

POSTMENOPOZAL KADINLARDA DÜŞÜK SERUM PARAOKSONAZ-1 AKTİVİTESİ KORONER ATEROSKLEROZ İÇİN BİR RISK FAKTÖRÜ MÜDÜR?

¹Yard. Doç. Dr. Fuat Gündoğdu, ¹Doç. Dr. M Kemal Erol, ²Dr. Fevzi Polat, ¹Yard. Doç. Dr. Serdar Sevimli, ¹Yard. Doç. Dr. Şakir Arslan, ¹Doç. Dr. Yekta Gürlertop, ¹Prof. Dr. Şule Karakelleoğlu

¹Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, ²Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum

Ateroskleroz multifaktöriyel bir hastalık olup hiperlipidemi kardiyovasküler hastalığın gelişmesi için major bir risk faktörüdür. Paraoksonaz-1 (PON-1) lipid metabolizmasında rol oynar. Bu çalışma postmenopozal kadınlarda serum PON-1 aktivitesinin ateroskleroz gelişiminde bir risk faktörü olup olmadığının araştırılması amacıyla yapıldı.

İskemik kalp hastalığı şüphesi ile koroner anjiyografi için Üniversite Hastanesinin Kardiyoloji Bölümü Anabilim Dalına sevk edilen 50 ayrı birey üzerinde vaka-kontrol çalışması yaptık. Vakalar anjiyografik bulgularına göre iki ayrı grupta değerlendirildi. Hasta grubu (n=25), anjiyografik olarak belgelenmiş koroner arter hastalığı (KAH) olan bireylerden, kontrol grubu (n=25) ise anjiyografik olarak belgelenmiş KAH olmayan bireylerden oluşturulmuştur. PON-1 aktivitesi spektrofotometre ile ölçüldü.

Hasta ve kontrol grubu yaş ve menapoz sonrası geçen zaman açısından karşılaştırılınca her iki

grupta benzerdi (p>0.05). Hasta grubunda kontrol grubuna göre total kolesterol (p<0.001), LDL kolesterol (p<0.001) ve trigliserid (p<0.01) düzeyleri önemli oranda yüksek fakat HDL kolesterol (p<0.05) düzeyi ise önemli oranda düşük bulundu. Serum bazal PON-1 aktivitesi koroner arter hastalıklı grupta kontrol grubuna göre daha düşüktü fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi (p>0.05). Diğer taraftan, 1 mol/L NaCl ile stimule edilmiş PON-1 aktivitesi ise koroner arter hastalıklı grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.005).

Bu çalışmanın sonucu menapoz sonrası kadınlarda düşük serum PON-1 aktivitesinde KAH için bir risk faktörü olabileceğini ileri sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, Menapoz, Paraoksonaz

(Türk Girişimsel Kard. Der. 2007;11: 151-155)

GİRİŞ

Kadınlar arasında ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık insidansının menapoz sonrası dönemde arttığı bilinmektedir. Menapoz ve koroner arter hastalığı arasındaki ilişki azalan östrojenin düzeyinin bir sonucu olarak gelişen lipid konsantrasyonundaki değişikliklere bağlanmıştır^{1,2}. Düşük HDL kolesterol ve yüksek LDL kolesterol seviyelerinin artmış ateroskleroz riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Özellikle LDL-kolesterol oksidasyonunun endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz başlangıcında önemli rolünün olduğu gösterilmiştir^{3,4}.

Yazışma adresi: Dr. Fuat GÜNDOĞDU

Ahmet Şefik Kolaylı Cad.
1. Sokak Yeni Elif Sitesi A2 Blok No: 18
Daire No: 51 Etilik-Keçiören
06020-Ankara/TÜRKİYE
Tel: +90- 442 316 63 33
Fax: +90 442 316 63 40
e-mail: gundogudr@gmail.com

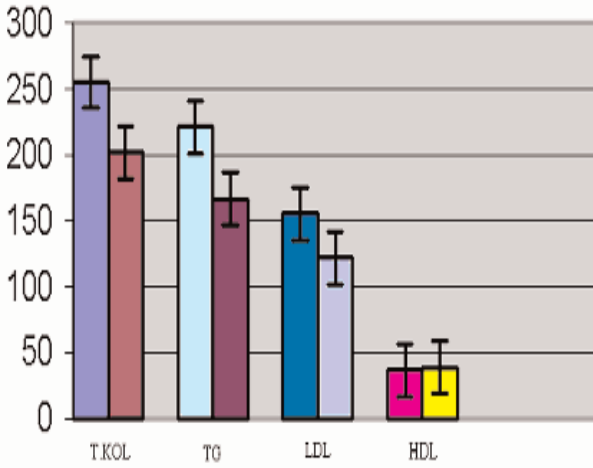
LDL-kolesterolün oksidatif modifikasyonunun önlenmesinde HDL üzerinde lokalize olan paraoksonaz-1 (PON-1) aktivitesinin önemli bir fonksiyonu olduğu bildirilmiştir⁵⁻⁷. Paraoksonaz arilialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir⁸. Organik fosforlu paraoksonları substrat olarak kullandığı için bu isim verilmiştir. Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeni ile toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır. PON enzim ailesinin PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere üç ayrı geni mevcuttur. Yeni keşfedilen PON 2 ve PON 3 hakkındaki bilgiler PON 1'e göre kısıtlıdır. PON enzimini kodlayan gen, insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda, q 21.3 ile q 21.1 bölgesinde tespit edilmiştir⁶.

Serum PON-1 düzeyleri diyet, akut faz proteinleri, sigara, gebelik ve apo A1 metabolizmasını etkileyen

Tablo 1: Hasta ve kontrol grubunun lipoprotein profili

	Hasta	Kontrol	p<
Total kolesterol (mg/dl)	255.3±51.1	202.1±39.9	0.001
LDL-kolesterol (mg/dl)	155.5±31.01	121.9±25.01	0.001
Trigliserid (mg/dl)	221.2±64.0	166.4±71.7	0.01
HDL-kolesterol (mg/dl)	36.4±3.2	38.8±3.9	0.05
Apo-A1 (mg/dl)	126.1±15.2	142.0±32.1	0.05
Apo-B (mg/dl)	148.4±18.9	128.4±21.1	0.005
Lipoprotein (a)	64.9±52.4	25.5±24.4	0.005

Şekil 1: Koroner arter hastalıklı grup ile kontrol grubunun lipoprotein profili açısından karşılaştırılması (T.KOL:Total kolesterol, TG:Trigliserid, LDL:LDL-kolesterol, HDL:HDL-kolesterol)



bozukluklardan etkilenir^{9,10}. PON-1'in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu organofosfat sinir ajanlarını, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisitleri hidrolize etme yeteneğidir¹¹. Bu fonksiyonuna ilave olarak PON-1, ateroskleroz patogenezinde santral rol oynayan LDL-kolesterolün Cu iyonunun ve serbest radikallerin induklediği oksidatif modifikasyondan koruyan bir enzimdir^{12,13}. Bu çalışma menapoz sonrası dönemde lipid profilindeki değişiklikler ve bu değişikliklere sebep olduğu düşünülen HDL-kolesterolün antioksidan özelliğini sağlayan PON-1 aktivitesinin koroner arter hastalığı ile ilişkisini incelemek amacıyla yapıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya kardiyoloji polikliniğine atipik veya tipik angina pectoris şikayeti ile başvuran, iskemik kalp hastalığı (stabil angina pectoris, unstabil angina pectoris) şüphesi nedeniyle koroner anjiyografi yapılan postmenopozal hastalar dahil edildi. Daha sonra yaş ve menapoz sonrası geçen zaman açısından aralarında anlamlı fark olmayan hastalar koroner anjiyografi sonuçlarına göre kontrol ve hasta grubu

şeklinde ayrılarak toplam 60 hasta çalışma grubuna alındı. Başlangıçta 60 kişiden oluşan çalışma grubunun 3 tanesinde kan değerleri hemolizli numune olarak değerlendirildiği için, ayrıca 7 hasta çalışma süresi içerisinde hormon replasman tedavisi (HRT) aldıkları için toplam 10 birey çalışma dışında bırakıldı. Koroner anjiyografi sonucu koroner arterlerinde daralma saptanamayan 25 vaka kontrol grubu olarak alındı. Yine aynı tanımlarla koroner anjiyografi yapılması için endikasyon konulan ve koroner anjiyografi sonucunda koroner arterlerin en az bir tanesinde %50 ve üzerinde darlık tespit edilen 25 hasta koroner arter hastası olarak çalışmaya alındı. Kontrol grubunun yaş ortalaması 61.2±5.0 yıl iken, hasta grubunun yaş ortalaması ise 62.8±6.4 yıl idi. Diyabetes mellitusu, lipid metabolizması bozuklukları, böbrek yetmezliği, kardiyovasküler hastalığı olanlar ve daha önceden HRT tedavisi veya antihiperlipidemik ilaç kullanma hikayesi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışma protokolü yerel etik komite tarafından onaylandı ve tüm hastalardan çalışmaya gönüllü katıldıklarına dair belge alındı. **Kan örneklerinin alınması:** Bir gecelik açlığı takiben sabah periferik venöz kan örnekleri alındı. Serum total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol hazır ticari kit kullanılarak Olympus 2700 otoanalizöründe, apolipoprotein A ve apolipoprotein B düzeyleri nephelometric olarak aynı gün ölçüldü.

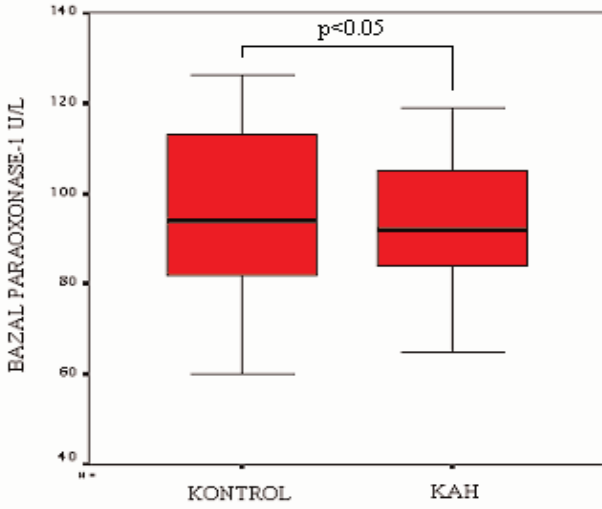
PON-1 analizi: PON-1 enzim aktivitesinde substrat olarak paraokson kullanıldı. PON-1 aktivitesi hem bazal hem de solusyonlara 1 mol/L NaCl ilave edilerek NaCl-stimüle PON-1 aktiviteleri spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Aktivite birimi U/L olarak tanımlanmıştır¹⁴.

İstatistiksel değerlendirme: Elde edilen sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Gruplar arası serum PON-1 düzeyinin karşılaştırılması student t testi ile araştırıldı. P değeri <0.05 olan veriler anlamlı kabul edildi.

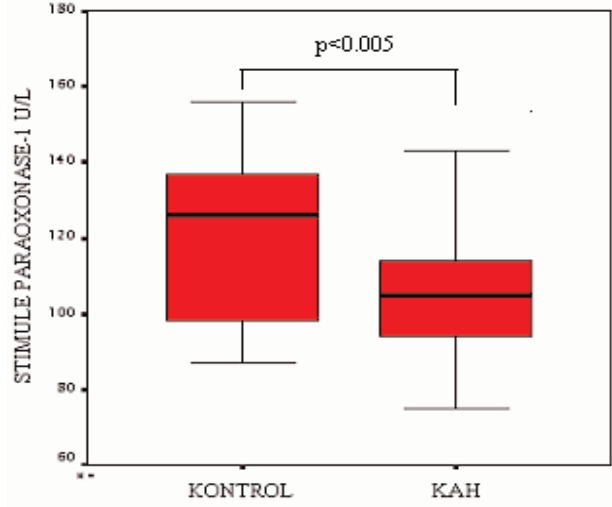
BULGULAR

Koroner arter hastalıklı grup ve kontrol grubu; yaş (61.2±5.0 yıl ; 62.8±6.4 yıl) ve menapoz sonrası

Şekil 2: Serum bazal PON-1 aktivitesi açısından koroner arter hastalıklı grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması (KAH: Koroner arter hastaları)



Şekil 3: 1 mol/L NaCL ile stimule edilmiş PON-1 aktivitesi açısından koroner arter hastalıklı grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması (KAH: Koroner arter hastaları)



geçen zaman (14.7 ± 6.0 ; 16.4 ± 5.7 yıl) açısından karşılaştırılınca her iki grupta benzerdi ($p > 0.05$). Bununla beraber koroner arter hastalıklı grupta kontrol grubuna göre total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid, lipoprotein-a, ve apolipoprotein B düzeyleri (sırası ile $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.005$, $p < 0.005$, $p < 0.0001$) önemli oranda yüksek fakat HDL-kolesterol ve apolipoprotein A düzeyleri ise ($p < 0.05$, $p < 0.05$) önemli oranda düşük bulundu (Tablo 1). Hasta ve kontrol grubunun lipid profili karşılaştırılması da Şekil 1'de ayrıca grafiksel olarak verildi.

Serum bazal PON-1 aktivitesi koroner arter hastalıklı grupta kontrol grubuna göre daha düşüktü fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi ($p > 0.05$). 1 mol/L NaCL ile stimule edilmiş PON-1 aktivitesi ise koroner arter hastalıklı grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.005$). Bazal ve NaCL ile stimule PON-1 aktivite değerlerinin karşılaştırılması da sırası ile Şekil 2 ve Şekil 3'te verildi.

TARTIŞMA

Bizim bu çalışmayı yapmaktaki amacımız post-menopozal kadınlarda serum PON-1 aktivitesinin ateroskleroz gelişiminde bir risk faktörü olup olmadığını araştırmaktır. Östrojenin azalmasına ve yaşlanmaya bağlı olarak kardiyovasküler hastalıkların neden olduğu mortalite oranı menapoz sonrası dönemde dramatik bir artış göstermektedir. Çünkü östrojen antiaterosklerotik role sahip olduğu bilinmektedir¹⁵⁻¹⁷. Kadınlarda menapoz ile birlikte lipid pro-

filinde değişiklikler ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu değişiklikler içerisinde LDL-kolesterol trigliserid ve total kolesterol düzeyinde artış göze çarparken HDL-kolesterol seviyesinin ise azaldığı bilinmektedir. HDL-kolesterol düzeyinde gözlenen azalmanın HDL-kolesterolün fonksiyonel değişikliklerine yol açması muhtemel bir sonuç olacaktır. Bu fonksiyonel değişiklikler içerisinde ateroskleroz gelişimine en çok katkısı olan durum HDL-kolesterolün LDL kolesterolü okside etme yeteneğinin azalması olarak bildirilmiştir¹⁸.

HDL-kolesterol yapısında bulunan PON1 enzimi, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL-kolesterolün ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır¹⁹⁻²¹. PON1 enzimi, LDL-kolesterol üzerinde bulunan aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı antiinflamatuvar etki gösterebilir^{22,23}. Bizim çalışmamızda da hasta grubunda HDL-kolesterol düzeyi kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşük bulundu. Ayrıca PON-1 enzimini ile HDL-kolesterolün bağlanmasını sağladığı düşünülen Apolipoprotein A1 düzeyi de hasta grubunda anlamlı derecede düşük bulundu. Birkaç çalışmada PON-1 enzim aktivitesi ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki bulunmuştur^{24,25}. Bizim çalışmamızda da bazal PON-1 aktivitesi koroner arter hastalıklı grupta düşük olmasına rağmen bu değer istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi, fakat 1mol/L NaCL ile stimule edilmiş PON-1

aktivitesi ise koroner arter hastalıklı grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Bazal ve NaCl ile stimule edilmiş PON-1 aktiviteleri arasındaki fark PON-1 aktivite ölçüm tekniklerine bağlı olabilir. Çünkü PON-1 aktivitesinin kullanılan solüsyonların miktarına ve çevresel etkenlere (sıcaklık ve pH gibi) bağlı olarak değişebilmektedir²⁶.

Çalışmanın sınırlamaları: Vaka sayısının nispeten az olması ve vakaların hormon (Östrojen, progesteron, testosteron gibi) düzeylerinin çalışılmaması çalışmanın sonuçlarını kısıtlayan en önemli iki engel olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca kontrol grubunun koroner anjiyografisi normal olan hastalardan oluşturulması bu hastalarda iskemik kalp hastalığının olabileceğini tamamen ekarte etmemekle beraber koroner anjiyografinin iskemik kalp hastalığını dışlama kriteri olarak kullanılması seçilebilecek en iyi yöntem olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmanın sonucu menapoz sonrası kadınlarda düşük serum PON-1 aktivitesinin KAH için bir risk faktörü olabileceğini akla getirmektedir. Bu sonuç menapoz sonrası kadınlarda artmış kardiyovasküler hastalık riskinin oksidatif stres ile ilişkili olabileceğini ve bu alanda daha ayrıntılı şekilde yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. McManus J, McEneny J, Young IS, Thompson W. The effect of various oestrogens and progestogens on the susceptibility of low density lipoproteins to oxidation in vitro. *Maturitas* 1996;25:125-31.
2. Shwaery GT, Vita JA, Keane JF Jr. Antioxidant protection of LDL by physiologic concentrations of estrogens is specific for 17-beta-estradiol. *Atherosclerosis* 1998;138:255-62.
3. Rosenson RS. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004;173:1-12.
4. Tokgözoğlu L, Özer N. Ateroskleroz patogenezi. Özcan N, Editor. Koroner kalp hastalıkları. Ankara: 1997. p. 129-163.
5. La Du BN, Aviram M, Billecke S, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999;119-120:379-88.
6. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998;31:329-36.
7. Sozmen EY, Sozmen B, Girgin FK, et al. Antioxidant enzymes and paraoxonase show a co-activity in preserving low-density lipoprotein from oxidation. *Clin Exp Med* 2001;1:195-99.
8. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J* 2001;42:146-50.
9. Maron DJ, Ridker PM, Pearson TA, Grundy SM. Dyslipidemia, other risk factors, and the prevention of coronary heart disease. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R, editor. *Hurst's The Heart*. USA: McGraw-Hill Companies, 2001. p. 1131-60.
10. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, et al. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO J* 2003;49:295-99.
11. Li WF, Costa LG, Furlong CE. Serum paraoxonase status: a major factor in determining resistance to organophosphates. *J Toxicol Environ Health* 1993;40:337-46.
12. Heijmans BT, Westendorp RG, Lagaay AM, Knook DL, Kluff C, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis* 2000;149:91-97.
13. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000;101:2510-17.
14. 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;35:214-27.
15. Kannel WB. The Framingham Study: historical insight on the impact of cardiovascular risk factors in men versus women. *J Gend Specif Med* 2002;5:27-37.
16. Nathan L, Pervin S, Singh R, Rosenfeld M, Chaudhuri G. Estradiol inhibits leukocyte adhesion and transendothelial migration in rabbits in vivo : possible mechanisms for gender differences in atherosclerosis. *Circ Res* 1999;85:377-85.
17. Hayashi T, Jayachandran M, Sumi D, et al. Physiological concentration of 17beta-estradiol retards the progression of severe atherosclerosis induced by a high-cholesterol diet plus balloon catheter injury: role of NO. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1613-21.
18. Zago V, Sanguinetti S, Brites F, et al. Impaired high density lipoprotein antioxidant activity in healthy postmenopausal women. *Atherosclerosis*

- sis 2004;177:203-10.
19. 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.
 20. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
 21. Watson AD, Navab M, Hama SY, et al. Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;95:774-82.
 22. Nelson DL, Cox MM. Lipid Biosynthesis. In: Lehninger LA, (ed). *Lehninger principles of Biochemistry*. New York, Worth Publishers, 2000: 770-817.
 23. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997;272:20963-66.
 24. Laplaud PM, Dantoine T, Chapman MJ. Paraoxonase as a risk marker for cardiovascular disease: facts and hypotheses. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:431-41.
 25. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-80.
 26. Gülcü F, Gürsu MF. Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi* 2003;28:45-49.