

Deneyisel Osteoporoz Modeli Oluşturulmuş Ratlarda Stronsiyum Ranelat Uygulanmasının Karaciğer, Böbrek ve Kas Dokularındaki Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitelerine Etkisinin Araştırılması

The Investigation of Impact of Stronsium Ranelat Application on Paraoxonase and Arylesterase Activities in Liver, Kidney and Muscle Tissues in Experimental Osteoporosis Rat Model

Mehmet Berköz^{1*}, Özgün Sağır², Serap Yalın², Ülkü Çömelekoğlu³, Fatma Söğüt⁴, Pelin Eroğlu⁵

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

²Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

³Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

⁴Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Mersin, Türkiye

⁵Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Mersin, Türkiye

ÖZET

Amaç: Yaptığımız bu çalışmada deneyisel osteoporoz modeli oluşturulan sıçanlarda, post-menopozal tedavide yaygın olarak kullanılan stronsiyum ranelatın karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) enzim aktiviteleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 35 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanılmış ve her bir grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar kontrol grubu (Grup I), 3 ay boyunca sadece stronsiyum ranelat uygulanan grup (Grup II), sadece oofektomi uygulanan grup (Grup III), oofektomi sonra profilaktik amaçla hemen stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup (Grup IV) ve oofektomi yapıldıktan 3 ay sonra stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup (Grup V) olarak belirlenmiştir. Tüm gruplardaki hayvanların karaciğer, böbrek ve kas dokuları izole edilerek PON ve ARE aktivitelerine bakılmıştır. PON ve ARE değerleri bakımından gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar ANOVA ve alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Yaptığımız çalışmada tüm grupların karaciğer, böbrek ve kas PON ve ARE aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Ayrıca Grup V'in karaciğer PON ve ARE aktivitelerinin Grup II, Grup III ve Grup IV'e göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05).

Sonuç: Bulunan sonuçlar postmenopozal dönemin ve stronsiyum ranelat kullanımının karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki PON ve ARE aktivitelerini azalttığını, dolayısıyla antioksidan sistemi zayıflattığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Stronsiyum ranelat, oofektomi, paraoksonaz, arilesteraz

ABSTRACT

Objective: In this study, we investigated the effect of stronsium ranelat, which is used extensively in the post-menopausal treatment, on paraoxonase and arylesterase in liver, kidney and muscle tissues of experimental osteoporosis rats.

Materials and Methods: 35 female Wistar Albino female rats were divided into 5 groups (7 animals in each group). Group I was the control group, Group II received only stronsium ranelat, Group III underwent only oophorectomy, Group IV was consisted of rats in which stronsium ranelat treatment was started just after oophorectomy, and Group V consisted of rats in which stronsium ranelat treatment was started 3 months after oophorectomy. Liver, kidney, and muscle tissues of rats belonging to all groups were isolated and then PON and ARE activities were examined. The statistical differences in terms of PON and ARE values were evaluated by using ANOVA and Turkey Multiple Comparison for subgroups.

Results: According to results obtained from this study, a statistically significant decrease in PON and ARE activities of liver, kidney and muscle of rats in all groups was determined compared to control group (p<0.05). Furthermore, a statistically significant decrease in PON and ARE activities was detected in Group V compared to Group II, Group III and Group IV (p<0.05).

Conclusion: It can be concluded from this study that postmenopausal period and use of stronsium ranelat caused a decrease in PON and ARE activities in liver, kidney, and muscle tissues and therefore weakened the antioxidant system.

Key Words: Stronsium ranelate, oophorectomy, paraoxonase, arylesterase

*Sorumlu Yazar: Öğr. Gör. Dr. Mehmet Berköz

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Zeve Kampüsü VAN

GSM: +90 (536) 719 71 24, E-posta Adresi: mehmet_berkoz@yahoo.com

Geliş Tarihi: 13.04.2016, Kabul Tarihi: 14.11.2016

Giriş

Osteoporoz, düşük kemik kitlesi ve kemiğin mikroyapısal bozulması ile karakterize, kemik kırılabilirliğinde artış ve buna bağlı olarak kırığa yatkınlıkla sonuçlanan sistemik bir iskelet hastalığıdır. Potansiyel yıkıcı etkileri ve yüksek kırık riski nedeni ile önemli bir sağlık sorunu olan osteoporoz, birçok faktör ve duruma sekonder olarak gelişmektedir. Oral steroid kullanımı, hipogonadizm, hipertiroidizm, diabetes mellitus, multiple miyeloma, lösemi, lenfoma, antikonvülzanlar, düşük vücut kitle indeksi, aşırı kafein, sigara ve alkol tüketimi, immobilizasyon, hiperparatiroidizm, hiperprolaktinemi, malabsorbsiyon, protein ve kalsiyum yetmezliği osteoporotik değişikliklere neden olabilmektedir (1,2).

Menopozda östrojen düzeylerinin azalmasıyla kemik yapısının ve kemik kütesinin kaybı hızlanmaktadır. Menopozu takip eden birkaç yıl içerisinde hızlı ve sürekli gelişen kemik kaybı, kemik rezorpsiyonunun hızlanmış ve kemik formasyonunun azalmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca menopozla değişen hormonal denge kadınlarda uzun sürede endokrinolojik, immünolojik ve hematolojik sistemlerde ve kan lipid ve antioksidan sistem üzerinde bozulmalara neden olmaktadır. Özellikle antioksidan dengenin lipid peroksidasyonu lehine bozulması başta diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok hastalığa zemin hazırlamaktadır (3). Günümüzde osteoporoz tedavisinde çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ajanlar; kemik yapımını uyarıcı ve kemik yıkımını inhibe edenler şeklinde 2 gruba ayrılırlar. Östrojenler, progestinler, anti-östrojenler, tibolone, kalsitonin, bifosfanatlar, tiazid grubu diüretikler, kalsiyum, Vitamin D deriveleri ve ipriflavon osteoklastik aktiviteyi inhibe ederken; floridler, anabolik steroidler, paratiroid hormon ve peptidler, kalsitriol ve stronsiyum ranelat ise osteoblastik aktiviteyi uyarmaktadır (4).

Hormonlara ve büyüme faktörlerine ek olarak, mineral ve eser elementler kemik oluşumunu ve rezorpsiyonu dolaylı ve dolaylı olmayan mekanizmalarla etkilerler. Bu elementler arasında stronsiyumun *in vitro* ve *in vivo* olarak kemik oluşumunu etkilediği gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda önceleri stronsiyum klorid daha sonraları ise, di-stronsiyum tuzu olan ve S12911 olarak da gösterilen stronsiyum ranelat kullanılmıştır. Stronsiyum ranelat, 5-[bis (karboksimetil) amino]-2-karboksi 4-siyano-3-tiyofenasetik asid di-stronsiyum tuzudur ve

organik bir yapı olan ranelik asit ve nonradyoaktif stronsiyumun stabil iki atomunun bir araya gelmesi ile oluşur. Stronsiyum ranelat osteoprogenitör hücrelerin replikasyonunu artırarak, kemik oluşumu stimüle etmekte ve kemik rezorpsiyonu inhibe etmektedir (5).

Paraoksonaz (PON) enzimi, kalsiyum bağımlı bir aromatik hidrolazdır. LDL ve HDL'nin oksidasyondan korunmasında, hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan etkide ve anti-enflamatuvar süreçte önemli rol oynadığına inanılmaktadır (6). Stronsiyum ranelatın osteoporoz tedavisi açısından etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen, literatürde PON ve ARE enzimlerine etkisini araştıran çok fazla çalışmaya rastlanılmamıştır. Yaptığımız bu çalışmada; deneysel osteoporoz modeli oluşturulan sıçanlarda, post-menapozal tedavide kullanılan ve etkili bir osteoklastik aktivite baskılayıcı ajan olan stronsiyum ranelatın karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen 35 adet 200-250 g ağırlığında 90 günlük dişi Wistar-Albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların 1 hafta önceden laboratuvar koşullarına uyumları sağlanmış olup, yem ve su tüketimleri sınırlanmamıştır. Sıçanlar deney boyunca sıcaklığı 23 ± 2 °C ve nem oranı 55 ± 10 olan bir odada tutulmuşlardır. Hayvanların bulunduğu laboratuvarın havalandırılması pencere tipi aspiratör vasıtasıyla sağlanmış ve aydınlatılma için 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık esasına riayet edilmiştir. Sıçanlara ilaç uygulaması her sabah 09.00-10.00 saatleri arasında yapılmıştır. Sakrifikasyondan önceki 12 saat boyunca sıçanlara yem verilmemiştir. Araştırma için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Çalışmamız, her grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 grupta yapılmıştır. Grup I, kontrol grubu olup, bu gruptaki hayvanlar oryantasyondan 3 ay sonra sakrifiye edilmiştir. Grup II, stronsiyum ranelat grubu olup, bu gruptaki hayvanlara oryantasyondan sonra 3 ay boyunca her gün 500 mg/kg stronsiyum ranelat uygulanmış ve üçüncü ayın sonunda sakrifiye edilmişlerdir. Grup III, ooferektomi grubu olup, bu gruptaki hayvanlara oryantasyon sağlanır sağlanmaz ooferektomi yapılmış ve ooferektomi 3 ay sonra sakrifiye edilmişlerdir. Grup IV, ooferektomi + stronsiyum ranelat (ooferektomiden hemen sonra) grubu olup,

bu gruptaki hayvanlara oryantasyon sağlanır-sağlanmaz ooferektomi yapılmış ve hemen günlük 500 mg/kg olmak üzere stronsiyum ranelat üç ay boyunca uygulanmıştır. Bu sürenin sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Grup V, ooferektomi + stronsiyum ranelat (ooferektomiden üç ay sonra) grubu olup, bu gruptaki hayvanlara oryantasyon sağlanır-sağlanmaz ooferektomi yapılmış, deneysel osteoporoz modelinin oluşması için 3 ay beklenmiş ve bu sürenin sonunda hayvanlara üç ay boyunca her gün 500 mg/kg stronsiyum ranelat tedavisi uygulanmıştır. Bu sürenin sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

İntraperitoneal olarak uygulanan ketamin (200 mg/kg i.p.) ve xylazin (10 mg/kg i.p.) anestezisi altındaki dişi sıçanların operasyon bölgesindeki tüyler temizlenerek, bölge batikon ile silindikten sonra, abdominal kaviteri açılmış, sağ ve sol tuba uterileri bulunarak, proksimal ve distal uçları klamplenmiş ve overler izole edilmiştir. Açıkta kalan tuba uçları ise '0000 krome katgüt' ile ligate edilmiştir. Operasyon bittikten sonra, abdominal kavite ve cilt dokusu dikilmiş ve enfeksiyon gelişimini önlemek amacıyla batikon ile pansuman yapılmıştır. Operasyon sırasında kullanılan tüm cerrahi malzeme, operasyon öncesinde ve sonrasında sterilize edilmiştir. Deney süresi biten tüm hayvanlara anestezi altında kardiyak ponksiyon uygulanarak sakrifikasyonları gerçekleştirilmiş ve karaciğer, böbrek ve kas dokuları izole edilmiştir. Kas dokusu olarak, tüm hayvanların Musculus sartorius kasından yeteri kadar büyüklükte parça alınmıştır. Elde edilen tüm dokular serum fizyolojik solüsyonundan geçirilerek temizlenmiş ve çalışma gününe kadar dokular derin dondurucuda saklanmıştır.

Yaş ağırlıkları 100 mg olarak ayarlanan dokular, soğukluğu muhafaza edilerek temiz cerrahi makasla parçalara ayrılmıştır. Cam tüpe aktarılan doku üzerine 1/10 (w/v) olacak şekilde serum fizyolojik çözeltisi eklenmiştir. Tüm dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Homojenatın ısısı arttırılmadan tüplere aktarılarak tüpler numaralandırılmıştır. Elde edilen homojenatlar 3000 rpm'de 10 dakika (+4 °C) santrifüj edilmiş ve süpernatantın PON ve ARE aktiviteleriyle protein düzeylerine bakılmıştır.

PON aktivite ölçümünde 2 mM CaCl₂ ve 4 mM paraokson ihtiva eden 100 mM Tris-HCl, pH 8,0 tamponu kullanılarak, PON'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün 412 nm deki oluşumu ölçülerek, PON aktiviteleri incelenmiştir.

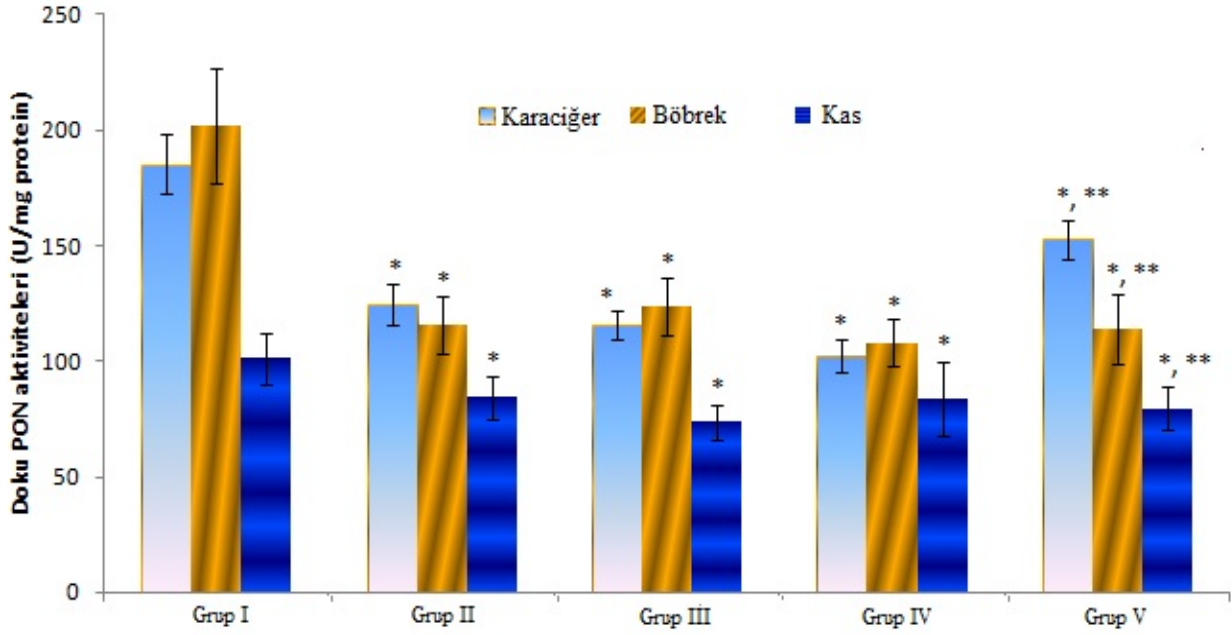
ARE aktivitesi ölçümleri için ise yine 2 mM CaCl₂ ihtiva eden 100 mM Tris-HCl, pH 8,0 tamponu kullanılmış, substrat olarak paraokson yerine son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde fenilasetat ilave edilmiştir ve ARE'nin enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenol 270 nm'de ölçülmüştür. PON aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol p-nitrofenol/mL/dk, ARE aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol fenol/mL/dk olarak tanımlanmıştır (6). Doku protein düzeyleri Lowry ve ark.'nın (7) belirlemiş olduğu yöntemle göre analiz edilmiştir.

Analizler SPSS for Windows v 16.0 paket programında yapılmıştır. PON ve ARE aktiviteleri bakımından 5 grup arasındaki istatistiksel farklılıkların test edilmesinde ANOVA ve alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak ortalama ± standart sapma değerleri verilmiş ve değişkenler için error bar grafikleri çizilmiştir. Elde edilen sonuçlarda p<0,05 ise fark veya ilişki istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Karaciğer dokusundaki PON ve ARE enzimlerinin spesifik aktivitesi sırasıyla; Grup I'de 185,24±12,85 U/mg protein ve 169,65±11,54 U/mg protein, Grup II'de 124,33±9,02 U/mg protein ve 116,48±9,36 U/mg protein, Grup III'de 115,54±6,23 U/mg protein ve 106,54±9,62 U/mg protein, Grup IV'de ise 102,21±6,91 U/mg protein ve 109,96±10,49 U/mg protein ve Grup V'de 152,61±8,41 U/mg protein ve 138,70±11,46 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada Grup II, Grup III, Grup V ve Grup V'in karaciğer PON ve ARE aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Grup V'in PON ve ARE aktivitelerinin Grup II, Grup III ve Grup IV'e göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Grup II ve Grup III arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05) (Şekil 1 ve 2).

Böbrek dokusundaki PON ve ARE enzimlerinin spesifik aktivitesi sırasıyla; Grup I'de 201,84±24,83 U/mg protein ve 267,97±34,51 U/mg protein, Grup II'de 115,63±12,63 U/mg protein ve 124,34±19,46 U/mg protein, Grup III'de 123,74±12,84 U/mg protein ve 137,82±20,44 U/mg protein, Grup IV'de ise 108,05±10,47 U/mg protein ve 117,31±17,39 U/mg protein ve Grup V'de 113,72±15,27 U/mg protein ve 121,69±17,06 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada Grup II,



Şekil 1. Karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki paraoksonaz enzim aktiviteleri

*Grup I'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,05$)

**Grup II, III ve IV'e kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$)

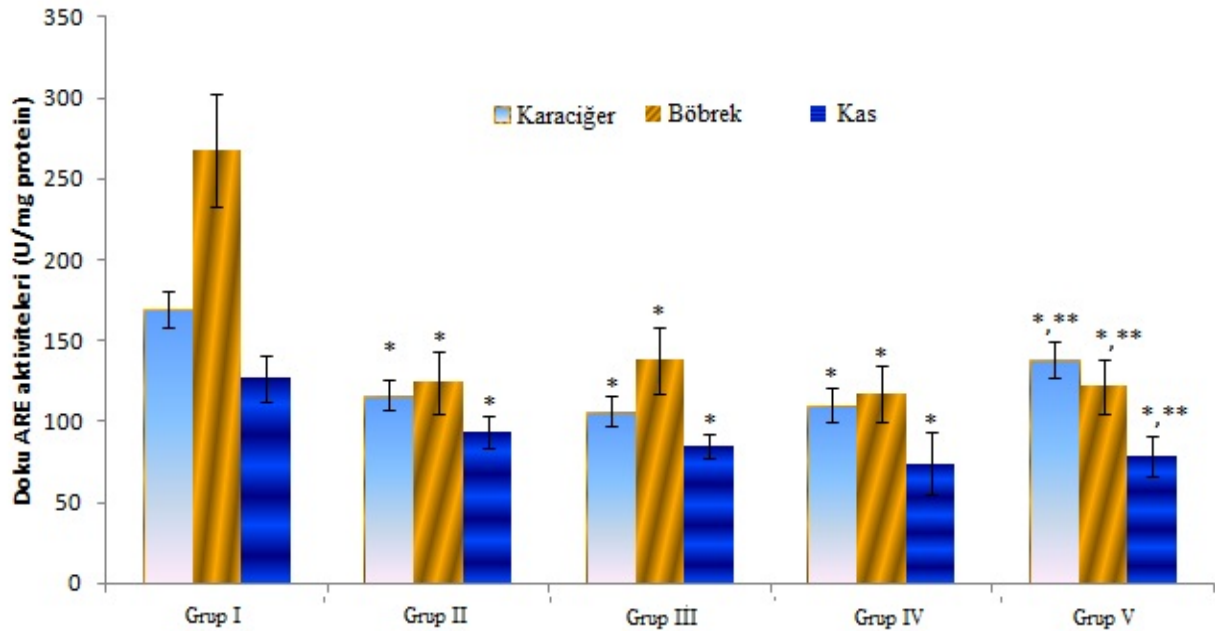
Grup I: Kontrol grubu

Grup II: 3 ay boyunca sadece stronsiyum ranelat uygulanan grup

Grup III: Sadece ooferektomi uygulanan grup

Grup IV: Ooferektomi sonra profilaktik amaçla hemen stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup

Grup V: Ooferektomi yapıldıktan 3 ay sonra stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup



Şekil 2. Karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki arilesteraz enzim aktiviteleri

*Grup I'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,05$)

**Grup II, III ve IV'e kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$)

Grup I: Kontrol grubu

Grup II: 3 ay boyunca sadece stronsiyum ranelat uygulanan grup

Grup III: Sadece ooferektomi uygulanan grup

Grup IV: Ooferektomiden sonra profilaktik amaçla hemen stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup

Grup V: Ooferektomiden yapıldıktan 3 ay sonra stronsiyum ranelat tedavisine başlanan grup

Grup III, Grup IV ve Grup V'in böbrek PON ve ARE aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Grup II, Grup III ve Grup IV'ün böbrek PON ve ARE aktiviteleri arasında ise istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 1 ve 2).

Kas dokusundaki PON ve ARE enzimlerinin spesifik aktivitesi sırasıyla; Grup I'de $101,27\pm 11,25$ U/mg protein ve $126,75\pm 14,27$ U/mg protein, Grup II'de $84,36\pm 9,36$ U/mg protein ve $93,73\pm 9,91$ U/mg protein, Grup III'de $73,61\pm 7,40$ U/mg protein ve $84,92\pm 7,19$ U/mg protein, Grup IV'de ise $83,59\pm 15,97$ U/mg protein ve $74,14\pm 18,94$ U/mg protein ve Grup V'de $79,54\pm 9,51$ U/mg protein ve $78,63\pm 12,09$ U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V'in kas PON ve ARE aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Grup II, Grup III ve Grup IV'ün kas PON ve ARE aktiviteleri arasında ise istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 1 ve 2).

Tartışma

Osteoporoz kemik kütlesinde azalma ve kemik dokusunun mikro yapısının bozulması sonucu kemik kırılabilirliğinin veya kırık olasılığının artması ile karakterize sistemik bir hastalıktır. Postmenopozal osteoporoz, kadınlarda menopoz sonrasında over fonksiyonlarının azalması ve dolayısıyla kandaki östrojen seviyesinin düşmesine bağlı gelişen osteoporoz tipidir. Östrojen eksikliğine bağlı osteoklast aktivitesindeki artış ile osteoblast aktivitesindeki azalma, kemik kütlesinde azalma ile sonuçlanmaktadır. Oofektomiye bağlı gelişen osteoporozda kemik dokunun histolojik yapısında görülen en büyük değişim, trabeküllerin zayıflaması ve alveolar alanların genişlemesidir. İnsanlarda olduğu gibi östrojen yokluğunun erken döneminde hızlı kemik kaybına bağlı turnover artışı ratlarda da görülmektedir. İnsanlarda görülen osteoporozun önlenmesi ve osteoporozun kemik üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılabilmesi için yapılan medikal ajan çalışmalarının birçoğu ratlar üzerinde yapılmaktadır (8).

Son zamanlarda postmenopozal kemik kaybında oksidatif stresin rolünü araştıran birçok çalışma yapılmaktadır. Oksidatif stres seviyelerinin kemik mineral yoğunluğu ile negatif bir ilişki içerisinde olduğu ve antioksidan seviyelerinin osteoporoz hastalarında düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir (9). Yapılan başka bir çalışmada,

osteoporotik hastalarda yüksek oksidatif stres değerleri bulunmuştur (10). Muthusami ve ark. (11) oofektomi yapılan ratlarda lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit düzeyinin yükseldiğini, superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S transferaz gibi enzimatik antioksidanların düzeylerinin azaldığını bildirmektedir. Hidrojen peroksidin osteoklast farklılaşmasında önemli rolü olduğunu ileri sürülmektedir (10). Çavdaroğlu ve ark. (12) PON aktivitesi ve nitrik oksit (NO) düzeyini istatikselsel olarak anlamlı olmasa da, osteoporotik hastalarda kontrol grubuna göre düşük bulmuştur.

PON ve ARE karaciğerde sentezlenip, HDL üzerinde bulunan bir proteindir. Aynı zamanda kalsiyum bağlı bir esteraz olup, okside fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğine sahip bir enzimdir. Bundan dolayı, lipoproteinleri ve membranları oksidatif modifikasyona karşı korumaktadır. PON ve ARE aktivitelerinin beslenme, alkol, sigara gibi birçok faktörden etkilendiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda postmenopozal kadınlarda PON ve ARE aktivitelerinin azaldığı ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (13).

Bu çalışmada, osteoporoz modeli oluşturmak için sıçanlara oofektomi uygulanmıştır. Bu model deneysel osteoporoz oluşturmak için yaygın olarak kullanıldığından dolayı tercih edilmiştir (14). Yaptığımız çalışmada oofektomi uygulamasının karaciğer, böbrek ve kas dokularında PON ve ARE enzim aktivitelerini önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür ($p<0,05$). Başkol ve ark. (15) tarafından yapılan bir çalışmada, osteoporotik grupta PON aktivitesinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. PON aktivitesindeki azalmayı lipid peroksidasyonu ve serbest radikallerin artışına bağlamışlardır. Okside olmuş lipidlerin serum PON aktivitesini inhibe ettiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (15). Serum PON aktivitesindeki azalmanın, osteoporotik hastalarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (15). Parhami ve ark. (16) oksidize lipidlerin kemik hücrelerini doğrudan reseptör yoluyla ya da proinflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar araçları arttırarak etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir. Kumon ve ark. (17) serum PON-1 aktivitesinin interlökinler tarafından azaltıldığını rapor etmişlerdir. Osteoporozda sitokinlerin artışı ile ilgili birçok çalışma bildirilmiştir. Sonuç olarak serum PON aktivitesinin azalması bu sitokinlerin artışı ile ilişkili olabilir. Ayrıca PON aktivitesi inflamatuvar yanıtın bir parçası olarak da azalabilir. Van Lenten ve ark. (18) ile Feingold ve ark. (19) yaptıkları

çalışmalarda, akut faz yanıtı sırasında PON aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir.

Osteoporoz tedavisinde amaç, kemik kitlesini ve kemiğin mikro mimari yapısını geliştirerek, kemik gücünü restore etmek ve bu şekilde vertebra ve periferik kırık riskini azaltmaktır (1,2). Bu amaçla birçok farmakolojik ajan kullanılmakta, bunların lipid peroksidasyonu ile PON ve ARE enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceleyen bir çok çalışma literatürde mevcuttur (20).

Çeşitli araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda osteoporozlu hastalara hormon replasman tedavisi uygulanmış ve serum PON düzeylerini incelemişlerdir. Kwok ve ark. (20) tek başına konjuge equine östrojen verilen grupta en yüksek PON düzeyleri elde edilirken, bunu konjuge equine östrojen ile norethisteron asetat (NETA) kombinasyonu uygulanan grup takip etmiştir. Diğer taraftan konjuge equine östrojen ile desogestrel kombinasyonu uygulanan grupta ve konjuge equine östrojen ile MPA kombinasyonu uygulanan grupta ise PON düzeylerinde tedavi almayanlara göre bir azalma gözlenmiştir. Hatungil ve ark. (14) ooferektomili sıçanlarda kalsitonin uygulamasının oksidatif stre yol açtığını ileri sürmüşlerdir. Yalın ve ark. (21) alendronatın ooferektomili sıçanlarda lipid peroksidasyonunu arttığını ve antioksidan sistemi etkilediğini, bundan dolayı da dokularda oksidatif strese neden olduğunu belirtmişlerdir.

Osteoporoz tedavisinde son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanılan ilaçlardan birisi de stronsiyum ranelat'tır. Stronsiyum ranelat; hem kemik doku kültüründe kemik yapımını, hem de osteoblast prekürsör kopyalanması ve kemik hücre kültüründe kollajen sentezini artırır. Osteoklast farklılaşmasını ve rezorbsiyon aktivitesini azaltarak kemik rezorbsiyonunu azaltır. Bunlar da, kemik dönüşümünün kemik yapımı yönünde yeniden dengelenmesini sağlamaktadır (22,23). Stronsiyum ranelatın postmenopozal osteoporozda kullanımının yaygınlaşması ile beraber bu ilacın PON ve ARE enzimleri üzerine etkileri çok fazla bilinmemektedir ve yaptığımız araştırmalarda da konu hakkında çok az literatür bilgisine rastlanılmıştır. Yaptığımız çalışmada tek başına stronsiyum ranelat uygulamasının sıçan karaciğer, böbrek ve kas dokularında PON ve ARE aktivitelerini azalttığını tespit ettik. Literatürde stronsiyum ranelatın PON ve ARE enzimlerinin üzerine olan etkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Berköz ve ark. (24), üç ay boyunca stronsiyum uygulanan sıçanların kalp dokularındaki PON ve ARE düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu durumu geçiş metallerinin biyolojik sistemlerde ROS meydana getirerek antioksidan sistemleri tüketmesinden kaynaklandığını vurgulamışlardır.

Yaptığımız çalışmadaki Grup IV'te yer alan sıçanlara ooferektomi uygulandıktan hemen sonra 500 mg/kg stronsiyum ranelat uygulanmıştır. Bu gruptaki sıçanların karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki PON ve ARE enzim düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ooferektomi gibi organizmadaki oksidatif yükü arttıran bir işlemde hemen sonra stronsiyum ranelat gibi bir ağır metal uygulamasının oksidatif stresi daha da dramatik bir şekilde arttırmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Grup V'de yer alan alan sıçanlara ooferektomi uygulandıktan 3 ay sonra 500 mg/kg stronsiyum ranelat uygulanmıştır. Bu gruptaki sıçanların da karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki PON ve ARE enzim düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak karaciğer dokusundaki PON ve ARE aktivitelerinin Grup II, Grup III ve Grup IV'e kıyasla artmış olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun stronsiyum ranelat tedavisinin osteoklastik aktiviteyi azaltıp, osteoblastik aktiviteyi artırarak menopoz sonrasında oluşan lipid peroksidasyonunu azalttığından kaynaklandığı düşüncesindeyiz. Özgöçmen ve ark. (25) yaptığı bir çalışmada oksidatif stresin postmenopozal kemik kaybında rolü olabileceği ve osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçların da oksidatif stresi azaltıcı yönde etkisi olduğu sonucuna varmıştır.

Sonuç olarak; deneysel osteoporoz modeli oluşturulmuş sıçanların karaciğer, böbrek ve kas dokularındaki PON ve ARE aktiviteleri düşük bulunmuş, bu durumun oksidatif stresi arttırabileceği göz önünde bulundurulduğunda başta diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve organ yetmezliği açısından risk faktörü olabileceği düşünülmektedir. Toksik bir eser element olan stronsiyum ranelat tuzu da, PON ve ARE seviyelerini düşürmekte ve zaten menopoz ile düşüşe geçen enzim aktivitelerini daha da düşürerek dramatik sonuçlara yol açabilmektedir. Stronsiyum ranelat tedavisinin hem ooferektomiden hemen sonra profilaktik olarak kullanılmasıyla hem de ooferektomiden 3 ay sonra tedavi amacıyla kullanılmasıyla PON ve ARE aktivitelerinde düşüş, dolayısıyla oksidatif streste artış görülmektedir. Stronsiyum ranelatın profilaktik olarak kullanıldığı grupta PON ve ARE aktivitelerindeki düşüş daha dramatik olarak tespit edilmiştir. Bu durumun ooferektomi işleminden hemen sonra uygulanan stronsiyum ranelat tedavisinin oksidatif stresi daha fazla

arttırmasından kaynaklandığı görüşündeyiz. Bu nedenle stronsiyum ranelat tedavisi gören kadınların belli aralıklarla serum PON ve ARE aktivitelerinin ölçülmesinin ve enzim aktivitesinde belirgin bir düşüşün meydana gelmesi durumunda ise kâr-zarar dengesi gözetilerek ilacın kesilmesinin ya da eğer mutlaka ilaca devam edilmesi gerekiyorsa, ilacın dozajı azaltılarak ve hastaya gerektiğinde antioksidan desteği sağlanarak, hastada oksidatif strese bağlı gelişebilecek olası bazı komplikasyonların önüne geçilebileceği kanaatindeyiz.

Kaynaklar

1. Tüzün F. Osteoporozun tanımı, sınıflaması ve epidemiyolojisi. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Osteoporoz Sempozyumu 1999; 9-15.
2. Eskiurt N. Osteoporozda risk faktörleri. Prospect 1998; 2(3): 110-112.
3. Rosen CJ. Pathogenesis of osteoporosis. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000; 14(2): 180-193.
4. Dinçer G. Osteoporozda medikal tedavi yaklaşımları. Osteoporoz. Modern Tıp Seminerleri, 19. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi 2001: 231-258.
5. Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. The divalent salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone* 1996; 18(6): 517-523.
6. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35(6): 1126-1138.
7. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275.
8. Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002; 359(9319): 1761-1767.
9. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82(1): 47-95.
10. Lean JM, Davies JT, Fuller K, Jagger CJ, Kirstein B, Partington GA, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J Clin Invest* 2003; 112(6): 915-923.
11. Muthusami S, Ramachandran I, Muthusamy B, Vasudevan G, Prabhu V, Subramaniam V, et al. Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats. *Clin Chim Acta* 2005; 360(1-2): 81-86.
12. Cavdaroglu B, Kose N, Baskol G, Demir H. Evaluation of protein and lipid oxidative stress in the patients with postmenopausal osteoporosis. *Dicle Med J* 2014; 41(1): 71-77.
13. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(9): 2214-2225.
14. Hatungil R, Yalin S, Comelekoglu U, Bagis S, Nayci A, Ogenler O, et al. Effect of calcitonin on lipid peroxidation in ovariectomized rats. *Chinese J of Pathophysiology* 2006; 22(supp. 13): 248.
15. Baskol G, Demir H, Cavdaroglu B. Assessment of paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with osteoporosis. *Erciyes Medical Journal* 2007; 29(4): 268-273.
16. Parhami F. Possible role of oxidized lipids in osteoporosis: could hyperlipidemia be a risk factor? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(6): 373-378.
17. Kumon Y, Nakauchi Y, Suehiro T, Shiinoki T, Tanimoto N, Inoue M, 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(3): 160-164.
18. Van Lenten BJ, Wagner AC, Nayak DP, Hama S, Navab M, Fogelman AM. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory properties during acute influenza a infection. *Circulation* 2001; 103(18): 2283-2288.
19. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998; 139(2): 307-315.
20. Kwok S, Selby PL, McElduff P, Laing I, Mackness B, Mackness MI, et al. Progestogens of varying androgenicity and cardiovascular risk factors in postmenopausal women receiving oestrogen replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61(6): 760-767.
21. Yalin S, Hatungil R, Comelekoglu U, Bagis S, Ogenler O, Nayci A, et al. Alendronatin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerine etkisi. XXXI. Ulusal Fizyoloji Kongresi Bildiri Özetleri, Gaziantep, 2005: 212.
22. Reginster JY, Deroisy R, Jupsin I. Strontium ranelate a new paradigm in the treatment of osteoporosis. *Drugs of Today* 2005; 39(2): 89-101.
23. Meunier PJ. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *New England J Med* 2004; 350(5): 459-468.
24. Berköz M, Yalin S, Çömelekoğlu Ü, Sağır Ö, Eroğlu P, Söğüt F. Alterations on paraoxonase and aryl esterase activities in the rat heart tissue after postmenopausal strontium ranelate therapy. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilim Derg* 2008; 1(3): 21-27.
25. Ozgoçmen S, Kaya H, Fadillioğlu E, Yılmaz Z. Effects of calcitonin, risedronate and raloxifene on erythrocyte antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis. *Arch of Med Research* 2007; 38(2): 196-205.