

157095

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

**HOMOSİSTEİNİN RATLARDA PLAZMA VE DOKULARDAKİ
OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM İLE KORONER DAMARLARIN
MORFOLOJİK YAPISINA ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**Abdurrauf YÜCE
ELAZIĞ-2004**

ONAY SAYFASI

T.C. Fırat Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü


Prof. Dr. Halis OCAI

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi

olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL



Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

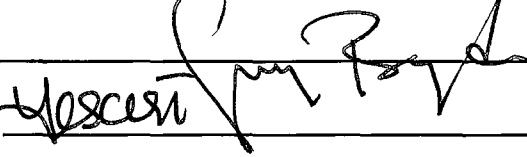
Prof. Dr. Mesut AKSAKAL



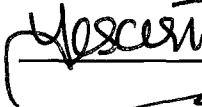
Prof. Dr. Vedat SAĞMANLIGIL



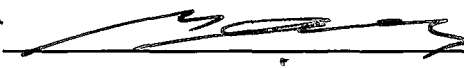
Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ



Doç. Dr. Yesari ERÖKSÜZ



Doç. Dr. Mehmet ÇAY



TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam süresince yardımları esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mesut AKSAKAL başta olmak üzere, Anabilim Dalımız Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Mehmet ÇAY ve Arş. Gör. Meltem KIZIL' a, F.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ' a homosistein tayini esnasında büyük yardımını gördüğüm F.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Necip İLHAN ve Dr. Dilara SEÇKİN' e, dokuların işlenmesi ve uygulamalar esnasındaki yardımlarından dolayı F.Ü. Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı elemanlarından Arş. Gör. Dr. Gaffari TÜRK, Arş. Gör. Dr. Mustafa SÖNMEZ, F.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı elemanlarından Arş. Gör. Dr. Ömer KIZIL, F.Ü. Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı elemanlarından Arş. Gör. Dr. Sami ŞİMŞEK' e, Histolojik kesitlerin incelenme ve değerlendirmesine yardımlarını gördüğüm F.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. M. Reşat ÖZERCAN' a ve bu çalışmayı 651 nolu proje ile destekleyen FÜBAP çalışanlarına Teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

1.	ÖZET	1
2.	ABSTRACT	3
3.	GİRİŞ	5
3.1.	Homosistein Metabolizması.....	8
3.1.1.	Transmetilasyon.....	9
3.1.2.	Remetilasyon.....	10
3.1.3.	Transsülfürasyon.....	10
3.2.	Homosisteinin Dokulardaki Dağılımı.....	12
3.3.	Homosisteinin Regülasyonu.....	13
3.4.	Plazma Homosisteini.....	13
3.5.	Homosistein Formları.....	14
3.6.	Homosistein Düzeyleri ve Ölçümü.....	15
3.7.	Hiperhomosisteinemi Nedenleri.....	16
3.7.1.	Genetik Nedenler.....	17
3.7.2.	Edinsel Nedenler.....	18
3.7.2.1.	Vitamin Eksiklikleri.....	18
3.7.2.2.	Folik Asit Eksikliği.....	18
3.7.2.3.	Vitamin B ₁₂ (Kobalamin) Eksikliği.....	19
3.7.3.	Kronik Hastalıklar.....	20
3.7.4.	Fizyolojik Nedenler.....	21
3.7.5.	İlaçlar	22
3.8.	Homosistein Koroner Arter ve Vasküler Hastalıklar.....	24
3.9.	Hiperhomosisteinemi ve Mekanizması.....	25

3.10.	Hiperhomosisteinemi Tedavisi.....	27
3.11.	Koroner Kalp Hastalıkları.....	28
3.11.1.	Aterosklerotik Lezyonların Gelişimi.....	29
3.11.2.	Ateroskleroz Risk Faktörleri.....	30
3.12.	Serbest Radikaller, Lipid Peroksidasyon ve Antioksidant Enzimler.....	32
3.13.	E Vitamini.....	37
3.14.	Homosistein, Melatonin, E Vitamini, Östrojen, Serbest Radikaller Ve Antioksidan Enzimler.....	39
4.	Gereç ve Yöntem.....	44
4.1.	Gereç.....	44
4.1.1.	Yem Materyali.....	44
4.2.	Yöntem.....	45
4.2.1.	Plazmanın Hazırlanması.....	46
4.2.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	46
4.2.3.	Doku ve Plazmada Lipid Peroksidasyon Tayini.....	47
4.2.4.	Doku ve Plazma Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini....	47
4.2.5.	Doku ve plazmada redükte Glutasyon (GSH) Düzeyinin Tayini.....	48
4.2.6.	Plazma Katalaz Aktivitesinin Tayini.....	48
4.2.7.	Plazma Homosistein düzeyinin Tayini.....	48
4.2.8.	Plazma Süperokit dismutaz (SOD) enzim düzeyinin Tayini	49
4.2.9.	Histolojik Kesitlerin Hazırlanması.....	49
4.2.10.	İstatistik Analizler.....	50

5.	BULGULAR.....	51
5.1.	Plazma Homosistein Düzeyleri.....	51
5.2.	Plazma SOD Düzeyleri.....	52
5.3.	Plazma MDA Düzeyleri.....	54
5.4.	Plazma GSH Düzeyleri.....	56
5.5.	Plazma GSH-Px Düzeyleri.....	57
5.6.	Plazma Katalaz Düzeyleri.....	59
5.7.	Doku MDA Düzeyleri.....	61
5.8.	Doku GSH Düzeyleri.....	62
5.9.	Doku GSH-Px Düzeyleri.....	64
5.10.	Kalp Damarlarının Morfolojik Yapısındaki Değişimler.....	67
6.	TARTIŞMA.....	72
7.	KAYNAKLAR.....	84
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	99

TABLO LİSTESİ

1. Hiperhomosistenemianın nedenleri.....	23
2. Ratlara verilen yemin bileşimi.....	44
3. Plazma ve Dokulardaki Homosistein, MDA ve Antioksidan Enzim Düzeyleri.....	66



ŞEKİL LİSTESİ

1.	Homosisteinin Yapısı.....	8
2.	Metiyonin ve Homosistein Metabolizması.....	11
3.	Homosistein formları.....	15
4.	Plazma Homosistein düzeyleri.....	51
5.	Plazma SOD düzeyleri.....	53
6.	Plazma MDA düzeyleri.....	55
7.	Plazma GSH düzeyleri.....	57
8.	Plazma GSH-Px düzeyleri.....	58
9.	Plazma Katalaz düzeyleri.....	60
10.	Doku MDA düzeyleri.....	62
11.	Doku GSH düzeyleri.....	63
12.	Doku GSH-Px düzeyleri.....	65
13.	Kontrol grubu erkek ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200).....	68
14.	Kontrol grubu dişi ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200).....	68
15.	Homosistein grubu erkek ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200).....	69
16.	Homosistein grubu dişi ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200).....	69
17.	Homosistein-Melatonin grubu erkek ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200).....	70

VII

18. Homosistein-Melatonin grubu dişi ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200)..... 70
19. Homosistein-E vitamini grubu erkek ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200)..... 71
20. Homosistein-E vitamini grubu dişi ratların kalp damarlarının histolojik görünümü (x200)..... 71



KISALTMALAR

KKH	Koroner Kalp Hastalıkları
SAM	S-Adenesilmetiyonin
SAH	S-Adenosilhomosistein
MTHFR	Metiltetrahidrofolatredüktaz
Mİ	Miyokart İnfaktüsü
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
İF	İntrinsik Faktör
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
NO	Nitrik Oksit
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
LDL-C	Kolesterol
SOD	Süperoksit Dismutaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
CAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
GSSH	Okside Glutasyon
LOOH	Lipit Peroksit Radikali
OH	Hidroksil Radikali
TBA	Tiobarbütirikasit

1. ÖZET

Bu çalışma, uzun süreli homosistein uygulanan ratlarda antioksidan enzim düzeylerinde ve koroner arterlerin yapısındaki değişimler ve bu değişimlere E vitamini ve melatoninin etkilerini araştırmak için yapılmıştır.

Bu amaçla 40 dişi ve 40 erkek, toplam 80 Wistar albino rat 1. grup: kontrol (n=20, serum fizyolojik) , 2. grup: homosistein (n=20, 0.71mg/kg homosistein), 3. grup: homosistein-melatonin (n=20, 0.71mg/kg homosistein - 1 mg/kg melatonin), 4. grup: homosistein-E vitamini (n=20, 0.71mg/kg homosistein - 125 mg/kg dl- α tokoferol asetat) gruplarına ayrılarak, 6 hafta her gün uygulanmıştır.

Bütün gruplardaki tüm parametreler, erkek ratlarda dişi ratlardan daha fazla olmak üzere anlamlı ($P<0,01$) bulunmuştur.

Plazma homosistein, MDA (Malondialdehit) ve doku MDA düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 2. grup' da önemli derecede artmış ($P<0,05$, $P<0,001$), 3. ve 4. grup'da azalmıştır ($P<0,001$).

Plazma SOD (Süperoksit dismutaz), GSH (Redükte Glutasyon), GSH-Px (Glutasyon Peroksidaz), Katalaz ve doku GSH, GSH-Px düzeyleri kontrole göre 2. grup ratlarda düşük ($P<0,01$), 3. grup ve 4. grup ratlarda ise yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 2. grup ratların koroner arter endoteliumunda dejenerasyonlar, hücre infiltrasyonu ve kalınlaşma tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, homosistein uygulaması; plazma homosistein, MDA ve doku MDA düzeylerini artırırken, plazma SOD, CAT, GSH, GSH-Px ve

doku GSH, GSH-Px düzeylerini azaltmıştır. Buna karşılık vitamin E ve Melatonin uygulamaları plazma homosistein, MDA ve doku MDA düzeylerini azaltırken, plazma SOD, CAT, GSH, GSH-Px ve doku GSH, GSH-Px düzeylerini artırmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aterosklerozis, Homosistein, Melatonin, E vitamini, Rat



2. ABSTRACT

This study was conducted to investigate the changes in the levels of antioxidant enzyme and structure of coronary arteries in long-term homocysteine administered rats and to investigate the effects of vitamin E and melatonin on these changes.

For this purpose, 40 male and 40 female Wistar albino rats were divided into 4 groups as; group 1 - control (n=20, normal saline), group 2 - homocysteine (n=20, 0.71mg/kg dl-homocysteine), group 3 - homocysteine-melatonin (n=20, 0.71mg/kg dl-homocysteine-1mg/kg melatonin), group 4 - homocysteine-vitamin E (n=20, 0.71mg/kg dl-homocysteine-125mg/kg dl- α tocopheryl acetate). Treatment drugs were injected to animals daily for 6 weeks.

The parameters in all groups were significantly ($P<0,001$) higher in male rats than in female rats.

Compared to control group, Levels of plasma homocysteine, MDA and tissue MDA significantly ($P<0,05$, $P<0,001$) increased in group 2, while significantly ($P<0,001$) decreased in groups 3 and 4.

Compared to control group Levels of plasma SOD, GSH, GSH-Px, CAT and tissue GSH, GSH-Px significantly ($P<0,001$) decreased in group 2, whereas significantly ($P<0,05$) increased in groups 3 and 4.

Degeneration, cell infiltration and thickness were determined in the endothelium of coronary artery of group 2 rats compared to the control group.

In conclusion, administration of homocysteine caused an increase in the levels of plasma homocysteine, MDA and tissue MDA, while it caused a decrease in the levels of plasma SOD, CAT, GSH, GSH-Px and tissue GSH, GSH-Px. On the other hand, administration of vitamin E and melatonin decreased the levels of plasma homocysteine, MDA and tissue MDA, while increasing the levels of plasma SOD, CAT, GSH, GSH-Px and tissue GSH, GSH-Px.

Key Words: Atherosclerosis, Homocysteine, Melatonin, Vitamin E, Rat.



3. GİRİŞ

Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olmakla birlikte, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan yirmi aminoasit arasında yer almayan, diğer aminoasitlerin aksine diyetle birlikte alınan metiyoninin metabolizması sonucu oluşan bir metabolik ara üründür (32).

Homosistein diyetle bulunmaz, fakat memelilerde metiyonin metabolizmasının esansiyel bir arametabolitidir. Hem homosistein hem de metiyonin birbirlerinin prekürsörleridirler, birinin detoksifikasyonu diğerinin sentez aşamasını oluşturmaktadır. Bu ilişkinin temelini metiyonin metabolizması oluşturur (73). Bazı dokulardaki transsülfürasyon mekanizması homosisteinin sistein ve derivelerine dönüşümünü sağlar. Metiyonin veya homosistein metabolizması ardışık reaksiyonlar arasındaki homosistein veya metiyoninin dengesiyle düzenlenir. Bu reaksiyonlardan transsülfürasyon yolu için pridoksin ve bazı vitamin derivesi kofaktörler, metiyonin metabolizması için de folat ve kobalamin gerekmektedir. Bu yolların doğmasal bozukluğu klinik olarak hiperhomosistememi' ye neden olurken son zamanlarda genetik bozukluklar yanında edinsel patoloji, toksisite ve beslenme yetersizliğinden kaynaklanan hiperhomosisteinemi üzerinde durulmuştur. trombovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür, fakat aminoasit konsantrasyonunun minimal düzeyde artışının bozukluk oluşumu için belirleyici bir etken olup olmadığı açık değildir.

Bu açıdan homosistein metabolizmasında önemli bir yeri olan metiyonin:

1-Protein sentezi

2-S-adenozil metiyonine bağımlı transmetilasyon reaksiyonları

3-Poliaminlerin sentezi

4-Sistatyonin, sistein ve transsülfürasyon yolağının diğer ürünlerinin oluşumu

5-İntrasellüler folatların metabolizması ve kolin katabolizması için gerekli olan homosisteinin sağlanması gibi başlıca biyolojik süreçlerde yer almasıyla memelilerin normal büyüme ve gelişimi için esastır.

Hiperhomosisteneminin koroner kalp hastalıklarına (KKH) sebep olduğu, 1962 yılında McCully (97) tarafından homosisteinürinin tanımlanmasıyla birlikte ortaya çıkmıştır. Günümüzde koroner kalp hastalıklarının önceden belirlenmesine yönelik bir çok çalışma yapılmış, bir çok parametre araştırılmıştır. Bu çalışmalarda hiperlipideminin, özellikle de kolesterolün başlıca sorumlu faktör olduğu savına rağmen son yıllarda bazı koroner kaynaklı ölümlerde serum lipid düzeylerinin normal olması, araştırmacıları başka faktörleri incelemeye yöneltmiştir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılmış olan bir çalışmada KKH dan dolayı ölenlerin sadece %14 ünde kolesterol yüksekliği, % 57 sinde ise serum homosistein düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (142). Daha sonra yapılan araştırmalarda KKH oluşumunda plazma homosistein düzeyi artışının kolesterolden çok daha önemli bir parametre olduğu fikri ileri sürülmüştür (66). Homosistein kükürt içeren ve proteinlerin yapısına katılmayan bir

amino asit olup ilk kez 1932 yılında tanımlanmıştır (25). Normal olarak diyetle alınmayıp, metiyonin metabolizması sırasında bir ara ürün şeklinde oluşan homosistein, plazmada %70-80 i albumine bağlı diğer kısmı ise serbest halde bulunmaktadır (151). Serbest halde bulunan kısım stabil değildir, hemen homosistien ve sistein-homosistiene dönüşmektedir (141). Total homosistein düzeyi, hem bağlı olan ve hem de serbest olan kısımları yansıtmaktadır. 1962 yılında mental geriliği bulunan iki kardeşte homosistinüri saptanmıştır (25). Aynı yıllarda anomalili doğan ve mental geriliği olan bir kısım bebeklerin idrarlarında homosistein tespit edilmiştir (49). Daha sonra araştırmacılar, araştırmalarını homosisteinüri üzerine yoğunlaştırmış ve bu araştırmaların sonucunda Skovby ve arkadaşları (138), homosisteinürili bir hastadan aldıkları karaciğer doku biyopsisinde sistatyonin beta sentaz eksikliğini saptamışlardır.

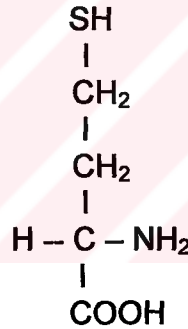
Araştırmacılar, homosisteinüride mevcut olan homosistein ile hastalığın kliniği arasında bir ilişki olup olmadığını araştırdıklarında bu hastalarda tromboembolizm, prematür ateroskleroz, mental gerilik gibi bulguların ortaya çıktığını ve bu bulgular ile serum homosistein düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun varlığını saptamışlardır (20). Daha sonraki yıllarda homosistein ölçümünde hassas tekniklerin geliştirilmesi ile homosistein serum düzeylerinin bir çok hastalıkta gösterge olabileceği gösterilmiştir. Hafif ve orta derecedeki hiperhomosistenemi günümüzde kardiovasküler hastalığı olanlarda sıkça gözlemlenmektedir (60). Hiperhomosisteinemi son yıllarda kalp damar hastalıkları için sigara,

hipertansiyon, şişmanlık ve dislipidemi üzerine bağımsız bir risk faktörü olarak eklenmiştir (43,90).

3.1. Homosistein Metabolizması

Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında oluşmakta ve proteinlerin yapısına girmemektedir. Metiyonin esaslı bir aminoasit olduğundan vücutta metiyoninden sentez edilen homosistein de kaynağı itibariyle esansiyel aminoasitler arasında sayılmaktadır.

Metiyoninin demetilasyonu ile oluşmuş bir tiol olan Homosistein' in yapısı şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Homosisteinin Yapısı.

Homosistein metabolizmasında remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere başlıca iki yol vardır (99).

Her iki yol da aynı öneme sahip olup aynı oranda kullanılmaktadır. Diyetle alınan metiyonin, metiyonin adenzil transferaz enzimi ile demetile olarak metil verici olan S-Adenosilmetiyonin, SAM ise yapısında bulunan metili glisin gibi metil alıcılarına vererek çoklu transferaz enzimi ile

SAH'a dönüştürmektedir (şekil 2). S-Adenosilhomosistein hidrolaz enzimi tarafından homosistein ve adenosine ayrılmakta, meydana gelen homosistein ise hem metilasyona girerek metiyonine hem de serin ile birleşerek sistatyonine dönüşmektedir (55).

3.1.1. Transmetilasyon

Metiyonin metabolizmasının ilk aşamasını yüksek enerjili sülfonyumun aktivasyonu oluşturmaktadır. S-adenosilmetiyonin transferaz etkisiyle oluşan SAM guanidinoasetik asitten kreatinin sentezi, sarkosinden glisin metilasyonu, DNA ve RNA metilasyonu, norepinefrini de kapsayan nörotransmitterlerin sentezi gibi bir çok transmetilasyon reaksiyonu için metil vericidir. Transmetilasyon reaksiyonunun ürünleri SAH, SAH hidrolaz etkisiyle homosistein ve adenosine hidroliz olur. SAH hidrolaz reversible bir enzimdir. Homosistein ve adenosinin hızlı metabolizması SAH hidrolaz'ın *invivo* artışıyla dengelenmeye çalışılır. S-Adenosilhomosistein gibi önemli bir regülatör, transmetilasyonun kuvvetli bir inhibitörüdür (35,74,167). Bu yüzden homosisteinin SAH sentezinden sonra değişime uğraması gerekmektedir. Bu iki farklı yolla sağlanır ;

1- Remetilasyonla metiyonine dönüşmesi

2- Transsülfürasyon yoluyla sistein formuna dönüşümü (74).

3.1.2. Remetilasyon

Homosisteinin metiyonine geri dönüşümü iki enzimden biri aracılığıyla olur;

1- Kobalamine bağlı metiyonin sentaz veya

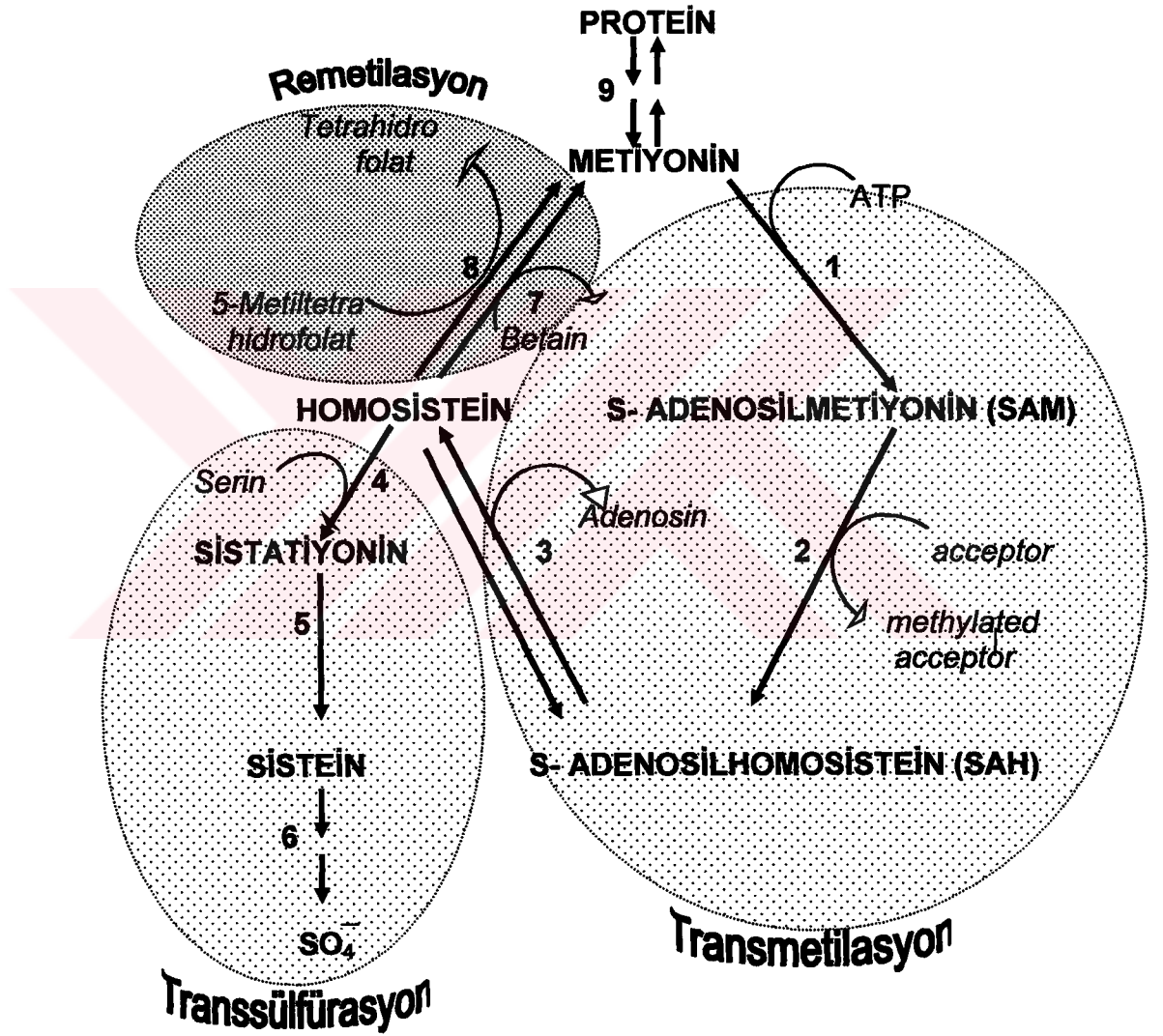
2- Betaine-homosistein metiltransferaz

Metiyonin sentaz, 5-metiltetrahidrofolattan homosisteine metil grubunun transferini katalize eder ve metiyoninin şekillenmesini sağlar. Bu metil transferi enzime bağlı kobalamin parçasıyla başlar. Betaine-homosistein metiltransferaz benzer bir reaksiyonu katalize eder. Bununla beraber folat birikiminden bağımsızdır. Bu işlem betaini faydalı biçime getirir. Metiyonin sentezi için bir metil verici olarak kolin metabolizmasının bir metaboliti kullanılır. Homosisteinin remetilasyonunda orijinal metiyonin bileşiğinin sülfür atomu ve karbon iskeletinin korunduğu gözlenir (74).

3.1.3. Transsülfürasyon

Metiyonin ve homosisteinin karbon ve sülfür gruplarının katabolizması transsülfürasyondaki oksidasyonlarla gerçekleşmektedir. Transsülfürasyon yolağının ilk basamağı, serin ve sistatyonin β -sentaz'ın etkisi ile homosisteinin sistatyonin formuna dönüşmesidir. Sistatyonin başka bir enzim olan γ -sistatyonaz'ın etkisi ile esaslı olmayan aminoasit, sistein, sülfat, α -ketobütürat ve NH_4^+ formuna metabolize edilmektedir. Sistein, serinin karbon iskeleti ve metiyonin veya homosisteinin orijinal sülfür parçalarını içeren formudur ve protein, glutatyon sentezi için kullanılır veya diğer katabolizma ürünlerine

dönüştürülür. Metiyonin veya homosisteinin karbon iskeleti α -ketobüturat formunda, purüvat hidrogenaz veya ketoasit dehidrogenaz kompleksinin zincirlerinden birisiyle intramitokondrial olarak oksitlenir ve süksinil Co A ile TCA siklusuna girer (74,120).



Şekil 2. Metiyonin ve Homosistein Metabolizması. 1- Metiyonin Adenozil Transferaz (Metiyonin ve ATP' den SAM sentezini katalizler). 2- Transmetilasyon Reaksiyonları. 3- S-Adenozilhomosistein Hidrolaz (SAH' ın dönüşümlü hidrolizi ile Adenozin ve Homosisteine dönüşümünü sağlar).

4- Sistatyonin β -sentaz (Homosistein ve Serin' den Sistatyonin oluşumunu sağlar). 5- γ -sistatyonaz (Sistatyoninden sistein oluşumunu sağlar). 6- Sisteinin sũlfata dũnũřũmũ. 7-Betaine-homosisteine metiltransferaz (Betain gerektiren bir reaksiyonla Homosistein' den Metiyonin sentezini sağlar). 8- Metiyonin sentaz (Folat ve B₁₂ vitamininin normal dũzeylerde olmasını gerektiren bir reaksiyonla Homosisteinden Metiyonin sentezini katalize eder). 9- Serbest metiyonin ve protein halindeki metiyonin arasındaki denge

3.2. Homosisteinin Dokulardaki Dağılımı

Transmetilasyon, remetilasyon ve transsũlfurasyon mekanizmalarının iğerdiği enzimlerin tũmũ sitoplazmik komponentlerde bulunur (α -ketobũtũratın oksidasyonunu kapsayan enzimler hariğ). Bu enzimlerin dokulardaki dağılım profili oldukęa geniştir (47,74). Ratlarda belirtilen enzimlerin bũtũn ȃnemli aktivitesi karaciğerdedir. Tũm vũcudun aminoasit ekonomisinde karaciğer rol oynar. Transmetilasyon ve transsũlfurasyon mekanizmasının etkili tũm enzimlerin aktiviteleri ȃzellikle bu dokuda zengindir. Karaciğerin haricinde pankreas ve bȃbreklerde bu enzim aktiviteleri gȃrũlebilir. Aksine metiyonin sentaz ve metilentetrahidrofolat redũktazın ȃzel aktiviteleri bũtũn dokularda olmasa da ęoęunda yũksektir. Homosisteinin remetilasyonundaki enzimlerin yapısı dokulardaki homosistein miktarının regulasyonu için ȃzel bir ihtiyaç gȃsterebilir. Diğer remetilasyon enzimi (betaine-homosistein metiltransferaz) o kadar etkin değildir. Ratlarda sadece karaciğerde bu enzimlere rastlanabilir (47,74). Bununla birlikte domuz ve insan gibi diğer tũrler bȃbreklerinde bu enzimlerin ȃlęũlebilir aktivitelerine sahiptirler (98).

3.3. Homosisteinin Regülasyonu

Homosistein metabolizmasının düzenlenmesi arametabolitlerin miktarı, diyet içeriği gibi bir çok faktörün etkisi ile gerçekleşmektedir. Örneğin remetilasyon ve transsülfürasyon yollarıyla homosistein değişiminin SAM ve SAH gibi etkili metabolitler tarafından düzenlendiği görülür. Metiyonin içeren bir öğünün tüketimini takiben hepatik SAM düzeyi artar, bu sistatyonin- β -sentaz aktivasyonu ile SAM fonksiyonunu artırır ve metilentetrahidrofolat reduktaz inhibe olarak homosisteinin remetilasyonu sınırlandırılır (47,74). Bu aşamalar fazla miktardaki metiyoninin sistein sentezine doğru değiştirilerek yeter miktardaki metiyonini sağlamaya yardımcı olur. SAH, sistatyonin- β -sentazın bir aktivatörü olduğundan transsülfürasyon yoluyla homosistenin değişimini sağlamak için SAM ile sinerjik olarak çalışır. SAH tarafından sistatyonin β -sentazın aktivasyonu transmetilasyonun inhibisyonu ve aşırı derecede SAH birikimini kontrol etmek için çalışır (46).

3.4. Plazma Homosisteini

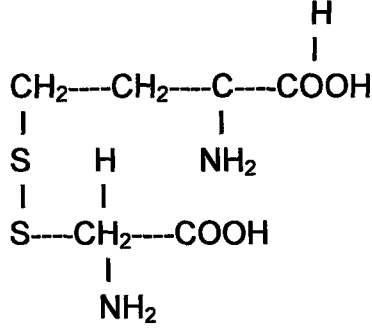
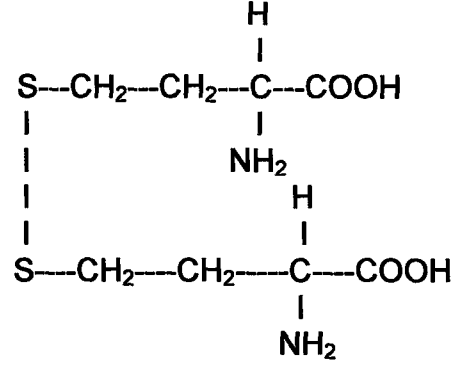
Plazma konsantrasyonunu etkileyecek olan dokulardaki homosistein metabolizmasıdır. Plazma homosisteini dokular tarafından homosisteinin alınması ve dokulardan homosisteinin uzaklaştırılması arasındaki denge ile yönetilir. Her iki kademedeki veya birindeki bozukluk homosisteinin plazma konsantrasyonunun değişmesine yol açmaktadır. Tablo 1 de; homosisteinin plazma konsantrasyonunu etkileyen bilinen önemli faktörlerin bazıları ana hatları ile belirtilmiştir. Plazma homosisteini üzerine

etkili olan önemli faktörler geniş bir şekilde sınıflandırılabilir; Farmakolojik, beslenme, hormonal dengesizlik, yaşam şekli ve genetik faktörler gibi (95,99). Bu faktörleri birkaç başlık altında toplamak mümkündür (Tablo 1).

3.5. Homosistein Formları

Homosistein-sistein karışımı olan disülfid: Bu form ilk kez 1978 yılında Wicken (160) tarafından açlıkta erkeklerin plazmasında asit ile deproteinize edilerek saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda erkeklerde kadınlara oranla homosistein düzeyinin yüksekliği ve bu formun varlığına ait bulgular kanıtlanmıştır (17,150). Jousilathi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (75), premenapozal kadınlarda açlık sonrası ve metiyonin yüklemesi yapıldıktan sonra ölçülen homosistein-sistein karışımının erkeklerin ve postmenapozal kadınların homosistein düzeylerine oranla daha düşük bulmuşlardır.

Total, proteine bağlı ve serbest homosistein: Proteine bağlı homosistein formu ilk kez Kang ve arkadaşları tarafından (79) saptanmıştır. Bu form yaklaşık olarak total homosisteinin %70'ini oluşturmaktadır. Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalarda serbest olmayan homosisteinin büyük çoğunlukla albumine bağlandığı belirlenmiştir. Taze hazırlanmış plazmanın asit ile deproteinizasyonu sonucu prespite olan kısım proteine bağlı olan homosisteini yansıtmakta, çözünür olan kısım ise serbest homosisteini oluşturmaktadır. Bu kısım homosistein-sistein disülfid, homosistin ve homosistein içermektedir. Proteine bağlı olan kısım ile çözünür olan kısmın bileşimi total homosisteini oluşturmaktadır.

**Homosistein sistein disülfid****Homosistin**

Şekil 3 Homosistein formları (49).

3.6. Homosistein Düzeyleri ve Ölçümü

Homosistein düzeyleri genel olarak total plazma homosisteini yada total serum homosisteini olarak ölçülmektedir. Bu ölçüm serbest ve proteine bağlı olan kısmı içermektedir. İnsanlarda normal total plazma homosistein düzeyi 5-15 $\mu\text{mol/L}$ arasındadır (60) bazı araştırmacılar 12-15 $\mu\text{mol/L}$ olan düzeyleri sınır olarak kabul etmektedir. Ancak homosisteinin normal düzeylerini belirlerken bazı parametrelerin göz önüne alınması gerekmektedir. Yapılan bir araştırmada plazma homosistein düzeylerinin yaşlanma ve cinsiyet (erkeklerde) ve postmenapozal kadınlarda artış gösterdiği saptanmıştır (75). Sağlıklı bireylerde homosistein artışından şüphe edildiğinde oral metiyonin yükleme testi yapılabilmektedir. Bu test oral metiyonin verilmesini müteakiben hücre içi homosistein üretimi ve kullanımı arasındaki dengenin araştırılmasını amaçlamaktadır. Kişiy

metiyonin 100 mg/kg dozunda verilmeden önce ve verildikten sonra 6. ve 8. saatlerde plazma homosistein ölçümü yapılmaktadır. Metiyonin yüklemesinden sonra ölçülen oran, açlık düzeyine göre 2 standart deviasyondan daha fazla ise test anlamlıdır (160). Bu durum homosistein metabolizmasındaki muhtemel bir defekti göstermektedir.

Homosistein ölçümü için kullanılan yöntemlerden bazıları, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (158), aminoasit kromatografisi (151), gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi (GCMS) (141), ELISA ve radyoenzimatik ölçümdür (125).

3.7. Hiperhomosisteinemi Nedenleri

İnsanlarda plazma homosistein düzeylerinin 15 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerinde olması "hiperhomosisteinemi" olarak kabul edilmektedir (60). Plazma homosistein düzeyleri hem genetik hem de besinsel olarak düzenlenmektedir. Hiperhomosisteineminin oluşumunda yer alan besinsel nedenler arasında homosisteinin metabolize edilebilmesinde kofaktör olarak görev yapan folik asit, vitamin B₆ ve vitamin B₁₂'nin kısmi yada tam eksikliği sayılabilmektedir. Genetik nedenler arasında ise homosisteinin metabolize olmasında görevli enzimlerin genetik olarak yetersizliği sonucu, plazma homosistein düzeylerinin yükselmesi bulunmaktadır. Bir çok araştırmacı hiperhomosisteinemiayı sınıflandırmışlar ve sınıflandırmada çeşitli faktörleri göz önüne almışlardır. Bunlardan biriside Fallest-Strobl ve arkadaşlarının yaptığı sınıflandırmadır (43). Bu sınıflandırma yapılırken edinsel, genetik, kronik hastalıklar ve ilaç kullanımına bağlı nedenler ana

başlıklar olarak kullanılmıştır. Bu sınıflandırmaya ek olarak hiperhomosisteineminin nedenleri arasında çeşitli fizyolojik nedenler de ilave edilmiştir. Ayrıca akut lenfoblastik lösemi, hipogonadizm, kronik atrofik gastrit, malabsorbsiyon sendromları, gastrointestinal sistem cerrahileri, patolojik gebelikler ile ilaçlardan niasin, siklosporin ve steroidler de nedenler arasında yer almaktadırlar (57).

3.7.1. Genetik Nedenler

Homosistinüri idrarla fazla miktarda homosistin çıkışı ile karakterize bir hastalıktır (19,20). Doğumsal metabolik bir bozukluk olan homosisteinürinin toplumda görülme sıklığı 1/200.000 olup. İrlanda ve İsveç gibi bazı ülkelerde daha sık bir oranda rastlanmaktadır. Homosisteinüri görülen kişilerde Sistationin β -sentaz ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) eksikliği vardır. Homozigot ve heterozigot formları tanımlanmış olup en yaygın ve en ağır görülen formu homozigot olan formudur. Homosistinüride enzim aktivitesi %0-2 arasındadır. Bu enzim geni 21. kromozomda bulunmaktadır. Çok farklı mutasyonları olup plazma homosistein düzeyleri, mutasyonların farklılığına göre değişim göstermektedir. Genel klinik bulgular arasında mental gerilik, prematüre vasküler hastalık, ektopia lentis, iskelet deformiteleri ve tromboembolizm sayılmaktadır (160).

Tanıda plazma ve idrar homosistein düzeylerinin yüksekliği önemlidir. Sistationin β -sentaz eksikliğinde plazmada yüksek metiyonin ve düşük yada normal sistationin düzeyleri bulunmaktadır (138).

Yapılan bir çalışmada (82) kongenital kalp defektli çocuklara sahip annelerde plazma homosistein düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiş ve oluşan bu defektlere hiperhomosisteineminin neden olabileceği düşünülmüştür.

3.7.2. Edinsel Nedenler

3.7.2.1. Vitamin Eksiklikleri

Hiperhomosisteineminin etiyolojisinde en sık rastlanan neden vitamin eksikliğidir. Bu nedenle hiperhomosisteinemi tanısı konulan şahıslara ilk uygulanan tedavi yönteminde vitamin takviyesini içermektedir (71).

3.7.2.2. Folik Asit Eksikliği

Folik asit birçok besinde özellikle ıspanak, marul, pırasa gibi yeşil yapraklı sebzelerde, meyvelerde ise en fazla limon, muz ve kavunda bulunmaktadır (72). Günlük ihtiyaç 50µg olup toplam vücuttaki miktarı ise 5mg kadardır. Folik asitin günlük alımı günlük ihtiyacın onda birine düşerse 4 ay içerisinde megaloblastik anemi gelişmektedir. Folik asit gereksinimi hemolitik anemilerde, alkolizmde, büyüme çağında, gebelikte ve laktasyonda artmaktadır (62).

Folik asit, homosistein metabolizmasında çok önemli bir yere sahiptir. Homosisteinin metiyonine dönüşümünde vitamin B₁₂ ile birlikte remetilasyon basamağında görev almaktadır. Eksikliğinde ise plazma homosistein düzeylerinin yükselmesi neticesinde periferik vasküler

bozukluklar ve son yıllarda önemle üzerinde durulan doğumsal nörolojik rahatsızlıklar meydana gelmektedir.

Morrison ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (105), 5056 kişiye 15 yıl süreyle klinik takip uygulamışlar ve folat eksikliği olanlarda koroner arter hastalığını folat seviyesi yüksek olanlara oranla 1,69 kat daha yüksek bulmuşlardır. Rimm ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (130), kadınlarda koroner kalp hastalığı risk faktörlerini kontrol altına alarak 14 yıllık bir izleme sonunda, yeterli miktarlarda folik asit ile B₆ vitamini kullananlarda, KKH ve buna bağlı olarak miyokard infarktüsü gelişiminde bu vitaminleri almayanlara oranla bir azalma tespit edilmiştir.

Bir çok çalışmada folik asit eksikliğinde homosistein düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (71,150). Plazma folik asit miktarı normal olmasına rağmen bazı durumlarda doku folik asit eksikliği de olabilmektedir.

3.7.2.3. Vitamin B₁₂ (Kobalamin) Eksikliği

B₁₂ vitaminin etkin 4 formu bulunmaktadır;

Siyanokobalaminler: Vücutta çok az bulunan formudur.

Hidroksikobalaminler: Vücutta en fazla bulunan formudur.

Adenozilkobalaminler: Kobalamin amid türevidir. Koenzim fonksiyonu görmektedir.

Metilkobalaminler: İnsan plazmasının en fazla bulunan formudur. Erişkinlerde günlük gereksinim miktarı 5 µg dır. B₁₂ vitamini özellikle homosisteinin metiyonine dönüşümündeki remetilasyon basamağında etkilidir. Metiltetra hidrofolat, homosistein metiltransferaz enzimi ve B₁₂

vitamini etkisi ile homosisteini metilleyerek metiyonine dönüştürmektedir. Diğer görevli olduğu basamak ise propiyonatin metabolizması sonucu oluşan metil malonil CoA' nın süksinil CoA' ya dönüşümüdür (89).

Vitamin B₁₂'nin taşınmasını sağlayan transkobalaminin yokluğu da eksikliğe yol açmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada B₁₂ vitamininin eksikliğinde homosistein düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (89,140).

3.7.3. Kronik Hastalıklar

Homosisteinin atılımı böbreklerden olmaktadır. Bu nedenle böbrekleri etkileyen hastalıklar homosistein düzeylerini yükseltmektedir. Özellikle akut ve kronik böbrek yetmezliklerinde plazma homosistein düzeyleri artış göstermektedir (26,68). Çeşitli malign hastalıklarda (lösemi, lenfoma, over, meme, pankreas kanserleri) hücrelerin yeterince olgunlaşmadan kana salınımları, homosisteinin metabolizmasında görev alan enzimlerin yeterince gelişmemesi, ayrıca transforme hücrelerin endojen homosisteini metabolize edememelerinden dolayı homosistein düzeyleri yükselmektedir (127). Psöriasisli vakalarda ve diyabetlilerde de plazma homosistein düzeyleri artmakta olup nefropati, retinopati ve koroner kalp hastalığı olan komplikasyonlu diyabetik hastalarda düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada (109), diyabetik hastalarda plazma homosistein düzeyleri glomeruler filtrasyon hızıyla ters orantılı, serum kreatin düzeyleri ve sigara içimi ile ise doğru orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Hipotroidili hastalarda da plazma homosistein düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda hipotroidik

kişilerde glomerular filtrasyon hızının düşüklüğü ve buna bağlı olarak homosisteinin yeterince atılamadığı, ayrıca homosisteinin metabolize olmasını sağlayan metiltetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) enziminin gereksinim duyduğu kofaktörü flavin adenin dinükleotid (FAD) bileşiğinin yapısal bozukluğu hiperhomosisteneminin nedeni olarak gösterilmektedir (103). Gastrointestinal cerrahilerde mideye yapılan girişimlerde pariyetal ve diğer mide bezleri hasara uğramakta, vitamin B₁₂' nin emilimini sağlayan intrinsik faktör (IF) salınımı bozulmakta ve böylece hiperhomosistenemi meydana gelmektedir. Ayrıca bağırsakların yapısını bozacak olan cerrehi girişimlerde homosistein metabolizmasında görevli olan vitaminlerin emiliminin gerçekleşmemesi sonucu olarak da serum homosistein düzeyleri yükselmektedir. Nöral tüp defekli fötüs taşıyan annelerde de homosistein düzeyleri yüksek bulunmuştur (88).

3.7.4. Fizyolojik Nedenler

Erkeklerde kadınlara oranla homosistein düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (93). Bu fark özellikle menapozdan önce daha anlamlı iken menapoz ve sonrasında aradaki fark kapanmaktadır. Postmenapozal dönemdeki kadınlarda homosistein düzeyleri ile östradiol düzeyleri arasında ters orantılı bir ilişki mevcuttur. Bu durumdaki kadınlara uygulanan hormon replasman tedavisi ile homosistein düzeyleri azaltılabilmektedir (116). Ayrıca yaşlanma da plazma homosistein düzeylerinin artışına yol açan fizyolojik nedenler arasında gösterilmiştir (49).

3.7.5. İlaçlar

İlaç hiperhomosistenemi gelişiminde oldukça önemli bir role sahiptir. Genel anestezide kullanılan nitroz oksit çok kuvvetli bir metiyonin sentaz inhibitörüdür (42). Antiepileptik ilaçlardan karbamazepin, valproik asit, fenotionin ve metotreksat gibi ilaçlar vitaminlerin emilimini engelleyerek folat metabolizmasını bozmakta ve plazma homosistein düzeylerini yükseltmektedirler (152). Kolesterol düşürücü ilaçlardan bazıları olan kolestipol ve niasinin de homosistein metabolizmasını etkilediği (54), yine atrovastatin ve fibrat türü kolesterol düşürücü ilaçları kullananlarda plazma homosistein düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir (51,57). Astım tedavisinde bronkodilatatör olarak kullanılan teofilin, pridoksal fosfat sentezini antagonize ederek hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır.

FAKTÖRLER	ETKİSİ	ETKİ ŞEKLİ
A) Farmakolojik Ajanlar		
1- Methotrexate	Artar	5-metiltetrahidrofolatı azaltarak
2- Theophylline	Artar	Pyridoxal kinazın inhibisyonu
3- Nitrous Oxide	Artar	Metiyonin sentaza bağlı kobalamin inaktivasyonu
4- 6-Azauridine Triacetate	Artar	Pyridoxal-5-phosphate Metabolizmasını bozar
5- Bile Acid Sequestrants	Artar	B vitamin emilimini azaltır
6- Cyclosporine	Artar	?
7- Penicillamine	Azalı	Plazma homosisteinin renal metabolizmasını artırır
8- Tamoxifen	Azalı	İlacın östrojenik aktivitesi ile ilgili olarak ?
9- Adenosine deaminase inhibitörleri	Azalı	S-Adenosilhomosistein hidroksilazın indirekt inhibisyonu
B) Diyet		
1- Folat yetersizliği	Artar	Metiyonin sentaz için co-substrat olarak
2- Kobalamin	Artar	Metiyonin sentaz için co-substrat olarak
3- B ₆ yetersizliği	Artar	Transsulfürasyon ve SHMT aktivitesi için
4- Folik asit ilavesi	Azalı?	Yüksek dozda verilmesi homosisteini azaltır
C) Hormonlar		
1- Östrojenler	Azalı	?
2- Androjenler	Artar?	?
3- Glukagon	Azalı	Transsulfürasyonu artırarak
D) Hastalıklar		
1- Diyabetler:		
a) İnsüline bağlı normal böbrek fonksiyonlu	Azalı	İnsülin ve diğer contur regülör hormonların düzenlemesi
b) İnsüline bağlı bozuk böbrek fonksiyonlu	Artar	Renal metabolizmanın etkisi ile
c) İnsüline bağımsız bozuk böbrek fonksiyonlu	Artar	Renal metabolizmanın etkisi ile
2- Renal Hastalıklar	Artar	Renal metabolizmanın etkisi ile
3- Tiroid Hastalıkları		
a) Hipotiroidizm	Artar	?
b) Hipertiroidizm	Azalı	?
4- HIV	Artar	Anoreksi B vitaminlerinden fakirleşme
E) Genetik Faktörler		
1- Cystathionine-β-synthase yetersizliği	Artar	Transsulfürasyonun inhibisyonu
2- Metiyonin sentaz yetersizliği	Artar	Remetilasyona gerekli olduğundan
3- MTHFR Yetersizliği	Artar	Remetilasyona gerekli olduğundan
4- Termolabile MTHFR değişikliği	Artar	Remetilasyona gerekli olduğundan
5- Down's Sendromu	Azalı	Cystathionine -β-synthase'nin dozaj artışı

Tablo 1. Hiperhomosistenemianın nedenleri (74).

3.8. Homosistein Koroner Arter ve Vasküler Hastalıklar

Homosisteinin koroner kalp hastalıkları (KKH) ve vasküler hastalıklar ile ilişkisi uzun yıllardan beri bilinmektedir. Bir çok araştırma, koroner kalp hastalığı için plazma homosistein yüksekliğinin bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (8,36). MTHFR enzim eksikliği olanlarda koroner kalp hastalığı riski en az iki kat artmıştır (101). MTHFR enziminin popülasyonda görülme sıklığı %5 iken, koroner kalp hastalığı olanlardaki oranı %17'dir (77). Ayrıca koroner kalp hastalığı olanlarda homosistein düzeylerine bakılmaksızın vitamin B₁₂ ve folat düzeyleri araştırılmış, sağlıklı olan gruba oranla KKH olan grupta bu vitaminlerin serum düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur (33,140). Clark ve arkadaşları (31), metiyonin yükleme testleri yapılan koroner kalp hastalarının %30'unda ağır hiperhomosistenemi saptamışlardır. Robinson ve arkadaşları (131), yaklaşık 750 hasta grubunu 800 kontrol grubu ile karşılaştırmışlar ve plazma homosisteininin düzeylerinin periferik, serebral ve koroner arter hastalıklarına sahip olanlarda yaklaşık %80 artmış olarak tespit etmişlerdir. Yapılan kapsamlı bir çalışmada (75), 5 yıl boyunca 15.000 hasta gözlemlenmiş ve bu hastalarda periyodik olarak homosistein düzeylerine bakılmıştır. Miyokard infarktüsü geçirme oranlarına bakıldığında serum homosistein düzeyleri 15 µmol/L den düşük olan hastaların sadece %5'inin, 15 µmol/L den yüksek homosistein düzeyine sahip olan hastaların ise %90'ının miyokard infarktüsü (MI) geçirdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek homosistein düzeylerinin serebrovasküler olayları ve venöz tromboz riskini artırdığını gösteren birçok çalışma vardır (36,67,72).

Tekrarlayıcı tromboembolik atakların %25'inde, ilk defa geçirenlerin ise %10'unda plazma homosistein düzeylerinde yükseklik saptanmıştır (76).

3.9. Hiperhomosisteinemi ve Mekanizması

Homosisteinüri nedeni ölümle sonuçlanan yapılan incelemelerde (96), arteriyel ve venöz tıkaçlar, odakal venöz patolojiler, koroner, serebral ve karotit arterlerde aterosklerotik değişiklikler saptanmıştır. Daha sonra araştırmacılar bu değişikliklerin sadece homosisteinüride olduğu gibi genetik nedeni hastalıklarda değil, hiperhomosisteinemi olan diğer hastalıklarda da meydana geldiğini gözlemlemişlerdir.

Hiperhomosisteinemi patogeneziine yönelik bir çok çalışma yapılmış ve bu araştırmalar sonucunda genelde homosisteine bağlı aterojenik olaylar iki alanda toplanmıştır. Bunlar damar endotelindeki fonksiyonel anomaliler ile endotel hasarı ile başlayıp bunu takip eden trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonu ve trombüs formasyonu sonucu endotel üzerine daha toksik etki göstermesidir (19).

Homosisteinin bu etkisini, taşıdığı sülfür gruplarının otooksidasyona uğraması, hidrojen peroksiti katalizlemesi ve endotelde fonksiyonel bozulmaya neden olması ile gösterdiği belirlenmiştir (143). Homosistein düzeylerinin artmasının bir sonucu da, endotelde bulunan ve lipit peroksidasyonunu engelleyen glutasyon peroksidaz aktivitesinin baskılanmasıdır (154). Araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada (148), homosisteinin timidin alınımında ve siklik-mRNA düzeylerinde artışa yol açtığını bunun sonucunda damar düz kas hücrelerinde proliferasyona

neden olduğunu ve sonuç olarak endotel hasarı yaptığını saptamışlardır. Ayrıca homosistein düzeylerinin artması, tromboksan B₂ sentezini ve tromboksan A₂ aktivitesini artırmakta bu da damarın endotel yapısında spazm ve iskemi oluşturmaktadır (38). Homosistein ayrıca LDL kolesterolün oksidasyonuna neden olarak LDL'nin plazmadan temizlenmesini sağlayan reseptörlere bağlanmasını engellemekte, okside LDL'nin serum düzeyini artırmakta ve endotelde köpük hücrelerine dönüşümlerini sağlayarak ateroskleroza zemin hazırlamaktadır. Homosisteinin yukarıda belirtilen tüm etkileri sonucunda damar endoteli hasara uğramakta, yapısı bozulmakta, trombotik eğilim artmakta ve lipidler okside olmaktadır. Bu mekanizmalar sonucunda plazma kolayca koagüle olmakta, bu da koroner kalp hastalığı başta olmak üzere periferik arter hastalıklarına neden olmaktadır. Stampfer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (143), homosisteinin vasküler endoteli koruyucu özelliği olan nitrik oksit (NO) salınımını azalttığını, hatta salınan nitrik oksitle homosisteinin S-nitrozo-homosisteine dönüştüğünü ve bu bileşiğin antitrombosit ve endotele toksik etki gösterdiğini saptamışlardır. Koagülasyon sisteminde normalde trombomodülin protein C'yi aktif hale getirmekte, aktif protein C ise Faktör V ve Faktör VIII'ı inaktive ederek trombin oluşumunu önlemektedir. Ancak homosistein, trombomodülin bağımlı protein C aktivasyonunu engelleyerek trombotik etki yapmaktadır (143).

3.10. Hiperhomosisteineminin Tedavisi

Hiperhomosistenemi tedavisinde ilk basamak, homosisteinin temel kaynağı olan metiyoninin kısıtlanmasıdır. Metiyoninin temel kaynağı ise hayvansal besinler özellikle kırmızı ettir. Bu nedenle homosistein düzeylerini düşürmede, kişisel beslenmenin düzenlenmesi büyük bir önem taşımaktadır (33).

Tedavide ikinci ve en önemli basamak ise homosisteinin metabolize olmasını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan vitamin B₁₂, vitamin B₆ ve folik asit alınımıdır (69). Bir çok çalışmada folik asit, vitamin B₁₂ ve vitamin B₆'nın yüksek homosistein düzeyleri ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (8,69,88,89,150). Yapılan bir çok çalışmanın ortak analizinde günlük 0,5-5,7 mg folat verilmesi homosistein düzeyini yaklaşık altı hafta sonunda %25 oranında azaltmaktadır. Ayrıca vitamin B₁₂ verilmesi ile %7 daha azalmaktadır (33,89). Sağlıklı bireylerde de folat uygulamasıyla homosistein düzeyinin azatlığını bildirmiştir (117). Sistatyonin-β-sentaz aktivitesinin yokluğu ile karakterize homosisteinüride vitamin B₆ verilmesinin yüksek olan homosistein düzeyini azalttığı gösterilmiştir (138). Rimm ve arkadaşları (130) 14 yıl boyunca bireylerin beslenme alışkanlıklarını incelemişler, folat ve vitamin B₆ alan bireyleri aldıkları dozlara göre sınıflamışlar, günde 0,4 mg dan daha fazla folat, 3 mg dan daha fazla vitamin B₆ alan grupta homosistein düzeylerini ve koroner arter hastalığını en az, düşük dozda vitamin alan grupta ise en fazla bulmuşlardır.

Tek başına B₆ vitamini verilmesi plazma homosistein düzeyinde anlamlı düşüşler meydana getirmemektedir. Folat alınıminının günlük 100 µgr artırılması ile homosistein düzeyinde bir ayda yaklaşık olarak %6'lık bir düşüş olacağı ve buna bağlı koroner kalp hastalığı riskinin %5 azalacağı saptanmıştır (49,94).

Son yıllarda tedavi yaklaşımı, kombine olarak vitamin verilmesi yönündedir. Günlük olarak 400 µgr folat, 5 mEq'dan daha az demir, 1-2 µgr vitamin B₁₂, 10-40 mg B₆ vitamini içeren multivitamin kompleksi ve ek olarak 800 µgr folat verilmesi şeklindedir. Tedaviye 8-10 hafta devam edilerek homosistein düzeyleri önemli ölçüde düşürülmektedir (25).

3.11. Koroner Kalp Hastalıkları

Kalbin kendini besleyen koroner arterlerin, beslediği bölgelere herhangi bir nedenle yeterli kan taşıyamamaları sonucu miyokartta oluşan iskemi ve nekrozun derecesine göre gelişen hastalıklar ve bu hastalıkların komplikasyonlarının tümü koroner kalp hastalıkları olarak incelenmektedir. Koroner kalp hastalıkları (KKH) tüm ölümlerin %35-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedenini oluşturmaktadır. KKH'larının görülme sıklığı ve buna bağlı ölüm oranı yaşa, cinse ve diğer risk faktörlerine, toplumlara, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine ve coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir (117).

Koroner arterlerin daralmasına yol açan en önemli etiyolojik faktör aterosklerozdur. Ateroskleroz eskiden bilindiği gibi yaşlanma ile oluşan kaçınılmaz bir süreç değil bazı risk faktörlerinin etkisiyle gelişen kronik

inflatuvar bir süreçtir. Uzun süre devam eden bu süreçte aterom plağı giderek büyümekte, zamanla plağın yırtılması ve üzerine trombüs binmesi sonucu koroner damarların tıkanmasıyla akut koroner olaylar meydana gelmektedir (132).

3.11.1. Aterosklerotik Lezyonların Gelişimi

İnsanlarda ateroskleroz, koroner, karotit, basiler ve vertebral arterler gibi orta büyüklükteki arterlerin yanı sıra aort ve alt ekstremiteleri besleyen iliak ve femoral arterlerde de oluşmaktadır. Birçok aterosklerotik lezyon tanımlanmasına karşın makroskobik olarak ilk görülmeye başlayan aterosklerotik lezyon yağlı çizgilerin oluşumudur (132). Klasik intimal çizgiler; hafifçe kabarmış, dar ve boydan boya uzanmış sarı alanlar şeklindedir. Mikroskobik olarak ise yağlı çizgiler, subendotelial köpük hücresi agregatlarından oluşmaktadır. Köpük hücreleri; stoplazması çoğunlukla lipid damlalarıyla genellikle de kolesterol ve kolesterol esterleri ile dolu olan hücrelerdir (107). Yapılan çalışmalar yağlı çizgilerdeki köpük hücrelerinin önemli bir kısmını makrofajların, geri kalan kısmını ise düz kas deriveleri ile T lenfositlerin oluşturduğunu göstermektedir (6,108).

Aterosklerozdaki asıl lezyon ateromatöz veya fibrotik plakların oluşumudur. Lezyon arterde daralmaya neden olmakta, arteri tromboz ve kalsifikasyona meyilli hale getirmekte, kaslarda zayıflığa ve anevrizmal dilatasyona yol açmaktadır. Ateromatöz plaklar yuvarlak, çapı 1 cm'yi bulabilen lezyonlardır. Histolojik olarak değişiklik göstermekle birlikte tipik bir hücresel plak; birkaç lökosit taşıyan düz kas hücreleri ile elastin,

kollojen fibriller, proteoglikanlar ve temel membranları içeren nispeten yoğun bağ dokusundan oluşan “fibröz bir kapsül”, kapsülün altında makrofaj, düz kas hücreleri ve T lenfositlerin karışımını içeren “hücresele bir alan” ve daha derinde hücresele kalıntılar, ekstrasellüler lipid damlaları, kolesterol kristalleri ve kalsiyum depoları içeren “nekrotik çekirdekten” oluşmaktadır. Bu nekrotik çekirdek sayısız makrofaj ve düz kas tipi büyük köpük hücresi içermektedir. Zaman zaman özellikle lezyonların periferinden adventia yönüne doğru neovaskülarizasyonun göstergesi olan proliferen küçük kan damarları görülmektedir. Plak içerisindeki fibröz doku ve lipid içeriği oluşum bölgesine göre değişiklik gösterip, koroner arter lezyonları çoğunlukla fibröz yapı sergilemektedir (107).

Endotel hücreleri tüm damar yatağını kaplayan hücrelerdir. Endotel normalde kontraksiyona, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonuna ve de koagülasyonuna engel olup, aynı zamanda inflamatuvar hücrelerin adhezyonu ve migrasyonuna engel olmaktadır. Aterosklerotik lezyon gelişimine meyilli bölgelerde endotel hücreleri bu özelliklerini kaybedip prokoagülan, proinflamatuvar, antifibrotik hale dönüşmekte ve okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oluşumu ile düz kas hücre proliferasyonunu artırmaktadır (107).

3.11.2. Ateroskleroz Risk Faktörleri

Koroner kalp hastalıkları multifaktöriyel bir hastalık olup geçmişte koroner kalp hastalıkları ile ilgili bir çok risk faktörü tanımlanmıştır. Geleneksel risk faktörleri; yaş, cinsiyet, ailesel faktör, hipertansiyon,

obesite, yüksek LDL, düşük HDL, diyabet ve sigaradır. Son yıllarda trigliserit, lipoprotein A, LDL ve HDL'nin alt fraksiyonları, modifiye LDL, apoE feno/genotipi, fibrinojen ve homosistein gibi yeni risk faktörlerinin tanımlanmasında dikkate değer ilerlemeler olmuştur. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma yüksek serum kolesterol, trigliserit ve LDL düzeyleri ve düşük HDL düzeyleri ile kardiovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (52,81,163).

Birçok biyolojik sürecin önemli bir bileşeni olan kolesterol ve trigliserit hidrofobik karakterleri nedeniyle kan dolaşımında lipoprotein partikülleri olarak sirküle olmaktadır. Lipoproteinler; şilomikron, çok küçük dansiteli lipoprotein (VLDL)' den oluşan trigliseritçe zengin lipoproteinler ile düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)' den oluşan kolesterolce zengin lipoproteinler olarak iki grupta değerlendirilebilirler (63).

Klinik çalışmalar yüksek LDL düzeylerini güçlü koroner kalp hastalığı için risk faktörü olarak gösterirken, LDL kolesterolünün (LDL-C) düşürülmesi aterosklerotik plakları stabilize edebileceğini ve aterosklerotik ilerlemenin engellenebileceğini ortaya koymuştur (86,133).

HDL'nin birincil görevi kolesterolü periferden mobilize edip kan dolaşımından uzaklaştırarak karaciğere getirmektir. Bu nedenle HDL konsantrasyonları ile koroner kalp hastalığı riski arasında ters ilişki bulunmaktadır. HDL aynı zamanda LDL'yi de oksidasyondan korumaktadır. HDL kolesterolünde %1'lik bir artış KKH riskine %2-4'lük bir azalmaya neden olmaktadır. Düşük HDL düzeyleri, diğer aterojenik

lipoproteinlerin ve risk faktörlerinin delilini oluştururken 60 mg/dL HDL konsantrasyonunu koruyucu olarak düşünölmektedir (163).

3.12. Serbest Radikaller, Lipid Peroksidasyon ve Antioksidant Enzimler

Serbest radikaller, bir çok hastalık sürecinde önemli rol oynarlar. Miyokardiyal enfarktüs, diyabet, kanser, katarakt, romatoid artrit, infertilite, solunum, sinir ve üriner sistemi hastalıkları ile stres ve yaşlanma sürecinde antioksidan enzim (SOD,GSH-Px, CAT) düzeylerinde önemli değişiklikler ve lipid peroksidasyonunda artış, bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (1,2,4,15,61).

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip moleküllerdir. Başka bir tanıma göre bir serbest radikal, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bir bileşiktir (50,92).

Bunlar, tek elektron alışverişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşenler (non-radikaller) olmak üzere iki grupta toplanırlar (1,2).

1. Radikaller

-Süperoksit radikali ($\cdot O_2$)

-Hidroksil radikali ($\cdot OH$)

-Alkoksil radikali ($LO\cdot$)

-Peroksil radikali ($LOO\cdot$)

2. Non-radikaller

- Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
- Lipit Hidroperoksit (LOOH)
- Hipoklorus (HOCl)

Normal şartlarda iç ve dış kaynaklı bir çok stres faktörü hücresel dengeyi (homeostazisi) sürekli değiştirmektedir. Bu stresörlere karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği serbest radikal zincir reaksiyonlarını inhibe eden ve antioksidanlar denilen bazı bileşikler rol oynamaktadır. Bu bileşikler radikallerle hızla reaksiyona girerek oksidasyonun ilerlemesini önlerler. İşlemler, antioksidan toplayıcı enzimlerin ve antioksidan diğer faktörlerin harekete geçirilmesi ile spesifik savunma komponentlerinin fonksiyonel entegrasyonunu içermektedir. Bu komponentler, hücresel karışıklıkları azaltıp, stresörlerin etkilerini yok ederek hücrenin en uygun koşullarda kalması için uğraşırlar. (11,146)

Homeostazisi sağlanamayan hücrede üretimi artan oksidan radikaller özellikle membran lipitlerinde hasar oluştururlar (27). Oksijen molekülünün lipitlere karşı yüksek affinitesi vardır. Oksijen molekülü, hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipitlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada zarlarda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijenin bağlanması lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan kimyasal reaksiyona neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonunun, hücre zarı bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi üç farklı yolla hücre hasarına neden olduğu

düşünülmektedir (2,50,136,156). Lipit peroksidasyonunun artması serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir göstergesidir (2,92).

Lipit peroksidasyonunun meydana geldiği koşullara ve lipit kaynağına bağlı olarak önemli sayıda, kimyasal açıdan farklı oksidan ürünler oluşmaktadır. Bu ürünlerin bazıları, lokal olarak fırça kenar membranlarının hasarına ya da absorpsiyonunu takiben karaciğer hasarına yol açabilecek toksik özelliklere sahiptirler (1,11,118).

Oksijenin toksik etkilerine karşı organizmayı koruyabilecek yapıdaki enzimler ve nonenzimatik yapılardan oluşan savunma sistemleri bu antioksidan etkilerini; antioksidan toplama (scavenging), baskılama (quencer), onarma (repairing) ve zincir kırma (chain breaking) reaksiyonları ile gösterirler (61).

Antioksidanlar, belirli düzeyi aşmış oksidantlara direkt olarak etki edip onları inaktif hale getiren moleküllerdir. Bu moleküller serbest radikalleri yok ederek hücrenin zarar görmesini engeller ve dokuları serbest radikallerin etkilerinden korurlar (70).

Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi, hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Savunma sistemlerini çeşitli serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır. Aslında antioksidan sistem primer ve sekonder savunma olmak üzere iki aşamalı olarak tanımlanmaktadır. Primer savunma; antioksidanlar SOD, GSH-Px, CAT enzimleri ile glutasyon, ürik asit ve vitaminler (E,C,A) ile gerçekleştirilir. Bu aşamada, süperoksidin hidrojen perokside dönüşmesi engellenerek serbest radikallerin oluşması önlenmeye çalışılır. Sekonder

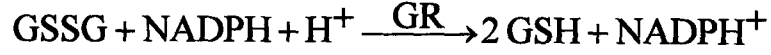
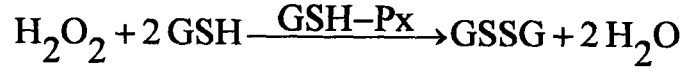
savunmanın, lipolitik ve proteolitik enzimlerin salınımı ile gerçekleştirildiği (11,27) ve glukoz, ürik asit, sistein, seruloplazmin, transferrin, myoglobilin, hemoglobin, ferritin, albumin ve bilirubin, organizmada nonenzimatik savunmada rol aldığı bildirilmiştir (70,118).

SOD enzimi, $O_2^{\cdot-}$ 'in (süperoksit radikalinin), H_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Fizyolojik olarak, metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksidin hücre içi konsantrasyonunu düşük tutarak, hücreler $O_2^{\cdot-}$ düzeylerini kontrol edip hücreleri $O_2^{\cdot-}$ radikalinin zararlı etkilerinden korumada görev alır (1,2,11).



Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon, SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur. Cu-Zn ve Mn içeren iki tip SOD'tan Cu-Zn içereni sitoplazmada diğeri ise mitokondride bulunur (1).

Yapısında Se bulunan GSH-Px enzimi, redükte glutasyonu (GSH) kullanarak H_2O_2 'i (hidrojen peroksit) katalizleyen bir enzimdir. Reaksiyona giren redükte glutasyon (GSH), disülfid bağları ile bağlanıp okside glutasyon (GSSH) formuna geçer. GSH-Px fonksiyonunun sürekliliği, GSH'a gereksinim duyduğu için, GSSG, NADPH'a bağlı GSH-redüktaz (GR) tarafından sürekli olarak indirgenir (82,105,139). GSH-Px'in diğeri bir fonksiyonu da, membranların korunmasında Se ve E vitamini ile koordine çalışmasıdır (2). Bu reaksiyon şu şekilde olur:



Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim teşekkül etmiş olan peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin sentezini engellemektedir (1,9).

Glutasyon peroksidaz enzimi yalnız lipit peroksidasyonunun başlamasını önleyici etki yapmamakta, aynı zamanda lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerinin oksidasyonunu da sağlayarak, oksidatif hücre hasarına karşı hücre membran bütünlüğünü korumaktadır (37,113,121).

Katalaz, dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanmak ve peroksizomlarda lokalize olmaktır (1,2).



Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit ile metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerine ise etki etmezler (2).

3.13. E Vitamini

Vitaminler organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için gerekli olan ve büyük bir kısmı organizmada sentezlenemeyen, bu nedenle de besinlerle alınması gereken maddelerdir. Bunlar arasında E vitamini önemli bir yere sahiptir. E vitamini vücutta yağ dokusunda depolanmakta, ayrıca kas, karaciğer, kalp, testis ve uterus gibi organlarda da bulunmaktadır (30,45,53).

E vitamini tokoferol yapısında olup doğal olarak alfa, beta, gama, delta gibi çeşitli tokoferoller bulunmaktadır. α - tokoferol en geniş doğal dağılıma ve en büyük biyolojik aktiviteye sahiptir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol de α - tokoferol'dür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek E vitamini konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur (45,153,161).

E vitamini' nin bilinen en önemli özelliklerinden biri, antioksidant olması nedeni ile doymamış yağ asitlerinin otoksidasyonunu önlemesidir. E vitamini, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyarak ilk savunma hattını oluşturur. Doymamış yağ asitleri, çift bağlara sahip oldukları için oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek mitokondri, mikrozoim ve intrasellüler membranların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve

hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerinin reaktivitelerini azaltır. Böylece peroksit oluşumu önlenmiş olur (2,45).

E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipit peroksit radikallerini (LOO.) parçalamak ve böylece lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktır (53,161).



Sonuçta oluşan tokoferoksil radikali nispeten stabildir ve lipit peroksidasyonu kendiliğinden başlamak için yeterince reaktif değildir. Bu oksidasyon ürünü, glukoronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipit yapılarında, örneğin eritrosit mebranlarında ve solunum mebranlarında yoğunlaşma eğilimindedir (1,2,41).

Eritrositlerdeki tokoferolün tümü membranda lokalize olmuştur. Bu lokalizasyonu hücrelerin hemolize karşı korunmasında önemli bir fonksiyon üstlenmekte ve E vitamini yetersizliği durumunda eritrositlerin hemolizi artmaktadır. Buna karşılık *in vivo* ve *in vitro* E vitamini ilavesi eritrositlerin hemolizini azaltmaktadır (3,153).

α -tokoferolün, biyolojik membranların yapısal komponentlerinin şekillenmesi ile olan ilişkisinden dolayı, membran fosfolipitlerinin yapısı üzerinde önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (45,155).

E vitaminin diğ er fonksiyonları ise ş unlardır. E vitamini trombosit agregasyonunun bir inhibitörü olarak rol oynar. Yani trombosit agregasyonunda gerekli olan prostaglandinlerin sentezlenmesi için ihtiyaç olan araş idonik asidin peroksidasyonunu inhibe eder. Trombosit agregasyonu prostaglandin E tarafından inhibe edilir (15,30,45,53).

3.14. Homosistein, Melatonin, E Vitamini, Östrojen, Serbest Radikaller ve Antioksidan Enzimler

Melatonin sentezinin son basamağı, N-asetilserotoninin metilasyonudur ve bu mekanizma homosistein-metiyonin gibi sülfür içeren aminoasitlerin metabolizması sırasında oluş an metil verici S-adenosil metiyonini gerektirir. Homosisteinin de metiyonine remetilasyonu için folat gerekmektedir. Melatonin sekresyonunun folat yetersizliğinden etkilendiğı ileri sürülmüştür (7).

Plazma total homosistein düzeyi açısından, premenapozal kadınlar ile postmenapozal kadınlar karşılaştırıldığında, menapoz sonrasında bu düzeyin arttığı tespit edilmiştir (16,22,80,106). Premenapozal kadınlarda düşük görülen total homosisten düzeyleri, metiyoninin transsülfürasyon veya remetilasyon yollarıyla etkili bir şekilde iş lenmesiyle izah edilebilir (16,106,131). Plazma östrojenlerinin yüksek düzeyleri düşük plazma homosisteini için önemlidir. Wouters ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (106,162), total plazma homosisteininin premenapozal kadınlarda serum 17 β -östradiol ile kuvvetli ve negatif bir ilişkinin olduğunu bunun postmenapozal kadınlarda bulunmadığını göstermişlerdir. Plazma

total homosistein miktarı gebelik esnasında azalır ve bu östrojen düzeyinin artmasıyla karakterize bir durumdur. Yüksek total homosistein düzeyleri postmenapozal kadınlarda, menapozdan sonra görülen kardio vasküler olayların artışında önemli rol oynar. Progesteronun tek veya östrojenle kombine kullanılması şeklinde yapılan hormon tedavileri, sağlıklı pre ve postmenapozal kadınlarda plazma homosistein düzeylerinin ve hastalık riskinin azalmasına yardım etmektedir (106).

Melatonin pineal bezden salgılanan bir nörohormondur. Sekresyonu gece en yüksek olmak üzere ritmik bir özellik gösterir. Son zamanlarda melatoninin oksidan stresi azaltıcı etkileri olduğu görülmüştür (13). Serbest radikallerin anormal üretimi protein, lipid ve nükleik asitleri etkileyerek bazı makromoleküllerin zararlı olmalarına yol açar (13) ve bir çok hastalığın temelinde bu yatar (13). Normal şartlar altında serbest radikallerin oluşturacağı zararlı etkiler hücrel koruma sistemi ile kontrol edilir. Bu koruyucu sistemler vitamin E, Vitamin C ve glutathione etkinliği, enzimatik veya nonenzimatik mekanizmalar olabilir (13).

Son yıllarda yapılan birçok çalışma melatoninin güçlü bir antioksidan olduğunu göstermiştir (12,13). Melatonin serbest radikallerin ve reaktif türlerinin direkt temizleyicisidir (13). Diğer yandan melatonin GSH-Px, GSSG-Rd, SOD ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin uyarıcısıdır (13).

Pineal bezden sentezlenen melatonin, hidroksil radikali (OH) serbest oksijen, peroksinitrit anyonu (ONOO⁻) ve peroxil radikali (LOO⁻) gibi oksijen ve nitrojen temelli reaktif türlerinin kuvvetli bir süpürücüsüdür (122,145).

İlaveten melatonin antioksidan etkisini glutation peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin stimülasyonu yoluyla da gösterir (85,112,119). Melatonin bu özelliklerinden dolayı oksijen radikallerinin oluşturacağı bozuklukların önlenmesinde koruyucu bir etki gösterir (112,128,129).

Melatonin, homosisteinin vasokonstriktif etkisine karşı organizmayı korur ve bu etkisini büyük bir olasılıkla homosisteinin otooksidasyonundan artan Hidroksil (OH⁻) radikalini etkisizleştirerek gösterir (111).

Ratlarla yapılan bir çalışmada (14) bazı minerallerin ve melatoninin plazma lipit, lipit peroksidasyon ve homosistein düzeyleri üzerine etkileri araştırılmış ve plazma malondialdehit (MDA) düzeylerinde melatonin, lipoik asit ve E vitamini uygulanan gruplarda önemli düşüşler tespit edilmiştir. Melatonin uygulamalarının, plazma homosistein düzeyinde önemli düşüşlere neden olduğu belirlenmiştir.

Bir başka çalışmada (91), melatoninin lipit peroksidasyonu engellediği gösterilmiştir.

Endotelial hücre yüzeyine ekstrasellüler SOD' un bağlanması üzerine homosisteinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, homosisteinin SOD etkinliğini azalttığı görülmüştür. Homosistein, SOD' un arteriyel endotelial hücre yüzeyine bağlanmasını sağlayan endotelial heparan sulfat proteoglikanı bozarak bu bağlanmayı engellemektedir. Yüksek miktarda homosistein fibroblastarca ortama verilen SOD ekspresyonunu azaltır. Böylece homosistein endotel hücrelerinin özellikle süperoksit radikali

olmak üzere serbest radikallere karşı savunma yeteneğini azaltmış olur (165).

Homosisteinin peroksinitritlere karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (56), homosisteinin hem GSH-Px'ın aktivitesini inhibe ettiği hem de bu enzimin m-RNA' sını dramatik olarak azalttığı buna karşın melatoninin hem fizyolojik dozda hem de farmakolojik dozda GSH-Px'ın aktivitesini artırdığı belirtilmiştir.

Total plazma homosistein düzeylerinin *in vivo* lipit peroksidasyona olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (159), total plazma homosistein düzeyinin yükselmesinin *in vivo* lipit peroksidasyonun artışıyla beraber olduğu ortaya koyulmuştur.

Pinealektomize edilen ratların dokularında lipit peroksidasyon düzeyleri glutasyon peroksidaz aktivitesi ve okside glutasyon gibi antioksidan enzimlerin günlük değişimleri incelenmiş ve hem ekzojen hem de endojen melatoninin antioksidan enzim aktivitesini artırdığı saptanmıştır. Bu enzimlerin bir kısmının melatoninin sirkadiyan ritmi ile paralellik gösterdiği ve pinealektomize ile bu ritmin etkilendiği belirtilmiştir (13).

Östrojen, metiyonin metabolizmasında homosistein miktarı üzerine azaltıcı yöndeki etkisiyle önemlidir (40). Östrojen tedavisi gören gebe, premenapozal ve postmenapozal kadınlarda homosistein düzeyi, östrojen tedavisi görmeyen post menapozal kadınlar ve aynı yaştaki erkeklerden daha düşük bulunmuştur (40,58,100). Yüksek östrojen düzeyi diğer etkenlerden (beslenme alışkanlığı, kas aktivitesi) bağımsız olarak total

serum homosistein konsantrasyonunun düşüşü ile birlikte. Bu da erkek ve dişi bireyler arasındaki total homosistein konsantrasyon farklılığını açıklamaktadır (40,104).

Deneysel artritli ratların serum homosistein düzeylerinin yükselişi ile vasküler endotelyal bozukluklara E vitamini uygulamasının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (23), E vitamini uygulamasının serum homosistein düzeylerinde önemli düzeyde düşümlere sebep olduğu belirtilmiştir.

Deneysel olarak hiperhomosisteinemi oluşturulmuş domuzlarda, doku lipit peroksidasyonunun kontrol grubu domuzlarına oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (166).

Rasyonlarında fazla miktarda metiyonin bulunan tavşanlarda yapılan bir çalışmada (147), atheroskleroz riskinin ve lipit peroksidasyonun artmış olduğu, ayrıca antioksidan enzimlerin etkinliğinde düzensizlikler bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu literatür bildirimleri dikkate alınarak yaptığımız çalışmada, ratlara uzun süreli homosistein uygulamalarından sonra antioksidan enzim düzeylerinde ve kalp damarlarının morfolojik yapılarındaki değişimler incelenmiş olup, E vitamini ve melatonin gibi antioksidan maddelerin bu değişimler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. GEREÇ

Çalışma Kasım 2002-Ocak 2003 tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırmada F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden temin edilen ağırlıkları 350-400 gr arasında değişen 6-7 aylık 80 adet Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar çalışmaya başlamadan bir ay önce alınarak ortama adaptasyonları sağlandı. Ratlar her grupta 20 adet (10 dişi, 10 erkek) olacak şekilde dört gruba ayrıldı.

4.1.1. Yem Materyali

Rat yemi olarak Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi kullanıldı. Ratlara yem ve su ad libitum verildi.

Tablo 2. Ratlara verilen yemin bileşimi (1000 kg).

Yem Maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	10
Mısır	22
Arpa	15
Kepek	8
Soya Küspesi	26
Balık Unu	8
Et-Kemik Unu	5
Melas	5
Tuz	5
Mineral Karması*	1,25
Vitamin Karması*	1,25

*Mineral Karması (2.500 gr): Zink Basitrasin (100.000 mg), Mangan (80.000 mg), Demir (80.000 mg), Çinko (60.000 mg), Bakır (8000 mg), İyot (500 mg), Kobalt (200 mg), Selenyum (150 mg), kalsiyum (8000 mg) ve Antioksidan (10.000 mg).

*Vitamin Karması (2.500 gr): Vitamin A (12.000.000 IU), D₃ (2.400.000 IU), E (30.000 mg), K₃ (2.500 mg), B₁ (3.000 mg), B₂ (7.000 mg), B₆ (4.000 mg), B₁₂ (15 mg), ile Nikotin Amid (40.000 mg), Folik asit (1000 mg), Biotin (45 mg) ve Kolin Klorid (125.000 mg).

Araştırma F.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütüldü. Araştırmada her birine beş adet rat konulabilen özel kafesler kullanıldı. Kafeslerin özel bir bölümüne uçlarında damlalık bulunan ve ratların sürekli taze su alabilmelerini sağlayan şişeler yerleştirildi. Kafesler düzenli olarak temizlendi.

4.2. YÖNTEM

Uygulanan Genel Metod, araştırma dört grup ve her grupta 10 dişi, 10 erkek olmak üzere yürütülmüş ve tüm gruplara yem ve su ad libitum verilmiştir.

1. Grup (Kontrol Grubu n=20): Altı haftalık deney süresince, her gün diğer uygulama gruplarında oluşacak olan enjeksiyon stresini bu grupta karşılamak için intraperitoneal yolla serum fizyolojik enjekte edildi.

2. Grup (Homosistein Grubu n=20): DL-Homosistein (Sigma H-4628) serum fizyolojik içinde çözündürüldü ve 0,71 mg/kg dozunda intraperitoneal yolla her gün altı haftalık deney süresince uygulandı.

3. Grup (Homosistein-Melatonin Grubu n=20): Melatonin (Merck 8.14537.0001) alkolde çözüldürülerek, ratlara 2.grup' ta olduğu gibi her gün homosistein ile birlikte 1 mg/kg dozunda subkutan yolla melatonin uygulandı.

4. Grup (Homosistein-Vitamin E Grubu n=20): E vitamini (Rovimix E-50, % 50dl- α -tocopheryl acetate) serum fizyolojik içinde çözüldürülerek bu gruba da her gün 2. grupta belirtildiği gibi homosistein ile birlikte 125 mg/kg dozunda intaraperitoneal yolla uygulandı.

Gruplardaki bütün ratlar, altı haftalık uygulamalardan sonra eterle uyutularak abdominal boşlukları açıldı. Daha önceden ETDA ile yıkanmış enjektörlerle a. femoralis'in bifurkasyon bölgesinden girilerek yaklaşık 10-12 ml kan alındı.

4.2.1. Plazmanın Hazırlanması

ETDA'lı Kanlar 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan plazma kısmı polipropilen tüplere alınarak yapılacak analizler için -20 °C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

4.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck (Almanya), Sigma (A.B.D.), Acros (Belçika) ve Carlo Erba (İtalya) firmalarında temin edilmiştir. dl- α tokoferil asetat Roche müstahsarları San A.Ş. den (İstanbul) temin edilmiştir. dl- α tokoferil asetat aseptik şartlarda

(ultraviyole ışını altında steril şişelenerek) serum fizyolojik içinde çözdürülerek hazırlanmıştır.

4.2.3. Doku ve Plazmada Lipit Peroksidasyon Tayini

Plazma ve dokuda Lipit peroksit tayini (Malondialdehit) Placer ve ark. (123)'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntemine göre belirlendi.

Prensip: pH'nın 3,4 olduğu aerobik bir ortamda TBA ile plazmanın 100 °C'de inkubasyonu, lipit peroksidasyonun sekonder bir ürünü olan Malondialdehiti (MDA) oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipit peroksidasyon saptanır. Belirlenen absorban değeri MDA standart eğrisinden yada yine standart eğriden hesaplanan 0,0092 sabit rakamına bölünerek plazma MDA değeri nmol/ml olarak hesaplanır.

Standart eğri çizimi için 1,1,3,3 Tetraethoxypropane'den 10µl/10 ml absolut etanolde çözdürülerek +4 °C' de koyu bir şişede saklanarak bu stok solüsyondan farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizilir.

4.2.4. Doku ve Plazma Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini

Plazma ve dokuda GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve arkadaşlarının (87), belirttiği şekilde belirlendi.

Prensip: Plazma ve dokulardaki GSH-Px, GSH Cumenehidroperoksit (CHPO₄) ile oksidasyona uğratılır. Renk ajanı olarak 5,5-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB) solusyonu ile karıştırılması sonucu hem kör ve

hem de örneklerde meydana gelen sarı renk kompleksinin spektrofotometrede 412 nm'de okunması sonucu belirlenir.

4.2.5. Doku ve Plazmada Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyinin Tayini

Doku ve plazmada GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (134)'ın belirttiği şekilde yapılmıştır.

Prensip: Plazmadaki bütün non-protein sülfidril grupları, GSH şeklinde bulunur. Renk ajanı olarak 5,5-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB)'nin sülfidril gruplarıyla reaksiyonu sonucu sarı renkli kompleks meydana gelir. Oluşan renk değişiminin köre karşı 412 nm'de spektrofotometrik ölçümüyle belirlenir.

4.2.6. Plazma Katalaz Aktivitesinin Tayini

Plazma katalaz enzimi tayini Goth'un (59) tarif ettiği şekilde yapıldı.

Prensip: Plazma hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren substrat ile inkübe edilir. H_2O_2 katalaz aktivitesi ile H_2O ve O_2 'e parçalanır. Ortama ilave edilen amonyum molibdat H_2O_2 ile birleşerek reaksiyon sonlandırılır. Bu süre içerisinde meydana gelen renk değişimi 405 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak belirlenir.

4.2.7. Plazma Homosistein Düzeyinin Tayini

Plazma homosistein düzeyleri ELISA (Enzyme linked-immunosorbent assay) yöntemiyle ölçülmüştür.

Prensip: L-homosistein, enzimatik olarak S-adenozil-L-homosisteine dönüşümü sonucu oluşan anti-SAH antikorlarının ölçümüne dayanmaktadır. Ölçümler ELX₈₀₀ (USA) cihazında yapılmış olup sonuçlar µmol/L olarak verilmiştir. Çalışmada Axis (biochemicals ASA, Normay) marka ticari kitleri kullanılmıştır.

4.2.8. Plazma Süperoksid Dismutaz (SOD) Enzim Düzeyinin Tayini

Plazma SOD enzim düzeyinin tayini Flohe ve arkadaşlarının (48) tarif ettiği şekilde yapılmıştır.

Prensip: Ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyonla ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali INT ile muamele edildiğinde ise kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturur. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesiyle ölçülür.

4.2.9. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması

Kalp damarlarındaki morfolojik değişiklikleri belirlemek için kalbin koroner damarlarını içeren kısımlarından örnek parçalar alınarak 3 gün süre ile %10'luk formol solüsyonunda [Ticari formol (%37) 10 ml, distile su 90 ml] tespit edildi. Tespit işleminden sonra dokularda formol kalıntılarını gidermek için kesitler 12 saat süre ile çeşme suyunda yıkamaya tabi tutuldu. Yıkama işleminden sonra kesitler birkaç saat süreyle sırasıyla % 70, 80, 90, 96'lık ve absolut alkollerden geçirildi. Daha sonra bu kesitler 1-2 saat süreyle ksilolde bırakılarak parlatıldı. Şeffaflaşan dokular 37°C etüvdeki %50 ksilol, %50 parafinden oluşan karışımın içerisinde 12 saat

bekletilerek emdirilmesi sağlandı. Ksilol-parafin karışımından alınan kesitler 63°C'a ayarlı etüvdeki sıvı parafinde 1-2 saat bekletildikten sonra yüzeyi saydam kartondan yapılmış dikdörtgen şeklindeki küçük kutular içerisinde bloklandı. Dokular parafinle bloklandıktan sonra mikrotom ile 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapılarak sıcak su içine atıldı. Bir lamla dik olarak kesitler sudan alındı ve kurutma tablası üzerine konularak dokuların lama iyice yapışmaları sağlandı. Kuruyan preparatlar boyamadan önce doku kenarındaki ince parafinin eriyebilmesi için yaklaşık 1 saat süreyle 37°C'daki etüve bırakıldı. Daha sonra bu kesitler Hematoksilen-Eosin boyama yöntemi ile boyanarak preparatlar mikroskop altında 10x40'lık büyütmede histolojik yönden incelendi (10,31). Mikroskop sahasında gözlenen damar kesitleri fotoğraflarla tespit edildi (H.E. X200).

4.2.10. İstatistik Analizler

Araştırma sonucunda elde edilen veriler $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ olarak gösterilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 paket programıyla yapıldı. Plazma homosistein, SOD, MDA, GSH, GSH-Px, Katalaz, Doku MDA, GSH, GSH-Px düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında varyans analizi (parametrik test varsayımları yerine gelmediğinden dolayı Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanıldı) yapıldı ve ardından önemli çıkan parametreler için Duncan testinden yararlanıldı ($P < 0,05$). Her grup içerisindeki erkek ve dişilere ait Plazma Homosistein, SOD, MDA, GSH, GSH-Px, Katalaz, Doku MDA, GSH, GSH-Px değerleri için karşılaştırmalarda ise Mann-Whitey-U testi kullanılmıştır (144).

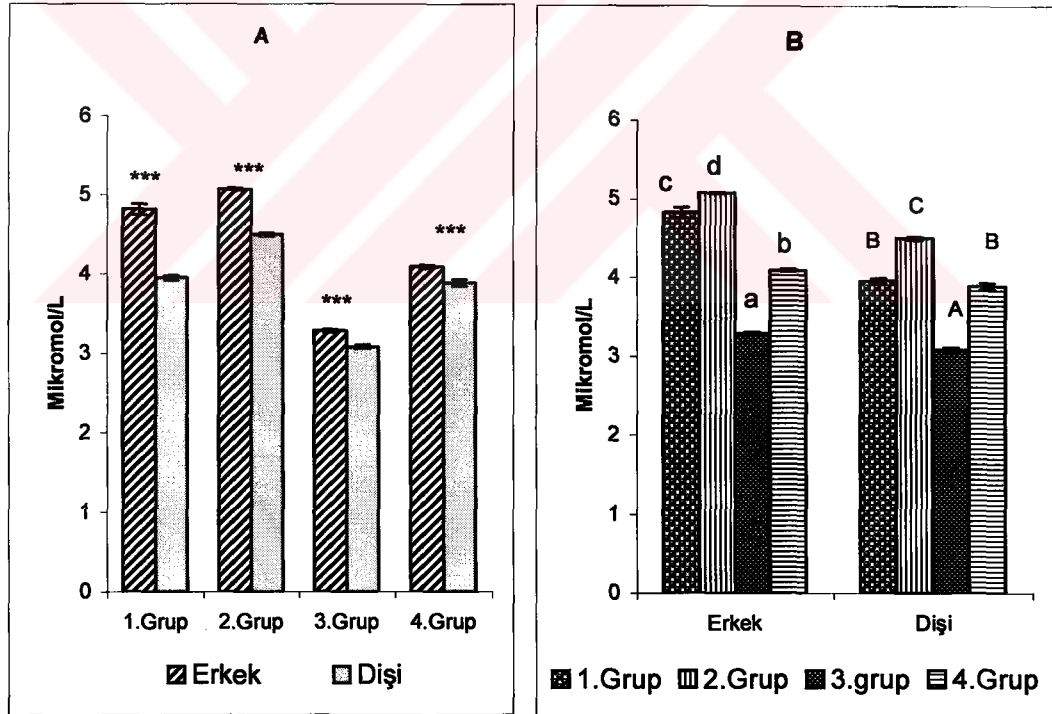
5. BULGULAR

5.1. Plazma Homosistein Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 4'te verilmiştir.

Şekil 4-A da belirtildiği üzere; bütün gruplardaki erkek ve dişi ratların plazma homosistein düzeyleri arasında erkek ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0,001$).

Şekil 4 . Plazma Homosistein düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 4 A ; erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, *** : ($P < 0,001$)

Şekil 4 B ; erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri, a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak biri birinden farklı bulunmuştur. $P < 0,05$)

Şekil 4-B de belirtildiği üzere; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma homosistein düzeyleri 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma homosistein düzeyinden yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma homosistein düzeyleri 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma homosistein düzeylerinden düşük bulunmuştur ($P<0,001$). 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma homosistein düzeyleri Grup1 ve 2. grup erkek ratların plazma homosistein düzeylerinden düşük ($P<0,05$), 3. grup erkek ratların plazma homosistein düzeylerinden yüksek bulunmuştur ($P<0,001$).

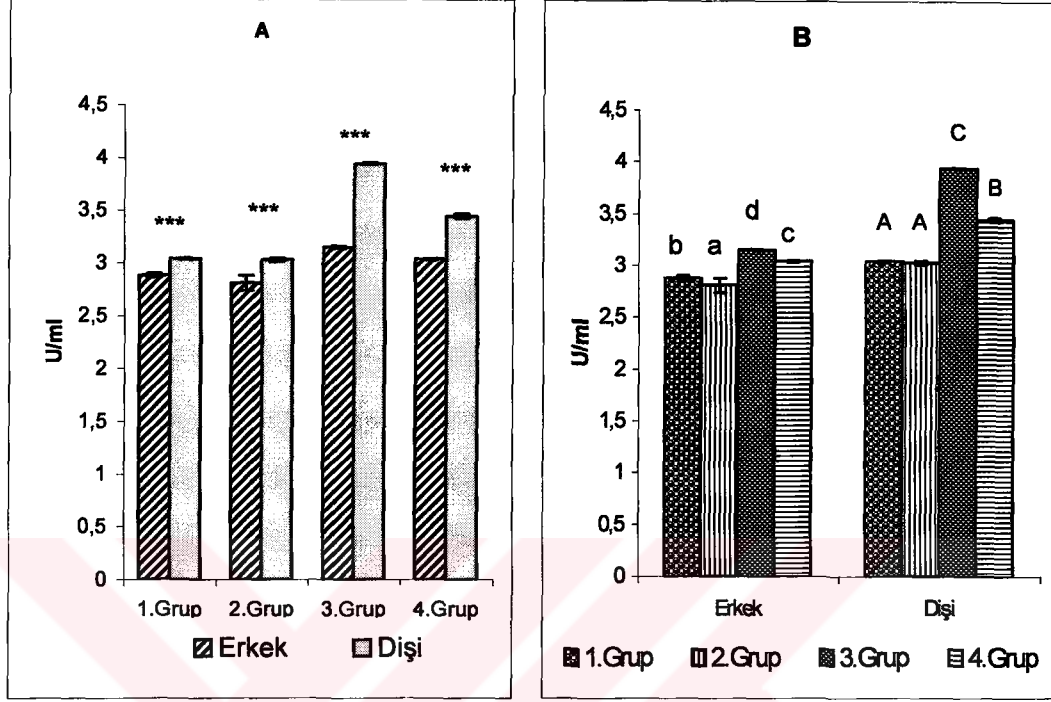
Şekil 4-B de belirtildiği üzere; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların plazma homosistein düzeyleri 1. grup dişi ratların plazma homosistein düzeylerinden yüksek bulunmuştur ($P<0,001$). 3. grup dişi ratların plazma homosistein düzeyleri 1. grup ve 2. grup dişi ratların homosistein düzeylerinden düşük bulunmuştur ($P<0,001$). 4. grup dişi ratların plazma homosistein düzeyleri 2. grup dişi ratlarınkinden düşük ($P<0,01$), 3. grup dişi ratlarınkinden yüksek bulunmuştur ($P<0,001$).

5.2. Plazma Süperoksit Dismutaz (SOD) Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 5'da verilmiştir.

Şekil 5-A incelendiğinde; bütün gruptaki erkek ve dişi ratların plazma SOD düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 5 . Plazma SOD düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 5 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, *** : (P<0,001)
 Şekil 5 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri, a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak biri birinden farklı bulunmuştur. P<0.05)

Şekil 5-B incelendiğinde; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma SOD düzeyleri 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma SOD değerlerinden düşük (P<0,01) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma SOD değerleri 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma SOD değerlerinden yüksek (P<0,05) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma SOD düzeyleri 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma SOD değerlerinden yüksek (P<0,05), 3. grup erkek ratların plazma SOD değerlerinden düşük (P<0,05) bulunmuştur.

Şekil 5-B incelendiğinde; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 3. grup dişi ratların plazma SOD değerleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma SOD değerlerinden yüksek ($P<0,001$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların plazma SOD değerleri 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma SOD değerlerinden yüksek ($P<0,05$), 3. grup dişi ratların plazma SOD değerlerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur.

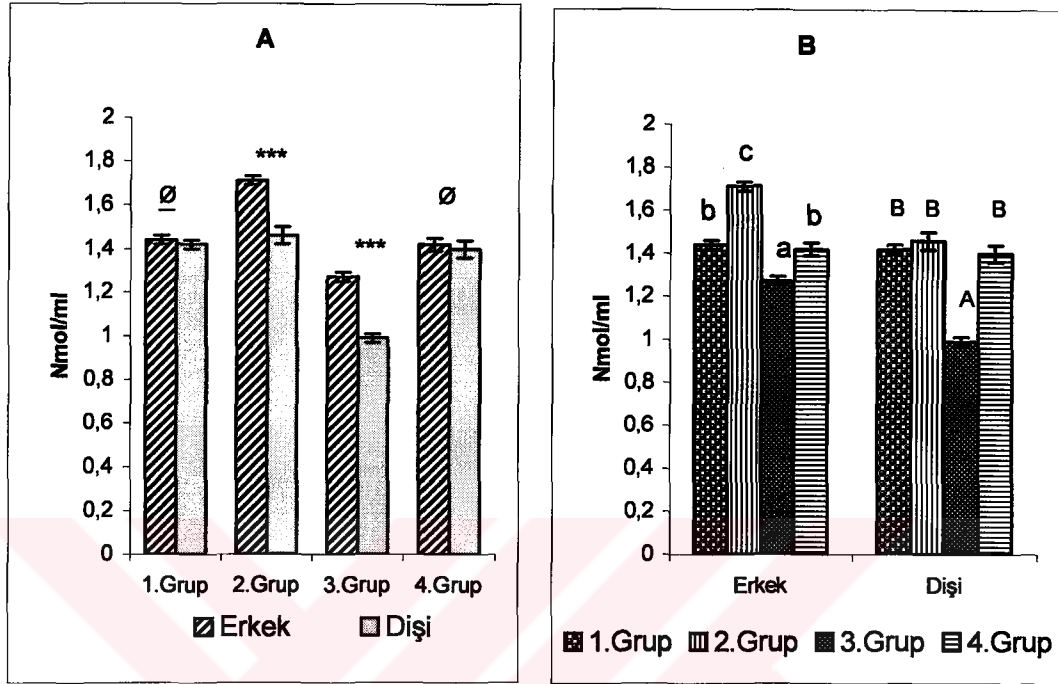
5.3. Plazma Malondialdehit (MDA) Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 6'de verilmiştir.

Şekil 6-A da belirtildiği üzere; bütün gruptaki erkek ve dişi ratların plazma MDA düzeyleri arasında erkek ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 6-B de belirtildiği üzere; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma MDA düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,001$) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma MDA düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma MDA düzeyleri, 2. grup erkek ratların plazma MDA düzeylerinden düşük ($P<0,01$), 3. grup erkek ratların plazma MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur.

Şekil 6 . Plazma MDA düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 6 A erkek ve dişi ratların grupleri istatistiksel değerleri, Ø : Önemli değil ($P>0,05$), *** : ($P<0,001$)

Şekil 6 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur $P<0,05$)

Şekil 6-B de belirtildiği üzere; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 3. grup dişi ratların plazma MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma MDA düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların plazma MDA düzeyleri, 3. grup dişi ratların plazma MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,001$) bulunmuştur.

5.4. Plazma Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri:

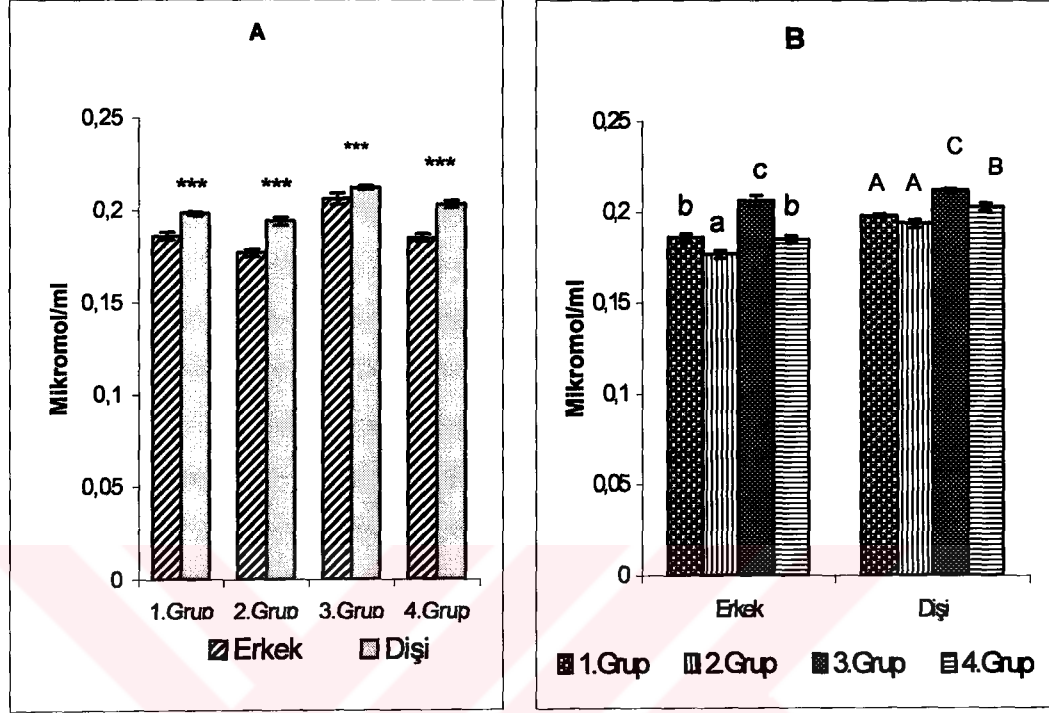
Tablo 3 ve Şekil 7'de verilmiştir.

Şekil 7-A incelenecek olursa; bütün gruptaki erkek ve dişi ratların plazma GSH düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 7-B de belirtildiği üzere; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma GSH düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma GSH düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma GSH düzeyleri, 2. grup ve 1. grup erkek ratların plazma GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma GSH düzeyleri, 2. grup erkek ratların plazma GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$), 3. grup erkek ratların plazma GSH düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur.

Şekil 7-B de belirtildiği üzere; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 3. grup dişi ratların plazma GSH düzeyleri, 1. grup ve 2. grup Dişi ratların plazma GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların plazma GSH düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$), 3. grup dişi ratların plazma GSH düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur.

Şekil 7. Plazma GSH düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



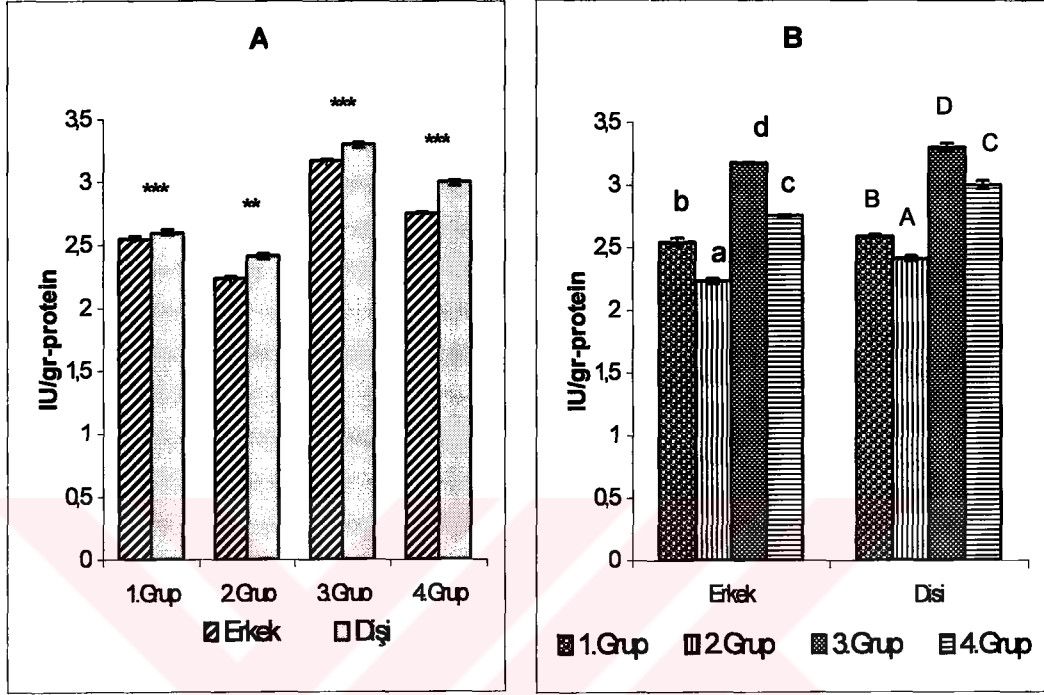
Şekil 7 A erkek ve dişi ratların grupçi istatistiksel değerleri, *** : (P<0,001)
 Şekil 7 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur P<0.05)

5.5. Plazma Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 8'da verilmiştir.

Şekil 8-A bakılacak olursa; bütün gruplardaki erkek ve dişi ratların plazma GSH-Px düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (P<0,001).

Şekil 8. Plazma GSH-Px düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 8 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, ** : (P<0,01), *** : (P<0,001)
 Şekil 8 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C,D (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur P<0.05)

Şekil 8-B de; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma GSH-Px düzeylerinden düşük (P<0,001) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma GSH-Px düzeylerinden yüksek (P<0,001) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma GSH-Px düzeylerinden yüksek (P<0,001), 3. grup erkek ratların plazma GSH-Px düzeylerinden düşük (P<0,01) bulunmuştur.

Şekil 8-B de; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. 3. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeylerinden yüksek ($P<0,001$), 3. grup dişi ratların plazma GSH-Px düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur.

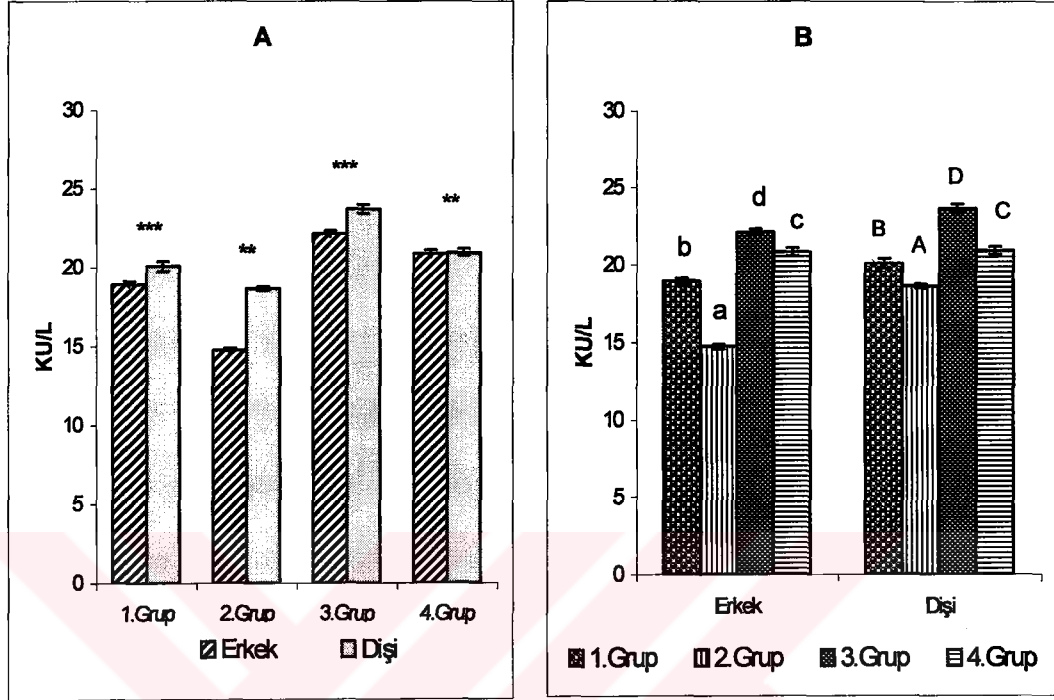
5.6. Plazma Katalaz Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 9'da verilmiştir.

Şekil 9-A da; bütün gruplardaki erkek ve dişi ratların plazma Katalaz düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 9-B de; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların plazma Katalaz düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma Katalaz düzeylerinden yüksek ($P<0,001$) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların plazma Katalaz düzeylerinden yüksek ($P<0,01$), 3. grup erkek ratların plazma Katalaz düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur.

Şekil 9 . Plazma Katalaz düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 9 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, ** : (P<0,01), *** : (P<0,001)
 Şekil 9 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C,D (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur P<0.05)

Şekil 9-B de; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeylerinden düşük (P<0,01) bulunmuştur. 3. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeylerinden yüksek (P<0,001) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeylerinden yüksek (P<0,01), 3. grup dişi ratların plazma Katalaz düzeylerinde düşük (P<0,01) bulunmuştur.

5.7. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyleri:

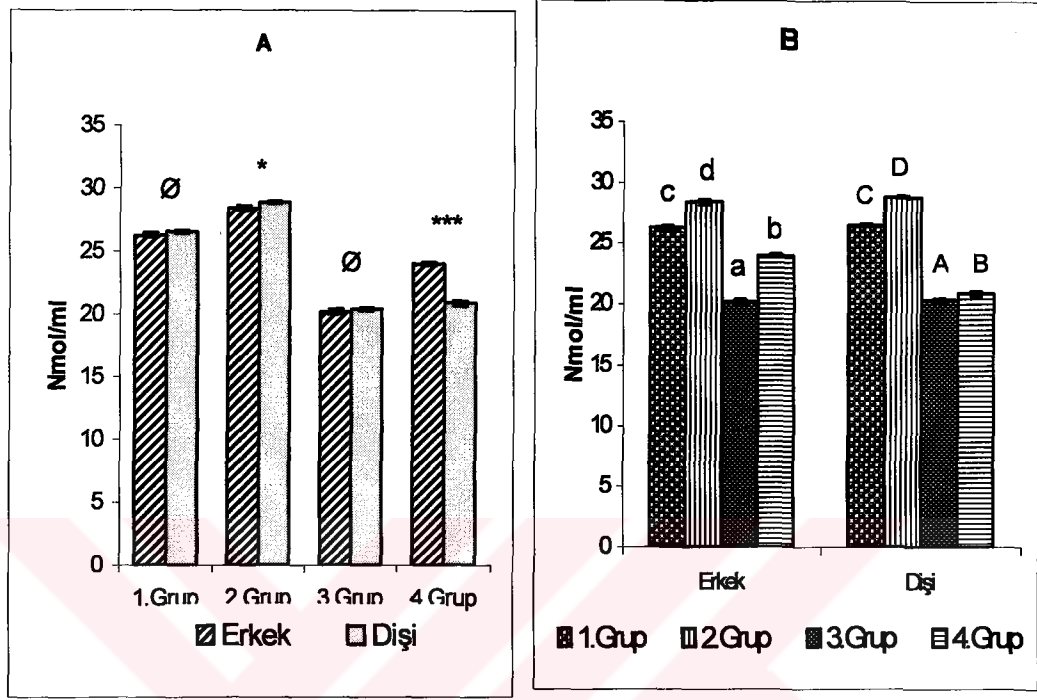
Tablo 3 ve Şekil 10'de verilmiştir.

Şekil 10-A incelenecek olursa; bütün gruplardaki erkek ve dişi ratların doku MDA düzeyleri arasında erkek ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 10-B de; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların doku MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku MDA düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku MDA düzeylerinden düşük ($P<0,01$), 3. grup erkek ratların doku MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur.

Şekil 10-B de; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup dişi ratların doku MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 3. grup dişi ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların doku MDA düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların doku MDA düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların doku MDA düzeylerinden düşük ($P<0,001$), 3. grup dişi ratların doku MDA düzeylerinden yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur.

Şekil 10 . Doku MDA düzeyleri ($\bar{X} \pm S_x$).



Şekil 10 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, \emptyset : Önemli değil ($P > 0,05$), * : ($P < 0,05$), *** : ($P < 0,001$)

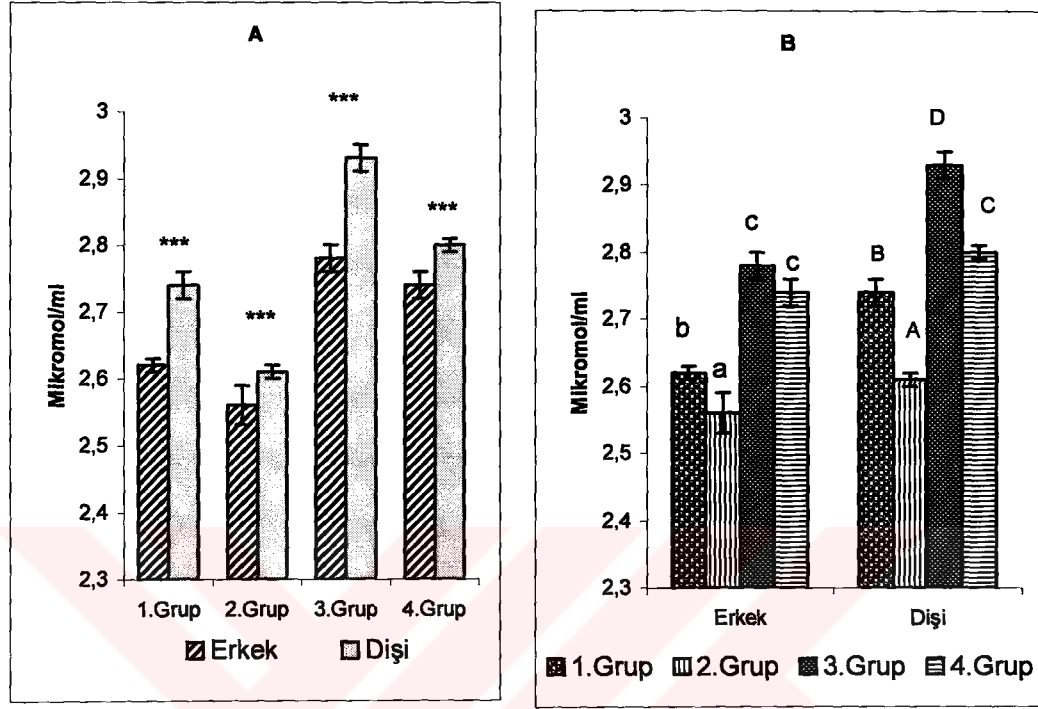
Şekil 10 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C,D (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur $P < 0,05$)

5.8. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 11'de verilmiştir.

Şekil 11-A da belirtildiği üzere; bütün gruptaki erkek ve dişi ratların doku GSH düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0,001$).

Şekil 11 . Doku GSH düzeyleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).



Şekil 11 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, *** : (P<0,001)
 Şekil 11 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C,D (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur P<0.05)

Şekil 11-B de belirtildiği üzere; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların doku GSH düzeylerinden düşük (P<0,05) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku GSH düzeylerinden yüksek (P<0,01) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku GSH düzeylerinden yüksek (P<0,01) bulunmuştur.

Şekil 11-B de belirtildiği üzere; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup dişi ratların doku GSH düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur. 3. grup dişi ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup, 2. grup ve 4. grup dişi ratların doku GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların doku GSH düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların doku GSH düzeylerinden yüksek ($P<0,01$), 3. grup dişi ratların doku GSH düzeylerinden düşük ($P<0,01$) bulunmuştur.

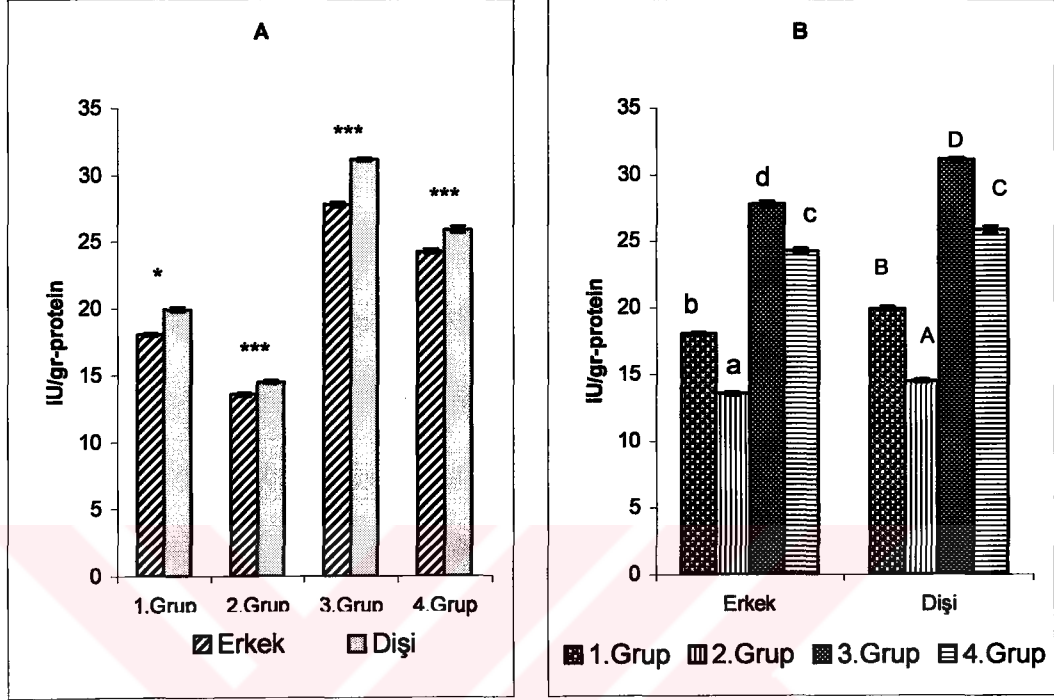
5.9. Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyleri:

Tablo 3 ve Şekil 12'te verilmiştir.

Şekil 12-A da; bütün gruptaki erkek ve dişi ratların doku GSH-Px düzeyleri arasında dişi ratlarda daha fazla olmak üzere anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,001$).

Şekil 12-B de; gruplar arası erkek ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup (homosistein) erkek ratların doku GSH-Px düzeyleri, 1. grup (kontrol) erkek ratların doku GSH-Px düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. 3. grup (homosistein-melatonin) erkek ratların doku GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku GSH-Px düzeylerinden yüksek ($P<0,001$) bulunmuştur. 4. grup (homosistein-E vitamini) erkek ratların doku GSH-Px düzeyleri 1. grup ve 2. grup erkek ratların doku GSH-Px düzeylerinden yüksek ($P<0,001$), 3. grup erkek ratların doku GSH-Px düzeylerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur.

Şekil 12 . Doku GSH-Px düzeyleri ($\bar{X} \pm S_x$).



Şekil 12 A erkek ve dişi ratların grup içi istatistiksel değerleri, ** : (P<0,01), *** : (P<0,001)
 Şekil 12 B erkek ratların gruplar arası istatistiksel değerleri a,b,c,d, dişi ratların gruplar arası istatistiksel değerleri A,B,C,D (Sütunlar üzerinde değişik harfler bulunan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur P<0.05).

Şekil 12-B de; gruplar arası dişi ratların kendi arasında karşılaştırılmasıyla; 2. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeyleri, 1. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeylerinden düşük (P<0,01) bulunmuştur. 3. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeylerinden yüksek (P<0,001) bulunmuştur. 4. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeyleri, 1. grup ve 2. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeylerinden yüksek (P<0,001), 3. grup dişi ratların doku GSH-Px düzeylerinden düşük (P<0,01) bulunmuştur.

Tablo 3. Plazma ve Dokulardaki Homosistein, MDA ve Antioksidan Enzim Düzeyleri.

Gruplar (n=20)	Plazma Homosistein Düzeyi (µmol/L)	Plazma SOD Düzeyi (U/ml)	Plazma MDA Düzeyi (Nimol/ml)	Plazma GSH Düzeyi (µmol/ml)	Plazma GSH-Px Düzeyi (IU/grprotein)	Plazma Katalaz Düzeyi (KU/L)	Doku MDA Düzeyi (Nimol/ml)	Doku GSH Düzeyi (µmol/ml)	Doku GSH-Px Düzeyi (IU/grprotein)
1. Grup									
Erkek	4.82 ± 0.07 ^c	2.88 ± 0.02 ^b	1.44 ± 0.02 ^b	0.186 ± 0.002 ^b	2.54 ± 0.03 ^b	18.94 ± 0.19 ^b	26.24 ± 0.20 ^c	2.62 ± 0.01 ^b	18.01 ± 0.09 ^b
Dişi	3.95 ± 0.03 ^B	3.04 ± 0.01 ^A	1.42 ± 0.02 ^B	0.198 ± 0.001 ^A	2.59 ± 0.01 ^B	20.08 ± 0.32 ^B	26.51 ± 0.10 ^C	2.74 ± 0.02 ^B	19.91 ± 0.17 ^B
P	***	***	-	***	***	***	-	***	**
2. Grup									
Erkek	5.07 ± 0.01 ^d	2.81 ± 0.07 ^a	1.71 ± 0.02 ^c	0.177 ± 0.002 ^a	2.23 ± 0.02 ^a	14.73 ± 0.14 ^a	28.38 ± 0.18 ^d	2.56 ± 0.03 ^a	13.57 ± 0.12 ^a
Dişi	4.5 ± 0.02 ^C	3.03 ± 0.02 ^A	1.46 ± 0.04 ^B	0.194 ± 0.002 ^A	2.41 ± 0.02 ^A	18.63 ± 0.12 ^A	28.84 ± 0.11 ^D	2.61 ± 0.01 ^A	14.51 ± 0.12 ^A
P	***	***	***	***	**	**	*	***	***
3. Grup									
Erkek	3.28 ± 0.02 ^a	3.15 ± 0.01 ^d	1.27 ± 0.02 ^a	0.206 ± 0.003 ^c	3.17 ± 0.01 ^d	22.12 ± 0.21 ^d	20.17 ± 0.18 ^a	2.78 ± 0.02 ^c	27.77 ± 0.18 ^d
Dişi	3.08 ± 0.02 ^A	3.94 ± 0.01 ^C	0.99 ± 0.02 ^A	0.212 ± 0.001 ^C	3.30 ± 0.03 ^D	23.68 ± 0.28 ^D	20.37 ± 0.11 ^A	2.93 ± 0.02 ^D	31.17 ± 0.12 ^D
P	***	***	***	***	***	***	-	***	***
4. Grup									
Erkek	4.09 ± 0.02 ^b	3.04 ± 0.01 ^c	1.42 ± 0.03 ^b	0.185 ± 0.002 ^b	2.75 ± 0.01 ^c	20.86 ± 0.23 ^c	23.98 ± 0.11 ^b	2.74 ± 0.02 ^c	24.26 ± 0.18 ^c
Dişi	3.89 ± 0.04 ^B	3.45 ± 0.02 ^B	1.40 ± 0.04 ^B	0.203 ± 0.002 ^B	3.00 ± 0.03 ^C	20.95 ± 0.23 ^C	20.86 ± 0.20 ^B	2.80 ± 0.01 ^C	25.86 ± 0.23 ^C
P	***	***	-	***	***	**	***	***	***

a,b,c,d: Aynı sütun içerisinde değişik harfler taşıyan ortalama erkek birey değerleri arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05)

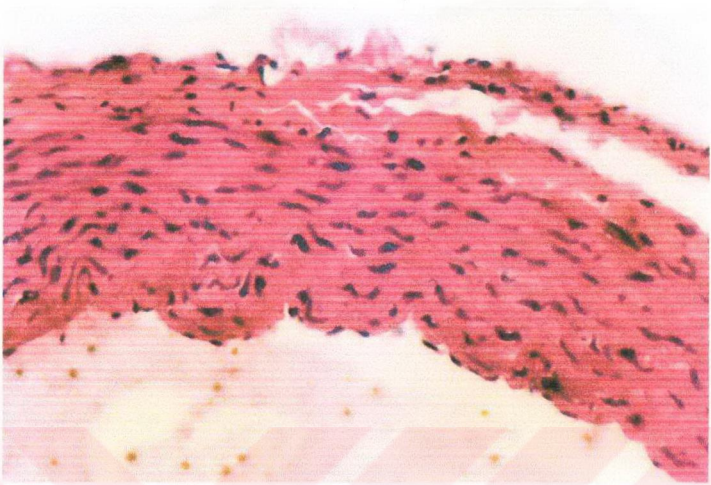
A,B,C,D: Aynı sütun içerisinde değişik harfler taşıyan ortalama dişi birey değerleri arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05)

- : Önemli değil (P>0,05) * : (P<0,05) ** : (P<0,01) *** : (P<0,001): Aynı sütundaki dişi ve erkek bireyler arası yapılan karşılaştırmalar için geçerlidir.

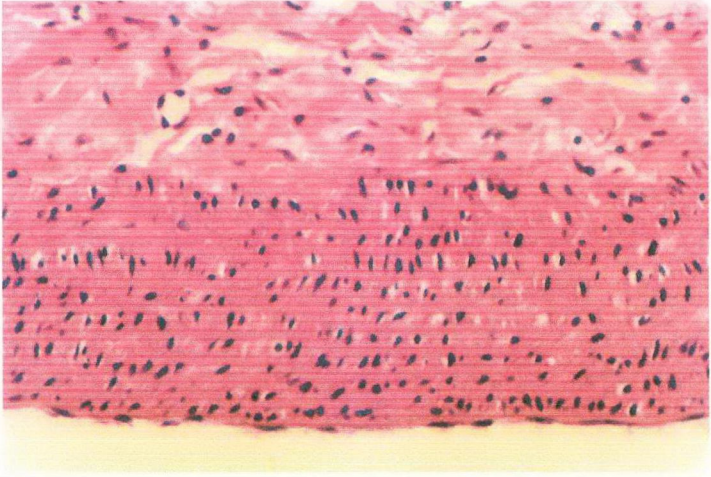
5.10. Kalp Damarlarının Morfolojik Yapısındaki Değişimler

Çalışma süresince toplam 80 adet ratın kalp damarlarından hazırlanan histolojik preparatların incelenmesi sonucu, kontrol grubu ratlar ile karşılaştırıldığında (şekil 13,14) homosistein uygulamalarının yapıldığı 2. grup ratların kalp damarları endotel hücrelerinin yer yer deskuamasyona uğradığı ve bu alanda epitel hücrelerin dökülmesiyle karakterize erken dönem arterosiklerozis şekillendiği dikkati çekmiştir (Şekil 15).

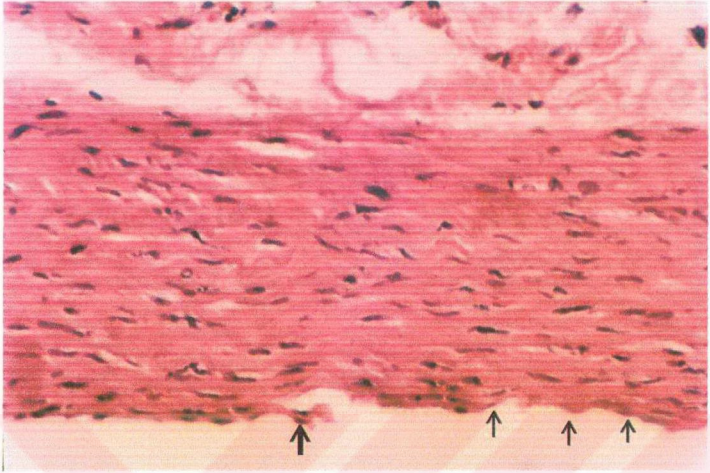
Homosistein ile birlikte melatonin uygulamalarının yapıldığı 3. grup ratlar ve homosistein ile birlikte E vitamini uygulamalarının yapıldığı 4. grup ratların kalp damarlarının histolojik kesitlerinde dikkate değer bir bulguya rastlanmamıştır (Şekil 17,18,19,20).



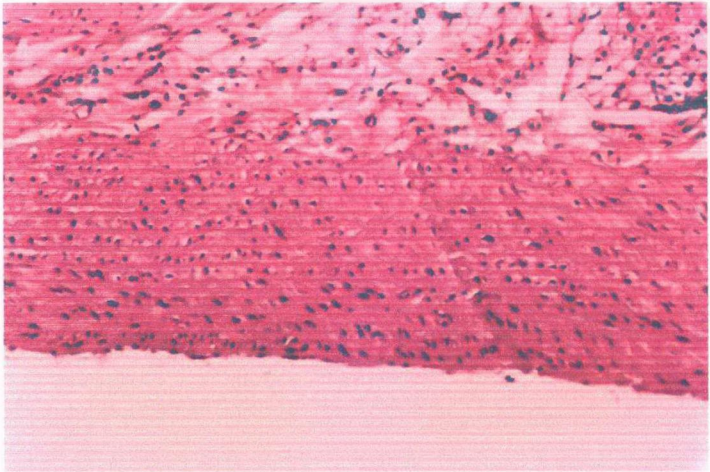
Şekil 13 . Kontrol grubu erkek ratların kalp damarları endotel hücrelerinin normal histolojik görünümü (H.E, x200).



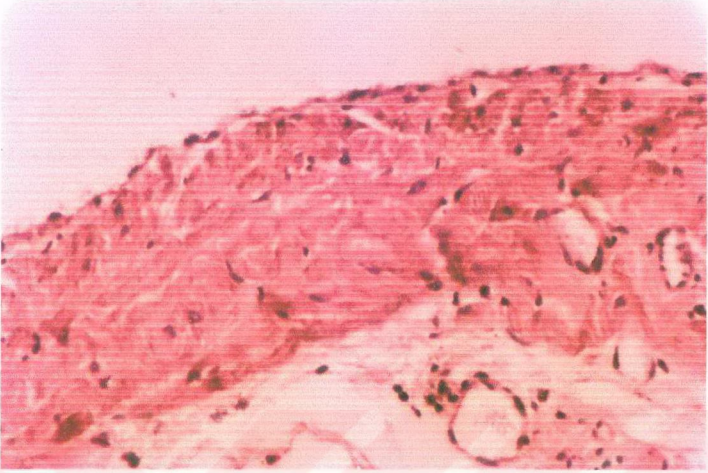
Şekil 14 . Kontrol grubu dişi ratların kalp damarları endotel hücrelerinin normal histolojik görünümü (H.E, x200).



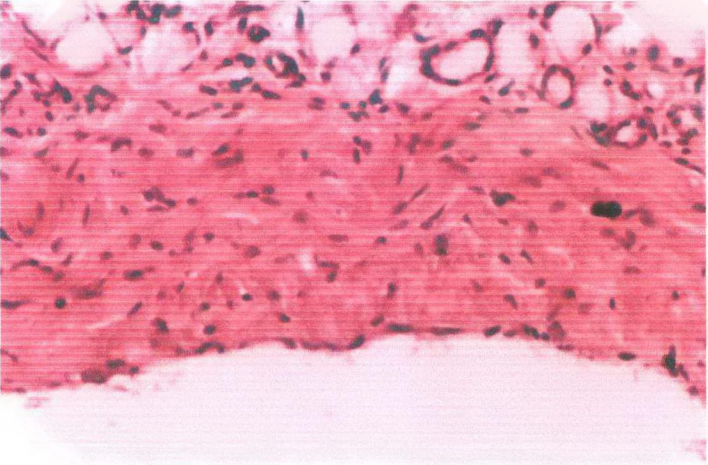
Şekil 15 . Homosistein grubu erkek ratların kalp damarları endotel hücrelerinin ayrılması (büyük ok) ve endotel hücrelerinden yoksun kısım (küçük oklar) (H.E, x200).



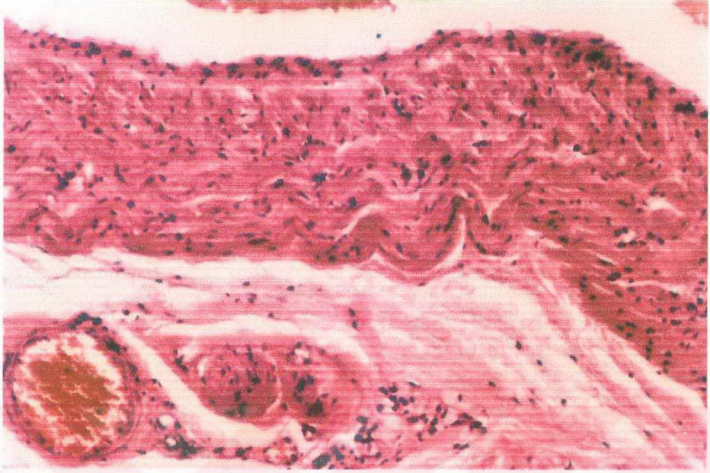
Şekil 16 . Homosistein grubu dişi ratların kalp damarları endotel hücrelerinde herhangi bir değişim izlenmemiştir (H.E, x200).



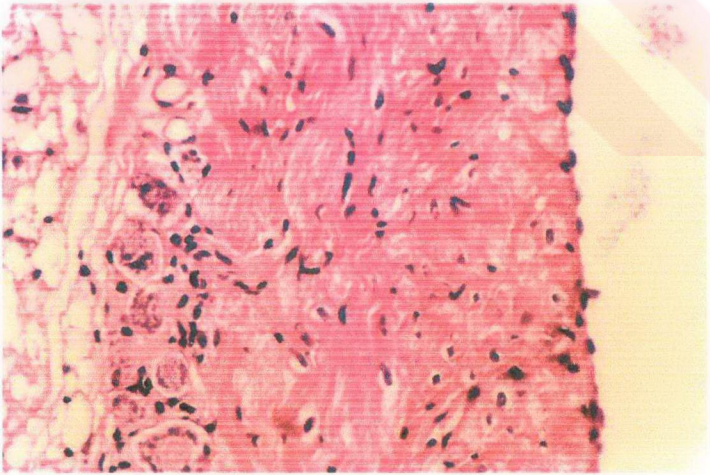
Şekil 17 . Homosistein-Melatonin grubu erkek ratların kalp damarlarındaki endotel hücrelerinde değişim izlenmemiştir (H.E, x200).



Şekil 18 . Homosistein-Melatonin grubu dişi ratların kalp damarlarındaki endotel hücrelerinde değişim izlenmemiştir (H.E, x200).



Şekil 19 . Homosistein-E vitamini grubu erkek ratların kalp damarlarındaki endotel hücrelerinde değişim izlenmemiştir (H.E, x200).



Şekil 20 . Homosistein-E vitamini grubu dişi ratların kalp damarlarındaki endotel hücrelerinde değişim izlenmemiştir (H.E, x200).

6. TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalar (18,29,126), koroner arter hastalıkları için geleneksel risk faktörlerinin (sigara içimi, alkol, diyabet, kolesterol,tansiyon vb.) dışında vasküler hastalıkların patolojisinde rol oynayan beslenme ve biyokimyasal faktörler (diyetteki antioksidanlar ve plazma homosistein miktarı) üzerinde yoğunlaşmıştır. Sülfür içeren bir aminoasit olan homosisteine olan ilgi, son 10 yıl boyunca kardiovasküler hastalıklar ile birlikte seyretmesinden dolayı daha da artmıştır. Homosistein, koroner arter hastalıkları ve periferal vasküler hastalıklar için göz önünde bulundurulması gereken önemli ve bağımsız bir risk faktörüdür. Homosisteinin normal plazma konsantrasyonu 5-15 $\mu\text{mol/L}$ düzeyindedir. 15 $\mu\text{mol/L}$ 'den daha fazla bulunan değerler hiperhomosisteinemi olarak değerlendirilir. Fakat bu değerler üzerinde henüz bir fikir birliği sağlanabilmiş değildir. Kardiovasküler hastalıkların gelişiminde plazma homosistein konsantrasyonunun yükselmesinin etkili olduğu genel bir anlayış olarak benimsenmiştir. Kesin olmamakla birlikte homosisteinin patolojik etkileri vasküler lezyonlara sebep olması şeklinde gösterilebilir. Vasküler hastalıkların patolojisinde etkili olan homosisteininin incelendiği çalışmalarda iki temel iddia üzerinde durulmaktadır;

1- Benzer etkilere sahip diğer tiollerin yetersizliği

2- Aşırı derecede yüksek homosistein konsantrasyonu (100-1000 kat)

Bununla beraber konu üzerinde yapılan son çalışmalar homosisteinin tek başına da bu etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Vasküler hastalık ölüm ve hastalıkların oluşumunda en önemli risk faktörleridir. Sigara içimi, hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve diyabet vasküler hastalıkların oluşumunda etkili risk faktörleridir. Yüksek homosistein düzeyleri periferik, koroner ve sebrovasküler hastalıklar için bir başka risk faktörü olarak son zamanlarda belirlenmiştir (97,110).

Bu bilgilerden hareketle bu çalışmada, ratlara uzun süreli homosistein uygulamalarından sonra antioksidan enzim düzeylerinde ve kalp damarlarının morfolojik yapılarındaki değişimler incelenmiş olup E vitamini, melatonin gibi antioksidan maddelerin bu değişimler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan bir çok çalışmada östrojenin plazma homosisteinini farklı yollarla etkilediği belirtilmiş fakat yine de plazma homosistein konsantrasyonu üzerine östrojenin etkisi tam olarak açıklanamamıştır (21,157). Plazma homosistein düzeyleri premenopozal kadınlarda postmenopozal kadınlardan, kadınlarda erkeklerden daha düşüktür. Östrojen, plazma homosistein konsantrasyonunu düşürdüğü miktardan az olmayacak şekilde gebelerde de plazma homosistein miktarını azaltır (22,78). Bununla birlikte östrojenin özellikle oral kontraseptivlerdeki miktarının homosisteinin plazma konsantrasyonunun azalmasını sağlayan transsülfürasyon (B₆ vitamini) ve re-metilasyon (folat ve B₁₂ vitamini) için gerekli vitaminlerin düzeylerini azaltarak plazma homosistein konsantrasyonunun artışına yol açtığı yönünde görüşler bildirilmiştir (5,137). Dimitrova ve ark. (39) erkek ratlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada östrojen uygulamalarının total plazma homosistein

konsantrasyonunu düşürdüğünü ve yine aynı çalışmada diyetlerinde homosistein bulunan ratların endotelial değişimlere (damar endotelinin kalınlaşması ve hücre infiltrasyonu gibi) uğradığı bildirilmiştir. Diyetlerinde homosistein bulunan ratların miyokardial GSH düzeyinin önemli derecede azaldığı ve doza bağlı olarak östrojen uygulamalarının miyokardial GSH miktarını artırdığı bildirilmiştir.

Plazma total homosistein düzeyleri, premenapozal kadınlar ile postmenapozal kadınlar karşılaştırıldığında menapoz sonrasında bu düzeyler artmaktadır (16,22,80,106). Premenapozal kadınlarda düşük görülen total homosisten düzeyleri metiyoninin transsülfürasyon veya remetilasyon yollarıyla etkili bir şekilde işlenmesiyle izah edilebilir (16,106,131). Wouters ve ark. (162) total plazma homosisteininin premenapozal kadınlarda serum 17 β -östradiol ile kuvvetli ve negatif bir ilişkisinin olduğu buna karşın postmenapozal kadınlarda görülmediği bildirilmiştir. Yüksek total homosistein düzeyleri postmenapozal kadınlarda, menapozdan sonra görülen kardio vasküler olayların artışında önemli rol oynar. Progesteronun tek veya östrojenle kombine hormon tedavileri sağlıklı pre ve postmenapozal kadınlarda plazma homosistein düzeylerinin ve hastalık riskinin azalmasına yardım eder (106).

Dimitrova ve ark. (40), östrojen metiyonin metabolizmasında homosistein miktarı üzerine azaltıcı etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Östrojen tedavisi gören gebe, premenapozal ve postmenapozal kadınlarda homosistein düzeyi, östrojen tedavisi görmeyen post menapozal kadınlar ve aynı yaştaki erkeklerden daha düşük bulunmuştur (40,58,100). Yüksek

östrojen düzeyi diğer etkenlerden (beslenme alışkanlığı, kas aktivitesi) bağımsız olarak total serum homosistein konsantrasyonunun düşüşü ile birliktedir. Bu da erkek ve dişi bireyler arasındaki total homosistein konsantrasyon farklılığını açıklamaktadır (40,104).

Kim ve ark. (84), kortizol ve östrojenin karaciğer ve böbrekteki enzim aktivitelerini etkileyerek plazma homosistein konsantrasyonunu düşürdüğü bildirilmiştir.

Morris ve ark. (102), değişik yaş gruplarındaki dişi ve erkek bireylerde yaptıkları bir çalışmada, genç erkek bireylerde plazma homosistein konsantrasyonunun genç dişi bireylerden daima yüksek bulunurken, yaşlı bireyler arasında ise plazma homosistein konsantrasyonu açısından pek bir farkın bulunmadığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızdaki tüm gruplar incelendiğinde (tablo 3, şekil 4) dişi ratların plazma homosistein değerlerinin bütün gruplarda erkek ratlardan anlamlı derecede düşük bulunduğu görülmektedir ($P<0,001$). Bu çalışmada dişilerde plazma homosistein düzeyinin erkeklerinkine oranla düşük bulunması östrojenin total plazma homosisteinini düşürücü etkisinin olduğunu belirten literatür bilgileriyle paralellik göstermektedir (5,39,58,80,100,104,106).

Son yıllarda yapılan birçok çalışma melatoninin güçlü bir antioksidan olduğunu göstermiştir (12,13). Melatonin serbest radikallerin ve reaktif türlerinin direkt temizleyicisidir (13). Diğer yandan melatonin glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSSG-Rd), süperoksit

dismutaz (SOD) ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin uyarıcısıdır (13).

Melatoninin, oksidan stresi azaltıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Serbest radikallerin anormal üretimi protein, lipit ve nükleik asitleri etkileyerek bazı makro moleküllerin yıkımlanmasına yol açarak birçok hastalığın temelini oluşturur. Normal şartlar altında serbest radikallerin oluşturacağı zararlı etkiler hücrel koruma sistemi ile kontrol edilmektedir. Bu koruyucu sistemler vitamin E, Vitamin C ve glutathione gibi enzimatik veya nonenzimatik mekanizmalar aracılığı ile etkilerini göstermektedirler (13).

Baydaş ve ark. (13) pinealektomize edilen ratların dokularında lipit peroksidasyon düzeyleri, glutasyon peroksidaz aktivitesi ve okside glutasyon gibi antioksidan enzimlerin günlük değişimlerini incelemiş ve hem ekzojen hem de endojen melatoninin antioksidan enzim aktivitesini artırdığını saptamışlardır. Bu enzimlerin bir kısmının melatoninin sirkadiyan ritmi ile paralellik gösterdiği ve pinealektomize ile bu ritmin etkilendiği belirtilmiştir. Çalışmamızda; homosistein ile birlikte melatonin uygulanan grup (3. grup) plazma SOD, GSH, GSH-Px, katalaz değerleri incelendiğinde (tablo 3. Şekil 5,7,8,9), kontrol ve homosistein grubu ratlardan yüksek ($P<0,001$) olduğu belirlenmiştir. Bulgularımız, melatoninin direkt antioksidan enzimleri uyarıcı etkisiyle antioksidan özelliği gösterdiğini belirten literatür bildirimleriyle uygunluk göstermektedir (12,13,85,112).

Baydaş ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada (14), bazı minerallerin ve melatoninin plazma lipit, lipit peroksidasyon ve homosistein düzeyleri üzerine etkilerini araştırmış ve plazma malondialdehit (MDA) düzeylerinde melatonin, lipoik asit ve E vitamini uygulanan gruplarda önemli düşüşler tespit edilmiştir. Plazma homosistein düzeyinde ise melatonin ve balık yağı uygulamalarının önemli düşüşler oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki tüm grupların plazma homosistein düzeyleri incelendiğinde (tablo 3, Şekil 4), homosistein ile birlikte melatonin uygulamalarının yapıldığı 3. grup ratların plazma homosistein değerlerinin kontrol grubu ve homosistein grubu ratlarından düşük olduğu gözlemlenmiştir ($P<0,001$). Bu bulgular melatoninin, homosistein üzerinden glutasyon oluşumunu artırarak plazma homosistein konsantrasyonunu azaltıcı etkisinin olduğunu belirten literatür bildiriyle (14) paralellik göstermektedir.

Gilad ve arkadaşları tarafından Homosisteinin peroksinitritlere karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (56), homosistein hem Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesini inhibe ettiği hem de bu enzimin mRNA' sını önemli olarak azalttığı buna karşın melatonin ise hem fizyolojik dozda hem de farmakolojik dozda glutasyon peroksidazın aktivitesini artırdığı belirtilmiştir. Ovrebo ve Svardal (115), ratlarda plazma homosistein miktarı ile plazma sistein ve glutattion konsantrasyonu arasında negatif bir ilişkinin var olduğunu belirtmişlerdir. Dayal ve ark. (34), yüksek miktarda metiyonin içeren diyetle beslenen farelerde total plazma homosisteinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve glutasyon

peroksidaz yetersizliğinin oluşturduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda homosistein uygulaması yapılan 2. grup ratların plazma GSH-Px değerleri incelendiğinde (tablo 3, Şekil 8), kontrol grubuna göre düşük olduğu ($P<0,001$), ayrıca homosistein ile birlikte melatonin uygulana 3. grup ratların plazma GSH-Px değerlerinin, kontrol ve homosistein grubu ratlardan daha yüksek ($P<0,001$) olduğu ve yukarıda belirtilen literatür bildirimleri ile benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır (34,56,115).

Can ve ark. yaptıkları araştırmada (23) E vitamini uygulamasının serum homosistein düzeylerinde önemli düzeyde düşümlere sebep olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonucu, E vitaminin homosisteinin remetilasyon aşamasını hızlandırarak plazma homosistein konsantrasyonunu azalttığı şeklinde izah etmişlerdir. Çalışmamızdaki tüm grupların plazma homosistein değerleri incelendiğinde (tablo 3, şekil 4) homosistein ile birlikte E vitamini uygulamalarının yapıldığı 4. grup ratların plazma homosistein düzeyleri, kontrol ve homosistein grubu ratlarından düşük bulunmuştur ($P<0,05$). Bu bulgularımız yukarıdaki literatür bildirimleri ile tam bir uyum içerisindedir.

Yamamoto ve ark. (165), endotelial hücre yüzeyine ekstrasellüler SOD'un bağlanması üzerine homosisteinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, homosisteinin SOD etkinliğini azalttığını ifade etmişlerdir. Homosistein, SOD' un endotelial hücre yüzeyine bağlanmasını sağlayan endotelial heparan sulfat proteoglikanı bozarak arteriyel endotel hücre yüzeyine SOD'un bağlanmasını engellemektedir. Yüksek miktarda homosistein fibroblastarca ortama verilen SOD ekspresyonunu azaltır.

Böylece homosistein endotel hücrelerinin özellikle süperoksit radikali olmak üzere serbest radikallere karşı savunma yeteneğini azaltmış olduğunu bildirmişlerdir (165). Çalışmamızdaki grupların plazma SOD değerleri incelendiğinde (tablo 3, şekil 5), homosistein uygulamalarının yapıldığı 2. grup ratların plazma SOD değerleri, kontrol, 3. grup ve 4. grup ratların plazma SOD değerlerinden düşük ($P<0,001$) bulunmuştur. Elde edilen değerler homosisteinin plazma SOD düzeyini azalttığı yönündeki literatür bildiriyle paralellik göstermektedir (165).

Serafinowicz ve ark. (135), hiperhomosisteinematik ratlarda lipit peroksidasyon ürünlerinin ve karotit intimal media kalınlığının artmış olduğunu belirtmişlerdir. Hernanz ve ark. (64), genç ve yaşlı bireyler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada yaşlı bireylerde gençlere göre homosistein miktarının yüksek olduğunu ayrıca homosistein miktarı artışının lipit peroksidasyonunu artırdığını buna karşı total glutation miktarını azalttığını bildirmişlerdir. Cavalca ve ark. (24), plazma homosistein ve plazma MDA konsantrasyonunun artışının kardiovasküler hastalıklar ile birlikte olduğunu bildirmişlerdir. Young ve ark. (166) Deneysel olarak hiperhomosisteinemi oluşturulmuş domuzlarda doku lipit peroksidasyonunun, kontrol grubu domuzlarinkine oranla daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Voutilainen ve ark. (159), total plazma homosistein düzeyindeki yükselmenin in vivo lipit peroksidasyonun artışına neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızdaki tüm grupların plazma MDA değerleri incelendiğinde (tablo 3, şekil 6), homosistein uygulanan 2. grup ratların plazma MDA

değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($P<0,001$). Bu sonucun, artan homosisteinin lipit peroksidasyon oluşumunu önleyen antioksidan enzimlerden biri olan GSH-Px'in aktivitesini azaltarak oluşturduğu görüşünü destekler niteliktedir (24,64,159,166).

Longoni ve ark. (91) oksijen radikallerinin neden olduğu lipit peroksidasyonu melatonin tarafından engellendiği gösterilmiştir. Homosistein ile birlikte melatonin uygulamalarının yapıldığı 3. grup ratların plazma MDA değerleri kontrol ve homosistein grubu ratlarla kıyaslandığında düşük bulunmuştur ($P<0,001$). Bu sonuç melatoninin antioksidan etkisi sonucu lipit peroksidasyonu inhibe ettiğini bildiren literatür bilgiler (14,91) ile paralellik göstermektedir.

Homosistein ile birlikte E vitamini uygulanan 4. grup ratların plazma MDA değerleri, kontrol grubu ratları ile kıyaslandığında; anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Yapılan bazı çalışmalarda E vitaminin plazma MDA seviyesini azalttığı bildirilmiştir (114,124). E vitaminin antioksidan etkisi sonucu lipit peroksidasyonu inhibe ettiğini bildiren literatür bilgileri (114,124) ile bu bulgularımızın uyuşmadığı tespit edilmiştir. Bu farklılık, gruplarımıza lipit peroksidasyonu önleyen E vitamini ile birlikte lipit peroksidasyonu artıran homosisteinin birlikte verilmesinden kaynaklanabilmiş olabileceği düşünülmektedir.

Chen ve ark. (28), ratlar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada değişik dozlarda intraperitoneal homosistein uygulamalarının karotid

arterlerde intimal hiperplaziye ve hücre proliferasyonuna sebep olduğu ortaya konulmuştur.

Tsai ve ark. (149), insanlarda yapmış olduğu bir çalışmada karotid arterlerin duvar kalınlığı ve plazma homosistein miktarları incelenmiş, plazma total homosistein miktarları ile karotid arterlerin duvar kalınlığı arasında pozitif bir ilişkinin var olduğu bildirilmiştir.

Toberek ve arkadaşları tarafından rasyonlarında fazla miktarda metiyonin bulunan tavşanlarda yapılan bir çalışmada (147), atheroskleroz riskinin ve lipit peroksidasyonun artmış olduğu ayrıca antioksidan enzimlerin etkinliğinde düzensizlikler tespit edilmiştir.

Farhat ve ark. (44), hiperhomosisteinemiyalı ratlarda oluşmuş olan atherosklerotik lezyonlara karşı östrojen uygulamalarının koruyucu etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

Kario ve ark. (83), insanlarda yapmış oldukları bir çalışmada yaşlı bireylerde kardiovasküler hastalıkların artışı, plazma homosistein ve koagülasyon etmenleriyle birlikte olduğunu, fakat homosistein ve kardiovasküler hastalıklar arasındaki açık ilişkinin, homosistein ve koagülasyon faktörleri arasında belirgin olmadığını bildirmişlerdir.

Hladovec ve ark. (65), belirli miktarlarda metiyonin verilen hastalarda homosistein miktarının önemli derecede arttığı gözlemlenmiş ve endotelial lezyonların şekillenmesi için kandaki homosistein miktarının yüksek olması gerektiğini bildirmişlerdir.

Xu ve ark. (164), hücre kültüründe yapmış oldukları bir çalışmada homosisteinin endotelial hücrelerde yaşlanmayı önemli oranda hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızdaki kalp damarlarının histolojik kesitleri incelendiğinde (şekil 13-20), kontrol grubuna nazaran homosistein uygulaması yapılmış olan 2. grup ratların kalp damar endotel hücrelerinin yer yer deskuamasyona uğradığı ve endotel hücrelerinden yoksun kısımların oluşumuyla karakterize erken dönemde atherosklerosisin şekillendiği dikkati çekmektedir (şekil 15). Homosistein-melatonin ve homosistein-E vitamini gruplarında ise dikkate değer bir bulguya rastlanmamıştır (Şekil 17,18,19,20) . Bu bulgular homosisteinin kalp damarları üzerine olumsuz yönde etkilerinin olduğunu belirten literatür bildirimleriyle paralellik göstermektedir (28,44,65,83,147,149,164).

Bulgularımızı genel olarak değerlendirdiğimizde; homosistein uygulanan gruptaki ratların plazma MDA değerlerinin, kontrol gruplarına kıyasla artış gösterdiği, buna karşılık homosistein-melatonin, homosistein-E vitamini gruplarında plazma MDA değerlerinin ise anlamlı bir azalış gösterdiği tespit edilmiştir.

Plazma ve doku antioksidan enzim düzeyleri (GSH, GSH-Px, SOD, CAT) ise homosistein uygulana gruplarda azalırken, homosistein-melatonin, homosistein-E vitamini gruplarında bu enzim düzeylerinde artış tespit edilmiştir.

Kalp damarlarının histolojik kesitleri incelendiğinde homosistein grubu ratlarda belirgin patolojik değişimler olduğu belirlenmiş,

homosistein-melatonin ve homosistein-E vitamin grubu ratlarda ise bu patolojik değişimlerin daha az bir düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; homosisteinin lipit peroksidasyon ürünlerini (MDA) artırdığı, plazma ve dokulardaki antioksidan enzim düzeylerin de ise azaltıcı bir etki gösterdiği ayrıca kalp damarlarında dejeneratif değişiklikler oluşturduğu tespit edilmiştir., melatonin ve E vitamini gibi antioksidanların ise lipit peroksidasyon ürünleri üzerine indirgeyici bir etki gösterdiği ve antioksidan enzim aktivitesini artırdığı, ayrıca kalp damarlarında oluşabilecek dejeneratif değişiklikleri önleyebileceği kanaatine varılmıştır.



7. KAYNAKLAR

- 1- Ak H, Dingiloğlu T, Habif N, Kültürsay S, Bayındır O, Onat T. (1994). Plasma Lipid Peroxidation, Vit. E, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Alterations in Coronary Atherosclerosis. *Tr J Med Sci.* 26: 11-15.
- 2- Akkuş İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- 3- Allison JM. (1984). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*, P. 262-398, Ed. by Melvin J. Swenson. 10th ed. Vail-Ballow Press Inc. USA.
- 4- Altunbaş Y, Güven M, Ince E, Abay , Caner M, Kanıgr G, Hatemi H. (1996). The in Vitro Effects of Captopril on the Levels of Lipid Peroxidation and Glutathion of Erythrocytes in Type II. Diabetics. *Tr J Med Sci.* 26: 139-142.
- 5- Amatayakul K, Uttaravichai C, Singkamani R, Ruckphaopunt S. (1984). Vitamin metabolism and the effects of multivitamin supplementation in oral contraceptive users. *Contraception.* 30: 179-196.
- 6- Aqel NM, Ball RY, Waldman H, Mitchinson MJ. (1985). Identification of Macrophages and Smooth Muscle Cell in Human Atherosclerosis Using Monoclonal antibodies. *J Pathol.* 146: 197-200.
- 7- Arendt J, Deacon S, English J, Hampton S, Morgan L. (1995). Melatonin and Adjustment to Phase Shift. *J Sleep Res.* 4: 74-79.
- 8- Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaugh JE. (1995). Serum Total Homocysteine and Coronary Heart Disease. *Int J Epidemiol.* 24: 704-709.
- 9- Arthur JR. (1982). Nutritional Interrelationships Between Selenium and Vitamin E. *Rep Rowett Inst.* 38: 124-135.
- 10- Bancroft JD, Stevens A. (1990). *Theory and Practice of Histological Technigues.* 3th Ed. London, Churchill Livingstone.
- 11- Bast A, Haenen G, Daelman J. (1991). Oxidants and Antioxidants. *State Art Am J Med.* 91(3c): 2-13.
- 12- Baydas G, Ercel E, Canatan H, Donder E, Akyol A. (2001). Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure. *Cell Biochem Funct.* 19: 37-41.

- 13- Baydas G, Gursu M F, Yilmaz S, Canpolat S, Yasar A, Cikim G, Canatan H. (2002). Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, lipid peroxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats. *Neuroscience Letters*. 323: 195-198.
- 14- Baydas G, Yilmaz O, Celik S, Yasar A, Gursu MF. (2002). Effects of Certain micronutrients and Melatonin on Plasma Lipid, Lipid Peroxidation, and Homocysteine Levels in Rats. *Arc of Med Res*. 33: 515-519.
- 15- Behrentein TT. (1972). Effect of Selenium and Vitamin E on Antibody Formation in Rabbits. *Zdra Wookhr Bolorus*. 18: 34-36.
- 16- Boers GH, Smals AG, Trijbels FJ, Leermakers AI, Kloppenborg PW. (1983). Unique efficiency of methionine metabolism in premenopausal women may protect against vascular disease in the reproductive years. *J Clin Invest*. 72: 1971-1976.
- 17- Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhup J. (1999). Nonfasting Plasma Total Homocysteine Levels and All-cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly Framingham Men and Women. *Arch Intern Med*. 159(10): 1077-1080.
- 18- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. (1995). A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease probable benefits of increasing folic acid intakes. *J Am Med Assoc*. 274: 1049-1057.
- 19- Brattstrom L, Israelson B, Tengbora L. (1989). Homocysteine, Factor VII, and Antithrombin III in Subjects with Difference Gene Damage for Cystathionine β Synthase. *J Inherit Metab Dis*. 12: 475-482.
- 20- Brattstrom L, Israelsson B, Lingarde F, Hultberg B. (1988). Higher total Plasma Homocysteine in vitamin B₁₂ Deficiency than Heterozgosity for Homocystinuria Due Cystathionine β -Synthase Deficiency. *Metabolism*. 37: 175-178.
- 21- Brattstrom L, Israelsson B, Olsson A, Andersson A, Hultberg B. (1992). Plasma homocysteinein women on oral oestrogen-containing contraceptives and in men with oestrogen-treated prostatic carcinoma. *Scand J Clin Lab Invest*. 52: 283-287.
- 22- Brattstrom LE, Hultberg BL, Hardebo JE. (1985). Folic acid responsive postmenopausal homocysteinemia. *Metabolism*. 34: 107-137.

- 23- Can C, Cinar MG, Kosay S, Evinc A. (2002). Vascular endothelial dysfunction associated with elevated serum homocysteine levels in rat adjuvant arthritis: effect of vitamin E administration. *Life Sciences*. 71: 401-410.
- 24- Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C, De Franceschi M, Belardinelli R, Guazzi MD. (2001). Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem*. 47 (5): 887-892.
- 25- Challem J, Doldy V. (1997). *Homocysteine the Secret Killer*. Keats Publishing, Inc New Canaan, USA.
- 26- Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J. (1993). Hyperhomocysteinemia a Risk Factor for Atherosclerosis in Chronic Uremic Patients. *Arch Intern Med*. 41: 72-77.
- 27- Cheeseman KH, Slatter TF. (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br Med Bull*. 49(3): 479-481.
- 28- Chen C, Surowiec SM, Morsy AH, Ma M. (2002). Intraperitoneal infusion of homocysteine increases intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid arteries. *Atherosclerosis*. 160: 103-114.
- 29- Chen P, Poddar R, Tipa EV, Dibello PM, Moravec CD, Robinson K, Green R, Kruger WD, Garrowş TA, Jacobsen DW. (1999). Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: Implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Advan Enzyme Regul*. 39: 93-109.
- 30- Chow CK. (1985). Vitamin E and Blood. *Wld Rev Nutr Diet*. 45: 133-166.
- 31- Clarke R, Daly L, Robinson K. (1991). Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N Engl J Med*. 324: 1149-1155.
- 32- Cooper AJL. (1983). Biochemistry of sulfur-containing Amino Acids. *Ann Rev Biochem*. 52: 187-222.
- 33- Dalery K, Luise S, Selhup J, Latour Y. (1995). Homocysteine and Coronary Artery Disease in French Canadian Subject: Relation with Vitamins B₁₂, B₆, Pyridoxal Phosphate, and Folate. *Am J Cardiol*. 75: 1107-1111.

- 34- Dayal S, Brown KL, Weydert CJ, Oberley LW, Arning E, Bottiglieri T, Faraci F M, Lentz SR. (2002). Deficiency of glutathione peroxidase-1 sensitizes hyperhomocysteinemic mice to endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22: 1996-2002.
- 35- De La Haba G, Cantoni GL. (1959). The Enzymatic Synthesis of S-Adenosyl-L-homocysteine from Adenosine and Homocysteine. *J Biol Chem.* 234: 603-608.
- 36- Den Heijer M, Blom HJ, Gerrits WBJ. (1995). Is Hyperhomocysteinemia a Risk Factor for Recurrent Venous Thrombosis?. *Lancet.* 345: 882-885.
- 37- Desai ID, Scoot ML. (1965). Mode of Action of Selenium in Relation to Biological Activity of Tocopherols. *Arch Biochem Biophys.* 110: 309-315.
- 38- Di Minno G, Davi G, Margaglione M. (1993). Abnormally High Thromboxane Biosynthesis in Homozygous Homocystinuria. *J Clin Invest.* 92: 1400-1406.
- 39- Dimitrova KR, Degroot KW, Pacquing AM, Suyderhoud JP, Pirovic EA, Munro TJ, Wieneke JA, Myers AK, Kim YD. (2002). Estradiol prevents homocysteine-induced endothelial injury in male rats. *Cardiovascular Research.* 53: 589-596.
- 40- Dimitrova KR, DeGroot K, Myers AK, Kim YD. (2002). Estrogen and homocysteine. *Cardiovascular Res.* 53: 577-588.
- 41- Dinçer C. (1985). Egzersizde Oluşan Lipid Peroksidasyonu ve E Vitamini'nin Koruyucu Etkisi. *Spor ve Tıp Derg.* 7(8): 20-23.
- 42- Ermens AAM, Refsum H, Ruprecht J. (1991). Monitoring Cobalamin Inactivation During Nitrous Oxide Anaesthesia by Determination of Homocysteine and Folate in Plasma and Urine. *Clin Pharmacol Ther.* 49: 385-393.
- 43- Fallest-Strobl PC, Koch DD, Stein JH, McBride PE. (1997). Homocysteine: a New Risk Factor for Atherosclerosis. *Am Fam Physician.* 56: 1607-1610.
- 44- Farhat MY, Dingaan B, Fader M, Ramwell PW. (1995). Estradiol 17 β protects against homocysteine-induced vascular injury in rat thoracic aorta. *Journal of the American College of Cardiology.* 25(2): 72 A
- 45- Faulder CG, Pamela AH. (1990). Vitamin E in Biological Systems. *Antiox Ther Preven Med.* 3: 234.

- 46- Finkelstein JD, Kyle WE, Harris BJ. (1974). Methionine Metabolism in Mammals: Regulatory Effects of S-Adenosylhomocysteine. *Arch Biochem Biophys.* 165: 774-779.
- 47- Finkelstein JD. (1990). Methionine Metabolism in Mammals. *J Nutr Biochem.* 1: 228-237.
- 48- Flohe L, Otting F. (1984). Superoxide Dismutase Assays. *Methods Enzymol.* 105: 93-104.
- 49- Frankel P, Madsen P. (1998). Homocysteine Through the Methylation Process. The Research Coroner, Publications. Thousand Oaks, USA.
- 50- Freeman BA, Crapo ID. (1982). Biology of Disease-Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest.* 47: 412.
- 51- Frick MH, Elo O, Haapa K. (1987). Helsinki Heart Study: Primary-prevention Trial with Gemfibrozil in Middle Aged Men with Dyslipidemia: Safety of Treatment, Changes in Risk Factors and Incidence of Coronary Heart Disease. *N Eng J Med.* 317: 1237-1245.
- 52- Frishman WH. (1998). Biologic Markers as Predictors of Cardiovascular Disease. *Am J Med.* 104(6A) 18-27.
- 53- Gallo Torres HE. (1980). Absorption. P. 170-267, Ed. by. Lawrence J. M. In "Vitamin E: A Comprehensive Treatise, Marchel Dekker Inc., New York and Basel.
- 54- Garg R, Malinow M, Pettinger M, Upson B. (1999). Niacin Treatment Increases Plasma Homocysteine Levels. *Am Heart J.* 138: 1082-1087.
- 55- Genest JJR, Malinow MR. (1992). Homocysteine and Coronary Artery Disease. *Curr Opin Lipidol.* 3: 295-299.
- 56- Gilad E, Cuzzocrea S, Zingarelli B, Salzman AL, Szabo Csaba. (1997). Melatonin is a Scavenger of Peroxynitrite. *Life Sciences.* 60(10): 169-174.
- 57- Giral P, Bruckert E, Nelly J, Chapman M, Foglietti M, Turpin G. (2001). Homocysteine and Lipid Lowering Agents. A Comparison Between Atorvastatin and Fenofibrate in Patients with Mixed Hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 154: 421-427.

- 58- Giri S, Thompson P, Taxel P. (1997). Oral estrogen improves serum lipids, homocysteine and fibrinolysis in elderly men. *Atherosclerosis*. 137: 359-366.
- 59- Goth L. (1991). A Simple Method for Determination of Serum Catalase activity and Revision of Reference Range. *Clin Chim Acta*. 196: 143-152.
- 60- Gruba S, Fink L, Fanceso V. (1996). Hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Path*. 106: 709-722.
- 61- Halliwell B. (1991). Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *Am J Med*. 91(3): 14-21.
- 62- Halsted CH. (1980). Folate Deficiency in Alcoholism. *Am J Clin Nutr*. 33: 2736.
- 63- Havel R. McCollum Award Lecture, 1993. (1994). Triglyceride-rich Lipoproteins and Atherosclerosis-New Perspectives. *Am J Clin Nutr*. 59: 795-799.
- 64- Hernanz A, Fernandez Vivancos E, Montiel C, Vazquez JJ, Arnalich F. (2000). Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging. *Life Sciences*. 67: 1317-1324.
- 65- Hladovec J, Sommerova Z, Pisarikova A. (1997). Homocysteinemia and endothelial damage after methionine load. *Thrombosis Research*. 88: 361-364.
- 66- Hopkins PN, Williams RR. (1989). Human Genetics Risk and Coronary Heart Disease: A Public Health Perspective. *Ann Rev Nutr*. 9: 303-345.
- 67- Hugh SM, Nadira A, Swaminathan R, Sankaralingam A, Moloy J, Powell J. (1997). A Common Polymorphism in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene, Homocysteine, and Ischemic Cerebrovascular Disease. *Stroke*. 28: 1739-1743.
- 68- Hultsberg A, Anderson A, Sterner G. (1993). Plasma Homocysteine and Renal Failure. *Clin Nephrol*. 40: 230-235.
- 69- Israelsson B, Brattström LE. (1988). Homocysteine and Myocardial Infarction. *Atherosclerosis*. 71: 227-233.
- 70- İsbir T. (1994). Antioxidant Sistemler. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu. S: 92-98, İzmir.

- 71- Jacques P, Bostom A, Williams R. (1996). Relations between Folate Status and a Common Mutation in MTHFR and Plasma Homocysteine Concentrations. *Circulation*. 93: 7-12.
- 72- Jacobsen DW. (1996). Determinants of Hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr*. 64: 641-642.
- 73- James DF, John JM. (2000). Homocysteine. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 32: 385-389.
- 74- James DH, Rene LJ, Lori MS, Margaret EB, John TB. (1999). Regulation of Homocysteine Metabolism. *Advances in Enzyme Regulation*. 39: 69-91.
- 75- Jousilahti P, Tuomilehto J, Vartiainen E, Pekkanen J, Puska P. (1996). Body Weight, Cardiovascular Risk Factors, and Coronary Mortality. 15-year Follow-up of Middle-aged Men and Women in Eastern Finland. *Circulation*. 93: 1372-1379.
- 76- Kang SS, Wong PW, Malinow MR. (1992). Hyperhomocysteinemia as a Risk Factor for Occlusive Vascular Disease. *Ann Rev Nutr*. 12: 279-298.
- 77- Kang SS, Wong PW, Susmano A. (1991). Thermolabile Methylene Tetrahydrofolate Reductase an Inherited Risk Factor for Coronary Artery Disease. *Am J Hum Genet*. 48: 536-545.
- 78- Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Cook HY. (1986). Total homocysteine in plasma and amniotic fluid of pregnant women. *Metabolism*. 35: 889-891.
- 79- Kang S, Wong PWK, Curley K. (1982). The Effect of d-penicillamine on Protein-bound Homocysteine in Homocystinurics. *Pediatr Res*. 16: 370-372.
- 80- Kang SS, Wong PW, Cook HY, Norusis M, Messer JV. (1986). Protein-bound Homocyst(e)ine. A Possible Risk Factor for Coronary Artery Disease. *J Clin Invest*. 77: 1482-1486.
- 81- Kannel WB, Sytkowski PA. (1987). Atherosclerotic Risk Factors. *Pharmac Ther*. 32: 207-235.
- 82- Kapusta L, Haagmans M, Steegers E, Cuypers M. (1999). Congenital Heart Defects and Maternal Derangement of Homocysteine Metabolism. *J Pediatr*. 135: 773-774.

- 83- Kario K, Duell PB, Matsuo T, Sakata T, Kato H, Shimada K, Miyata T. (2001). High plasma homocysteine levels in elderly Japanese patients are associated with increased cardiovascular disease risk independently from markers of coagulation activation and endothelial cell damage. *Atherosclerosis*. 157: 441-449.
- 84- Kim MH, Kim E, Passen EL. (1997). Cortisol and estradiol: non genetic factors for hyperhomocystinemia. *Metabolism*. 46: 247-249.
- 85- Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. (1998). Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res*. 24: 83-89.
- 86- Krauss RM. (1987). Relationship of Intermediate and Low-Density Lipoprotein Subspecies to Risk of Coronary Artery Disease. *Am Heart J*. 113: 578-582.
- 87- Lawrence RA, Burk RF. (1976). Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-deficient Rat Liver. *Bioch Bioph Res Commun*. 71: 4, 952-958.
- 88- Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DG, Brust JCM, Gourrentt TJ, Podel ER. (1988). Neuropsychiatric Disorders Caused by Cobalamin Deficiency. *N Eng J Med*. 318: 1720-1728.
- 89- Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Allen RH. (1994). Prevalence of Cobalamin Deficiency in the Framingham Elderly Population. *Am J Clin Nutr*. 60: 2-11.
- 90- Lindgren F, Israelsson R, Lindgren L. (1995). Plasma Homocysteine in Acute Myocardial Infarction. *J Intern Med*. 237: 381-386.
- 91- Longoni B, Salgo MG, Pryor WA, Marchiafava PL. (1998). Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sciences*. 62 (10): 853-859.
- 92- Lunec, J., Blake, D. (1990). *Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes*, P. 189- 212, Ed. R.D. Cojhen, Balliere Tindall, London.
- 93- Lussier S, Cacan S, Xhignesse M. (1996). Plasma Total Homocysteine in Healthy Subjects: Sex Specific Relation with Biological Traits. *Am J Clin Nutr*. 64: 587-593.
- 94- Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. (1999). Homocysteine, Diet and Cardiovascular Disease; A Statement for Healthcare Professionals From the nutrition Committee, American Heart Association. 99: 178-182.

- 95- Malinow MR. (1994). Homocysteine and Arterial Occlusive Disease (Frontiers in Medicine). *J Intern Med.* 236: 603-617.
- 96- Malinow M, Nieto F, Szklo M. (1993). Carotid Artery Intimae Medial Wall Thickening and Plasma Homocysteine in Asymptomatic Adults. *Circulation.* 87: 1107-1113.
- 97- McCully KS. (1969). Vascular Pathology of Homocysteinemia. *Am J Pathol.* 56: 111-128.
- 98- Mckeever PW, Weir DG, Molloy A, Scott JM. (1991). Betaine-homocysteine Methyltransferase: Organ Distribution in Man, Pig and Rat and Subcellular distribution in the Rat. *Clin Sci.* 81: 551-556.
- 99- Miner SES, Evrovski J, Cole DEC. (1997). Clinical Chemistry and Molecular Biology of Homocysteine Metabolism: An Update. *Clin Biochem.* 30: 189-201.
- 100- Mijatovic V, Kenemans P, Jakobs C. (1998). A randomized controlled study of the effects of 17 β -estradiol-dydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. *Obstet Gynecol.* 91: 432-436.
- 101- Morita H, Taguchi J, Kurihara H. (1997). Genetic Polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a Risk Factor For Coronary Artery Disease. *Circulation.* 95: 2032-2036.
- 102- Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. (2000). Serum total homocysteine concentration is related to self-reported heart attack or women in the NHANES III. *The Journal of Nutrition.* 130 (12):3073-3076.
- 103- Morris M, Bostom G, Jacques P, Selhup J, Rosenberg I. (2001). Hyperhomocysteinemia and Hypercholesterolemia Associated with Hypothyroidism in the Thirt US National Healthy and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis.* 155: 195-200.
- 104- Morris M, Jacques P, Selhub J, Rosenberg I. (2000). Total homocysteine and estrogen status indicators in the Third National Health and Nutritional Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 152: 140-148.
- 105- Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, Wigle DT. (1996). Serum Folate and Risk of Fetal Coronary Heart Disease. *JAMA.* 275: 1893-1896.
- 106- Moustapha A, Robinson K. (1999). Homocysteine: An emerging age-related cardiovascular risk factor. *Geriatrics.* 54(April): 49-63.

- 107- Munro JM, Cotran RS. (1988). The Pathogenesis of Atherosclerosis: Atherogenesis and Inflammation. *Lab Invest.* 58(3): 249-261.
- 108- Munro JM, Walt JD, Munro JS, Chalmers JAC, Cox EL. (1987). An Immunohistochemical Analysis of Human Aortic Fatty Streaks. *Human Pathol.* 18: 373-378.
- 109- Nabila A, Olusegun AM, Aboyomi A. (2000). Homocysteine and Endogenous Markers of Renal Function in Type 2 Diabetic Patients without Coronary Heart Disease. *Diabetes Res Clin Pract.* 50: 177-185.
- 110- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. (1997). Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 337: 230-236.
- 111- Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ. (2000). Protective Effect of Melatonin against Homocysteine-Induced Vasoconstriction of Human Umbilical Artery. *Bio and Biop Res Commun.* 277: 470-475.
- 112- Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ. (2001). Melatonin counteracts potentiation by homocysteine of KCL- Induced vasoconstriction in human umbilical artery: relation to calcium influx. *Bio and biop res comm.* 280: 940-944.
- 113- Oldfield JE. (1987). The Two Faces of Selenium. *J Nutr.* 117(12): 2002-2008.
- 114- Oriani G, Corino C, Pastorelli G, Pantaleo L, Ritieni A, Salvatori G. (2000). Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. *J Nutr Biochem.* 12: 138-143.
- 115- Ovrebo KK, Svardal A. (2000). The effect of glutathione modulation on the concentration of homocysteine in plasma of rats. *Pharmacol Toxicol.* 87 (3): 103-107.
- 116- Öbek A. (1990). İç Hastalıkları. Güneş Kitapevi. Bursa.
- 117- Özcan N. (1997). Koroner Kalp Hastalıkları. Sf.31-58, GATA. Ankara.
- 118- Özdemir G. (1993). Reaktif Oksijen Partikülleri (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller), Roche Bilimsel Eserler Serisi.

- 119- Pablos MI, Agapito MT, Gutierrez R, Reico JM, Reiter RJ, Barlow-Walden LR, Acuna-Castroviejo D, Menendez-Pelaez A. (1995). Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase in several tissues of chicks. *J Pineal Res.* 19: 111-115.
- 120- Paxton R, Scislowski PWD, Davis EJ, Harris RA. (1986). Role of Branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase and Pyruvate dehydrogenase in 2-oxobutyrate Metabolism. *Biochem J.* 234: 295-303.
- 121- Pehrson, B. and Johnson, S. (1985). Selenium and Glutathione Peroxidase in Blood and Tissues and Growth and Feed Efficiency in Young Bulls of Different Dietary Selenium Levels. *Zbl Vet Med A.* 32: 492-501.
- 122- Pieri C, Marra M, Gaspar R, Damjanovich S. (1997). Melatonin protects LDL from oxidation but does not prevent the apolipoprotein derivatization. *Biochem Biophys Res Commun.* 22: 203-209.
- 123- Placer AZ, Linda LC, Johnson B. (1966). Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in Biochemical Systems. *Anal Biochem.* 16: 359-364.
- 124- Prasad K, Kalra J. (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am Heart J.* 125: 958-973.
- 125- Refsum H, Helland S, Ueland PM. (1985). Radioenzymic Determination of Homocysteine in Plasma and Urine. *Clin Chem.* 31: 624-628.
- 126- Refsum H, Ueland P, Nygard O, Vollset SE. (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med.* 49: 31-62.
- 127- Refsum H, Wesenberg F, Ueland PM. (1991). Plasma Homocysteine in Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia. Changes During a Chemotherapeutic Regimen Including Methotrexate. *Cancer Res.* 51: 828-835.
- 128- Reiter RJ, Cabrera J, Sainz R, Mayo JC, Manchester LC, Tan DX. (1999). Melatonin as a pharmacological agent against neuronal loss in experimental models of Huntington's disease, Alzheimer's disease and Parkinsonism. *Ann NY Acad Sci.* 890: 471-485.
- 129- Reiter RJ, Tan DX, Cabrera J, D'Arpa D. (1999). Melatonin and tryptophan derivatives as free radical scavengers and antioxidants. *Adv Exp Med Biol.* 467: 379-387.

- 130- Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannuci E. (1996). Dietary Folat Vitamin B₆ and Vitamin B₁₂ Intake and Risk of CHD among a Long Population of Men. *Circulation*. 93: 625.
- 131- Robinson K, Arheart K, Refsum H. (1998). Low Circulating Folate and Vitamin B₆ Concentrations Risk Factors for Stroke, Peripheral Vascular Disease, and Coronary Artery Disease. *Circulation*. 97: 437-443.
- 132- Ross R. (1986). The Pathogenesis of Atherosclerosis-An Update. *N. Engl. J. Med.* 314(8): 488-500.
- 133- Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. (1994). Randomized Trial of Cholesterol Lowering 4444 Patients with Coronary Disease: Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Lancet*. 344: 1383-1389.
- 134- Sedlak J, Lindsay RHC. (1968). Estimation of Total Protein Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellmann's Reagent. *Anal Biochem*. 25: 192-205.
- 135- Serafinowicz A, Kukula K, Cieciora T, Shaibant B. (2000). Homocysteine and lipid peroxidation products: Impotant atherosclerosis risk factors in renal allgraft recipients?. *Transplantation Proceedings*. 32: 1367-1368.
- 136- Seven A, Seymen O, Hatemi S, Hatem H, Yiğit G, Candan G. (1995). Lipid Peroxidation and Vitamin E Supplementation in Experimental Hyperthyroid State. *Tr J Med Sci*. 25: 257-259.
- 137- Shojania AM. (1971). Effect of oral contraceptives on vitamin- B₁₂ metabolism. *Lancet*. 2: 932
- 138- Skovby F. (1985). Homocystinuria Clinical, Biochemical and Genetic Aspects of Cystathionine β Synthase and its Deficiency in Man. *Acta Pediatr Scand*. 321: 1-21.
- 139- Smolin LA, Benevenga NJ. (1982). Accumulation of Homocysteine in Vitamin B₆ Deficiency: A Model for the Study of Cystathionine β-synthase Deficiency. *J Nutr*. 112: 1264-1272.
- 140- Stabler SP, Lindenbaum J, Savage DG, Allen RH. (1993). Elevation of Serum Cystathionine Levels in Patients with Cobalamin and Folat Deficiency. *Blood*. 81: 3403-3413.

- 141- Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH. (1987). Quantitation of Homocysteine, Total Cysteine and Methionine in Normal Serum and Urine Using Capillary Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Anal Biochem.* 162: 185-196.
- 142- Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. (1986). Is Relationship between Serum Cholesterol and Risk of Premature Death from Coronary Heart Disease Continuous and Graded Findings 356222 Primary Screeners of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA.* 256: 2823-2828.
- 143- Stampfer MJ, Osborn JA, Jaraki M. (1993). Adverse Vasculer Effects of Homocysteine are Modulated by Endothelium-derived Relaxing Factor and Related Oxides of Nitrogen. *J Clin Invest.* 91: 308-318.
- 144- Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu VD. (1993). *Bioistatistik. 4. Baskı Özdemir Yayıncılık LTD. ŞTİ. Ankara.*
- 145- Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. (1993). Melatonin: A potent Endogenous Hydroxyl radical scavenger. *Endocr J.* 1: 57-60.
- 146- Thomas MJ. (1995). The Role of Free Radicals and Antioxidants. How Do We Know That They Are Working?. *Cric Rev Food Sci Nutr.* 35: 21-29.
- 147- Toborek M, Kopieczna-Grzebieniak E, Drozd M, Wieczorek M. (1995). Increased lipid peroxidation as a mechanism of methionine-induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis.* 115(2): 217-224.
- 148- Tsai JC, Peralla MA, Yarkizumi M. (1994). Promotion of Vascular Smooth Muscle Cell Growth by Homocysteine a Link to Atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91: 6369-6373.
- 149- Tsai MY, Arnett DK, Eckfeldt JH, Williams RR, Ellison RC. (2000). Plasma homocysteine and its association with carotid intimal-medial wall thickness and prevalent coronary heart disease: NHLBI family heart study. *Atherosclerosis.* 151: 519-524.
- 150- Ubbink JB, Vermaak WJH, Von-der A, Becker PJ. (1993). Vitamin B₁₂, Vitamin B₆ and Folat Nutritional Status in Men with Hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr.* 57: 47-53.
- 151- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. (1993). Total Homocysteine in Plasma or Serum Methods and Clinical Applications. *Clin Chem.* 39: 1764-1779.

- 152- Ueland PM, Refsum H. (1989). Plasma Homocysteine a Risk Factor for Vascular Disease: Plasma Levels in Health, Disease, and Drug Therapy. *J Lab Clin Med.* 114: 473-501.
- 153- Ullrey DE. (1981). Vitamin E for Swine. *J Anim Sci.* 53(4): 1039-1055.
- 154- Upchurch GR, Welch GN, Freedman JE. (1995). Homocysteine Attenuates Endothelial Glutathione Peroxidase and Thereby Patients Peroxide Mediated Injury. *Circulation.* 92:1-28.
- 155- Urton GW, Ingold KU. (1986). Vitamin E Application of the Principles of Physical Organic Chemistry to the Exploration of Its Structure and Function. *Acta Chem Res.* 19: 194-201.
- 156- Valenzuela A. (1990). The Biological Significance of Malondialdehyde Determination in the Assessment of Tissue Oxidative Stress. *Life Sci.* 48: 301-309.
- 157- Van Der Mooren MJ, Wouters MGAJ, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TKAB, Rolland R. (1994). Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest.* 24: 733-736.
- 158- Vester B, Rasmussen K. (1991). High Performance Liquid Chromatography Method for Rapid and Accurate Determination of Homocysteine in Plasma and Serum. *Eur J Clin Chem Biochem.* 29: 549-554.
- 159- Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho H, Nyssönen K, Salonen JT. (1999) Enhanced in vivo lipid peroxidation at Elevated Plasma total Homocysteine levels. *Arter Throm Vasc Biol.* 19: 1263-1266.
- 160- Wicken DEL, Dudman NPB. (1992). Homocystinuria and Atherosclerosis (Review). *Monogr Hum Genet.* 14: 311-324.
- 161- Wiss O, Bunnell RH, Gloor U. (1965). Absorptions and Distribution of Vitamin E in the Tissues. *Vitam Horm.* 20: 441-445.
- 162- Wouters MG, Moorrees MT, Van der Mooren MJ. (1995). Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest.* 25: 801-805.
- 163- Wu LL. (1999). Review of Risk Factors for Cardiovascular Diseases. *Ann Clin Lab Sci.* 29(2): 127-132.

- 164- Xu D, neville R, Finkel T. (2000). Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. *FEBS Letters*. 470: 20-24.
- 165- Yamamoto M, Hara H, Adachi T. (2000). Effects of homocystene on the binding of extracellular-superoxide dismutase to the endothelial cell surface. *FEBS Let*. 486: 159-162.
- 166- Young PB, Kennedy S, Molloy AM, Scott JM, Weir DG, Kennedy DG. (1997). Lipid peroxidation induced in vivo by hyperhomocysteinemia in pigs. *Atherosclerosis*. 129: 67-71.
- 167- Zappia V, Zydek-Cwick R, Schlenk F. (1969). The Specificity of S-Adenosyl-methionine Derivatives in Methyl Transfer Reactions. *J Biol Chem*. 244: 4499-4509.



8. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ 1974 doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1992 yılında girerek 1997 yılında mezun oldum. Şubat 1998'de Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Programı, Fizyoloji Anabilim Dalının açmış olduğu doktora programını kazandım. Aralık 1999'da aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım ve evliyim.

Arş. Gör. Abdurrauf YÜCE