

## Postmenopozal osteoporozlu hastalarda proteinler ve lipidlerdeki oksidatif stresin değerlendirilmesi

### *Evaluation of protein and lipid oxidative stress in the patients with postmenopausal osteoporosis*

Banu Çavdaroğlu<sup>1</sup>, Nurgül Köse<sup>2</sup>, Gülden Başkol<sup>3</sup>, Hüseyin Demir<sup>4</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Oksidatif stres, osteoporozu da içeren pek çok patolojik durumda hücresel fonksiyonları değiştirebilir. Biz bu çalışmada postmenopozal osteoporozlu hastalarda oksidatif stresi değerlendirmek için, reaktif oksijen türleri (ROS) ile indüklenen lipid peroksidasyonu son ürünü malondialdehit (MDA), protein oksidasyonu son ürünü ileri düzey protein oksidasyonu ürünleri (AOPP), antioksidan olarak bilinen Thiol, lipid antioksidanı olarak bilinen serum paraoksonaz 1 (PON 1) aktivitesini belirlemeyi amaçladık.

**Yöntemler:** Bu çalışmaya postmenopozal osteoporoz tanısı konan 59 hasta alındı. 21 sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırması yapıldı. Serum AOPP, MDA, thiol düzeyleri ve PON 1 aktivitesi enzimatik spektrofotometrik metotla ölçüldü.

**Bulgular:** Serum MDA, AOPP ve thiol seviyeleri kontrol grubuna göre hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p<0,05$ ). PON 1 aktivitesi kontrol grubuna göre hasta grubunda düşük bulundu.

**Sonuç:** Osteoporozlu hastalarda artmış ROS düzeyleri prooksidan bir durum oluşturarak, AOPP, MDA düzeylerinin yükselmesine neden olur. Sonuç olarak lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu osteoporoz patogenezinde rol oynayabilir.

**Anahtar kelimeler:** Lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, osteoporoz, oksidatif stres

#### ABSTRACT

**Objective:** Oxidative stress may change cellular function in multiple pathological conditions, including osteoporosis. We aimed to determine malondialdehyde (MDA) levels, advanced oxidation protein products (AOPP), levels end products of protein oxidation, thiol as known antioxidant, serum paraoxonase 1 (PON1) activities as known lipid antioxidant, induced by reactive oxygen species (ROS) for evaluating oxidative stress in osteoporotic patients.

**Methods:** 59 patients diagnosed with postmenopausal osteoporosis were included in the study and compared with 21 healthy controls. Serum AOPP, MDA, thiol levels and PON1 activity were measured according to an enzymatic spectrophotometric method.

**Results:** The serum MDA, AOPP, and thiol levels was significantly higher in the patient group than controls ( $p<0.05$ ). PON1 activity was found lower in the patients group than the control group.

**Conclusion:** Increased ROS levels in osteoporotic patients may result in a pro-oxidation environment, which in turn could result in increased MDA, AOPP. As a result, lipid peroxidation and protein oxidation may have a role in the pathogenesis of the osteoporotic patients.

**Key words:** Lipid peroxidation, protein oxidation, osteoporosis, oxidative stress

<sup>1</sup> Özel Sarıyer Tıp Merkezi, Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

<sup>2</sup> Metin Sabancı Baltalimanı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, İstanbul

<sup>3</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı, Kayseri

<sup>4</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim dalı, Kayseri

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Nurgül Köse,

Merkez mah. Burcu sok. Meva evler sitesi. A Blok 2/18 Kağıthane/İstanbul Email: nurgulftr@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 18.08.2013, Kabul Tarihi / Accepted: 09.10.2013

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2014, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

## GİRİŞ

Osteoporoz (OP) yüksek prevelanslı mortalite ve morbidite sebebi olan; düşük kemik kütlesi ve kemiğin mikro yapısında bozulma sonucunda kemik kırılma oranının artışı ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığı olarak tanımlanmaktadır [1].

Kemik, osteoklastlar ve osteoblastlar gibi çeşitli tip hücrelerden oluşan kompleks bir dokudur ve bu hücreler kemik remodelingi denen ve sürekli devam eden bir yenilenme ve tamir sürecinin primer aktörleridir. Bu süreç sırasında bu iki tip hücrenin aktiviteleri arasında bir denge vardır ve bu denge çeşitli hormonlar ve sitokinler tarafından dikkatli bir şekilde düzenlenir [2,3].

Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup sonuçta doku hasarına neden olmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda kemik mineral yoğunluğu ve oksidatif stres arasındaki ilişki gösterilmiş ve oksidatif stresin osteoporoz gelişmesinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmiştir [4-6]. Serbest radikaller birçok metabolik sürece katılırlar. Büyük çoğunluğu in vivo üretilen bu radikaller proteinler, yağ asitleri, karbonhidratlar ve nükleotitler gibi molekülleri okside ederek hasara neden olurlar ve aterosklerozis, kardiyovasküler hastalıklar, serebral doku hasarları, infeksiyonlar ve yaşlanma sürecindeki kimi hastalıklarda rol oynarlar [7]. Bununla birlikte insan vücudunda oksidanlarla lipid peroksidasyonu sonucu malondialdehid (MDA) [8,9], protein oksidasyonu sonucu ileri düzey protein oksidasyonu (AOPP) [10] oluşur ve vücuttaki vitamin A, C ve E, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, albümin, tiol gibi antioksidan moleküller ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, paraoxonase 1 (PON1) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimler de bu moleküllere karşı savunma mekanizmasını oluşturur [11].

Bu çalışmanın amacı postmenopozal OP'da protein ve lipid oksidatif stresinin rolünü araştırmaktı. Bu amaçla tedavi alan ve almayan postmenopozal osteoporozlu hastalarda ve osteoporozu olmayan postmenopozal kadınlarda; antioksidan enzim aktiviteleri, antioksidan molekül düzeyleri, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ürünlerinin kandaki seviyelerine bakıldı.

## YÖNTEMLER

Ocak 2007 ile Eylül 2007 tarihleri arasında, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon polikliniğine başvuran ve postmenopozal OP tanısı konan 59 hasta ve kontrol grubu olarak 21 postmenopozal sağlıklı birey çalışmaya alındı. 35 hastadan oluşan I. grup osteoporoz tedavisi almayan hastalardan, 24 hastadan oluşan II. grup osteoporoz tedavisi alan hastalardan, 21 hastadan oluşan III. grup sağlıklı kontrol hastalarından oluşturuldu. Hastalar ve kontrol grubundakiler çalışma hakkında bilgilendirildi. Çalışma için etik kurul onayı alındı (Erciyes Üniversitesi Etik Kurul No: 06.02.2007/63). Grupların tam kan sayımı, eritrosit sedimantasyon hızı (ESH), C reaktif protein (CRP), kan biyokimyasal değerlerinden açlık kan şekeri (AKŞ), kreatinin, kan üre azotu (BUN), alkalen fosfat (ALP), serum glutamik oksaloasetat transaminaz (SGOT), serum glutamik piruvat transaminaz (SGPT), kan kalsiyumu ve fosfor düzeyleri, ileri düzey protein oksidasyon ürünü AOPP, lipid peroksidasyonu son ürünü MDA, bir antioksidan olan Thiol ve bir antioksidan enzim olan PON1 seviyelerine bakıldı. Sekonder osteoporoz ekartasyonu için serum serbest T3, T4, tiroid stimulan hormon (TSH), parathormon (PTH), folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinize edici hormon (LH), prolaktin (PRL), seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG), dihidroepiandrosteron sülfat (DHEA-SO4), serbest testosteron ölçümleri yapıldı.

### Malondialdehit (MDA) ölçümü

Serum MDA tayini Ohkawa ve ark.[35] tarafından geliştirilen metodla gerçekleştirildi. Metodun prensibi, lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürik asit(TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır

### AOPP ölçümü

AOPP tayini, Witko-Sarsat ve arkadaşları [36] tarafından geliştirilen spektrofotometrik metodla gerçekleştirildi. Fosfat tamponu (PBS pH 7.4) ile dilüe (1:5) edilen serum ve kloramin -T standart çözeltilerinin (0-200 µmol/L) 400 µL'sine 200 µL asetik asitve 100 µL 1.16mol/L KI ilave edildi. Reaksiyon karışımının absorbanı spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda ölçüldü. AOPP düzeyleri, kloramin-T ekivalentlerinden µmol/L olarak belirlendi.

### Thiol ölçümü

Plazma thiol seviyelerinin tayini, Hu ML ve arkadaşlarının geliştirdiği metodla gerçekleştirildi. Metod serbest thiol gruplarının 5.5-ditiyo bis (2 nitrobenzoik asit) (DTNB) ile oksitlenmesi sırasında oluşan koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'nin renk şiddetinin 412 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır [37].

### Plazma Paraoksonaz Seviyesi Ölçümü

Plazma paraoksonaz aktivitesi ölçümü substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofenolün ölçümü esasına dayanan Ruiz ve ark. [38] metodu ile ölçüldü. Plazma paraoksonaz düzeyleri; 2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 1 mol/L NaCl ve 2 mmol/L paraokson (O-O-dietil-O-p-nitrofenilfosfat) içeren 0.1 mol/L pH:8 Tris-HCl buffer çözeltisi kullanılarak; 1400 µl bu reaktif karışımına 40 µl serum örneğinin ilave edilmesiyle oluşan 4-nitrofenolün 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlendi.

### Ölçümler

Bu çalışmada tam kan sayımı Coulter- MaxM®-USA cihazında empetan yöntemi ile ölçüldü. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH); westergreen yöntemi (Vacutainer sedimantasyon tüpünde Greiner Lab®-Austria) ile bir saatlik değerlendirmeye çalışıldı, normal değerleri 0-20 mm/saat arasında. Kan biyokimyasal ölçümleri Kone Lab 60İ otoanalizatöründe Kone kiti kullanılarak çalışıldı. CRP ölçümleri; immunonephelometry sistem ile (Dade Behring®-Germany firmasının kitiyle) alışıldı, normal değerleri 0-6mg/L arasında (intra assay CV: %3.1, inter assay CV: %2).

Hastaların KMY ölçümü için Hologic QDR 4500 DEXA cihazı kullanıldı ve L1- L4 vertebra lar, femur boynu ve femur total yoğunluğu gr/cm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Vertebra KMY' nda L1-L4 ortalamaları alındı. Vücut kitle indeksi (Body mass index = BMI) vücut ağırlığının boyun karesine bölünmesiyle hesaplandı.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) OP kriterlerine uygun olan postmenopozal hastalar (DSÖ'ye göre OP; kişinin kemik mineral yoğunluğunun genç sağlıklı kontrollere göre 2,5 SD'den daha fazla azalmasıdır, yani T-skorunun -2,5 SD'den daha az olmasıdır), bağımsız mobilitesi olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Sekonder OP nedeni olan hastalıkları bulunanlar (immobilizasyon, endokrin ve metabolik hastalıklar, nöromusküler hastalıklar, kollajen doku hastalıkları, gastrik cerrahi, malapsopsiyon sendromları, karaciğer ve böbrek hastalıkları), oksidatif stres artışı ile giden hastalığı olanlar (demans, kardiyovasküler sistem hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, renal ve hepatik yetmezlik, inflamatuvar ve infeksiyöz hastalıklar), malnutrisyonu olmayanlar, son 6 ay içinde antioksidan vitamin preparatı veya hormon replasman tedavisi kullananlar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca özellikle tam kan sayımı, ESH, CRP tetkiklerinde infeksiyon ve inflamasyon bulguları olan olgular çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya alınan hastalarda, herbiri en az bir yıldır hiç adet görmeyen, anamnezlerinde ve laboratuvar tetkikleri sonucunda sekonder OP düşündürecek herhangi bir patolojisi saptanmayan olgular postmenopozal OP olarak kabul edildi. Hastaların yaş, boy, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, menoz süresi, gebelik sayısı, emzirme süresi, osteoporoz risk faktörleri ve aktivite durumu kaydedildi.

Birinci gruba OP tanısı yeni konan veya eskiden konmuş ancak halihazırda ilaç kullanmayan hastalar, ikinci gruba ise OP için bifosfonat, selektif östrojen modülatörü (SERM), stronsiyum veya kalsitonin kullanan hastalar, üçüncü gruba ise sağlıklı postmenopozal olgular alındı.

Her üç gruptaki tüm olgulardan günlük kemik turnover ritminden etkilenmemek amacıyla sabah aç karnına venöz kan alınmasına özen gösterildi. Alınan kan örnekleri santrifüj edilerek, ayrılan serumlar ve -70°C'de muhafaza edildi.

### İstatistiksel değerlendirme

Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Testi ile bakıldı. Parametrik koşulu sağlayan veriler (X ± SD) olarak tanımlandı. Normal dağılıma uyan veriler arasındaki farklılığa One Way Anova Testi kullanılarak bakıldı. Post Hoc olarak Scheffe prosedürü kullanıldı. İki grup arasındaki farklılığa ise Student t testi uygulandı. Normal dağılıma uymayan verilerde üç grup arasındaki farklılığa Kruskal-Wallis varyans analizi testi, iki grup arasındaki farklılığa ise Mann-Whitney U Testi kullanılarak bakıldı. Gerekli yerlerde Banferoni düzeltmesi yapıldı. Değerkenler arasındaki ilişkiye; normal dağılıma uyanlarda Pearson Korelasyon Katsayısı, normal dağılıma uymayanlarda ise Spe-

arman Korelasyon Katsayısı hesaplanarak bakıldı. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak alındı.

## BULGULAR

Bu çalışmaya OP tanısı konan 59 postmenopozal OP'lu kadın hasta ve kontrol grubu olarak 21 gönüllü postmenopozal sağlıklı kadın alındı. Hasta ve

kontrol grubunun temel özellikleri ve laboratuvar sonuçları aşağıda sunulmuştur.

Grupların ortalama ağırlık, BMI arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Ancak yaş, menopoz yaşı, boy, gebelik, çocuk, doğum sayıları, emzirme süresi, menarş yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Grupların özelliklerinin karşılaştırılması

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	p
Sayı	35	24	21	
Yaş (yıl)	56.28±5.58	58.20±5.29	54.47±5.40	>0.05
Ağırlık (kg)	67.7±9.3	66.5±10.7	75.45±8.4	<0.05
Boy (cm)	155.4±8.2	157.8±6.05	156.20±6.5	>0.05
Menopoz yaşı (yıl)	43.97±5.54	47.20±2.0	46.90±6.75	>0.05
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.7±4.1	26.3±3.2	30.35±2.6	<0.05
Emzirme süresi (ay)	48.28±45.41	52.00±51.77	35.80±31.94	>0.05

BMI: Body Mass Index

Çalışmaya alınan hastaların ortalama PON seviyeleri I. Grupta 156,5 ± 97,0, II. Grupta 151,8 ± 88,8, III. Grup olan kontrol grubunda en yüksek değerdeydi ve 162,6 ± 105,2 idi. Ancak gruplar arasında PON düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ).

Çalışmaya alınan hastaların ortalama tiol seviyeleri I. Grupta 257,8 ± 98, II. Grupta 207,6 ± 85,6, III. Grupta 191,7 ± 91,6 idi ve gruplar arasında Tiol düzeyleri açısından anlamlı fark vardı ( $p<0.05$ ) ve fark I.Grupla III. Grup arasındaydı.

Çalışmaya alınan hastaların ortalama AOPP seviyeleri I. Grupta 197,0 ± 103,8, II. Grupta 135,3

± 45,2, III. Grupta 154,1 ± 31,8 idi ve gruplar arasında AOPP düzeyleri açısından anlamlı fark vardı ( $p<0.05$ ).

Çalışmaya alınan hastaların ortalama MDA seviyeleri I. Grupta 7,4±2,9, II. Grupta 5,6±2,5, III. Grupta 3,0±1,8 idi ve gruplar arasında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark vardı ( $p<0.05$ ). MDA ( $r=-0,403$   $p=0,020$ ) ve tiol ( $r=-0,373$ ,  $p=0,033$ ) arasında ise zıt yönde ilişki mevcuttu. MDA ile femur boynu T skoru ( $r=-0,371$   $p=0,001$ ), femur total T skoru ( $r=-0,382$ ,  $p=0,001$ ) ve L1 - L4 T skoru ( $r=-0,396$   $p<0,001$ ) arasında zıt yönde ve güçlü bir ilişki mevcuttu.

**Tablo 2.** Hasta grupları ve kontrol grubunun PON-1, AOPP, MDA ve Tiol düzeyleri arasındaki ilişki (Ortalama ± standart sapma)

	I. Grup (n=35)	II. Grup (n=24)	III. Grup (n=21)	P
AOPP(μmol/L)	197,0±103,8	135,38±45,21	154,17±31,82	<0.05
THIOL(μmol/L)	257,8±98,0	207,6±85,6	191,7±91,6	<0.05
MDA (nmol/mL)	7,40±2,95	5,69±2,51	3,05±1,85	<0.05
PON-1 (U/L)	156,5±97,0	151,8±88,8	162,6±105,20	<0.05

AOPP: İleri düzey protein oksidasyonu ürünleri, MDA: Malondialdehit, PON-1: Paraoxonase 1

## TARTIŞMA

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemik dokunun mikromimari yapısının, kalitesinin bozulması ve kırık için risk artışına yol açan kemik gücünün azalması ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır [12]. Osteoporozun kısa ve uzun dönem sonuçları; ağrı, fiziksel yetersizlik, tedavi maliyetinde artış, yaşam kalitesinde bozulma, yeni kırık riskinde ve mortalite de artıştır [13].

Önemi ve yol açtığı sağlık harcamaları her yıl giderek daha büyük boyutlara ulaşan OP konusunda yapılan çalışmalar duyarlı tanı yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmış ve çeşitli ilaçların kullanımı ile de hastalığın doğal seyrinin etkilenmesi olası hale gelmiştir [14].

Postmenopozal OP; östrojen eksikliği ve buna bağlı artmış osteoklastik aktivite ve kemik kaybıyla karakterize bir hastalıktır [15]. Kemik dışında lipidler, endotelial hücreler ve nöronlar gibi diğer yapılarda östrojenin yararlı etkileri vardır ve bu etkisini oksidatif defansı artırarak gösterdiği ortaya konmuştur [16,17]. Östrojen benzer bir şekilde kemikte de oksidatif defansı artırır. Oksidatif defansın artırılması hücrelerde reaktif radikallerin azaltılması ile gösterilebilir. Reaktif oksijen radikalleri yüksek konsantrasyonlarda birçok hücre bileşenine zarar verebilir ve ayrıca oksidatif injuriye sebep olduğu dozlardan çok daha düşük dozlarda sinyal proteinlerini etkiler [18,19].

Süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen radikalleri DNA, protein ve lipidlerde ciddi hasara sebep olur. ROS'un yüksek seviyeleri, normal selüler metabolizma (mitokondrial elektron transportu v.b.) veya çevresel stimuluslardan dolayı (sitokinler, UV radyasyon v.b.) normal redoks balansının ve oksidatif stres durumunun değişmesi sırasında üretilir [20]. Oksidatif stres; oksidan ve antioksidan moleküller arasındaki imbalans olarak tanımlanır ve genel olarak antioksidanlardaki düşüklüğü ve oksidatif hasar belirteçlerindeki yüksekliği ima eder [21,22]. Oksidatif stresin diyabet, ateroskleroz, artritler, kanser ve yaşlanma gibi çeşitli dejeneratif hastalıkların etyolojisinde yer aldığı bilinmektedir [20]. Ayrıca daha önceki çalışmalar süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen radikallerinin osteoklast diferansiyasyonu ve

kemik rezorbsiyonunun neden olduğu kemik kaybının patogenezinde rol aldığını göstermiştir [23,24].

Biz bu çalışmada, lipid ve protein sistemlerin oksidatif stresini değerlendirmek için; lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA ve ileri düzey bir protein oksidasyon ürünü olan AOPP, antioksidan sistemi değerlendirmek için ise lipid antioksidanı olarak bilinen PON-1 ve protein antioksidanı olan thiol seviyelerini ölçtük. Bizim çalışmamız bildiğimiz kadarıyla osteoporozlu hastalarda MDA, AOPP, Thiol ve PON-1 'in birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır ve osteoporozda oksidatif stres ve antioksidan sistemin bu kadar geniş şekilde analiz edildiği nadir çalışmalardan biridir. MDA düzeylerini literatürdeki diğer çalışmalara [26] benzer olarak I. ve II. Grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit ettik. Bu durum osteoporotik hastalarda lipid peroksidasyonunun artmış olduğunu gösteriyordu. AOPP seviyelerinde I. ve II. Gruplar arasında anlamlı fark vardı ve antiosteoporotik ilaç kullanan II. grupta kontrol grubunun ortalama seviyelerinin de altına inmişti. Daha önce Özgönül ve ark. overektomize ratlarda yaptıkları çalışmada tamoksifenin ratların beyinde MDA seviyelerini anlamlı şekilde azalttığını göstermişlerdi [27]. Ayrıca bizim bilgilerimize göre antiosteoporotik ilaçların AOPP seviyesini azalttığıyla ilgili bir çalışma daha önce hiç yayınlanmamıştı ve bu çalışma bu yönüyle de özellik taşımaktadır.

Bizim çalışmamızdaki PON-1 aktivitesi seviyeleri, diğer oksidatif hasarın görüldüğü hastalıklarda yapılan çalışmalarla ve Başkol ve ark [26] osteoporotik hastalarda rapor ettiği bilgilerle benzer olarak Grup I ve II'de, kontrol grubuna göre düşüktü ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Okside olmuş lipidlerin serum PON-1 aktivitesini inhibe ettiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Serum PON-1 inaktivitesinin artışı osteoporotik hastalarda ROS nesillerinin artışına bağlıdır [28]. Oksidize lipidler kemik hücrelerini doğrudan reseptör yoluyla ya da proinflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar araçları arttırarak etkileyebilirler [29]. Kumon ve ark. [30] serum PON-1 aktivitesinin interlökinler tarafından azaltıldığını rapor ettiler. Osteoporozda sitokinlerin artışı ile ilgili birçok çalışma bildirilmiştir. Sonuç olarak serum PON-1 aktivitesinin azalışı bu sitokinlerin artışı ile ilişkili olabilir.

Osteoporozlu hastalarda artmış ROS düzeyleri, pro-oksidan bir durum oluşturarak AOPP ve MDA düzeylerinin yükselmesine ve PON-1 aktivitesinin azalmasına neden olur. Sonuç olarak, osteoporoz patogenezinde artmış lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu rol oynayabilir. Bu sonuç planlanacak yeni çalışmalara ışık tutacak bir bilgidir. İleriki zamanlarda daha iyi planlanmış araştırmalarla desteklenmesi halinde lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu engelleyen etkili antioksidan tedavilerin osteoporozlu hastalar için yeni bir tedavi seçeneği olabileceğini düşünüyoruz.

Thiol seviyeleri ile ilgili olarak literatürde farklı çalışmalar da mevcuttur. Callister ve ark. akut respiratuar distress sendromu gelişen hastalarda yaptıkları çalışmada serum ve bronkoalveoler lavaj sıvılarının thiol seviyelerinin arttığını göstermişlerdir [31]. Gromer ve ark. ve Burke-Gaffney ve ark. yapmış oldukları çalışmalarda viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve iskemi-reperfüzyon injurisini içeren oksidatif stres ve inflamasyon durumlarında thiolün ekstraselüler seviyelerinin arttığını saptamışlardır [32,33]. Quinlan ve ark. kardiyopulmoner bypass geçiren hastalarda serum thiol seviyelerinin arttığını ve oksidatif hasar için potansiyel bir prooksidatif riskini göstermişlerdir [34].

Bizim çalışmamızda da thiol seviyeleri diğer oksidatif stresin artmış olduğu hastalıklarda olabileceği gibi I. grupta III. gruba oranla anlamlı derecede yüksekti ve bu durum, artmış oksidatif strese bir yanıt olarak değerlendirildi. Antiosteoporotik ilaç kullanan grupta thiol seviyeleri kullanmayan gruba göre düşüktü. Bu sonuç çoğu antirezorbtifler olan bu ilaçların antioksidan ihtiyacını azalttığını gösterebilir ve belki de tedavinin etkinliği ile ilgili olabilir. Thiolün diğer oksidatif stresin arttığı hastalıklar da olduğu gibi osteoporoz için de bir prooksidatif risk göstergesi ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde bir belirteç olup olamayacağının araştırılması için daha iyi planlanmış çalışmalara ihtiyaç vardır ve eğer böyle ise osteoporozun erken tanısında ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde thiolün önemli bir veri olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada; osteoporotik hastalarda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu belirteçleri, antioksidan ihtiyaca sekonder olarak thiol seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bir antioksidan enzim olan PON-1 aktivitesi istatistiksel olarak an-

lamlı olmasa da osteoporotik hastalarda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Sonuç olarak osteoporoz gelişiminde lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunun artışı ve PON-1 gibi antioksidanların azalışı etkili olabilir. Bu daha kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmeli ve tanı, tedavi ve takipte yol gösterici olup olamayacağı belirlenmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Kanis JA. Osteoporosis and its consequences. in: Kanis JA (ed). Osteoporosis. Blackwell Science Ltd. London 1997:21.
2. Merly SL. Metabolic bone diseases. in: Kelley WH, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB (eds), Textbook of Rheumatology. WB Saunders Company, Philadelphia 1997:563-1581.
3. Ersler WB, Harman SM, Keller ET. Immunologic aspects of osteoporosis. *Dev Comp Immunol* 1997;21:487-499.
4. Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, et al. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:275-279.
5. Sontakke AN, Tare RS. A duality in the roles of reactive oxygen species with respect to bone metabolism. *Clin Chim Acta* 2002;318:145-148.
6. Varanasi SS, Francis RM, Berger CEM, et al. Mitochondrial DNA deletion associated oxidative stress and severe male osteoporosis. *Osteoporos Int* 1999;10:143-149.
7. Rifci V.A. Khachadrian A.K. The inhibition of low density lipoprotein oxidation by estradiol, *Metabolism* 1992;41:1110-1114.
8. Cheeseman K.H., Slater, T.F. An Introduction to Free Radical Biochemistry, *Brit. Med. Bulletin*, 1993;149:481-93
9. De Zwart LL., Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999;26:202-226
10. Kalousova M., Skrha JT. Zima. Advanced glycoxidation end products and advanced oxidation protein products in patient with diabetes mellitus. *Physiol Res.* 2002; 51: 597-604
11. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition* 2002;18:872-879.
12. Arasıl T. Günümüzde osteoporoz. In: Gökçe-Kutsal Y ed. Osteoporoz cep kitabı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2005:1-8
13. Geusens P. Osteoporosis: Clinical Features. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, editors. *Rheumatology*. Toronto: Mosby; 2003:2081-2092.
14. Biberöglü S. Osteoporozda medikal tedavi. *Prospect* 1998:175-182.
15. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2012;23:279-302.
16. Sawada H, Ibi M, Kihara T, et al. Mechanisms of antiapoptotic effects of estrogens in nigral dopaminergic neurons. *FASEB J.* 2000;14:1202-1214.

17. Sudoh N, Toba K, Akishita M, et al.. Estrogen prevents oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Circulation*.2001; 103:724–729.
18. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002;82:47–95.
19. Haddad JJ. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors. *Cell Signal.* 2002;14:879–897.
20. Finkel T, Holbrook, N J. *Nature.* 2000;408:239–247.
21. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks. In: Sies H (ed); *Oxidative stress.* Academic Press, London 1985:1-8.
22. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, et al. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 456.462.
23. Lean JM, Davies JT, Fuller K, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J Clin Invest* 2003;112:915-923.
24. Bai XC, Lu D, Liu AL, et al. Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand expression in osteoblasts. *J Biol Chem* 2005;280:17497-17506.
25. Bai XC, Lu D, Bai J, et al. Oxidative stress inhibits osteoblastic differentiation of bone cells by ERK and NF- $\kappa$ B. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:197-207.
26. Baskol G, Demir H, Cavdaroglu B, et al. Assessment of paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with osteoporosis. *Erc Med J* 2007;29:268-273.
27. Ozgonul M, Oge A, Sezer ED, et al. The effects of estrogen and raloxifene treatment on antioxidant enzymes in brain and liver of ovariectomized female rats. *Endocr Res* 2003;29:183-189.
28. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function:a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101:1581-1590.
29. Parhami F. Possible role of oxidized lipids in osteoporosis: Could hyperlipidemia be a risk factor? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003;68:373-378.
30. Kumon Y, Nakauchi Y, Suehiro T, et al. Proinflammatory cytokines but not acute phase serum amyloid A or C- reactive protein, down regulate paraoxonase 1 (PON1) expression by Hep G2. *Amyloid* 2002;9:160-164.
31. Callister ME, Burke-Gaffney A, Quinlan GJ, et al. Extracellular thioredoxin levels are increased in patients with acute lung injury. *Thorax* 2006;61:521-527
32. Gromer S, Urig S, Becker K. The thioredoxin system -from science to clinic. *Med Res Rev* 2004;24:40–89.
33. Burke-Gaffney A, Callister ME, Nakamura H. Thioredoxin: friend or foe in human disease? *Trends Pharmacol Sci* 2005;26:398–404.
34. Quinlan GJ, Mumby S, Lamb NJ, et al. Acute respiratory distress syndrome secondary to cardiopulmonary bypass: Do compromised plasma iron-binding antioxidant protection and thiol levels influence outcome? *Critic Care Med* 2000;28:2271-2276.
35. Ohkava H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1978;95:351-358.
36. Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, et al. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:76-78.
37. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35:214-227.
38. Sinaki M. Osteoporosis. In: Braddom RL ed. *Physical Medicine and Rehabilitation.* Philadelphia, W.B Saunders Company, 2000:894-912.