parenteral nutrition and oxandrolone. II. Short term effects on nitrogen metabolism, metabolic balance, and nutrition. *Am J Gastroenterol.* 86: 1209-1218.

16. Brawn K, Fridovich I. (1980). Superoxide radical and Superoxide dismutases: Threat and defence. *Acta Physiol Scand.* 492: 9-18.
17. Cannon JG, Meydani SN, Fielding RA, Fiatarone MA, Meydani M, Farhangmehr M, Blumberg JB, Evans WJ. (1991). Acute phase respons in exercise. II. Associations between vitamin E, cytokines, and muscle proteolysis. *Am J Physiol.* 260: R 1235-1240.
18. Chan AC, Wagner M, Kennedy C, Mroske C, Proulx P, Laneuville O, Tran K. (1998). Vitamin E upregulates phospholipase A₂, arachidonic acid release and cyclooxygenase in endothelial cells. *Akt Ernahr Med.* 23: 1-8.
19. Clauss A. (1957). Rapid physiological coagulation method for the determination of fibrinogen. *Acta Haemat.* 17: 237.
20. Clemens MR, Waller HD. (1987). Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids.* 45: 251-268.
21. Connell BJ, Genest J. (2001). High density lipoproteins and endothelial function. *Circulation.* 104: 1978-1983.
22. Diaz MN, Frei B, Vita J, Keaney JF. (1997). Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *New Eng J Med.* 337 (6): 408-416.
23. Dickinson P, Zinneman HH, Swaim WR, Doe RP, Seal AS. (1969) Effect of testosterone treatment on plasma proteins and amino acids in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 29: 837-841.
24. Dobrovolsky AB, Titaeva EV. (2002). The fibrinolysis system: Regulation of activity and physiologic functions of its main components. *Biochemistry (Moscow).* 67 (1): 99-108.
25. Douglas CE, Chan AC, Choy P. (1986). Vitamin E inhibits platelet phospholipase A₂. *Biochim Biophys Acta.* 876: 639-945.
26. Dowd P, Zheng B. (1995). On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone. *Proc Natl Acad Sci.* 92: 8171-8175.
27. Eber B, Schumacher M. (1993). Fibrinogen: Its role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Seminars in Thromb Hemost.* 19 (2): 104-107.
28. Enzi GB, Zuliani FG, Baroni L, Vitale E, Enzi G, Magnanini P. (1990). Lipid and apoprotein modifications in body builders during and after self-administration of anabolic steroids. *Metabolism.* 39 (2). 203-208.
29. Erenel G, Erbaş D, Akıcıoğlu A. (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg.* 3: 243-250.
30. Feingold IB, Longhurst PA, Colby HD. (1993). Regulation of adrenal and hepatic α -tocopherol content by androgens and estrogens. *Biochim Biophys Acta.* 1176: 192-196.
31. Ferenchick GS. (1991). Anabolic/androgenic steroid abuse and thrombosis: Is there a connection ? *Medical Hypotheses.* 35: 27-31.

32. Flohe RB, Traber MG. (1999) Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J.* 13: 1145-1155.
33. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. (2000). Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Acad. Press. Washington.
34. Foreman MD. (1986). Cardiovascular disease: a men's health hazard. *Nurs Clin Nort Am.* 21:65-73.
35. Freedman JE, Farhat JH, Loscalzo J, Keane JF. (1996). Alpha tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C-dependent mechanism. *Circ.* 94: 2434-2440.
36. Frisch F, Sumida K. (1999). Temporal effects of testosterone propionate injections on serum lipoprotein concentrations in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 31 (5): 664-669.
37. Ganong F. (1996). *Tıbbi Fizyoloji. Barış Kitapevi. İstanbul.*
38. Gey KF.(1993). Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. *Br Med Bull.* 49: 679-699.
39. Glazer G. (1991). Atherogenic effects of anabolic steroids on serum lipid levels. *Arch Intern Med.* 151: 1925-1933.
40. Goretta BE, Giada F, Giovanni Z, Luciano B, Enrico V, Giuliano E, Patrizia M, Renato F. (1990). Lipid and apoprotein modifications in body builders during and after self-administration of anabolic steroids. *Metabolism.* 39 (2): 203-208.
41. Griffin JH, Kojima K, Banka CL, Curtiss LK, Fenandez JA. (1999). High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. *J.Clinic. Invest.* 103 (2): 219-227.
42. Gurr MI, James AT. (1971). *Lipid Biochemistry. An introduction of cholesterol absorption. Chapman and Hall. London.*
43. Gutteridge JMC, Halliwell B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci.* 15: 129-135.
44. Guyton AC, Hall JE. (1996). *Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul.*
45. Halliwell B, Futteridge JMC. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 26: 351-357.
46. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1996). *Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press. Oxford.*
47. Haug A, Hostmark AT, Spydevold O. (1985): Responses of plasma apolipoproteins to gonadectomy and androgen substitution in male rats. *Horm Metab Res.* 17 (12): 641-645.
48. Hermann WJ, Ward k, Faucett J. (1979). The effect of tocopherol on high density lipoprotein cholesterol. *Am J Clin Pathol.*72: 848-852.

49. Hussein SA, Azab ME, Abdel-Masoud H. (1999). Metabolic changes concerning the effect of castration on some blood constituents in male rabbits. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 106 (3): 113-118.
50. Iuliono L, Colavita AR, Leo R. (1997). Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Rad Biol Med.* 22 (6): 999-1006.
51. İşlekel H, Güner G. (2000). Serbest radikal kaynağı olarak molekler oksijen, bazı önemli reakti oksijen partikülleri ve ölçüm yöntemleri. *Pamukkale Üniv. Tıp Fak. Derg.* 2: 18-24.
52. Jain SK, McCoy B, Wise R. (1994). Vitamin E and the hypercoagulability of neonatal blood. *Clin Chim Acta.* 225: 97-103.
53. Jandak J, Steiner M, Richardson PD. (1989). α -tocopherol an effective inhibitor of platelet adhesion. *Blood.* 73 (1): 141-149.
54. Jochmann C. (1998). Zur pathobiochemie freier radikale in isolierten hapatozyten: Auswirkung von trichlorbrommethan auf thiolhomöstase, purin(nukleotid)e, tetrazoliumreduktion und neutralrottaufnahme. *Journal Nr.:2013. Pharmakol. Toxikol. Fachereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin. (Doktora tezi)*
55. Kantor MA, Bianchini A, Bernier D, Sady SP, Thompson PD. (1985). Androgens reduce HDL₂-cholesterol and increase hepatic triglyceride lipase activity. *Med Sci Sports Exerc.* 17 (4): 462-465.
56. Karachentsev AN, Mel'chenko IA. (1997). Effect of sex hormones on lipid peroxidation in the rat aorta. *Eksp Clin Farmakol.* 60 (6): 13-16.
57. Kayaalp O. (1989). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 3. Ankara.
58. Keaney JF, Simon DI, Freedman JE. (1999). Vitamin E and vascular homeostasis: implications for atherosclerosis. *Faseb J.* 13: 965-976.
59. Kim JM, White RH. (1996). Effect of vitamin E on the anticoagulant response to warfarin. *Am J Cardiol.* 77 (1): 545-546.
60. Kiserud EC, Kierulf P, Hrstmark A. (1995). Effects of various fatty acids alone or combined with vitamin E on cell growth and fibrinogen concentration in the medium of HEPG2 cells. *Throm Res.* 80: 75-83.
61. Kluft C, Preston FE, Malia RG. (1984). Stanozolol-induced changes in fibrinolysis and coagulation in healthy adults. *Thromb Haemost.* 51: 157-164.
62. Kohler HP, Grant PJ. (2000). Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New Eng J Med.* 15: 1792-1800.
63. Komaratat P, Chupukcharoen N, Wilairat P. (1985). Effect of vitamin E on cholesterol plasma lipoprotein distribution and metabolism in rabbit. *Internat J Vit Nutr Res.* 55: 167-171.
64. Köse K, Doğan P. (1992). Lipit peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Derg. Ek-1:* 340-350.
65. Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. (2002). Anabolic steroids. *Sports Med.* 32 (5): 285-296.

66. Lowe GD, Thomson JE, Reavey MM, Forbes CD, Prentice CR. (1979). Mesterolone: thrombosis during treatment, and a study of its prothrombotic effects. *Br J Clin Pharm.* 7 (1):107-109.
67. Mabile L, Bruckdorfer KR, Rice-Evans C. (1999). Moderate supplementation with natural α -tocopherol decreases platelet aggregation and low-density lipoprotein oxidation. *Atheroscl.* 147: 177-185.
68. Mac Person A. (1994). Selenium, vitamin E and biological oxidation. *Recent Advenced in Animal Nutr.* 3-30.
69. Marques D, Cazana F, Rodriguez P. (1987). DL- α -tocopherol acetate induces hypocoagulability and platelet hypoaggregability in rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 57: 375-370.
70. Martens A, Holvoet P. (2001). Oxidized LDL and HDL: antagonist in atherothrombosis. *Faseb J.* 15: 2073-2084.
71. Matkovics B, Szabo L, Varga IS. (1988). Determination of enzyme activities in lipidperoxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnosztika.* 15: 248-249.
72. McCay PB. (1981). Physiological significance of lipid peroxidation. *Federation Proceedings. Symposium.* 40 (2): 173.
73. Melchert RB, Welder AA. (1995). Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. *Med Sci Sports Exerc.* 27 (9): 1252-1262.
74. Mendenhall CL, Moritz TE, Roselle GA. (1995). Protein energy malnutrition in severe alcoholic hepatitis: Diagnosis and response to treatment. *J Parenter Enter Nutr.* 19: 258-265.
75. Metha J, Li D, Metha JL. (1999). Vitamins C and E prolong time to arterial thrombosis in rats. *J Nutr.* 129: 109-112.
76. Meydani M. (1995). Vitamin E (Fat-soluble vitamins). *The Lancet.* 345: 170-175.
77. Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB, Keka LS, Pedrosa M, Diamond R, Schaefer EJ. (1998). Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults. *Am J Clin Nutr.* 68: 311-318.
78. Moriyama Y, Fisher JW, (1975). Effects of testosterone and erythropoietin on erythroid colony formation in human bone marrow cultures. *Blood.* 45: 665-670.
79. Nemi CJ. (1993). *Essential of Veterinary Hematology.* Lea & Febiger. Philadelphia.
80. O'Connell BJ, genest J. (2001). High density lipoproteins and endothelial function. *Circ.* 104: 1978-1983.
81. Oriani G, Corino C, Pastorelli G, Pantaleo L, Ritieni A, Salvatori G. (2001). Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. *J Nutr Biochem.* 12: 138-143.
82. Ovarec S, Demuth K, Myara I, Hornych A. (1998). The effect of high density lipoprotein subfractions on endothelial eicosanoid secretion. *Thromb Res.* 92:65-71.

83. Owens MR, Cimino CD, Donnelly J. (1987). Testosterone effects on biosynthesis of coagulation proteins. *Thromb Haemost.* 57 (3): 259-262.
84. Özben T. (1997). Lipitlerin Sınıflandırılması. *Temel Biyokimya*. Saray Yayıncılık. İzmir.
85. Özgen G. (1997). Lipit metabolizması bozuklukları ve atherosklerozis. *Aktüel Tıp Derg.* 2: 280-286.
86. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BC. (1966). Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal Biochem.* 16: 359-364.
87. Porter NA. (1984). Chemistry of lipid peroxidation. *Meth Enzymol.* 105(32): 273-282.
88. Prasad K, Kalra J. (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am Heart J.* 125: 958-973.
89. Quick AJ. (1939). Determination of prothrombin. *Proc Soc Exper Biol Med.* 42: 788
90. Rankinen T, Hietanen E, Vaisanen S, Letio M, Penttila I, Bourchard C, Rauramaa R. (2000). Relationship between lipid peroxidation and plasma fibrinogen in middle-aged men. *Thromb Res.* 99: 453-459.
91. Reel JR, McKenzie JS, Collins DW, Edgren RA. (1983). Steroid-induced thrombogenesis in rats. *Int J Fertil.* 28 (3): 169-172.
92. Report of a WHO Scientific Group. (1994). Cardiovascular disease risk factors: New areas for research. WHO Technical Report Series 841.
93. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. (2001). Vitamin E: protective role of a Janus molecule. *Faseb J.* 15: 2314-2325.
94. Rota S, McWilliam A, Baglin TP, Byrne C. (1998). Atherogenic lipoproteins support assembly of the prothrombinase complex and thrombin generation: Modulation by oxidation and vitamin E. *Blood.* 91(2): 508-515.
95. Santhamma J, Hester H, Vorster H, Venter CS. (2000). Nutritional status influences plasma fibrinogen concentration: Evidence from the THUSA survey. *Thromb Res.* 98: 383-394.
96. Sato M, Sasaki M, Hojo H. (1995). Antioxidative roles of metallothionein and manganese superoxide dismutase induced by tumor necrosis factor-alpha and interleukin 6. *Arch Biochem Biophys.* 316: 738-744.
97. Shahidi NT. (2001). A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clin Therapeutics.* 23 (9): 1355-1389.
98. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross C. (1999). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lippincott Williams & Wilkins. ABD
99. Stampfer MJ, Jakubowski J, Faigel D, Vaillancourt R, Deykin D. (1988). Vitamin E supplementation effect on human platelet function, arachidonic acid metabolis, and plasma prostacyclin levels. *Am J Clin Nutr.* 47: 700-706.

100. Stampfer MJ, Willett W, Castelli W, Taylor J, Fine J, Hennekens C. (1983). Effect of vitamin E on lipids. *Am J Clin Pathol.* 79: 714-716.
101. Stone WL, Stewart ME, Nicholas C, Pavuluri S. (1986). Effects of dietary selenium and vitamin E on plasma lipoprotein cholesterol levels in male rats. *Ann Nutr Metab.* 30: 90-103.
102. Sullivan PS, Jackson CW, McDonald TP. (1995). Castration decreases thrombocytopoiesis and testosterone restores platelet production in castrated BALB/c mice: evidence that testosterone acts on a bipotential hematopoietic precursor cell. *J Lab Clin Med.* 125 (3): 326-333.
103. Swenson MJ, Reece WO. (1993). *Dukes' Physiology of Domestic Animals.* Cornell Univ. Press. New York
104. Szuwart T, Brzoska T, Luger TA, Filler T, Peuker E, Dierichs R. (2000). Vitamin E reduces platelet adhesion to human endothelial cells in vitro. *Am J Hematol.* 65:1-4.
105. Terzioğlu M, Yiğit G, Oruç T. (1993). *Fizyoloji Ders Kitabı, Cilt 2. İ.Ü. Yayınları.* İstanbul.
106. Thampson GR. (1991). *A Handbook of Hyperlipidemia. (Çeviri Edit; Tağmur E) Uycan Yayınları AŞ. İstanbul.*
107. Tikkanen MJ, Nikkia NA. (1987). Regulation of hepatic lipase and serum lipoprotein by sex steroids. *Am Heart J.* 113: 562-567.
108. Tyagi A, Rajalakshmi MD, Jeyaraj A, Sharma RS, Bajaj JS. (1999). Effects of long-term use of testosterone enanthate. II. Effects on lipids, high and low density lipoprotein cholesterol and liver function parameters. *Internat J Androl.* 22: 347-355.
109. Uchida T, Muroi S, Yui T, Hiraguri M, Yanagisawa S, Umezu H, Kariyone S. (1985). Influence of vitamin E on platelet survival. *Tohoku J Exp Med.* 147: 343-348.
110. Ulukaya E. (1997). *Lipit Metabolizması. Champe PC, Harvey RA. In Lippincott's Illustrated Reviews. Nobel Tıp Kitapları, İstanbul.*
111. Upston MJ, Terentis AC. (1999). Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as potential atherogenic supplement. *Faseb J.* 13: 977-994.
112. Uzunova AD, Ramey ER, ramwell PW. (1978). Gonadal hormones and pathogenesis of occlusive arterial thrombosis. *Am J Physiol.* 234 (4): H454-459.
113. Vance DE, Vance JE. (1985). *Biochemistry of lipids and membranes. The Benjamin/Cummings Publishing Comp. Inc. ABD.*
114. Wachnik A, Biro G, Biro L, Korom M, Gergely A, Antal M. (1993). Effect of sex hormones on copper, zinc, iron nutritional status and hepatic lipid peroxidation in rats. *Nahrung.* 37 (1): 28-34.
115. Wang X, Quinn PJ. (1999). Vitamin E and its function in membranes. *Progr in Lipid Res.* 38: 309-336.

116. Wheldon GH, Bhatt A, Keller P, Hummler H. (1983). DL α -tocopheryl acetate (vitamin E) A long term toxicity and carcinogenicity study in rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 53: 287-296.
117. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR. (1998). *Williams Textbook of Endocrinology.* W.B. Saunders Company. ABD.
118. Winkler UH. (1996). Effects of androgens on haemostasis. *Maturitas.* 24: 147-155.
119. Winn MJ, Park BK. (1987). The effects of 17 beta-oestradiol or testosterone on the response to S-warfarin in castrated male rats. *J Pharm Pharmacol.* 39: 958-960.
120. Xu T, Wang X, Hou S. (2001). Effect of lower androgen levels on arteriosclerosis. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 39 (9): 698-701.
121. Yarovaya GA, Blokhina T., Neshkova EA, (2002). Contact system. New concepts on activation mechanisms and bioregulatory functions. *Biochemistry (Moscow).* 67: 13-16.
122. Yılmaz B. (1999). *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi.* Feryal Matbacılık. Ankara.
123. Yılmaz B. (2000). *Fizyoloji.* Feryal Matbacılık. Ankara.
124. Yoshikawa T, Forokawa Y, Murakami M, Watanabe K, Kondo M. (1982). Effect of vitamin E on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb Haemost.* 48: 237-237.
125. Zemuda JM, Fahrenback MC, Younkin BT, Bausserman L, Terry DB, Catlin DH. (1993). The effect of testosterone aromatization on high density lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. *Metabolism* 42: 446-450.
126. Zitzmann M, Junker R, Kamischke A, Nieschlag E. (2002). Contraceptive steroids influence the hemostatic activation state in healthy men. *J Androl.* 23 (4): 503-511.
127. Zwaal RFA, Comfurius P, Bevers EM. (1998). Lipid-protein interactions in blood coagulation. *Bioch Biophys Acta.* 1376: 433-453.

8. ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Karaman'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Konya'da tamamladım. 1988 yılında başladığım Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1993 yılında mezum oldum. Askerlik hizmetimi 1994-96 yılları arasında Ağrı 12. Mekanize Piyade Tugayı'nda yaptım. 1996 yılında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde doktora eğitimine başladım. Halen aynı kürsüde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

