

Postmenopozal Stronsiyum Ranelat Tedavisinden Sonra Sıçan Kalp Dokusundaki Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivitesindeki Değişiklikler

Alterations on Paraoxonase and Aryl Esterase Activities in the Rat Heart Tissue After Postmenopausal Strontium Ranelate Therapy

Mehmet BERKÖZ¹, Serap YALIN¹, Ülkü ÇÖMELEKOĞLU², Özgün SAĞIR¹, Pelin EROĞLU¹, Fatma SÖĞÜT²

¹Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Amaç: Bu çalışmada deneysel osteoporoz modeli oluşturulan sıçanlarda, kemik formasyonunu artıran postmenopozal bir ilaç olan stronsiyum ranelatın kalp dokusundaki paraoksonaz ve aril esteraz enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Yöntem: Çalışmada 28 adet dişi Wistar albino sıçan kullanılmış ve her bir grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar kontrol grubu (grup 1), stronsiyum ranelat grubu (grup 2), overektomi grubu (grup 3) ve overektomi uygulandıktan 3 ay sonra 3 ay boyunca stronsiyum ranelat uygulanan grup (grup 4) olmak üzere tasarlanmıştır. Tüm gruplardaki hayvanların kalp dokuları izole edilmiş ve paraoksonaz ve aril esteraz enzim aktivitelerine bakılmıştır. İstatistiksel analiz için SPSS 16.0 ve ANOVA testi kullanılmıştır.

Bulgular: Yapılan çalışmada gerek paraoksonaz gerekse aril esteraz enzim aktivitelerinin grup 2, grup 3 ve grup 4'te kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Sonuç: Bulunan sonuçlar post-menopozal dönemin ve stronsiyum ranelat kullanımının kalp paraoksonaz ve aril esteraz enzim aktivitelerini azalttığını ve organizmayı kalp damar hastalıklarına duyarlı hale getirebileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Paraoksonaz, aril esteraz, stronsiyum ranelat, osteoporoz, ateroskleroz

Abstract

Objective: In this study, the effect of strontium ranelate which is used in treatment of postmenopausal syndromes enhancing the bone formation on paraoxonase and aryl esterase activities was investigated in the rats with osteoporosis.

Method: 28 female Wistar albino rats were used to establish experimental osteoporosis model. Experimental animals were divided into 4 groups. Each group was composed of 7 rats. The group 1 was defined as "control group". Group 2 was the one received strontium ranelate. Group 3 underwent ovariectomy operation and did not receive any drug. Group 4 was treated with strontium ranelate for three months after three months from the ovariectomy operation. Heart tissues of the animals in each group were isolated. Paraoxonase and aryl esterase activities were investigated. The data were statistically analyzed by utilizing SPSS 16.0 and ANOVA Test.

Results: In this study, paraoxonase and aryl esterase activities in groups 2, 3 and 4 were found to be lower in comparison to that of the control group ($p<0.05$).

Conclusion: The obtained data indicate that paraoxonase and aryl esterase levels in heart tissues get reduced during the postmenopausal period upon administration of strontium ranelate. In turn, this could make the organism sensitive to the cardiovascular diseases.

Key Words: Paraoxonase, aryl esterase, strontium ranelate, osteoporosis, atherosclerosis

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2008;1(3):21-27

Geliş Tarihi : 22.09.2008

Kabul Tarihi : 23.12.2008

Yazışma Adresi:

Dr. Serap Yalın

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,

Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

Tel : 0-324-3412815/2631

Faks : 0-324-3413022

E-posta : syalin01@hotmail.com

Giriş ve Amaç

Osteoporoz, kemik kütleindeki azalma ve kemik dokusunun makro yapısının bozulmasına bağlı kemik kırılabilirliğinin artması ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır. Özellikle kadınlarda ve ileri yaşta görülen bu hastalık önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmakta ve travmaya bağlı olmaksızın spontan olarak kemik kırılmalarına neden olabilmektedir (1-3). Osteoporozun gelişmesinde pek çok faktör rol oynamakta olup, bunların başlıcaları; genetik faktörler, yaş, cinsiyet, ırk, düşük vücut ağırlığı, steroid hormon kullanımı, tiroid hormon fazlalığı, over fonksiyonlarında azalma, düşük kalsiyum alımı, fiziksel aktivite azlığı, aşırı sigara ve kafein tüketimidir (1,4-6). Kırıkların % 70'i 45 yaş ve üzerinde görülmektedir (7,8).

Menopoz dönemindeki kadınlarda kemik yıkımını azaltıcı etkisi olduğu bilinen östrojen seviyesinin azalması osteoporozun en önemli nedenlerinden birisidir (1,9,10). Bu dönemdeki kadınlar incelendiğinde endokrinolojik, immünolojik ve hematolojik sistemlerde ve antioksidan/lipid peroksidasyonu dengelerinde de bozulmaların olduğu görülmektedir (1,9-11). Özellikle antioksidan dengenin lipid peroksidasyonu lehine bozulması halinde başta diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok patolojiye yol açabileceği bilinmektedir (1,11,12). Ayrıca osteoporoz varlığı ile ateroskleroz gelişimi arasında pozitif bir ilişkinin varlığı da bildirilmektedir (1,12). Osteoporoz tedavisinde kalsiyum, hormon replasman tedavisi (özellikle östrojen), vitamin D ve aktif metabolitleri, bifosfanatlar ve kalsitonin gibi kemik yıkımını azaltan ilaçlar kullanılabildiği gibi floridler, anabolik steroidler (özellikle testosteron), paratiroid hormon ve peptidleri, büyüme hormonu ve ipriflavon gibi kemik yapımını arttıran ilaçlar da kullanılabilmektedir (5,6,13,14). Son yıllarda üzerinde sıklıkla durulan post-menopozal osteoporoz ilaçlarından biri de stronsiyum ranelattır (13-15).

Stronsiyum, kimyasal yapısı itibarıyla kalsiyuma oldukça benzemektedir ve çeşitli yiyecek ve içme sularında eser miktarlarda bulunabilmektedir (13). İki adet stabil ve non-radyoaktif stronsiyum atomunun ranelik asit ile birleşmesinden oluşan stronsiyum ranelat (S12911) ise terapötik dozlarda kemik oluşumunu arttıran ve rezorbsiyonunu azaltan bir ilaçtır (13,14). Stronsiyum ranelat etkisini muhtemelen osteoblast proliferasyonunu arttırarak ve osteoklast formasyonunu inhibe ederek göstermektedir (2,13-15). Yapılan in vivo deneyler stronsiyum ranelatın kemik rezorbsiyonunu azaltıp, kemik formasyonunu arttırarak, kemik kaybını önlediğini göstermiştir (2,13-15).

Post-menopozal dönemde azalan östrojen ile birlikte başta yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) olmak üzere lipoproteinlerin oksidasyonunun arttığı ve ateroskleroz sürecin hızlandığı bilinmektedir (10,16-19). Bu nedenle özellikle menopoz dönemindeki kadınlarda HDL ve diğer lipoproteinleri

oksidasyondan koruyan paraoksonaz (PON1) ve aril esteraz (ARE) gibi enzimlerin aktiviteleri oldukça önem taşımaktadır (20,21).

Literatürde stronsiyum gibi ağır bir metalin ranelik asit tuzunun tedavide kullanımının başta antioksidan sistem olmak üzere vücudun tüm savunma sistemlerini nasıl etkileyeceğine dair herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu çalışmada post-menopozal dönemdeki kadınlarda osteoporozla karşı kullanılan stronsiyum ranelatın kalp dokusundaki PON1 ve ARE enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olup olmayacağı araştırılmıştır.

Yöntem

Araştırmada kullanılan hayvanlar Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir. Mersin Üniversitesi Etik Kurulundan gerekli izinler alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Çalışmada 3-4 aylık, ağırlıkları 175-250 gr. arasında değişen 28 adet Wistar-albino sıçan kullanılmıştır. Çalışmaya başlanılmadan 10 gün önce gözlem altına alınan hayvanların deney ortamına uyumu sağlanmıştır. Tüm hayvanlar uyum ve çalışma süresince havalandırması pencere tipi aspiratör tarafından sağlanan, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılan, ortam sıcaklığı 23±2 °C ve nem oranı %45-65 olan odalarda yaşatılmıştır. Hayvanların barınması polikarbon şeffaf kafeslerde ve her kafese ortalama dört sıçan düşecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Sıçanlara, standart sıçan yemi ve su *ad libitum* yoluyla verilmiş, yemleme gün içerisinde saat 09⁰⁰ ile 19⁰⁰'da olmak üzere iki defa yapılmıştır.

Çalışmamız her grupta yedi sıçan ve toplam dört grup olacak şekilde tasarlanmıştır. Grup 1 kontrol grubu olup bu gruptaki hayvanlar ortama uyum sağladıktan üç ay sonra sakrifiye edilmiştir. Grup 2 stronsiyum ranelat grubu olup bu gruptaki hayvanlara oryantasyondan sonraki üç ay boyunca her gün 500 mg/kg stronsiyum ranelat gavaj yoluyla uygulanmış ve üçüncü ayın sonunda sakrifiye edilmişlerdir. Grup 3 overektomi grubu olup bu gruptaki hayvanlara ortama uyum sağladıktan sonra overektomi yapılmış ve overektomiden üç ay sonra sakrifiye edilmişlerdir. Grup 4 overektomi + stronsiyum ranelat grubu olup bu gruptaki hayvanlara oryantasyon sağlanıp sağlanmaz overektomi yapılmış ve deneysel osteoporoz modelinin oluşması için üç ay beklenilmiş, bu sürenin sonunda hayvanlara üç ay boyunca her gün 500 mg/kg stronsiyum ranelat yine gavaj yoluyla uygulanmış ve stronsiyum ranelat tedavisi biter bitmez bu gruptaki hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Stronsiyum ranelat verilecek gruplardaki hayvanlara ilaç uygulaması her sabah saat 09⁰⁰-10⁰⁰ arasında yapılmıştır. Overektomi sırasında ve deney süresi sona eren hayvanları sakrifiye ederken sıçanlara ketamin (200 mg/kg) ve kasılmaları önlemek için Rampun (Ksilazin) (10 mg/kg)

intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Tüm gruplardaki hayvanların yemlenmeleri overektomiden ve sakrifikasyondan 12 saat önce kesilmiştir. Deneysel osteoporoz modeli oluşturulması için ketamin ve ksilazin anestezisi altındaki hayvanların tuba uterileri bilateral olarak distal ve proksimal uçlarından klemplenmiş ve overler izole edilmiştir. Deney süresi biten tüm hayvanlara anestezi altında kardiak ponksiyon uygulanarak sakrifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

Hayvanların kalp dokuları, en fazla 3 dakika içerisinde izole edilmiştir. Elde edilen kalp dokuları soğuk (+4 °C) % 0.9'luk sodyum klorür (NaCl) ile yıkanmış ve kurutma kağıdı ile kurutulmuştur. Tüm dokular çalışma gününe kadar -20 °C'de saklanmış ve çalışma günü geldiğinde homojenizatör ile %0.9'luk NaCl çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen homojenat 5000 g'de 1 saat boyunca +4°C'de santrifüjlenerek süpernatant elde edilmiş ve 1 hafta içerisinde çalışmaya başlanılmıştır. PON1 ve ARE enzim aktiviteleri süpernatantta, doku protein miktarı ise homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

PON1 ve ARE aktivitelerinin tayini Eckerson ve ark. (22)'nin yöntemlerine göre yapılmıştır. PON1 aktivite ölçümünde 2 mM CaCl₂ ve 4 mM paraokson ihtiva eden 100 mM Tris-HCl; pH 8.0 tamponu kullanılarak; PON1'in enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün 412 nm'deki oluşumu ölçülerek, PON1 aktiviteleri incelenmiştir. ARE aktivitesi ölçümleri için ise yine 2 mM CaCl₂ ihtiva eden 100 mM Tris-HCl; pH 8.0 tamponu kullanılmış; substrat olarak paraokson yerine son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde fenilasetat ilave edilmiştir ve ARE'in enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenol 270 nm'de Analytikjena-SPECORD 50 UV/VIS spektrofotometresinde ölçülmüştür. PON1 aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol p-nitrofenol/mL/dk; ARE aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol fenol/mL/dk olarak tanımlanmıştır. Doku protein düzeyleri Lowry ve ark. (23)'nin belirlemiş olduğu yöntemle göre analiz edilmiştir. Bu yöntemle göre alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmakta, bu kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini redüklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılı olup, oluşan rengin köre karşı 750 nm'deki absorbans değeri protein konsantrasyonunu yansıtmaktadır. Bulunan enzim aktiviteleri U/mg protein olarak belirtilmiştir.

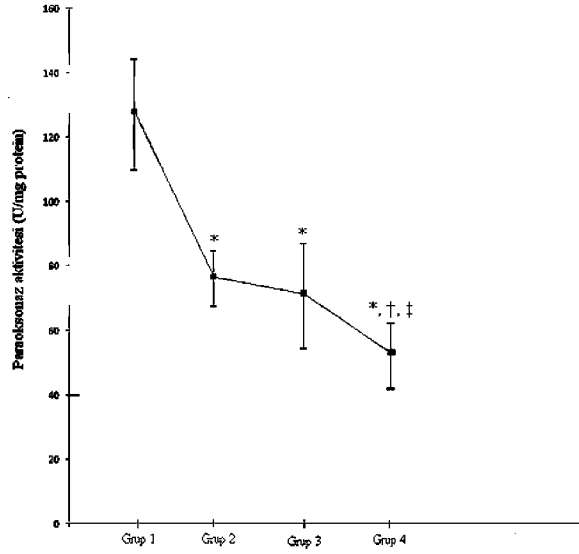
PON1 ve ARE değerleri bakımından gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar ANOVA ve alt grup

karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Analizler SPSS for Windows 16.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tüm gruplardaki kalp dokularının PON1 ve ARE enzim aktivitelerinin sonuçları çoklu varyasyon analiz testleri kullanılarak yapılmış ve tüm çalışma grupları kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Ayrıca gruplar kendi arasında da istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular

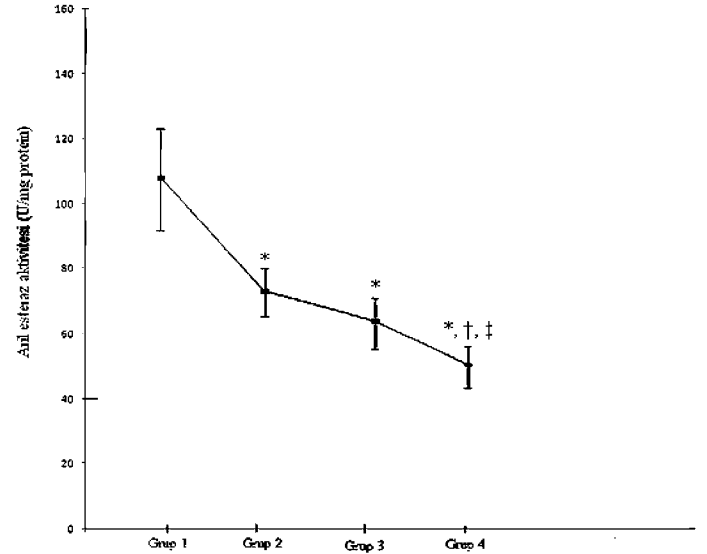
Kalp dokusundaki PON1 enziminin spesifik aktivitesi kontrol grubunda 126.21±18.66 U/mg protein, stronsiyum ranelat grubunda 76.63±12.64 U/mg protein, overektomi grubunda 69.12±16.32 U/mg protein, overektomi + stronsiyum ranelat grubunda ise 51.36±9.74 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre overektomi, stronsiyum ranelat ve overektomi + stronsiyum ranelat gruplarının PON1 spesifik aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur (p<0.05). Yapılan ikili istatistiksel çalışmalar sonucunda overektomi + stronsiyum ranelat grubunun PON1 aktivitesi, stronsiyum ranelat ve overektomi gruplarıyla kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir (p<0.05). Overektomi ile stronsiyum ranelat grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Şekil 1).

ARE enziminin spesifik aktivitesi kontrol grubunda 105.27±15.92 U/mg protein, stronsiyum ranelat grubunda 72.46±8.34 U/mg protein, overektomi grubunda 63.71±7.62 U/mg protein, overektomi + stronsiyum ranelat grubunda ise 51.47±6.76 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında overektomi, stronsiyum ranelat ve overektomi + stronsiyum ranelat gruplarının ARE spesifik aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca overektomi + stronsiyum ranelat grubunun ARE enzim aktivitesi, stronsiyum ranelat ve overektomi gruplarıyla kıyaslandığında da istatistiksel olarak düşük olduğu görülmüştür (p<0.05). Overektomi ile stronsiyum ranelat grupları arasında ise ARE aktivitesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Şekil 2).



Şekil 1. Kalp dokusu paraoksonaz enzim aktivitesinin error bar grafiği

- *: p<0.05 Grup 1 ile kıyaslandığında
- †: p<0.05 Grup 2 ile kıyaslandığında
- ‡: p<0.05 Grup 3 ile kıyaslandığında



Şekil 2. Kalp dokusu aril esteraz enzim aktivitesinin error bar grafiği

- *: p<0.05 Grup 1 ile kıyaslandığında
- †: p<0.05 Grup 2 ile kıyaslandığında
- ‡: p<0.05 Grup 3 ile kıyaslandığında

Tartışma ve Sonuç

Osteoporoz, kemik kırılabilirliğinin artmasıyla karakterize, sık rastlanılan bir iskelet hastalığıdır (1-3). Osteoporoz teşhisi konulan hastaların derhal tedavi edilmesi oluşabilecek sekonder lokomotor sistem patolojilerini önlemede önem taşımaktadır (2,5,6,11). Osteoporoz tedavisinde kullanılan kemik formasyonunu stimüle eden ilaçlar kemik mineral dansitesinde direkt artış yaparken, kemik rezorpsiyonunu inhibe eden ilaçlar kemik turnoverini durdurarak ve rezorpsiyonun fazla olduğu durumlarda formasyonun devam etmesine izin vererek kemik mineral dansitesini sınırlı miktarda arttırabilirler (5,6,11).

Postmenopozal osteoporoz tedavisinde değişik fonksiyonlara sahip pek çok ilaç kullanılmasına rağmen son yıllarda kullanımı gittikçe hız kazanan stronsiyum ranelat, bir taraftan kemik yıkımını azaltırken aynı zamanda da kemik yapımını artırması sayesinde osteoporoz tedavisi açısından yeni bir umut ışığı olmaktadır (5,6,11,13-15). Gerek stronsiyum ranelatın gerekse diğer osteoporoz önleyici ilaçların kullanımının menopoz sonrasında oluşan başta hormonal bozukluklar olmak üzere diğer patolojilerin minimize edilmesinde fonksiyon gösterip göstermediğine dair çalışmalar oldukça sınırlıdır (5,6,11,13-15). Menopoz sonrasında artan lipid ve protein oksidasyonunun ve azalan antioksidan sistemin başta kanser, diyabet, ateroskleroz ve miyokard infarktüsü olmak üzere önemli patolojilere yatkınlığı arttırabileceği bilinmektedir. Son yıllarda

özellikle postmenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalıkların dramatik bir şekilde artması bozulan bazı biyokimyasal parametrelerden ve fonksiyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (1,12).

Menopoz sonrasındaki kadınlarda PON1 ve ARE olarak adlandırılan ve antioksidan özellikte olan enzimlerin aktivitelerinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (9,10,17,19,24). Bu enzimler bazı organofosfatlı insektisitlerin metabolizmasını üstlenmesinin yanı sıra asıl önemli görevi LDL'yi oksidasyondan korumaktır. Bu enzimler yeterli düzeyde fonksiyon göstermediği takdirde fosfolipidlerin doymamış yağ asitleri, kolesterol ester çekirdekleri ve LDL'nin trigliseridleri perokside edilerek yüksek derecede sitotoksik olan ve aterosklerotik lezyonların gelişmesinde rolü bulunan lizofosfolipidler oluşmaktadır. PON1'in bu mekanizmadaki rolünün LDL'nin oksidasyonu sırasında lipoperoksid formunun aktif olmayan alkol ve karboksilik aside hidroliz edilmesini sağlamak ve aktif aldehit oluşumunu engellemek olduğu bilinmektedir (20,21). Menopoz sonrasında azalan PON1 ve ARE enzim aktivitelerinin stronsiyum ranelat tedavisi sonrasında nasıl değişebileceği özellikle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde önem taşımaktadır.

Yaptığımız çalışmada üç ay boyunca stronsiyum uygulanan sıçanların kalp dokularındaki PON1 ve ARE düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu tespit

edilmiştir. Literatürde stronsiyum ranelat tedavisi ile PON1 ve ARE seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştıran başka bir çalışma bulunmadığından bu yönüyle çalışma literatürdeki bu açığın kapatılmasına katkıda bulunmaktadır. Ancak diğer ağır metallerin lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Geçiş metalleri biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türleri (ROS) meydana getirerek, kurşun ise hücrelerdeki prooksidan/oksidan dengesini bozarak lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olur ve antioksidan sistemleri tüketir. İki değerlikli elementler (Co^{+2} , Mn^{+2} , V^{+2} , Cu^{+2} ve Fe^{+2}) linoleik asit ve linolenik asit emüsyonlarındaki oksidatif hasarı arttırmaktadır. Kurşun intoksikasyonunda N-asetil-L-sistein'in ise bor ve kadmiyum ile şelasyon yaptığı ve prooksidan/antioksidan dengesini düzelttiği bildirilmiştir (25).

Çalışmamızda sadece overektomi uygulanan sıçanların kalp dokularındaki enzim düzeyleri de kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Menopoz sonrasındaki kadınlarda paraoksonaz-aril esteraz enzim aktivitelerini araştıran pek çok çalışma mevcuttur. Topçuoğlu ve ark. (10) postmenopozal kadınlarda malondialdehit (MDA) ve okside LDL düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek, PON1 aktivitesini düşük bulmuştur. Kumru ve ark. (24) postmenopozda PON1 aktivitesinin düşük olduğunu ve HDL düzeyi ile PON1 aktivitesi arasında doğrusal bir ilişkinin varlığını tespit etmişlerdir. Verit ve ark. (26) osteoporozu olan ve olmayan menopoz sonrasındaki kadınlarda PON1 ve ARE aktivitelerinde ve lipid peroksidasyon düzeylerinde farklılık bulamamış ve osteoporozla ateroskleroz arasında bir bağlantının olmadığını ifade etmiştir. Ancak Zago ve ark. (17) bu verilerin aksine premenopozal ve postmenopozal kadınların serum PON1 aktivitelerinde bir değişiklik bulunmadığını iddia etmiştir. Sutherland ve ark. (9) diabetes teşhisi konulmuş menopoz sonrası kadınlarda PON1 ve ARE düzeylerini düşük bulmuştur.

Çeşitli tıbbi girişimlerin serum ve dokulardaki PON1, ARE aktivitelerinde ve bağlantılı parametrelerde değişikliklere yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Akçay ve ark. (16) histerektomi + bilateral overektomi uygulanan jinekolojik malignensili kadın hastalarda ameliyattan 6 ay sonra total antioksidan seviyesinin ameliyat öncesine göre yükseldiğini, düşük yoğunluklu lipoprotein tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (LDL TBARS), LDL diene, bakır ile indüklenmiş okside LDL TBARS ve bakır ile indüklenmiş okside LDL diene seviyelerinin ise düştüğünü bildirmişlerdir. Bu sonuç önceki verilerle çelişiyor olsa da bu durumun ameliyat sonrasında azalan tümör yükünden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bin Ali ve ark. (27) erkek hemsturların PON1 aktivitelerinin dişilere nazaran düşük olduğunu, inflamasyon sonucunda ise daha da düştüğünü tespit etmişlerdir. Kastrasyon uygulanan erkek hemsturlarda PON1 mRNA seviyesinin %170 oranında arttığı, overektomi uygulanmış dişi hemsturlar da ise PON1 mRNA seviyesinin değişmediği görülmüştür.

İnflamatuvar bir uyarı olan lipopolisakkarit (LPS) uygulanması erkek farelerde karaciğer PON1 mRNA düzeyini azaltırken, dişilerde ise bu durumun aksine arttırmaktadır. LPS ile indüklenen dişi ve erkek hemsturlara anti-inflamatuvar bir ilaç olan deksametazonun uygulanması PON1 mRNA düzeylerini 2 katına çıkartmaktadır. Yine deksametazon fare karaciğer kanseri hücre serisinde (*Hepa cell*) PON1 ekspresyonunu 8 katına çıkarmaktadır (27). Yavuz ve ark. (28) hipertiroide serum PON1 düzeyini düşük bulmuş ve düşük PON1 seviyesinin ateroskleroz gelişimi için risk faktörü olduğunu öne sürmüştür.

Yaptığımız çalışmadaki 4. grupta yer alan sıçanlara overektomi uygulandıktan 3 ay sonra 500 mg/kg stronsiyum ranelat uygulanmıştır. Uygulanan dozun miktarı ise yapılan literatür araştırmaları sonucunda belirlenmiştir (15). Overektomi + stronsiyum ranelat uygulanan sıçanların kalp dokularındaki PON1 ve ARE enzim düzeyleri kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Osteoporoz tedavisinde hormon replasman tedavisi de önemli bir yer tutmaktadır (5). Sutherland ve ark. (9) hormon replasman tedavilerinin lipid metabolizmasını kontrol ettiğini ve endotel hasarını ve aterosklerozu inhibe edebileceğini bildirmiştir. Topçuoğlu ve ark. (10) menopoz sonrası kadınlarda Norethisteron asetat (NETA) ve medroksiprogesteron asetat (MPA) kullanımının MDA ve okside LDL düzeylerini arttırdığını, PON1 düzeyini ise azalttığını tespit etmişlerdir. Sutherland ve ark. (9) postmenopozal diabetli kadınlarda konjuge equine östrojen (CEE) ve MPA kullanımının serum PON1 ve ARE aktivitesini arttırdığını ifade etmişlerdir. Kwok ve ark. (18) progesteron ve MPA tedavisinin HDL düzeyini düşürdüğünü, noretisteron asetat (NE) kullanımının ise HDL kolesterol ve Apo-A düzeylerini düşürürken, PON1 aktivitesinin azalmasını engelleyerek östrojenden meydana gelen trigliserid ve C reaktif proteinin (CRP) artışı engellediğini göstermişlerdir. Yine aynı çalışma grubu postmenopozal kadınlarda CEE tedavisinin Apo-B, lipoprotein a (Lp(a)), total kolesterol ve fibrinojen seviyelerini azaltırken trigliserid ve CRP düzeylerini arttırdığını ifade etmişlerdir (18). Kumru ve ark. (24) östrojen replasman tedavisinin (ERT) MDA seviyesini azalttığını, PON1 aktivitesini ise arttırdığını, PON1 aktivitesi ile HDL düzeyi arasında doğrusal, MDA düzeyi ile ters bir ilişkinin varlığını ortaya koymuşlardır. Oh ve ark. (29) östrojenik özellikte olan soya fasülyesi isoflavonundan elde ettikleri genistein katkılı polisakkariti (120 mg genistein + 57 mg daidzein) diabetik nefropatisi bulunan postmenopozal kadınlara uyguladıklarında katalaz ve PON1 seviyelerinin değişmediğini, glutatyon peroxidaz (GSH-Px) aktivitesinin ise arttığını bildirmişlerdir. Fenkçi ve ark. (19) postmenopozal kadınlarda intranazal olarak 300 µg/gün 17-β-östradiol kullanımının östrojen, HDL ve tuzla indüklenmiş PON1 düzeylerini artırırken bazal PON1 seviyesi üzerinde bir değişikliğe yol açmadığını söylemişlerdir. Literatürdeki

sonuçlar arasındaki farklılıkların uygulama dozlarından ve sürelerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak deneysel osteoporoz modeli oluşturulmuş sıçanların kalp dokularındaki PON1 ve ARE aktiviteleri düşük bulunmuş, bu durumun HDL oksidasyonunu arttırabileceği göz önünde bulundurulduğunda başta ateroskleroz olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar açısından risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (20,21). Toksik bir eser element olan stronsiyum ranelat da PON1 ve ARE seviyelerini düşürmekte ve zaten menopoz ile düşüşe geçen enzim aktivitelerini daha da düşürerek dramatik sonuçlara yol açabilmektedir (12-14). Bu amaçla stronsiyum ranelat tedavisi gören kadınların belli periodlarla serum PON1 ve ARE aktivitelerinin ölçülmesi, hastanın kalp-damar sağlığını kontrol altında tutması açısından önem taşıyacaktır.

Kaynaklar

1. Tung S, Iqbal J. Evolution, aging, and osteoporosis. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1116:499-506.
2. Zhao H, Patrick Ross F. Mechanisms of osteoclastic secretion. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1116:238-44.
3. Crepaldi G, Romanato G, Tonin P, Maggi S. Osteoporosis and body composition. *J Endocrinol Invest* 2007;30:42-7.
4. Cashman KD. Diet, nutrition, and bone health. *J Nutr* 2007;137:2507-12.
5. Lindsay R. Prevention and treatment of osteoporosis. *Lancet* 1993;341:801-5.
6. Blahos J. Treatment and prevention of osteoporosis. *Wien Med Wochenschr* 2007;157:589-92.
7. Cole ZA, Dennison EM, Cooper C. Osteoporosis epidemiology update. *Curr Rheumatol Rep* 2008;10:92-6.
8. Nevitt MC. Epidemiology of osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20:535-59.
9. Sutherland WH, Manning PJ, de Jong SA, Allum AR, Jones SD, Williams SM. Hormone-replacement therapy increases serum paraoxonase arylesterase activity in diabetic postmenopausal women. *Metabolism* 2001;50:319-24.
10. Topçuoğlu A, Uzun H, Aydın S, Kahraman N, Vehid S, Zeybek G, Topçuoğlu D. The effect of hormone replacement therapy on oxidized low density lipoprotein levels and paraoxonase activity in postmenopausal women. *Tohoku J Exp Med* 2005;205:79-86.
11. Gupta G, Aronow WS. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Compr Ther* 2007;33:114-9.
12. Brochier ML, Arwidson P. Coronary heart disease risk factors in women. *Eur Heart J* 1998;19:45-52.
13. Blake GM, Fogelman I. Strontium ranelate: a novel treatment for postmenopausal osteoporosis: a review of safety and efficacy. *Clin Interv Aging* 2006;1:367-75.
14. Tournis S. Improvement in bone strength parameters. The role of strontium ranelate. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2007;7:266-7.
15. Reginster JY, Sarlet N, Lejeune E, Leonori L. Strontium ranelate: a new treatment for postmenopausal osteoporosis with a dual mode of action. *Curr Osteoporos Rep* 2005;3:30-4.
16. Akçay YD, Sagin FG, Sendağ F, Oztekin K, Sozmen EY. Effects of estrogen-only therapy on LDL oxidation in women with hysterectomy: does paraoxonase genotype play a role? *Maturitas* 2006;53:325-32.
17. Zago V, Sanguinetti S, Brites F, Berg G, Verona J, Basilio F, Wikinski R, Schreier L. Impaired high density lipoprotein antioxidant activity in healthy postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2004;177:203-10.
18. Kwok S, Selby PL, McElduff P, Laing I, Mackness B, Mackness MI, Prais H, Morgan J, Yates AP, Durrington PN, Sci FM. Progestogens of varying androgenicity and cardiovascular risk factors in postmenopausal women receiving oestrogen replacement therapy. *Clin Endocrinol* 2004;61:760-7.
19. Fenkci IV, Serteser M, Fenkci S, Akyol AM. Effects of intranasal estradiol treatment on serum paraoxonase and lipids in healthy, postmenopausal women. *Gynecol Obstet Invest* 2006;61:203-7.
20. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101:1581-90.
21. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol* 2005;69:541-50.
22. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;35:1126-38.
23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
24. Kumru S, Aydın S, Aras A, Gursu MF, Gulcu F. Effects of surgical menopause and estrogen replacement therapy on serum paraoxonase activity and plasma malondialdehyde concentration. *Gynecol Obstet Invest* 2005;59:108-12.
25. Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 2001;1:529-39.

26. Verit FF, Celik H, Yazgan P, Erel O, Geyikli I. Paraoxonase-1 activity as a marker of atherosclerosis is not associated with low bone mineral density in healthy postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet* 2007;275:353-9.
27. Bin Ali A, Zhang Q, Lim YK, Fang D, Retnam L, Lim SK. Expression of major HDL-associated antioxidant PON-1 is gender dependent and regulated during inflammation. *Free Radic Biol Med* 2003;34:824-9.
28. Yavuz DG, Yüksel M, Deyneli O, Ozen Y, Aydın H, Akalin S. Association of serum paraoxonase activity with insulin sensitivity and oxidative stress in hyperthyroid and TSH-suppressed nodular goitre patients. *Clin Endocrinol* 2004;61:515-21.
29. Oh HY, Kim SS, Chung HY, Yoon S. Isoflavone supplements exert hormonal and antioxidant effects in postmenopausal Korean women with diabetic retinopathy. *J Med Food* 2005;8:1-7.