



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2009; 23 (1): 21 - 28
http://www.fusabil.org

Ovariektomize ve Diabetik Ratlarda E vitamini ve 17-β Estradiolün Lipit Peroksidasyon Seviyesi ile Plazma Lipit Değerleri Üzerine Etkileri*

Mustafa ULAŞ
Mehmet ÇAY

Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada, ovariektomili ve diabetli ratlarda 17-β estradiol (E₂) ve E vitamininin plazma glikoz, lipit profili ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkileri araştırıldı. Çalışmada, 70 adet Wistar albino dişi ratlardan rastgele 7 grup oluşturuldu. Grup 1: Kontrol, Grup 2: Ovariektomi + diabet, Grup 3: Ovariektomi + diabet + E₂, Grup 4: Ovariektomi + diabet + E₂ + E vitamini, Grup 5: Ovariektomi, Grup 6: Ovariektomi + E₂ ve Grup 7: Ovariektomi+ E₂ + E vitamini olarak ayrıldı. Altmış rata ovariektomi yapıldı. Ovariektomiden on beş gün sonra, diabet oluşturmak için, ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotocin (STZ) intraperitoneal (I.P.) olarak enjekte edildi. Diabet oluşumunu takiben, E₂ (40 µg/kg/gün) grup 3, 4, 6 ve 7'ye derialtı (S.C.) verildi; ilaveten E vitamini (100 mg/kg/gün) grup 4 ve 7'ye I.P. olarak yirmisekiz gün süreyle verildi. Çalışmadan elde edilen verilere göre, ovariektominin etkisine bağlı olarak grup 1'e kıyasla grup 5' te; glikoz, total kolesterol (TK), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K), çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (VLDL-K), trigliserit (TG), plazma ve eritrosit malondialdehit (MDA) seviyeleri artmış (p<0.001), fakat yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K, p<0.001) seviyesi azalmıştır. Ovariektominin olumsuz tablosuna karşı, E₂ veya E₂ + E vitamini verilen grupların (grup 6 ve 7); glikoz (p<0.01), TK (p<0.05, p<0.001), LDL-K, VLDL-K, TG (p<0.001), plazma ve eritrosit MDA (grup 7, p<0.001, p<0.01) seviyeleri azalmış iken HDL-K (p<0.001) seviyesi ise artmıştır. Diabetin ve ovariektominin etkilerine bağlı olarak, grup 5'e kıyasla grup 2'nin glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, glikozillenmiş hemogloblin (HbA_{1c}), plazma ve eritrosit MDA seviyeleri artmış (p<0.001), HDL-K seviyesi (p<0.01) ise azalmıştır. Diabet ve ovariektominin olumsuz etkilerine karşı, E₂ veya E₂ + E vitamini verilen grupların (grup 3 ve 4); glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c} (p<0.001), plazma ve eritrosit MDA (grup 4, p<0.001) seviyeleri azalmış iken, HDL-K seviyesi (p<0.01, p<0.001) ise artmıştır. Sonuç olarak, E₂ veya E₂ + E vitamini verilmesiyle, ovariektomili ve diabetli ratlarda bozulmuş lipit profili ve lipit peroksidasyon artışı sonucu oluşabilen ateroskleroz riski azaltılabilir.

Anahtar Kelimeler: Diabet, Ovariektomi, Estradiol, E vitamini ve Lipit peroksidasyon.

Effects of Vitamin E and 17-β Estradiol on Plasma Lipid and Lipid Peroxidation Levels in Ovariectomized and Diabetic Rats

In this study, the effects of 17-β estradiol (E₂) and vitamin E on the plasma, glucose, lipid profile and lipid peroxidation levels in ovariectomized and diabetic rats were investigated. In study, 70 female Wistar albino rats were randomly divided into 7 groups. Group 1: Control group, Group 2: Ovariectomy + diabetes, Group 3: Ovariectomy + diabetes + E₂, Group 4: Ovariectomy + diabetes + E₂ + vitamin E, Group 5: Ovariectomy, Group 6: Ovariectomy + E₂, and Group 7: Ovariectomy + E₂ + vitamin E. Sixty of rats were ovariectomized. After fifteen days from ovariectomy, to induce diabetes, rats were injected with streptozotocin (STZ) intraperitoneally (I.P.) at dose of, 45 mg/kg body weight. Following the formation of diabetes, E₂ (40 µg/kg/day) was administered subcutan (S.C.) to groups 3, 4, 6 and 7; additionally, vitamin E (100 mg/kg/day) was administered I.P. only to groups 4 and 7 for a period 28 days. According to the findings of this study, due to the effect of ovariectomy, glucose, total cholesterol (TC), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), very low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C), triglyceride (TG), and plasma and erythrocyte malondialdehyde (MDA) levels were found to increased (p<0.001), but HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol) level was decreased (p<0.001), in group 5 when compared with group 1. In spite of the negative scene of ovariectomy, in groups (groups 6, 7), glucose (p<0.01), TK (p<0.05, p<0.001), LDL-K (p<0.001), VLDL-K (p<0.001), TG (p<0.001), plasma and eritrosit MDA (group 7, p<0.001, p<0.01) levels reduced, but HDL-C level (p<0.001) was increased by administration of E₂ or E₂ + vitamin E. Due to the effects of ovariectomy and diabetes, glucose, TC, LDL-C, VLDL-C, TG, glycated hemoglobin (HbA_{1c}), plasma and erythrocyte MDA levels were found to increased (p<0.001), but HDL-C level was decreased (p<0.01) in group 2 when compared with group 5. In spite of this negative effects of ovariectomy and diabetes, in groups (groups 3, 4), glucose, TC, LDL-C, VLDL-C, TG, HbA_{1c} (p<0.001), plasma and erythrocyte MDA (group 4, p<0.001) levels reduced, but HDL-C level (p<0.001, p<0.01) was increased by administration of E₂ or E₂ + vitamin E. In conclusion, the risk of atherosclerosis resulting from increased lipid peroxidation and impaired lipid profile in ovariectomized and diabetic rats may be reduced by administrating E₂ or E₂ + vitamin E.

Key Words: Diabetes, Ovariectomy, Estradiol, Vitamin E and Lipid peroxidation.

Geliş Tarihi : 06.05.2008
Kabul Tarihi : 09.07.2008

Yazışma Adresi Correspondence

Mustafa ULAŞ
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
23119
Elazığ - TÜRKİYE

ulas.mustafa@yahoo.com

* Bu çalışma Mustafa Ulaş'ın (Tamser) doktora tezinin bir kısmının özettir. (FÜBAP No: 995)

Giriş

Diabetes mellitusta, aterosklerotik lezyonların oluşumu ve yayılması hızlanmakta olup özellikle de menopoz dönemdeki diabetli dişilerde, aterosklerozisin daha yaygın olduğu gözlenmiştir (1). Ayrıca, diabette oluşan kronik komplikasyonların etiopatogenezinde, hipergliseminin önemli bir rol aldığı birçok çalışma ile bildirilmiştir (1, 2). Bu konuda temel olarak; proteinlerin non-enzimatik glikozilasyonu, poliol yolundaki metabolik artış, glikoz ootoksidasyonu ve hemodinamik değişiklikler gibi mekanizmalar ele alınmıştır. Bu mekanizmalar sonucu meydana gelen serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu, diabete bağlı vasküler hasarın temelini oluşturduğu bildirilmiştir (2, 3). Yapılan araştırmalarda; postmenopozal diabetli hastalarda, oksijen kökenli serbest radikallerin kardiovasküler komplikasyonlardan sorumlu olduğu ve bu hastalarda antioksidan savunma mekanizmalarında azalmanın yanı sıra E₂'nin, hemostatik faktörler ile damarlar üzerindeki direkt ve indirekt etkilerinin ortadan kalkması gibi nedenlerden dolayı, E vitamini gibi güçlü antioksidanların bu hastalara verilmesi ile glikoz ve lipid metabolizmasının düzeltilebileceği belirlenmiştir (3, 4). E vitamini, biyolojik sistemlerde en önemli antioksidanlardan biridir. En önemli görevi, serbest radikallerin dejeneratif etkilerine karşı, hücre zarını koruyarak hücre bütünlüğünü sağlamaktır (5, 6). Bunun yanı sıra E vitamini gibi antioksidanlar, diabetiklerde enzimatik olmayan glikozillenmenin ilk aşaması olan maillard reaksiyonunu engelleyerek, proteinlerin glikozillenmesini azaltır (7). E₂, aromatik zincirindeki hidroksil gruplarından bir hidrojen atomunu, okside olmuş E vitamini radikaline verir ve E vitaminini yenileyerek etkin hale getirir. (8). Ayrıca E₂, dolaşımda lipoproteinlerle E vitamininin taşınması, dağılımı ve dokular tarafından alınması üzerinde önemli etkileri olduğu gibi serum, doku ve lipoproteinlerdeki E vitamini konsantrasyonunu artırdığı da bildirilmektedir (9). Ovariektomili ve diabetiklerde E₂ ve E vitamininin lipid peroksidasyon ve lipid profili değerlerine olan etkisiyle ilgili literatür bilgileri sınırlıdır. Bu nedenle çalışmamızda ovariektomili ve diabetik ratlarda E₂ ve E vitamini uygulamasının, aterosklerozda etkili olan lipid profili ve lipid peroksidasyonu üzerinde etkisinin olup olmadığı, şayet E₂'den kaynaklanan bir etki varsa, buna E vitamininin ne düzeyde katkı yapacağına araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada; ortalama canlı ağırlıkları 200 g olan 3 aylık, 70 adet Wistar albino dişi rat kullanıldı. Ratların beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi kullanıldı (Yem bileşimi Tablo 1'de gösterilmiştir). Ratlar, her bir grupta 10 adet olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Kontrol grubu hariç diğer gruplardaki ratların tümüne ovariektomi yapıldı. Ovariektominin 10-15 günlük iyileşme döneminden sonra grup 2, 3 ve 4'teki ratlarda diabet oluşturuldu. Bunun için, her bir rata 45 mg/kg tek doz STZ (Sigma Chemical Co., Louis Missouri), Fosfat-Sitrat tamponunda (0.1 M, pH:4.5) çözdürülerek I.P. olarak uygulandı. Enjeksiyondan üç gün sonra, ratların kuyruk ucundan alınan kan

örneklerinden glikoz düzeyleri (prestige glucometer) ölçüldü. Glikoz düzeyi 200 mg/dl üzerindeki ratlar, diabetli olarak kabul edildi. Gruplar ve yapılan diğer uygulamalar aşağıda belirtilmiştir:

Grup 1. Kontrol grubu: Ovariektomi ve diabet oluşturulmamış ratlara, plasebo I.P. olarak serum fizyolojik verildi.

Grup 2. Ovariektomi + diabet grubu: Ovariektomili ratlarda, yukarıda belirtildiği gibi STZ ile diabet oluşturuldu.

Grup 3. Ovariektomi + diabet + E₂ grubu: Ovariektomili ve diabetli ratlara, 40 µg/kg/gün dozunda E₂ S.C. olarak uygulandı

Grup 4. Ovariektomi + diabet + E₂ + E vitamini (dl-α-tocopheryl acetate) grubu: Ovariektomili ve diabetli ratlara, 40 µg/kg/gün dozunda E₂ S.C. ve 100 mg/kg/gün dozunda E vitamini I.P. uygulandı.

Grup 5. Ovariektomi grubu: Sadece ovariektomi yapılan ratlara, plasebo I.P. olarak serum fizyolojik verildi.

Grup 6. Ovariektomi + E₂ grubu: Ovariektomili ratlara, 40 µg/kg/gün dozunda E₂ S.C. olarak uygulandı.

Grup 7. Ovariektomi + E₂ + E vitamini grubu: Ovariektomili ratlara, 40 µg/kg/gün dozunda E₂ S.C. ve 100 mg/kg/gün dozunda E vitamini I.P. olarak uygulandı.

Tablo 1. Rat yemi bileşimi

Yem maddesi	Yüzde(%)
Buğday	30
Mısır	15
Arpa	10
Kepek (Buğday)	5
Soya Küspesi	30
Balık Unu	6.5
Limestone (Mermer Tozu)	2
Tuz	1
Methionin	0.25
*Vitamin ve Mineral Karışımı	0.25

*Vitamin A, D₃, K₃, B₁, B₂, B₆, B₁₂ ve C, nicotinamide, folic acid, d-biotin, choline chloride, mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt ve selenyum.

Uygulamalar 28 gün süre ile yapılmıştır. Kan örnekleri, 12 saatlik açlığı takiben eter anestezisi altında, kalpten punksiyon ile EDTA'lı tüplere alındı. Plazma glikoz, HbA_{1c} miktarı, TK, TG, LDL-K, VLDL-K ve HDL-K düzeylerinin tayinleri otoanalizörde (Olympus AU-2700, Japanese) ticari kitler (Olympus Diagnostica GmbH (Irish Branch), Lismehan O'Callaghan's Mill, Co. Clare, Ireland) kullanılarak bakıldı. Plazma ve eritrosit MDA seviyeleri, Matkovics (10) tarafından modifiye edilen

Placer (11) metoduna göre spektrofotometrede 532 nm'de ölçülerek belirlendi.

Çalışma bulgularının istatistiksel analizleri SPSS (11.5) bilgisayar programında yapıldı. Kan glikozu, HbA_{1c} miktarı ve TK, TG, LDL-K, VLDL-K, HDL-K seviyeleri ile plazma ve eritrosit MDA seviyelerinin grup ortalamaları arasındaki farklılıklar parametrik test varsayımları yerine geldiği için, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Gruplar arasında fark bulunduğu farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı LSD testi ile incelendi. İstatistiksel olarak p<0.05 ve daha küçük değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Gruplara ait, kan glikoz seviyesi, TK, HDL-K, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c} miktarı ve plazma ve eritrosit MDA düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiş olup, sonuçlar aritmetik ortalama ± standart hata (SE) olarak belirtilmiştir.

Grup 1'e kıyasla grup 5' te; glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG ve plazma ve eritrosit MDA seviyelerinde anlamlı bir artma (p<0.001), HDL-K seviyesinde ise anlamlı bir azalma (p<0.001) belirlenmiştir.

Grup 2'ye kıyasla grup 5'te; glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c}, plazma ve eritrosit MDA seviyelerindeki azalma (p<0.001), HDL-K seviyesindeki artma (p<0.01) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Diabet ve ovariektomili olan grup 2 ile grup 3 ve 4 karşılaştırıldığında; grup 3 ve 4' te glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c} (p<0.001) ve plazma ile eritrosit MDA (sadece grup 4) seviyelerinde önemli bir azalma (p<0.001), HDL-K seviyesinde ise önemli bir artış (sırasıyla p<0.01, p<0.001) tespit edilmiştir.

Grup 3'e kıyasla grup 4 ve 6'da; glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c} ve plazma ile eritrosit MDA seviyeleri artmış (p<0.001), HDL-K seviyesi ise azalmıştır (p<0.001). Ayrıca grup 4 ile grup 7 kıyaslandığında grup 7'de; glikoz, TK, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c}, plazma ve eritrosit MDA seviyelerinde önemli bir artış (p<0.001) gözlenmiştir.

Ovariektomi yapılmış grup 5'e kıyasla grup 6 ve 7'de; glikoz (grup 7, p<0.01), TK (sırasıyla p<0.05, p<0.001), LDL-K (p<0.001), VLDL-K (p<0.001), TG (p<0.001) ve plazma (grup 7, p<0.001) ve eritrosit (grup 7, p<0.01) MDA seviyelerinde azalma olmasına karşın, HDL-K seviyesinde önemli bir artış (p<0.001) belirlenmiştir.

Tartışma

Postmenopozal diabetli dişilerde, artan serbest radikal ürünleri veya antioksidant kapasitesinin azalması sonucunda beyin, kardiovasküler sistemlerde ateroskleroz oluşumu gözlemlenir (6). Ayrıca menopoz, hipoinsülinemi ve bozulmuş glikoz toleransına neden olmaktadır (14, 15). Buna ilaveten ovariektomi yapılmış ratlarda da, glikoneogenezin artması ve glikojen depolanmasının azalması sonucu plazma glikoz seviyesinin yükseldiği gözlenmiş bir gerçektir (14).

Çalışmamızda özellikle vurgulanan en önemli sonuçlardan bir tanesi ovariektomi yapılmış grubun glikoz değerlerinin kontrol grubuna kıyasla artması (p<0.001) olup, bu sonuç yukarıdaki bilgileri destekler niteliktedir.

Diabetilere verilen E₂'nin, glikoz metabolizmasına yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir (16, 17). Bu etkilerden biri, E₂'nin hepatik glikoz-6-fosfataz enzim aktivitesini inhibe etmek suretiyle hepatik glikoz üretimini baskıladığı, dolayısıyla plazma glikoz seviyesini azalttığıdır (18, 19). Ayrıca belirtilen farklı bir etkide ratların karaciğer, uterus gibi organlarında gözlemlenen glikoz alınıminin arttığı (20), beyinde ise GLUT 1 reseptörlerini çoğaltarak glikoz transportunu artırdığıdır (18). Tablo 2 incelendiğinde; E₂ uygulanan grupların, E₂ uygulanmayan gruplara göre kan glikoz seviyesinin azalması yukarıdaki bildirimlerle paralellik göstermektedir.

E vitamini, oksidatif stresi azaltarak hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ve protein glikozilasyonunu önlediği değişik çalışmalarda bildirilmiştir (21). Ayrıca okside olmuş E vitamini, E₂'nin aromatik zincirindeki OH gruplarından bir H atomunu vermesiyle oksidasyonun önlediği ve E vitamininin yenilediği belirtilmiştir (8). E₂'nin başka bir yararlı etkisi ise, E vitamininin taşınmasını (dolaşımdaki lipoproteinlerle), dağılımını ve alınımını artırması sonucunda E vitamininin serum, doku ve lipoproteinlerdeki konsantrasyonunu artırmasıdır (9). E₂ ve E vitaminini birlikte verdiğimiz gruplardaki glikoz seviyesinin, ikisinin bir arada verilmediği gruplara kıyasla azalmış (p<0.01, p<0.001) olması araştırmacıların bildirdiği çalışma sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu sonucumuzu destekleyen başka bir çalışmada ise, diabetik insan ve ratlara E vitamini verilmesi neticesinde kan glikoz seviyesinin azalacağı tespit edilmiştir (5, 6, 22).

Diabetiklerdeki dislipidemi tablosu, TK, TG, LDL-K, VLDL-K seviyelerinin yüksekliği ile düşük HDL-K seviyesi şeklinde kendini gösterir (1, 23). Diabetiklerdeki dislipidemi tablosunda görülen TK yüksekliği, postmenopozal kadınlar ve ovariektomi yapılmış ratlarda da olabileceği ve buna E₂ seviyesindeki azalmanın neden olabileceği belirtilmiştir (15, 19). Bu görüşlere paralel E₂ seviyesinin az olduğu çalışma gruplarımızdan olan grup 5'in TK seviyesinin kontrol grubuna kıyasla artış (p<0.001) göstermesi, E₂'nin olumlu etkisi yönünden önemlidir. Bu olumlu etkiye neden olarak E₂'nin, kolesterol sentezinde ilk enzim olan HMG KoA redüktazı inhibe etmesi gösterilmiştir (24). Bu konuda yapılan bir çalışmada postmenopozal diabetli kadınlara uygulanan E₂ tedavisinin TK seviyesini azalttığı bildirilmiştir (18, 22). Bu araştırmada da diabetli ve ovariektomili gruba E₂ tedavisinin, tedavi görmeyen diabetli ve ovariektomili gruba göre TK seviyesinin azaldığı (p<0.001) gözlenmiştir. Aynı şekilde E₂'nin TK seviyesi üzerine pozitif etkisini çalışma gruplarımızdan olan grup 5'le, E₂ verdiğimiz grup 6'yı kıyasladığımızda da gözlemledik (p<0.05).

Tablo 2. Tüm gruplara ait plazma glikoz, TK, HDL-K, LDL-K, VLDL-K, TG, HbA_{1c} miktarı ve plazma ve eritrosit MDA seviyelerinin karşılaştırılması (X ± SE).

Gruplar	Glikoz (mmol/L)	TK (mmol/L)	HDL-K (mmol/L)	LDL-K (mmol/L)	VLDL-K (mmol/L)	TG (mmol/L)	HbA _{1c} (mg/dl)	Plazma MDA (nmol/ml)	Eritrosit MDA (nmol/ml)
Grup 1 (Kontrol)	4,77±0,13	1,50±0,01	1,20±0,03	0,16±0,01	0,15±0,01	0,75±0,06	5,19±0,03	2,52±0,04	2,44±0,10
Grup 2 (OV+D)	30,56±0,44	2,00±0,01	1,10±0,00	0,46±0,03	0,45±0,01	2,24±0,05	8,03±0,01	3,72±0,08	3,80±0,06
Grup 3 (OV+D+E ₂)	28,14±0,60 ^b	1,94±0,02 ^b	1,13±0,01 ^c	0,41±0,01 ^b	0,40±0,02 ^b	1,99±0,12 ^b	7,82±0,14 ^b	3,63±0,06	3,77±0,06
Grup 4 (OV+D+E ₂ +E Vit.)	26,10±1,42 ^{b,d}	1,88±0,01 ^{b,d}	1,18±0,00 ^{b,d}	0,35±0,00 ^{b,d}	0,35±0,00 ^{b,d}	1,73±0,02 ^{b,d}	7,52±0,16 ^{b,d}	3,29±0,02 ^{b,d}	3,20±0,02 ^{b,d}
Grup 5 (OV)	6,37±0,20 ^{a,b}	1,73±0,02 ^{a,b}	1,13±0,02 ^{a,c}	0,30±0,02 ^{a,b}	0,29±0,02 ^{a,b}	1,46±0,11 ^{a,b}	5,23±0,07 ^b	2,79±0,06 ^{a,b}	2,61±0,06 ^{a,b}
Grup 6 (OV+ E ₂)	6,04±0,25 ^d	1,69±0,04 ^h	1,18±0,01 ^{d,f}	0,26±0,02 ^{d,f}	0,25±0,02 ^{d,f}	1,26±0,11 ^{d,f}	5,21±0,05 ^d	2,77±0,10 ^d	2,59±0,05
Grup 7 (OV+ E ₂ +E Vit.)	5,42±0,14 ^{e,g}	1,67±0,06 ^{e,f}	1,19±0,03 ^f	0,24±0,03 ^{e,f}	0,23±0,03 ^{e,f}	1,17±0,15 ^{e,f}	5,19±0,01 ^e	2,53±0,19 ^{e,f}	2,52±0,07 ^{e,g}

Grup 1 ile kıyaslandığında ^a: p<0.001.Grup 2 ile kıyaslandığında ^b: p<0.001, ^c: p<0.01.Grup 3 ile kıyaslandığında ^d: p<0.001.Grup 4 ile kıyaslandığında ^e: p<0.001.Grup 5 ile kıyaslandığında ^f: p<0.001, ^g: p<0.01, ^h: p<0.05.

E vitamini tedavisiyle, gerek diabetik postmenopozal kadınlarda gerekse ratlarda (25) ve farelerde (26), lipit metabolizmasının bozulmasına bağlı olarak, yükselmiş TK seviyesinin azaltılabileceği görüşü hakimdir. Bu görüşü destekleyen ve diabetik postmenopozal kadınlarla ilgili yapılan bir çalışmada, hastalara uygulanan E vitamini ile birlikte hormon replasman tedavisinin (HRT) TK seviyesi üzerinde azaltıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir (22). Yaptığımız çalışmada, E₂ ile birlikte E vitamini uygulanan grup 4'ün grup 2'ye göre TK seviyesinin azalması (p<0.001), aynı şekilde sadece ovariektomi yapılmış gruba göre grup 7'nin TK seviyesinin azalmış olması (p<0.001), bizi hormon ve vitamin birlikteliğinin olumlu etkilerinin olduğuna dair ipuçlarına götürmüştür.

HDL-K'nın, kardiyovasküler sistem üzerine en önemli yararlı etkisi, LDL-K'nın oksidasyonunu azaltmasıdır (1). HDL-K ile ilgili yapılan çalışmalar, E₂'den yoksun ovariektomili ratlardaki plazma HDL-K seviyesinin azalmış olması, E₂'nin HDL-K seviyesi üzerinde olumlu etkisini gösteren bir sonuçtur (27). Araştırmamızda, ovariektomi yapılmış grubun kontrole göre HDL-K seviyesinin anlamlı azalması (p<0.001) verilen bilgileri güçlendirmiştir. Bu duruma ilaveten, diabetiklerde de HDL-K'nın glikozillenmesi, reseptörlerine bağlanmanın aksamasına bağlı olarak kolesterol taşınmasının bozulmasına yol açması, göz ardı edilmeyecek diğer bir sonuçtur (1). Tip 2 diabetli hastalarla ilgili yapılan bir çalışmada, plazma HDL-K seviyesinin azalmış olduğu tespit edilmiştir (28). Bu çalışmada, sadece ovariektomi yapılmış gruba göre, ovariektomiye ilaveten diabet oluşturulmuş grubun HDL-K seviyesinin azalmış (p<0.01) olması yukarıda bahsi geçen bilgileri doğrulamaktadır.

Estradiol, karaciğerde HDL-K'yı taşıyan apoprotein AI (Apo AI)'in hepatik sentezini artırmak ve aynı zamanda HDL-K'nın yıkımını sağlayan hepatik lipazın aktivitesini ise azaltmak suretiyle plazma HDL-K seviyesini artırmaktadır (15, 29). Bu konuda gerek diabetli postmenopozal kadınlarla (17, 19), ve gerekse sadece postmenopozal kadınlarla yapılan çalışmalarda uygulanan E₂ tedavisinin, plazma HDL-K seviyesini artırdığı ifade edilmektedir (15, 17). Çalışmamızda, diabetli ve ovariektomili gruba uyguladığımız E₂ tedavisinin, bu tedaviden yoksun grup 2'ye göre HDL-K seviyesindeki artışın sağlanması (p<0.01) yukarıda belirtilen ifadeleri destekler niteliktedir. Bu duruma ilaveten, E₂ tedavisi uyguladığımız diğer bir grup olan grup 6'da, grup 5'e göre HDL-K seviyesinin artması da (p<0.001) E₂ tedavisi yönünden diğer bir anlamlı sonuçtur.

E vitamini, hem HDL-K ve hem de diğer lipoproteinlerdeki lipitlerin oksidasyonunu inhibe etmesi bilinen bir gerçektir. Araştırmacılar bu duruma E₂'nin, HDL-K ve diğer lipoproteinlerdeki E vitamini konsantrasyonunu artırarak katkı sağladığını çalışmalar neticesinde vurgulamışlardır (30, 31). Konuyla ilgili çalışmalarda, E vitamini tedavisi gören tavşanların HDL-K seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (5, 25). Elde ettiğimiz sonuçlara göre, E vitamini verilen gruplarla

(grup 4 ve 7) E vitamini verilmeyen gruplara (grup 2 ve 5) nazaran HDL-K seviyesinin artmış olması (p<0.001) E vitamini tedavisinin olumlu bir sonucudur.

LDL-K'nın, diabetli hastalarda daha fazla glikozilasyon ve oksidasyona eğilimli oldukları, diabeti olmayan hastalarla kıyaslanmasıyla ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca gerek postmenopozal kadınlar ve gerekse ovariektomi yapılmış ratlarda, E₂ seviyesinin düşmesinden dolayı, LDL-K düzeylerinde artış olduğu bildirilmiştir (1, 30). Araştırmamızda, ovariektomi yapılmış grubun kontrole göre LDL-K seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı artması (p<0.001) verilen bilgileri güçlendirmiştir. Buna ilaveten diabetik ve ovariektomili grubumuz olan grup 2'nin sadece ovariektomili grup 5'e göre LDL-K seviyesinin artmış (p<0.001) olması, diabetin olumsuz etkisine bağlı olabilir.

Estradiol, karaciğerde hepatik lipazı inhibe etmek suretiyle VLDL-K'nın LDL-K'ya dönüşümünü azaltması çeşitli çalışmalarla ispat edilmiştir. Ayrıca, araştırmacılar E₂'nin LDL-K reseptörlerini etkilemek suretiyle reseptör sayısını ve LDL-K'yı taşıyan proteinlerin sentezini artırmasını da vurgulamışlardır (24). Elde ettiğimiz sonuçlarda, grup 2'ye kıyasla E₂ verdiğimiz grup 3'ün LDL-K seviyesinin azaldığı (p<0.001) görülmüştür. Diğer bir sonuç da ise grup 5'e göre E₂ uyguladığımız grup 6'nın (p<0.001) LDL-K seviyesinin azalmış olması, araştırmacıların bildirdikleriyle paraleldir. Bu konuyla ilgili başka bir çalışmada ise gerek derialtı gerekse oral yolla verilen E₂'nin postmenopozal kadınlarda plazma LDL-K seviyesini azaltması bulduğumuz sonuçlarla benzerlik arz etmektedir (15, 32). Hormon + vitamin birlikteliğinin etkisini gözlemek amacıyla çalışmadaki, E₂ ile birlikte E vitamini verilen grup 4'ün grup 2'ye göre LDL-K seviyesinin azalmış olması, birlikteliğinin olumlu etkisi yönünden önemlidir. Aynı şekilde E₂ ve E vitamini birlikte verdiğimiz diğer bir grup olan grup 7'nin grup 5'e göre LDL-K seviyesinin azalmış (p<0.001) olması sonucu da, bu birlikteliğinin önemini daha da artırmaktadır. Aynı mantıkla diabetli postmenopozal kadınlarla yapılan çalışmalarda, bu hastalara uygulanan E vitamini ve HRT tedavisiyle (22) veya sadece E vitamini tedavisiyle (5) LDL-K seviyesinin azalmış olması, çalışmamız sonuçlarını desteklemektedir.

LDL-K'nın ön maddesi olan VLDL-K seviyesinin kalıcı yüksekliği ateroskleroz gelişiminde önemli bir risk teşkil eder (1,22). Bu konuda yapılan çalışmalarda, hem postmenopozal kadınlarda ve hem de ovariektomi yapılan ratlarda, E₂ seviyesindeki önemli düşüşten dolayı VLDL-K seviyesinde önemli bir artış olduğu bildirilmiştir (15, 24). Ayrıca diabetlilerde, VLDL-K yapısındaki Apo B100'ün glikozillenmesi VLDL-K'nın hepatik dokular tarafından alınmasını güçleştirdiğinden dolayı, dolaşımdaki VLDL-K seviyesi artmaktadır (1). Çalışmamızda, gerek ovariektomi yapılmış grup 5'in grup 1'e ve gerekse ovariektomi + diabet oluşturulmuş grup 2'nin grup 5'e kıyasla VLDL-K seviyelerinin anlamlı artışı (p<0.001), verilen bildirim sonuçlarıyla örtüşmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise postmenopozal diabetli hastaların (22) veya sadece postmenopozal kadınlara E

vitamini ve HRT uygulamasının VLDL-K seviyesini azalttığı rapor edilmiştir (17, 24). Araştırmada elde ettiğimiz sonuçları incelediğimizde; sadece E₂ verilen grupların, E₂ verilmeyen grup 2 ve 5'e göre VLDL-K seviyelerinin azaldığı (p<0.001) gözlenmiştir.

E vitamini, VLDL-K'nin glikozilasyon ve oksidasyonunu önleyerek plazmada artmış VLDL-K seviyesini normal seviyeye döndürdüğü, postmenopozal diabetliler (33) ile tavşanlar (25) üzerinde yapılan çalışmalarda ispatlanmıştır. Çalışma bulguları incelendiğinde, E₂ ile birlikte E vitamini uygulanan grupların, uygulanmayan gruplara (grup 2 ve 5) göre VLDL-K seviyesinde anlamlı azalma (p<0.001), bildirimlerle paralellik göstermektedir.

Endotel hücrelerinde bulunan lipoprotein lipaz, TG'leri hidrolize ederek yağ asitlerinin dokulara geçişini sağlamaktadır. Ayrıca E₂'nin lipoprotein lipaz aktivitesini artırdığı göz önüne alındığında, postmenopozal kadınlarda ve ovariektomili ratlarda E₂ seviyesinin azalması plazma TG seviyesini artırmış olabilir (6). Ovariektomili ratlar (34) ve postmenopozal kadınlarla (15, 19) yapılan çalışma sonuçlarına bakıldığında, plazma TG seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Çalışmamızda, sadece ovariektomi yapılmış grubun kontrol gruba kıyasla, TG seviyesinin anlamlı bir şekilde artması (p<0.001) yukarıdaki bilgilerle örtüşmektedir.

Diabetiklerde insülin eksikliğinden dolayı hormona duyarlı lipaz ve lipoprotein lipaz aktivitesinin azalması sonucu VLDL-K ve şilomikron katabolizması yavaşlar. Böylece plazma TG seviyesi yükselir (1, 35). Çalışmamızda da grup 5'e kıyasla diabetik ve ovariektomili olan grup 2'nin TG seviyesinin anlamlı şekilde artması (p<0.001) yukarıda zikredilmiş diabetin etkisine bağlı olacağı şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca gerek oral yolla ve gerekse S.C. yolla E₂ tedavisinin uygulandığı diabetli (29) veya postmenopozal kadınlarda (15, 29) TG seviyesinin azalması verilen bilgilerle uyum sağlamaktadır. Araştırmamızda da, derialtı yoluyla sadece E₂ verdiğimiz grupların TG seviyesi, bu tedavinin uygulanmadığı grup 2 ve 5'e göre anlamlı bir azalma (p<0.001) gösterdiğini tespit ettik. Başka bir çalışmada, diabetli postmenopozal kadınlara uygulanan E vitamini ve/veya HRT tedavisinin TG seviyesini azalttığı belirtilmektedir (22). Aynı şekilde, çalışmamızda TG seviyesinin, E vitamini ile E₂'yi birlikte uyguladığımız gruplarda, uygulama yapılmayan gruplara (grup 2 ve 5) göre azaldığını (p<0.001) tespit ettik.

Diabetik hastalarda, hemoglobinde oluşan glikozilasyon, hemoglobinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. Ayrıca oksijene ilgisi yüksek olan HbA_{1c} miktarının artması sonucunda doku hipoksisi gözlenmiştir (1). Bu konuda yapılmış çalışmaların birinde, tip 1 diabetli hastaların HbA_{1c} miktarının arttığı tespit edilmiştir (16, 18). Araştırmamızda da diabetikli ve ovariektomili grubumuzun grup 5'e göre HbA_{1c} miktarının anlamlı şekilde artması (p<0.001) yukarıda verilen bilgilerle benzerlik göstermektedir.

E₂'nin, gerek hepatik glikoz üretimini azaltıp, gerekse hepatik glikoz alınımlarını artırması nedeniyle glisemik kontrol üzerine yararlı etkileri olabileceği düşünülebilir. Nitekim bu konuda yapılan çalışmalarda da, diabetli postmenopozal kadınlara E₂ verilmesinin HbA_{1c} miktarının azalmasına yol açtığını bulmuşlardır (16, 18). Araştırma bulgularımızda, grup 2'ye kıyasla E₂ eklediğimiz grup 3'deki HbA_{1c} miktarının azalması (p<0.001) sunulan literatür bilgileriyle örtüşmektedir.

E vitamini glikozillenmenin ilk aşaması olan maillard reaksiyonunu engelleyerek proteinlerin glikozillenmesini azaltır (7). Bu konuda yapılan araştırmalarda, diabetli postmenopozal kadınlara E vitamini ve HRT (26) veya sadece HRT (36) veya sadece E vitamini (100–200 IU/gün) tedavisiyle (37) plazma HbA_{1c} miktarının azaldığı bildirilmiştir. Bulgularımızda, E vitamini verilen grup 4'ün grup 2'ye göre HbA_{1c} miktarının azalmış (p<0.001) olması E vitamini ile birlikte E₂'nin, HbA_{1c} miktarı üzerinde olumlu bir etkisinin olduğunu doğrular niteliktedir.

Diabet gibi hastalık durumları ile menopoz gibi fizyolojik durumlarda serbest radikal oluşumu artar. Diabetiklerde bu artışın nedeni damar duvarında ve plazmada bulunan proteinlerin glikozilasyonudur. Bu nedenle artmış alkoksi ve peroksi radikalleri yüksek reaktivitelerinden dolayı, membrandaki çoklu doymuş yağ asitlerine (PUFA) saldırarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Bu şekilde oluşan lipid peroksidatları kolaylıkla yıkılarak MDA gibi çok toksik sekonder aldehit ürünlerine dönüşürler (2, 24, 38). Bu konuda yapılan çalışmalarda postmenopozal kadınların plazma MDA seviyesinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (24). Çalışmamızda da, deneysel menopoz oluşturduğumuz grup 5'in kontrol grubuna göre plazma ve eritrosit MDA seviyelerinde istatistikî yönden anlamlı bir artış (p<0.001) göstermiştir. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada, diabetli hastalarda plazma ve eritrosit MDA seviyelerinin yüksek olduğu belirtilmiştir (39). Çalışmamızda, diabetik + ovariektomili grubun plazma ve eritrosit MDA seviyesinin, grup 5'e göre arttığını (p<0.001) tespit ettik.

E vitamini gibi antioksidanların seviyelerinin yüksek olmasına E₂'nin etki ettiği araştırılmış bir gerçektir (40). Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmaların birinde E vitamini ile HRT uygulanan diabetik postmenopozal kadınların plazma ve eritrosit MDA seviyelerinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (26). Buna ek olarak sadece E vitamini uygulamasının yapıldığı postmenopozal kadınlar (100–200 IU/gün) ve postmenopozal tip 1'li diabetik hastalarda (37), plazma ve eritrosit MDA seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Aynı sonuç tip 1 diabetik hastalar (41) ile tavşanlarla (25) yapılan çalışmalarda da bulunmuştur. Bulgularımızda da, E₂ ile E vitamini kombine olarak verdiğimiz grup 4'ün grup 2'ye kıyasla, plazma ve eritrosit MDA seviyelerinde önemli bir azalma olduğu (p<0.001) tespit edildi. Diğer bir E vitamini + E₂ grubumuz olan grup 7'nin grup 5'e göre plazma ve eritrosit MDA seviyelerinin azalması (p<0.001 ve p<0.001) istatistikî açıdan önemli bulunmuştur. Bu

sonuçlara göre E₂ ve E vitamini, lipit peroksidlerin oluşumunu azaltmakla MDA seviyesini azalttığı ifade edilebilir.

Ovariektomili ve diabetli ratların LDL-K, VLDL-K, TK, TG, MDA ve HbA_{1c} değerlerindeki anlamlı artışın, HDL-K seviyesinde ise anlamlı azalmanın diabetin ve ovariektominin olumsuz etkileri olabileceği, diabet ve ovariektominin bu olumsuz etkilerine karşı, E₂ veya E₂ ve

E vitamininin birlikte verilmesinin lipit peroksidasyonunun önlenmesine ve lipit tablosunun düzelmesine katkı sağlayacağı düşünülebilir. Sonuç olarak, ateroskleroz riskinin oluşmasında en önemli nedenler arasında; menopoz ve diabet olduğu ve bunlara bağlı olarak gerçekleşen, olumsuz lipit profili dikkate alındığında, E₂ veya E₂+E vitamini uygulanmasının, ateroskleroz riskinin azalmasında etkili olabileceği ifade edilebilir.

Kaynaklar

1. Yenigün M, Altuntaş Y. Her yönüyle diabetes mellitus. 2. Baskı, İstanbul: Nobel, 2001.
2. Persky AM, Green PS, Stubley L et al. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle *in vivo* and *in vitro*. (44463). P.S.E.B.M. 2000; 223: 59-66.
3. Costa da Vieira VA, Vianna LM. Effect of α-tocopherol supplementation on blood pressure and lipidic profile in streptozotocin-induced diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats. Clinica Chimica Acta 2005; 351: 101-104.
4. Ertüngealp E, Seyisoğlu H. Menopoz ve osteoporoz. İstanbul: 2000.
5. Çay M, Nazıroğlu M. Effects of intraperitoneally - administered vitamin E and selenium on the blood biochemical and haematological parameters rats. Cell Biochem 1999; 17(2): 143-148.
6. Aydılek N. Testosteron ve E vitaminin tavşanlarda bazı pıhtılaşma faktörleri lipit peroksidasyonu ve lipit değerleri üzerine etkileri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2002.
7. Ceriello A, Guigliano D, Quatraro A et al. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes new prospect for prevention of diabetic complications? Diabetes Care 1991; 14(1): 68-72.
8. Wen YC, Doyle MCT, Harrison RF, Feely J. The effects of hormone replacement therapy on vitamin E status in postmenopausal women. Maturitas 1997; 26: 121-124.
9. Clemente C, Caruso MG, Berloco P et al. α-Tocopherol and β-Carotene serum levels in postmenopausal women treated with transdermal estradiol and oral medroxyprogesterone acetate. Horm Metab Res 1996; 28: 558-561.
10. M. Huang, Li J, Teoh H, Man RY. Low concentrations of 17β-estradiol reduce oxidative modification of low-density lipoproteins in the presence of vitamin C and vitamin E. Free Radical Biology & Medicine 1999; (27): 438-441.
11. Shwaery GT, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidant protection of LDL by physiological concentrations of 17β-estradiol. 17β-Estradiol requirement for estradiol modification. Circulation 1997; 95: 1378-1385.
12. Matkovics B, Szabo L, Varga IS. Determination of enzyme activities in lipid peroxidation and glutathione pathways. Laboratorumi Diagnosztika 1998; 15: 248-249.
13. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. Anal Biochem 1966; 16: 359-364.
14. Poehlman ET. Menopause, energy expenditure and body composition. Acta obstet Gynecol Scand 2002; 81: 603-611.
15. Seed M. The choice of hormone replacement therapy or statin therapy in the treatment of hyperlipidemic postmenopausal women. Atherosclerosis Supplements 2002; 3: 53-63.
16. Okada M, Nomura S, Ikoma Y et al. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on HbA_{1c} levels. Diabetes Care 2003; 26: 1088-1092.
17. Crook D, Godsland IF, Hull J et al. Hormone replacement therapy with dydrogesterone and 17β-oestradiol: effects on serum lipoproteins and glucose tolerance during 24 month follow up. British Journal Obstetrics and Gynaecology 1997; 104: 298-304.
18. Sandoval DA, Ertl AC, Richardson MA et al. Estrogen blunts neuroendocrine and metabolic responses to hypoglycemia Diabetes 2003; 52: 1749-1775.
19. Cefalu WT. The use of hormone replacement therapy in postmenopausal women with type 2 diabetes. Journal of Women's Health and Gender-Based Medicine 2001; 10(3): 241-255.
20. Fraser H, Davidge ST, Clanachan AS. Enhancement of post-ischemic myocardial function by chronic 17β-estradiol treatment: role of alterations in glucose metabolism. J Mol Cell Cardiol 1999; 31: 1539-1549.
21. Üstündağ B, Çay M, Özercan İ.H, Nazıroğlu M, İlhan N. Streptozotocinle deneysel diabet oluşturulmuş ratlarda vitamin E'nin kan glukoz düzeyi ve nefropatik komplikasyonlar üzerindeki etkisi. Fırat Tıp Dergisi 1996; 1(2): 73-78.

22. Nazıroğlu M, ŐimŐek M, ŐimŐek H, Aydilek N, Őzcan Z, Atılgan R. The effects of hormone replacement therapy combined with vitamins C and E on antioxidant levels and lipid profiles in postmenopausal women with Type 2 diabetes. *Clinica Chimica Acta* 2004; 344: 63-71.
23. Manuel-y-Keenoy B, Vinckx M, Vertommen J et al. Impact of Vitamin E supplementantion on lipoprotein peroxidation and composition in Type 1 diabetic patients treated with Atorvastatin. *Atherosclerosis* 2004; 175: 369-376.
24. Inal M, Sunal E, Kanbak G et al. Effects of postmenopausal hormone replacement and alpha-tocopherol on the lipid profiles and antioxidant status. *Clinica Chimica Acta* 1997; 268(1-2): 21-29.
25. GökkuŐu C, Mustafazadeh T. Changes of oxidative stress in various tissues by long-term administration of vitamin E in hypercholesterolemic rats. *Clinica Chimica Acta* 2003; 328: 155-161.
26. Ferber P, Moll K, Koschinsky T et al. High dose Supplementation of RRR-alpha-tocopherol decreases cellular hemostasis but accelerates plasmatic coagulation in type 2 diabetis mellitus 1999; *Horm Metab Res.* 31(12):665–671.
27. Parini P, Angelin B, Stavreus-Evers A et al. Biphasic effects of the natural estrogen 17β-Estradiol on hepatic cholesterol metabolism in intact female rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1817-1823.
28. Huang EJ, Kuo WW, Chen YJ et al. Homocysteine and other biochemical parameters in Type 2 diabetes mellitus with different diabetic duration or diabetic retinopathy. *Clinica Chimica Acta* 2006; 366: 293-298.
29. Darko DA, Dornhorst A, Keenedy G et al. Glycaemic control and plasma lipoproteins in menopausal women with Type 2 diabetes treated with oral and transdermal combined hormone replacement therapy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2001; 54: 157-164.
30. Robert S. Robenson. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004; 173: 1-12.
31. Noh SK, Koo SI, Jeon IJ. Estradiol replacement in ovariectomized rats increases the hepatic concentration and biliary secretion of α-tokofherol and polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* 1999; 10: 110-117.
32. Wu J, Norris LA, Wen YC et al. (1996). The effects of hormone replacement therapy on plasma vitamin E levels in post-menopausal women. *European Journal of obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 66 151-154.
33. Lubin BJ, Machlin L. Vitamin E, biochemical, hematological, and clinical aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1982; 393.
34. Mukherjea M, Bismas R. Effect of ovariectomy and replacement therapy on the tissue lipid pattern in rats. *Endocrinologie* 1975; 66(2): 113-21.
35. Kaseta JR, Scafar DF, Ram JL et al. Cardiovasculer disease in the diabetic woman. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999; 84(6): 1835-1838.
36. Prelevic GM, Kwong P, Byrne DJ et al. A cross-sectional study of the effects of hormon replacement therapy on the cardiovascular disease risk profile in healthy postmenopausal women. *Fertility and Sterility* 2002; 77(5): 945-951.
37. Sushil K, Jain Phd Robert Mcvie et al. Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentrations in erythrocytes of type 1 diabetic children. *Diabetes Care* 2000; 23: 1389–1394.
38. K Komosinska-Vassev, K. Olezyk, P. Olezyk, K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and clinical Practice* 2004; 1-10.
39. Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V et al. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 293-298.
40. Massafra C, Gioia D, De Felice C, Picciolini E et al. Effects of estrogen and androgens on erythrocyte antioxidant superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities during the menstrual cycle. *Journal of Endocrinology* 2000; 167: 447-452.
41. Muis MJ. α-Tocopherol levels in plasma in new-onset, insulin-dependent diabetes mellitus. *European Journal of İnternal Medicine.* 2004; 15 371-374.