



Dr. Ayşalı YILMAZ<sup>1</sup>  
Dr. Ceyda KABAROĞLU<sup>2</sup>  
Dr. Sara HABİF<sup>2</sup>  
Dr. Dilek ÖZMEN<sup>2</sup>  
Dr. Kemal ÖZTEKİN<sup>1</sup>  
Dr. Oya BAYINDIR<sup>2</sup>

## POSTMENAPOZAL KADINLARDA KISA SÜRELİ HORMON REPLASMAN TEDAVİSİNİN SERUM NİTRİK OKSİD DÜZEYLERİ VE LİPİD PROFİLİNE ETKİLERİ

### THE EFFECTS OF SHORT TERM HORMONE REPLACEMENT THERAPY ON SERUM NITRIC OXIDE LEVELS AND LIPID PROFILE IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

#### ÖZ

Menapozun yol açtığı vazomotor ve vajinal semptomların tedavisinde kullanılan hormon replasman tedavisinin (HRT), ileri yaşla birlikte görülen kognitif fonksiyon değişiklikleri ve Alzheimer hastalığının yanı sıra, postmenapozal süreçte izlenen ateroskleroz ve osteoporoz üzerine de olumlu etkilerinden bahsedilmektedir. Nitrik oksid, vasküler bütünlüğün sağlanmasında ve hasarlanmadan korunmada önemli rol oynayan endotel kökenli bir damar gevşeticidir. Hormon replasman tedavisinin lipid profili ve damar endoteli üzerinde nitrik oksid aracılı olumlu etkileri, uygulamanın postmenapozal kadınları kardiyovasküler hastalıklardan korumada önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada 20 postmenapozal kadında östradiol-17-valerat ile siprote-ron asetat kombine HRT tedavisinin kısa dönemde, serum nitrik oksid düzeylerine ve lipid profiline etkisi araştırılmıştır. Replasman öncesi bazal ve HRT sonrası 3.ayda alınan örneklerle ait ölçümler eşli Student's t-testi ile karşılaştırılmış, p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3 aylık HRT tedavisi sonrası serum nitrik oksid düzeyleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir (p<0.001). Tedavi sonrası total kolesterol ve trigliserid değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-K) değerleri tedavi sonrası anlamlı olarak yükselirken (p=0.017), bu yüksekliğe apolipoprotein A-I değerleri de eşlik etmiştir (p=0.041). Düşük dansiteli lipoprotein (LDL-K) ve apolipoprotein B düzeyleri tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında, HRT sonrası anlamlı düşme gözlenmiştir (sırasıyla p=0.013, p=0.002).

Sonuç olarak kısa süreli HRT'nin endotelial fonksiyonu geri kazanmada nitrik oksid üzerinden etkili olabileceği ve lipid profilinde meydana getirdiği değişikliklerin ateroskleroz için risk faktörü olan öğeleri azalttığı gösterilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Hormon replasman tedavisi, Nitrik oksid, Ateroskleroz

#### ABSTRACT

Hormone replacement therapy (HRT) used in the treatment of vasomotor and vaginal symptoms seen in the postmenopausal women, has shown to have beneficial effects in osteoporosis and atherosclerosis and also, on changes in cognitive function and Alzheimer's disease observed in the elderly women.

Nitric oxide is an endothelial-derived vasodilation factor, posing an important role in the maintenance of endothelial wall, and in the protective mechanisms of endothelial injury. Hormone replacement therapy is thought to have a cardioprotective role in the post-menopausal women via endothelial derived nitric oxide and by exerting changes in the lipid profile.

To evaluate the effect of short term HRT on nitric oxide levels and lipid profile in healthy postmenopausal women, 20 subjects were given estradiol-17-valerat and cyproterone acetate in a combined fashion. Before and after treatment values were compared with paired Student's t test and p<0.05 was considered assignificant.

At the end of three months, serum nitric oxide levels were increased significantly (p<0.001). There were no changes in either total cholesterol nor triglyceride levels. After HRT, high density lipoprotein (HDL-C) levels were increased (p=0.017), with a parallel increase observed in apolipoprotein A-I levels (p=0.041). Low density lipoprotein (LDL-C) and apolipoprotein B levels were significantly reduced after HRT (p=0.013, p=0.002, respectively).

We conclude that short term HRT increase nitric oxide levels and this may be the mechanism of improved endothelial function, and its effects on lipid metabolism reduces the risk factors known for atherosclerosis.

**Key words:** Hormone Replacement Therapy, Nitric Oxide, Atherosclerosis.

Geliş: 22/4/2004 Kabul: 3/6/2004

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İZMİR

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İZMİR

İletişim: Dr. Ceyda KABAROĞLU, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, 35100 İZMİR

Tel: (0232) 343 82 71 • G.S.M: (0532) 244 26 71 • E-mail : ceyda@med.ege.edu.tr



## GİRİŞ

Doğal östrojenlerle yapılan hormon replasman tedavisi (HRT) östrojen eksikliğinin yol açtığı klinik bulguların tedavisinde tercih edilen birincil yöntemdir (1). İlk olarak menapozun yol açtığı vazomotor ve vajinal semptomların tedavisinde kullanılan HRT'nin, bu şikayetlerin giderilmesi dışında da olumlu etkilere neden olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle ileri yaşla birlikte görülen kognitif fonksiyon değişiklikleri ve Alzheimer hastalığına olan etkileri yanı sıra, kadınlarda postmenopozal süreçte izlenen ateroskleroz ve osteoporoz üzerine de olumlu etkilerinden bahsedilmektedir (2).

Kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş ülkelerde 50 yaşını aşmış kadınlarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (3). Bir çok deneysel ve epidemiyolojik çalışmada östradiolün ateroskleroz gelişimini yavaşlattığını hatta önlediğini gösteren sonuçlar elde edilmiştir (4,5,6,7). Östrojeninin, ateroskleroz gelişimini geciktirici etkisi lipid profilinde meydana getirdiği değişikliklere bağlanmaktadır (8). Koroner kalp hastalıklarının serum lipidleri ve lipoproteinleri ile ilişkisini araştıran çalışmalarda, ateroskleroz gelişiminde düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL-K) artmış düzeylerinin ve yüksek dansiteli lipoproteinlerin (HDL-K) düşük düzeylerinin etkili olduğu doğrulanmıştır (9).

Damar endoteli, (a) vasküler tonusu düzenleyerek, (b) bölgesel hücre büyümesini ve ekstrasellüler matriksi kontrol ederek, (c) hasar oluştuğunda hemostatik, inflamatuvar ve tamir mekanizmalarını düzenleyerek vasküler homeostazi sağlayan metabolik olarak aktif bir organdır (10). Nitrik oksid (NO), vasküler bütünlüğün sağlanmasında ve hasarlanmadan korunmada önemli rol oynayan endotel kökenli bir damar gevşetici-dir. Hormone replasman tedavisinin lipid profili ve damar endoteli üzerinde nitrik oksid aracılı olumlu etkileri, uygulamanın postmenopozal kadınları kardiyovasküler hastalıklardan korumada önemli olabileceğini düşündürmektedir (11,12).

Tek başına östrojen kullanımı ile östrojen - progestagen kombine kullanımı sonucu ortaya çıkan farklı sonuçlar, çalışmalarda farklı progestagenlerin kullanılmasına bağlanmaktadır (13).

Bu bilgilerin ışığında, sunulan çalışmada östradiol-17-valerat ile siproteron asetat kombine HRT tedavisinin postmenopozal kadınlarda, kısa dönemde, serum nitrik oksid düzeyleri ve lipid profiline etkisi araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D. Menapoz polikliniğine başvuran, yaşları 42 ile 62 arasında değişen ve aşağıdaki kriterlere uyan 20 adet sağlıklı postmenopozal hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

1. 1 yıldan daha uzun süren sekonder amenore hikayesi
2. Yüksek folikül stimüle edici hormon (FSH), (> 20 mIU/mL) ve düşük östradiol düzeyleri (< 50pg/mL)
3. Daha önce post-menopozal hormon replasman tedavisi almamış olması

4. Olgularda koroner arter hastalığı, hipertansiyon, endokrinopati ve diabetes mellitus olmaması
5. Çalışmadan 24 saat öncesinde alkol ve kafein almamış, düzenli olarak vitamin preparatı kullanmamış olması
6. Daha önce hiç sigara kullanmamış olması
7. Histerektomi geçirmemiş olması
8. Ağırılıklarının, standard ağırlıktan  $\pm$  15% farklı olmaması

Tüm olgulardan yazılı izin alındıktan sonra, hepsi tedavi öncesi jinekolojik muayene, meme muayenesi, pelvik ultrasonografi, vajinal sitoloji ve mamografi ile değerlendirilmiş ve bir patoloji saptanmamıştır. Ayrıca her hasta için vücut kütle indeksi (BMI) hesaplanmıştır.

Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben ilaç tedavisi başlamadan önce (bazal) ve tedavi başladıktan 3 ay sonra alınmıştır. Replasman tedavisi olarak 11 gün 2 mg/gün östradiol-17-valerat ardışık olarak, son 10 gün ise 1mg/gün siproteron asetat ile kombine uygulanmıştır.

Serum FSH ve östradiol düzeyleri kemilüminesans yöntemiyle otoanalizörde belirlenmiştir.

Serum total kolesterol (TK), trigliserid (TG), LDL-K, HDL-K, apolipoprotein A-I (apo A-I) ve apolipoprotein B (apo B) düzeyleri ticari olarak sağlanan kitlerle otoanalizörde (Technicon Dax-48, Japonya) ölçülmüştür.

Serum nitrik oksid (NO) düzeyleri nitrat ve nitrit konsantrasyonlarının toplamı olarak ifade edilmiştir. Nitrat Bories'in enzimatik yöntemiyle (14), nitrit ise Griess prensibi (15) ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar nitrit + nitrat (NO) olarak ifade edilmiştir.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama  $\pm$  SD olarak ifade edilmiştir. Tedavi öncesi bazal ve HRT sonrası 3.ayda alınan örneklere ait ölçümler eşli Student's t-testi ile karşılaştırılmış, p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Tablo 1'de çalışmaya dahil edilen olgulara ait yaş, serum östradiol ve FSH değerleri, ayrıca ortalama BMI değerleri özetlenmiştir. Tüm olgular çalışmaya dahil edilme kriterlerine uymaktadır.

Hormon replasman tedavisi öncesinde alınan kan örneklerine ait değerler, HRT sonrası 3. ay değerleri ile karşılaştırılabilir olarak Tablo 2'de görülmektedir. Replasman tedavisi serum nitrik oksid düzeylerini 3 ay sonunda anlamlı bir şekilde yükseltmiştir (p<0.001). Tedavi sonrası total kolesterol ve trigliserid değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır. HDL-K değerleri tedavi sonrası anlamlı olarak yükselirken (p=0.017),

Tablo 1. Olguların çalışma öncesi demografik bilgileri

|                          | N =20             |
|--------------------------|-------------------|
| Yaş                      | 50,2 $\pm$ 3,78   |
| Östradiol (pg/m L)       | 21,65 $\pm$ 19,67 |
| FSH (m IU/m L)           | 73,7 $\pm$ 32,69  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 25.6 $\pm$ 3.7    |



Tablo 2. Olguların HRT öncesi ve sonrası değerleri

|                           | HRT öncesi Bazal | HRT sonrası 3. ay | p      |
|---------------------------|------------------|-------------------|--------|
| Total Kolesterol (mmol/L) | 5.08 ± 1.19      | 4.9 ± 1.4         | NS     |
| Trigliserid (mmol/L)      | 1.27 ± 0.46      | 1.3 ± 0.61        | NS     |
| HDL-K (mmol/L)            | 1.48 ± 0.23      | 1.89 ± 0.62       | 0.017  |
| LDL (mmol/L)              | 3.19 ± 0.96      | 2.75 ± 0.67       | 0.013  |
| apo A-I (g/L)             | 1.47 ± 0.28      | 1.55 ± 0.28       | 0.041  |
| apo B (g/L)               | 1.07 ± 0.26      | 0.91 ± 0.29       | 0.002  |
| Nitrik oksid (µmol/L)     | 27.43 ± 3.16     | 39.5 ± 4.28       | <0.001 |

NS: anlamsız

bu yüksekliğe apo A-I değerleri de eşlik etmiştir (p=0.041). LDL-K düzeyleri tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında, HRT sonrası anlamlı düşme gözlenmiş (p=0.013), eş zamanlı olarak apo B düzeylerinde de anlamlı azalma (p=0.002) izlenmiştir.

### TARTIŞMA

Hiperkolesterolemi, sistemik hipertansiyon, sigara, diyabet ve östrojen yetersizliği endotel fonksiyonlarında bozukluğa yol açan etkenlerdendir. Endotelial disfonksiyon, anti-koagulan ve anti-inflamatuvar özelliklerin yetersiz kalması nedeniyle, aterosklerotik süreç için başlangıç noktası olarak görülmektedir (16). Nitrik oksid, nitrik oksid sentaz ile L-argininden sentezlenen endotel kökenli en önemli damar gevşeticidir. Bu etkisinin yanı sıra, trombosit agregasyonunu, lökosit adezyonunu ve lipid peroksidasyonunu farklı mekanizmalar ile önleyerek damar koruyucu ve endotel bütünlüğünü devam ettirici rol üstlenir (17). Bu bağlamda organizmadaki düzeyleri postmenapoz sürecinde endotelde gelişen aterosklerotik değişiklikler için kritik önem taşımaktadır.

Çalışmamızda postmenapozal kadınlarda 3 aylık HRT uygulamasının serum nitrik oksid düzeylerini anlamlı olarak yükselttiğini bulduk. Sonuçlarımız Konukoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olup, HRT ve nitrik oksid arasındaki bu ilişkinin HRT'nin kardiyoprotektif etkisini açıklamada kullanılabilir bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir (18). Endotel hücreleri östrojen reseptörü içerdiklerinden östrojen için doğal bir hedef oluştururlar. Bu steroid hormonun endotelial hücre kültüründe, nitrik oksid sentaz geninin transkripsiyonunu ve aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (10). Postmenapozal dönemde östrojen eksikliğinin dışarıdan verilerek giderilmesi 3 aylık kısa bir dönemde bile serum NO düzeylerini arttırmaktadır. Farklı klinik çalışmalar, HRT'nin endotelial fonksiyonun önemli bir göstergesi olan akış-aracılı dilatasyonu (flow-mediated dilation) % 60 oranında iyileştirdiğini işaret etmektedir (19,20). Bu iyileştirmenin büyük bir kısmı artmış NO sentezi ile ilgili olabilir. Gen düzeyine yansıyan NO artışı, postmenapozal dönemde izlenen yetersiz östrojene bağlı endotelial disfonksiyonu geri döndürmede önemli bir rol oynamaktadır. Nitrik oksid düzeylerinin artması, vazodilatör etkilerinin yanı sıra sahip olduğu anti-inflamatuvar, antiproliferatif ve antitrombotik etkinliklerini de artırarak, postmenapozal dönemde aterosklerotik risk faktörlerinin

etkisini azaltmaktadır (12). Progestagenlerin östrojenlerin üzerine olan negatif etkileri kısa süreli kullanımlarda endotel fonksiyonlarını etkilemediği yapılan iki çalışmada gösterilmiştir (19,20). Bu nedenle östrojen ve progestagenlerin birlikte kullanımı sonucu gözlemlenen NO artışı sadece östrojenlere ait bir sonuç olarak kabul edilebilir.

Östrojenlerin tek başına kullanımının lipoprotein metabolizması üzerine olan etkileri bilinmektedir. Oral olarak alınan östrojenler hepatik trigliserid sentezini ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) sekresyonunu artırır. Apolipoprotein B100 içeren lipoproteinlerin trigliserid yükünün artması, küçük dansiteli LDL (sdLDL) partikül sayısını arttırmaktadır. Bunun yanı sıra, östrojenler LDL reseptörlerini up-regüle ederek postmenapozal kadınlarda LDL eliminasyonunu hızlandırır (13). Sunulan çalışmada bu mekanizmayı doğrular şekilde LDL-K ve ilişkili apo B düzeyleri 3 aylık HRT tedavisi sonrası anlamlı azalma göstermiştir. Azalmış LDL-K düzeyleri ateroskleroz için azalmış risk anlamını taşımaktadır. Bazı deneysel çalışmalar östrojen kullanan postmenapozal kadınlarda, östrojenlerin LDL oksidasyonunu da önlediğini öne sürmektedir, fakat bu konuyla ilgili yeterli çalışma mevcut değildir.

Artmış apo A-I sentezi ve HDL yüksekliği östrojenlerin başka bir etkisidir (13). Çalışmamızda HRT öncesi ve sonrası total kolesterol ve trigliserid düzeylerinde anlamlı bir değişiklik göstermezken, HDL-K düzeyleri anlamlı artış göstermiştir. Bu yüksekliğe HDL-K'ün başlıca apoproteini olan apo A-I'in de eşlik etmesi, artışın her iki parametre için sentez düzeyinde olduğunu düşündürmektedir.

Hormon replasman tedavisinde olduğu gibi progestagenler ile birlikte verildiğinde östrojen-kökenli etkiler progestagenlerin etkisi ile ortadan kalkabilir. Farklı progestagenlerin farklı etkilere yol açabileceğinin gösterilmesi, literatürde birbiri ile çelişen sonuçları açıklamaktadır (13, 21,22). Örneğin medroksiprogesteron asetat, östrojenin TG ve HDL artırıcı etkisini ortadan tamamıyla kaldırırken, siproteron asetatın çok az etkiye sahip olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur (23).

Sunulan çalışmada, üç ay boyunca 11 gün östradiol-17-valerat ardışık olarak, son 10 gün ise 1mg/gün siproteron asetat ile kombine uygulamasının trigliserid ve total kolesterol değerlerini değiştirmeksizin HDL değerlerini arttırdığı görülmüştür. Bu sonuçlar, siproteron asetatın, östrojenden kaynaklanan yararlı etkiler üzerinde negatif etkili olmadığına işaret etmektedir.



Sonuç olarak kısa süreli HRT'nin endotelial fonksiyonu geri kazanmada NO üzerinden etkili olabileceği düşünülmektedir. Lipid profilinde meydana getirdiği değişikliklerin ateroskleroz için risk faktörü olan öğeleri azalttığı gösterilmiştir. Perimenapozal ve postmenapozal dönemdeki sağlıklı kadınlarda osteoporoz ve vazomotor şikayetlerin giderilmesinde kullanılan hormon preparatlarının, bu ilaçların kardiyovasküler ve lipid profiline olan etkileri göz önünde bulundurularak seçilmesi daha uygun olacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Kuhl H. Mechanisms of sex steroids: future developments. *Maturitas* 2004; 47(4):285-291
2. Timins JK. Current issues in hormone replacement therapy. *N J Med* 2004;101(3):21-27
3. Rosano GM, Vitale C, Silvestri A, Fini M. Hormone replacement therapy and cardioprotection: the end of the tale?. *Ann NY Acad Sci* 2003; 997:351-357
4. Arnal JF, Gourdy P, Elhage R et al. Estrogens and atherosclerosis. *Eur J Endocrinol* 2004;150(2):113-117.
5. Nakamura Y, Suzuki T, Miki Y et al. Estrogen receptors in atherosclerotic human aorta: inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation by estrogens. *Mol Cell Endocrinol*. 2004;219(1-2):17-26
6. Abizaid A, Albertal M, Costa MA et al. First human experience with the 17-beta-estradiol-eluting stent: the Estrogen And Stents To Eliminate Restenosis (EASTER) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(6):1118-21
7. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, et al. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:522-9.
8. Mishell DR, Mendelsohn ME. Introduction: The role of hormone replacement therapy in prevention and treatment of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 2002;89:1E-4E
9. Arnal JF, Gourdy P, Elhage R et al. Estrogens and atherosclerosis. *Eur J Endocrinol* 2004;150:113-117
10. Koh KK. Can a healthy endothelium influence the cardiovascular effects of hormone replacement therapy? *Int J Cardiol* 2003;87:1-8
11. Raymond W, Pace TP, Ahokas RA. Effect of short term hormone therapy on oxidative stress and endothelial function in African American and Caucasian postmenopausal women. *Fertility and Sterility* 2003;79(5):1118-1122
12. Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol* 2000;190:244-254
13. Godsland IF. Biology:risk factor modification byOCs and HRT lipids and lipoproteins. *Maturitas* 2004;47:299-203
14. Bories PN, Bories C Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clin Chem* 1995;41:904-907
15. Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PLM. Nitrite and nitrate determinations in plasma. A critical evaluation. *Clin Chem* 1995;41:892-896
16. Kojda G, Gewartig MT. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc Res* 2002;55:250-260
17. Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide* 2001;5:88-97
18. Konukoğlu D, Serin Ö, Yelke HK. Effects of hormone replacement therapy on plasma nitric oxide and total thiol levels in postmenopausal women. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A* 2000;60:81-87
19. Gerhard M, Walsh BW, Tawakol A. Et al. Estradiol therapy combined with progesterone and endothelium-dependent vasodilation in post-menapozal women. *Circulation* 1998;98:1158-1163
20. Koh KK, Jin DK, Yang SH. et al. Vascular effects of synthetic or natural progestagen combined with conjugated equine estrogen in healthy postmenaposal women. *Circulation* 2001;103:1961-1966
21. Salobir-Guzic B, Keber I, Seljeflot I, Arnesen H, Vrabic L. Combined hormone replacement therapy improves endothelial function in healthy postmenopausal women. *J Intern Med* 2001;250(6):508-515
22. Godsland I, Crook D, Simpson R, Proudler T, Felton C, Lees B, et al. The effects of different formulations of oral contraceptive agents on lipid and carbohydrate metabolism. *N Engl J Med* 1990;323:1375-1381.
23. Nugent AG, Leung KC, Sullivan D, Reutens AT, Ho KK. Modulation by progestogens of the effects of oestrogen on hepatic endocrine function in postmenopausal women. *Clin Endocrinol*. 2003; 59(6):690-8.