

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**AKUT VE KRONİK LÖSEMİDE KATALAZ C-262T VE
PARAOKSONAZ 1 L55M GEN POLİMORFİZMLERİ İLE
KATALAZ VE PARAOKSONAZ
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Nazan ERAS ERDOĞAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Etem AKBAS

MERSİN – 2012

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**AKUT VE KRONİK LÖSEMİDE KATALAZ C-262T VE
PARAOKSONAZ 1 L55M GEN POLİMORFİZMLERİ İLE
KATALAZ VE PARAOKSONAZ
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Nazan ERAS ERDOĞAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Etem AKBAŞ

**Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TB (NEE) 2009-8 DR kodlu proje olarak desteklenmiştir.**


Tez No: 26

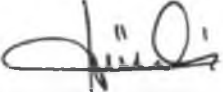
MERSİN – 2012


Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

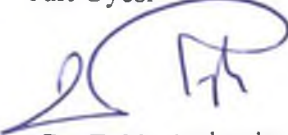
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Doktora Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Akut ve Kronik Lösemide Katalaz C-262T ve Paraoksonaz 1 L55M Gen Polimorfizmleri ile Katalaz ve Paraoksonaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

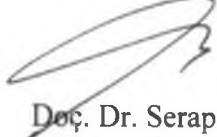
Tez Savunma Tarihi 08/ 06/ 2012


Prof. Dr. M. Emin ERDAL
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Tülin ÇORA
Jüri Üyesi


Doç. Dr. Etem AKBAŞ
Jüri Üyesi


Doç. Dr. E. Naci TİFTİK
Jüri Üyesi


Doç. Dr. Serap YALIN
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 20.06.2012 tarih ve 212/115 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ülku ÇÖMELEKÇİ



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini aktaran, tez çalışmalarımın yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde bana yol gösteren çok değerli tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Etem AKBAŞ'a teşekkür ederim. Eğitimim boyunca ve tez çalışmalarımda yaptığı tüm katkılardan dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof. Dr. M. Emin ERDAL'a teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında bilimsel katkılarını esirgemeyen, tezimde yer alan hasta gruplarının toplanmasında yardımcı olan ve doktora tezimin izleme komitesinde bulunan ME.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Naci TİFTİK'e, hasta gruplarının toplanmasında yardımcı olan ME.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı Yan Dal Araştırma Görevlisi Dr. Anıl TOMBAK'a ve hematoloji laboratuvarı personeline, ME.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Selma ÜNAL'a, tezimin deney aşamasındaki katkılarından dolayı ME.Ü. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Serap YALIN'a ve ME.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasotik Teknoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi Mehmet BERKÖZ'e, tezimin istatistikleri ve bulgularının değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Yrd. Doç. Dr. Seval KUL'a, doktora eğitimim boyunca yaptıkları bilimsel ve akademik katkıdan dolayı Anabilim Dalımızdaki diğer değerli hocalarıma, çalışmalarım esnasında ve eğitimim esnasında her türlü desteğini esirgemeyen laboratuvarında birlikte çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim. Tezimi proje olarak kabul edip destekleyen, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi destekleriyle, eğitimimin akademik yönde devam etmesini sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| KABUL ve ONAY | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| İÇİNDEKİLER | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | ix |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | xi |
| ÖZET | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Lösemiler Hakkında Genel Bilgiler..... | 3 |
| 2.1.1. Tanımlama ve Sınıflama..... | 3 |
| 2.1.2. Tarihçe..... | 3 |
| 2.1.3. Epidemiyoloji..... | 4 |
| 2.1.4. Etyoloji..... | 5 |
| 2.1.4.1. Çevresel Risk Faktörleri..... | 5 |
| 2.1.4.1.1. Radyasyon..... | 5 |
| 2.1.4.1.2. Benzen..... | 6 |
| 2.1.4.1.3. Pestisidler..... | 7 |
| 2.1.4.1.4. Alkol..... | 9 |
| 2.1.4.1.5. Sigara..... | 9 |
| 2.1.4.1.6. Diyet..... | 10 |
| 2.1.4.1.7. Obesite..... | 12 |
| 2.1.4.1.8. Virüsler..... | 12 |
| 2.1.4.1.9. İlaç Kullanımı..... | 13 |
| 2.1.4.2. Genetik Faktörler..... | 13 |
| 2.1.4.2.1. Karsinogenezi ve Germ Hücre Dizilerinin Rolü..... | 14 |
| 2.1.4.2.2. Onkogenler-Protoonkogenler..... | 15 |
| 2.1.4.2.2.1. Kromozomal Translokasyonlar..... | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 2.1.4.2.3. Tümör Süpresör Genler..... | 20 |
| 2.2. PON Gen Ailesi..... | 21 |
| 2.2.1. PON1..... | 22 |
| 2.2.1.1. PON1 Enziminin Biyokimyasal Yapısı..... | 22 |
| 2.2.1.2. PON1 Gen Polimorfizmleri..... | 23 |
| 2.2.1.3. PON1 Enziminin Regülasyon..... | 25 |
| 2.2.2. PON2..... | 27 |
| 2.2.3. PON3..... | 28 |
| 2.3. Katalaz..... | 28 |
| 2.3.1. CAT Gen Polimorfizmleri..... | 30 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM | 32 |
| 3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması | 32 |
| 3.1.1. Genotip Belirlenmesinde Kullanılan Araç ve Gereçler..... | 32 |
| 3.1.1.1. Kullanılan Cihazlar..... | 32 |
| 3.1.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler..... | 33 |
| 3.1.1.3. Kullanılan Tampon Çözeltileri..... | 34 |
| 3.1.1.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler..... | 34 |
| 3.1.1.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Çözeltiler..... | 35 |
| 3.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu..... | 36 |
| 3.3. Moleküler Analiz..... | 36 |
| 3.3.1. PON1 L55M ve CAT C-262T Polimorfizmlerinin Belirlenmesi..... | 37 |
| 3.3.2. %3'lük Agaroz Jelin Hazırlanması..... | 40 |
| 3.3.3. Elektroforez İşlemi..... | 41 |
| 3.4. Plazma PON1 ve CAT Enzim Aktivitelerinin Ölçümü..... | 42 |
| 3.4.1. Enzim Ölçümleri İçin Kullanılan Cihazlar..... | 42 |
| 3.4.2. Enzim Ölçümleri İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler..... | 43 |
| 3.4.2.1. PON1 Aktivitesi İçin Kullanılan Kimyasallar..... | 43 |
| 3.4.2.2. CAT Aktivitesi İçin Kullanılan Kimyasallar..... | 43 |
| 3.4.3. Kan Plazmasının Ayrılması | 44 |
| 3.4.4. Enzim Aktivite Tayini | 44 |
| 3.4.4.1. PON1 Enzim Aktivitesi Tayini..... | 44 |
| 3.4.4.1.1. PON1 Enzim Aktivitesi Tayini İçin Kullanılan Reaktifler..... | 44 |

| | |
|--|------------|
| 3.4.4.1.2. Paraokson Standart Grafiği..... | 45 |
| 3.4.4.1.3. Enzim Aktivitesinin Hesaplanması..... | 45 |
| 3.4.4.2. CAT Enzim Aktivitesi Tayini..... | 46 |
| 3.4.4.2.1. CAT Enzim Aktivitesi Tayini İçin Kullanılan Reaktifler..... | 46 |
| 3.4.4.2.2. Deneyin Yapılışı..... | 46 |
| 3.5. İstatistiksel Değerlendirme..... | 47 |
| 4. BULGULAR | 48 |
| 4.1. PON1 L55M ve CAT C-262T Polimorfizmlerinin Genotiplemesi..... | 48 |
| 4.1.1. Kontrol Grubu ve Lösemililerde PON1 L55M ve CAT C-262 Polimorfizmlerine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Değerlendirilmesi..... | 50 |
| 4.1.1.1. PON1 L55M Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları..... | 50 |
| 4.1.1.2. CAT C-262T Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları..... | 51 |
| 4.2. Lösemili ve Sağlıklı Bireylerde Plazma PON1 ve CAT Düzeylerinin Karşılaştırılması..... | 52 |
| 4.2.1. Plazma PON1 Düzeylerinin Karşılaştırılması..... | 52 |
| 4.2.2. Plazma CAT Düzeylerinin Karşılaştırılması..... | 54 |
| 4.3. Plazma PON1 ve CAT Aktivitesinin Genotiplerine Göre Dağılımı..... | 57 |
| 4.3.1. Plazma PON1 Aktivitesinin PON1 L55M Genotiplerine Göre Dağılımı..... | 57 |
| 4.3.2. Plazma CAT Aktivitesinin CAT C-262T Genotiplerine Göre Dağılımı..... | 57 |
| 5. TARTIşMA | 59 |
| 6. SONUÇ ve ÖNERİLER | 77 |
| 7. KAYNAKLAR | 79 |
| ZGEMİş | 107 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. PON1geninin polimorfizmleri..... | 24 |
| Şekil 2.2. CAT geninin kromozom 11p13'deki lokalizasyonu..... | 30 |
| Şekil 2.3. CAT geninin promotor bölgesinde bulunan C-262T polimorfizmi..... | 31 |
| Şekil 4.1. PON1 55 genotiplerinin % 3'lük agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi..... | 49 |
| Şekil 4.2. CAT genotiplerinin % 3'lük agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi... | 50 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 3.1. Bir örnek için PCR ortamında kullanılan malzeme ve miktarları..... | 37 |
| Çizelge 3.2. PON1 L55M polimorfizmi için uygulanan PCR reaksiyon ısı döngüleri.. | 38 |
| Çizelge 3.3. CAT C-262T polimorfizmi için uygulanan PCR reaksiyon ısı döngüleri | 39 |
| Çizelge 4.1. Kontrol ve lösemi hastalarının yaşa göre dağılımı..... | 48 |
| Çizelge 4.2. PON1 L55M polimorfizmine ait allel ve genotip frekansları..... | 51 |
| Çizelge 4.3. CAT C-262T polimorfizmine ait allel ve genotip frekansları..... | 52 |
| Çizelge 4.4. Kontrol grubu ve lösemi hastalarında plazma PON1 düzeylerinin dağılımı..... | 52 |
| Çizelge 4.5. Plazma PON1 düzeylerinin kontrol grubu ile yeni tanı almış AML ve ALL'li hastalardaki dağılımı..... | 53 |
| Çizelge 4.6. ALL, AML ve KML'li hastaların tanı anı ve CRP>100 iken plazma PON1 değerleri..... | 54 |
| Çizelge 4.7. AML, ALL ve KML'li hastaların tanı anı ve 1 ay sonrasındaki plazma PON1 değerleri | 54 |
| Çizelge 4.8. Kontrol grubu ve lösemi hastalarında plazma CAT düzeylerinin dağılımı | 55 |
| Çizelge 4.9. Plazma CAT düzeylerinin kontrol grubu ile yeni tanı almış AML ve ALL'li hastalardaki dağılımı | 55 |
| Çizelge 4.10. ALL, AML ve KML'li hastaların tanı anı ve CRP>100 iken plazma CAT değerleri..... | 56 |
| Çizelge 4.11. AML, ALL ve KML'li hastaların tanı anı ve 1 ay sonrasındaki plazma CAT değerleri.... | 56 |
| Çizelge 4.12. Plazma PON1 aktivitesinin genotiplerine göre dağılımı | 57 |
| Çizelge 4.13. Plazma CAT aktivitesinin genotiplerine göre dağılımı | 58 |
| Çizelge 5.1. Farklı Populasyonlarda PON1 L55M Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı..... | 61 |
| Çizelge 5.2. Türk Populasyonuna ait PON1 L55M Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı..... | 63 |

| | |
|---|----|
| Çizelge 5.3. Farklı Populasyonlarda CAT C-262T Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı..... | 65 |
|---|----|

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-----------------------------------|---|
| A | Adenin |
| ALL | Akut lenfoblastik lösemi |
| ALS | Amyotrofik lateral skleroz |
| AML | Akut myeloblastik lösemi |
| ApoA | Apolipoprotein A |
| Asn | Asparajin amino asit |
| Asp | Aspartat amino asit |
| AT | Ataksia telenjektazia |
| bHLH | Temel Heliks ilmek heliks (basic Helix-Loop-Helix) |
| BMI | Beden kitle indeksi (Body mass index) |
| bp | Baz çifti (base pair) |
| BRCA | Meme kanseri yatkınlık geni (Breast Cancer Susceptibility Gene) |
| C | Sitozin (Cytosine) |
| C amino asit | Sistein amino asit (Cistein) |
| CaCl | Kalsiyum Klorür |
| CAT | Katalaz |
| CBFβ | Kor bağlayıcı faktör β (Core Binding Factor β) |
| CDK | Siklin bağımlı kinaz (Cyclin-Dependent Kinase) |
| CRP | C reaktif protein |
| CYP1A1 | Sitokrom P4501A1 |
| DBD | DNA bağlayıcı bölge (DNA Binding Domain) |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| dNTP | Deoksiribonükleozid trifosfat |
| EBV | Epstein-Barr Virüs |
| EC | Epikatekin |
| ECG | Epikatekin-3-gallat |
| EDTA | Etilendiamintetraasetik asit |
| EGC | Epigallokatekin |
| EGCG | Epigallokatekin-3-gallat |
| FAD | Flavin Adenin Dinükleotid |
| FANC | Fanconi anemisi |
| FISH | Fluoresan in situ hibridizasyon |
| FMN | Flavin mononükleotid |
| G | Guanin |
| G Fazı | Büyüme fazı (Growth Phase) |
| GDP | Guanozin difosfat |
| Glu | Glutamik amino asit |
| GST | Glutasyon S-Transferaz |
| HAA | Heterosiklik Aromatik Aminler |
| HCl | Hidrojen Klorür |
| H₂O₂ | Hidrojen peroksit |
| HDL | Yüksek dansiteli lipoprotein (High-Density Lipoprotein) |
| HHV | Human Herpes Virüs |

| | |
|----------------------------------|--|
| HIV | İnsan Bağışıklık Eksikliği Virüsü (Human Immunodeficiency Virus) |
| HLH | Heliks ilmek heliks (helix-loop-helix) |
| HOX | Homeobox |
| HPV | Human papilloma virüs |
| HTLV | Human T-cell Leukemia Virus |
| IgM | İmmüoglobulin M |
| Kb | Kilobaz |
| kDa | Kilodalton |
| KLL | Kronik lenfositik lösemi |
| KML | Kronik myelositik lösemi |
| L | Litre |
| L amino asit | Lösin amino asit |
| LDL | Düşük dansiteli lipoprotein (Low density lipoprotein) |
| M | Molar |
| M amino asit | Metiyonin amino asit |
| M fazı | Mitoz fazı |
| Mg | Magnezyum |
| min | Dakika (minute) |
| MLL | Miyeloid/Lenfoid Lösemi |
| µg | Mikrogram |
| µl | Mikrolitre |
| µM | Mikromolar |
| mg | Miligram |
| mL | Mililitre |
| mM | Milimol |
| Mn | Manganez |
| mRNA | Mesajcı Ribonükleik asit |
| NaCl | Sodyum klorür |
| NaClO₄ | Sodyum perklorat |
| NAD | Nikotiamid adenin dinükleotid |
| NADP | Nikotiamid adenin dinükleotid fosfat |
| NADPH | Nikotiamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat |
| Na₂EDTA | Sodyum-2-etilendiamintetraasetik asit |
| nm | Nanometre |
| nmol | Nanomol |
| O₂⁻ | Süperoksit anyonu |
| OH | Hidroksil radikali |
| Q | Glutamin aminoasit |
| PAH | Polisiklik Aromatik Hidrokarbon |
| PCR | Polimeraz Zincir Tepkimesi (Polymerase Chain Reaction) |
| PON | Paroksonaz |
| ppm | Milyonda bir parçacık (Parts Per Million) |
| pRb | Rb gen ürünü |
| R | Arginin amino asit |
| RE | Restriksiyon Endonükleazı |
| RFLP | Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism) |

| | |
|-----------------|---|
| RHD | Runt Homoloji Bölgesi (Runt Homology Domain) |
| RNA | Ribonükleik asit |
| ROS | Serbest oksijen türleri |
| rpm | Dakikadaki devir sayısı |
| RT-PCR | Reverse Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| S fazı | Sentez fazı |
| SCE | Kardeş kromatid değişimi (Sister Chromatid Exchange) |
| SCGE | Alkalın tek hücre jel elektroforez (Alkaline Single Cell Gel Electrophoresis) |
| SDS | Sodyum dodesil sülfat |
| SLE | Sistemik Lupus Eritematozis |
| SOD | Süperoksit dismutaz |
| Sp-1 | Özgüllük Protein-1 (Specificity Protein-1) |
| T | Timin |
| TAD | Transkripsiyonel Aktivasyon Domani |
| TBE | Tris-Borat-EDTA |
| TE | Tris-Etilendiamintetraasetik asit |
| TEL | ETS lösemi translokasyonu (Translocation ETS Leukemia) |
| Tris-HCl | Tris-Hidroklorid |
| U | Ünite |
| UV | Ultraviyole |
| Zn | Çinko |

ÖZET

Akut ve Kronik Lösemide Katalaz C-262T ve Paraoksonaz 1 L55M Gen Polimorfizmleri ile Katalaz ve Paraoksonaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Lösemilerin etyolojisinde, çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır. Aerobik metabolizma sırasında üretilen serbest oksijen radikalleri antioksidan savunma sistemleri tarafından kontrol edilmektedir. Antioksidan enzimlerden Katalaz (CAT) ve Paraoksonaz 1 (PON1), serbest oksijen radikallerinden hidrojen peroksiti (H_2O_2) katalizleyerek etkisiz hale getirir. CAT ve PON1 enzimlerini kodlayan genlerdeki polimorfizmler enzim aktivitelerini değiştirerek oksidatif strese karşı korumayı etkileyebilir.

Çalışmamızın amacı, araştırma popülasyonumuz için CAT C-262T ve PON1 L55M polimorfizmlerinin frekansları ile CAT ve PON1 enzimlerinin plazma düzeylerini ve lösemiye yakalanma riskine olası etkilerini belirlemektir. Örneklem hacmimiz 140 kontrol ve 140 lösemili olmak üzere toplam 280 bireyden oluşturuldu. Bireylerden alınan kanlardan DNA izolasyonu yapıldı ve genotipler PCR-RFLP yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada 57 kontrol ve 55 lösemilinin venöz kanlarından elde edilen plazma örneklerinde CAT ve PON1 enzim aktiviteleri spektrofotometrik metodlarla ölçüldü. İlk olarak kontrol grubu ile yeni tanı alan lösemili hastaların plazma CAT ve PON1 düzeyleri karşılaştırıldı. Daha sonra bu hastaların plazma CAT ve PON1 düzeyleri; CRP değerleri 100 mg/L'yi aşmış, enfeksiyon bulguları taşıdıkları zamanki plazma düzeyleri ile karşılaştırıldı. Son olarak yeni tanı almış lösemililerin plazma CAT ve PON1 düzeyleri; tedavi almış olan bu hastaların ilk ölçümünden bir ay sonraki plazma düzeyleri ile karşılaştırıldı.

PON1 L55M polimorfizmi allel ve genotiplerinin lösemiye yakalanma riskini etkilemediği ($P>0.05$) ancak CAT C-262T polimorfizmine ait TT genotipinin lösemiye yakalanma riskini artırdığı saptandı ($P=0.05$). Plazma PON1 düzeyi kontrol grubunda 184.04 ± 130.75 U/mL iken yeni tanı almış ALL (90.99 ± 68.27 U/mL, $P=0.018$) ve AML'li hastalarda (102.22 ± 65.95 U/mL, $P=0.005$) düşük olarak saptandı. KML ve KLL'li olgularımızın sayısı istatistiksel değerlendirme için yeterli olmadığından değerlendirme dışı bırakıldı. Yeni tanı almış ALL ve AML'li hastalarda CAT aktivitesinin değişmediği belirlendi. CRP değeri yüksek ALL ve AML'li hastaların plazma PON1 ve CAT düzeylerinde, yeni tanı aldıkları zamana göre değişiklik saptanmadı ($p>0.05$). Bir ay sonra kontrole gelen ve CRP düzeyi normal olan AML ve ALL'li hastaların da plazma PON1 ve CAT düzeyleri tanı anındaki değerlerine benzerdi ($P>0.05$). PON1 L55M polimorfizmine ait LL, LM ve MM genotiplerini plazma PON1 aktiviteleri ile korele ettiğimizde; plazma PON1 düzeyi LL ve LM genotipli bireylerde kontrol grubunda daha yüksek iken MM polimorfik genotipli bireylerde ise benzerdir. CAT C-262T polimorfizmine ait CC, CT ve TT genotiplerini plazma CAT aktivitesi ile korele ettiğimizde; plazma CAT düzeyleri kontrol grubunda ve lösemililerde benzerdir.

Anahtar Sözcükler: Paraoksonaz, katalaz, lösemi, polimorfizm

ABSTRACT

The Evaluation of Catalase C-262T and Paraoxonase 1 L55M Gene Polymorphisms and the Activities of Catalase and Paraoxonase in Acute and Chronic Leukemia

Environmental and genetic factors play an important role in leukemia etiology. Free oxygen radicals generated during aerobic metabolism are controlled by antioxidant defense systems. Antioxidant enzymes, such as paraoxonase (PON1) and catalase (CAT), neutralize (hydrogen peroxide) H_2O_2 by catalyzing the breakdown of it. The polymorphisms in genes encoding CAT and PON1 enzymes could affect the protection against oxidative stress by altering the enzyme activities.

The aim of our study was to determine the frequencies of CAT C-262T and PON1 L55M polymorphisms and the plasma levels of CAT and PON1 enzymes for our population and to detect their possible effects on developing leukemia. Total sample size for this study was 280 comprising 140 controls and 140 leukemia patients. PCR- RFLP technique was performed to determine the genotypes after DNA isolation from blood samples taken from individuals. CAT and PON1 enzyme activities in plasma samples obtained from venous blood of 57 controls and 55 leukemia patients were measured with spectrophotometric methods. Firstly, CAT and PON1 plasma levels of patients with newly diagnosed leukemia were compared with control group. Then, CAT and PON1 plasma levels of these patients were compared with the levels of these enzymes when their CRP values are higher than 100 mg/L and they had clinical symptoms of infections. These patients were received treatment and finally CAT and PON1 plasma levels of them after one month of first measurement were compared with plasma levels when they were newly diagnosed.

The results indicated that there was not any association between genotype distribution and allele frequencies of PON1 L55M polymorphism ($P>0.05$) and leukemia risk, but it was detected that CAT -262 TT genotype had an increased risk of leukemia ($P=0.05$). While plasma PON1 level was 184.04 ± 130.75 U/mL in control group, it was detected lower in newly diagnosed ALL and AML patients (90.99 ± 68.27 U/mL, $P= 0.018$ and 102.22 ± 65.95 U/mL, $P=0.005$) respectively. The number of cases with CML and CLL is not sufficient for statistical evaluation, so they were excluded from analysis. CAT activity is determined not to be changed in newly diagnosed AML and ALL patients. There was no change in plasma PON1 and CAT levels of patients with ALL and AML who had high CRP levels with respect to time of diagnosis ($P>0.05$). After one month of first measurement, ALL and AML patients with normal CRP levels showed no differences in plasma PON1 and CAT levels when compared with the levels in newly diagnosed ($P>0.05$). In comparison of LL, LM and MM genotypes of PON1 L55M polymorphism with plasma PON1 activity, while the levels of plasma PON1 were higher in controls

with LL or LM genotypes, there was no difference in plasma PON1 levels between cases and controls with MM genotype. When plasma CAT levels were correlated with CC, CT and TT genotypes of CAT C-262T polymorphism, plasma CAT levels were found to be similar in both the controls and leukemia patients.

Key words: Paraoxonase, catalase, leukemia, polymorphism

1. GİRİŞ

Oksijen, aerobik canlılar için yaşamsal öneme sahip olmasına rağmen aerobik metabolizma sırasında enerji eldesi için suya indirgenirken çok az bir kısmı da reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüşür. En çok tanınan reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksittir (H_2O_2). ROS, endojen veya eksojen kaynaklı olabilir. Biyolojik sistemlerde oluşan ROS'un endojen kaynakları; oksidatif fosforilasyon, mikrozomal elektron-transport zinciri, inflamatuvar hücre aktiviteleri, ksantin oksidaz, Nikotiamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH) oksidaz, monoaminooksidaz ve sit P-450 enzimleridir. ROS'un eksojen kaynakları ise; elektromanyetik radyasyon, parçacık halindeki radyasyon, hava kirleticileri, sigara, antrasiklin grubu antineoplastik ajanlar, pestisidler ve solventlerdir (1, 2). Düşük miktarlarda üretilen ROS; intrasellüler sinyal, transkripsiyon aktivasyonu, hücre çoğalması, inflamasyon ve apoptozis gibi hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi için çok önemlidir. Ancak yüksek miktarlarda üretilen ROS'un makromoleküller üzerinde zararlı etkileri vardır (1).

ROS'un etkileri, vücuttaki antioksidan savunma sistemleri tarafından kontrol edilmektedir. ROS oluşumu artarsa veya ortadan kaldırılma hızında bir düşme olursa prooksidan ve antioksidan arasındaki denge bozularak oksidatif stres oluşumuna neden olur (2). Oksidatif stres ise; protein karbonil konsantrasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA baz hasarları ve tek zincir kırıklarını artırarak hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olur (3).

Oksidatif stresin varlığı; allerji, diyabet, nörodegeneratif, kardiyovasküler, bulaşıcı hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalığın oluşmasında rol oynar (1). Oksidatif stresin karsinogenezdeki rolü merak edilmiş ve çeşitli çalışmalarda kanser hücrelerinin neoplastik olmayan hücrelerden daha fazla miktarda ROS üretilip üretilmediği veya kanser hücrelerinin antioksidan sistemi baskılayıp baskılamadığı araştırılmıştır. Oksidatif stres göstergesi olan H_2O_2 'in dışarıdan bir uyarı olmaksızın karsinoma hücre hatlarında büyük miktarlarda üretimini olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Enzimlerin katalitik reaksiyonları sırasında serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri olan

nükleozid oksidaz, nükleozidlerin oksidasyonunu katalize ederken moleküler oksijen kullanır ve nükleozid-5'-karboksilik asitle birlikte H_2O_2 üretimine neden olur. H_2O_2 serbestçe hareket ederek membranlardan geçip nükleusa ulaşır. DNA'da kimyasal değişikliklere ve mutasyon oluşumlarına neden olurlar. Ayrıca hücre içinde katalitik demir veya bakır varlığında Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten 'OH üretilir. Çok reaktif olan 'OH, bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. DNA'da meydana gelen bu değişiklikler; işlev bozuklukları, hücre ölümü ya da kanser oluşumuna neden olabilmektedir (4).

Antioksidan savunmada görev alan önemli enzimlerden Paraoksonaz (PON) ve Katalaz (CAT), reaktif oksijen türlerinden biri olan H_2O_2 'i enzimatik olarak katalizleyerek etkisiz hale getirir. Tek nükleotid polimorfizmlerinin antioksidan enzimler üzerinde etkisi olabileceği düşünülmektedir. Bu polimorfik genlerin ekspresyonunun, enzim seviyeleri ya da aktivitelerinde değişikliğe neden olarak oksidatif strese karşı korumayı azalttığı düşünülmektedir (5).

Çalışmamızın amacı; araştırma popülasyonumuz için CAT C-262T ve PON1 L55M polimorfizmlerinin allel ve genotip frekansları ile CAT ve PON enzimlerinin plazma düzeylerini belirledikten sonra söz konusu polimorfizmler ve enzim düzeylerinin lösemiye yakalanma riskine olası etkilerini tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lösemiler Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Tanımlama ve Sınıflama

Hemopoetik kök hücrelerin malign neoplazmaları olan lösemiler, kemik iliğinin yaygın olarak neoplastik hücreler ile dolmasıyla karakterizedir. Bu hücreler karaciğer, dalak, lenf ganglionları ve diğer birçok organı infiltre ederek bu organların büyümesine yol açar (6). Lösemiler hücre tipi ve lösemik hücrelerin maturasyon durumuna göre sınıflandırılırlar. Akut lösemiler immatür hücrelerin (blastlar) hızlı çoğalması ile karakterizedir. Diğer taraftan kronik lösemilerde ise iyi diferensiyasyon (matür) lökositlerin daha yavaş artışı görülür (6, 7). Akut ve kronik lösemiler de kendi içinde köken aldıkları hücre grubuna göre lenfositik ve myelositik olmak üzere iki alt gruba ayrılır:

1. Akut lenfositik (lenfoblastik) lösemi (ALL)
2. Kronik lenfositik lösemi (KLL)
3. Akut myelositik (myeloblastik) lösemi (AML)
4. Kronik myelositik lösemi (KML) (6).

2.1.2. Tarihçe

Lösemilerin klinik bulguları ilk kez 1827 yılında Velpeau tarafından tanımlanmıştır. Lösemi; 1845'te John Hughes Bennett tarafından bir erişkin hastada, 1846'da ise Dr Henry Fuller tarafından bir çocuk hastada bildirilmiştir. 1847'de Virchow bu hastalığı beyaz küre anlamına gelen "leukemia" olarak adlandırırken, Bennet 1852'de yayınlanan makalesinde "leucocythaemia" terimini kullanmıştır (8-10). 1870 yılında Neumann lösemi hücrelerinin kemik iliğinden kaynaklandığını saptayarak lösemiye; miyelojen, dalak ve lenfatik lösemi olarak sınıflamıştır. 1903 yılında ise Türk lenfatik lösemileri akut ve kronik olarak ayırmıştır (11). 1913'lere gelindiğinde ise lösemi; kronik

lenfositik, kronik miyeloid, akut lenfositik, miyeloblastik, monositik ve eritrolösemi olarak sınıflandırılıyordu. Özel boyama teknikleri, elektron mikroskopi, kromozom analizleri, immünofenotipleme ve moleküler genotip belirleme gibi yöntemler geliştikçe lösemiler daha iyi anlaşılmıştır (12).

2.1.3. Epidemiyoloji

Akut lösemiler her yaşta görülebilmekle birlikte, AML daha çok erişkin yaşlarda görülürken ALL ise daha çok çocukluk yaşlarında görülmektedir (13). ALL'nin erken çocukluk çağında sık görülmesi gebelikteki olaylar ve immün sistemin gelişmesi ile ilişkilendirilmiştir (14). ALL çocukluk çağında en sık görülen malignite olup çocukluk çağı kanserlerinin % 25-30'unu oluşturur (14, 15). Amerika Birleşik Devletleri'nde 15 yaşından küçüklerde ALL görülme sıklığı 3.4/100.000 iken ülkemizde ALL'nin görülme sıklığı 1-1.5/100.000'dir (13, 16). ALL beyaz ırkta ve erkeklerde daha sık görülür (16). Amerika Birleşik Devletleri'nde AML görülme sıklığı 3.6/100.000 iken ülkemizde AML'nin görülme sıklığı 2.7/100.000'dir (13, 17). AML erkeklerde kadınlardan biraz daha fazla görülmektedir (E/K:1.3/1) (18).

Batı toplumlarında erişkinlerde görülen en yaygın lösemi türü KLL'dir ve görülme sıklığı 2-6/100.000'dir. Tüm lösemilerin % 25-30'unu oluştururken doğu toplumlarında % 2'sini oluşturur (19, 20). Ortalama tanı alma yaşı 72 iken son dönemlerde yeni tanı konan hastaların üçte birinin 55 yaş altında olduğu ve hastalığın genç bireylerde görülme sıklığının arttığı tespit edilmiştir (19, 21). KLL erkeklerde kadınlardan daha sık görülür (E/K: 1.5-2/1) (19). KML Amerika Birleşik Devletleri'nde erişkin lösemilerin % 14 kadarını oluşturur (22). KML insidansı tüm dünyada hemen hemen sabit görülmektedir. Hemen tüm istatistik raporlarında KML insidansı 1-1.5/100.000'dir (23). KML tüm yaş gruplarında görülmekle beraber en sık görüldüğü yaş aralığı 45-55'dir (22). Hastaların üçte biri 60 yaş üstündedir ve erkeklerde görülme oranı daha yüksektir (22, 24). KML çocukluk çağında % 2-5 gibi çok ender oranlarda görülür (25).

2.1.4. Etyoloji

Lösemnin etyolojisinde genetik faktörlerin yanında çevresel kirlenmeler ve enfeksiyon ajanlarının rolü olabileceği düşünülmektedir.

2.1.4.1. Çevresel Risk Faktörleri

2.1.4.1.1. Radyasyon

Maddenin temel yapısını oluşturan atom; proton ve nötronların oluşturduğu bir çekirdek ve bunun yörüngelerinde dönen elektronlardan oluşur. Eğer bir maddenin atom çekirdeğindeki nötronların sayısı, proton sayısından fazla ise böyle maddeler kararsız bir yapı gösterirler ve çekirdeklerindeki fazla nötronlar alfa, beta ve gama gibi çeşitli ışınlar yayarak parçalanırlar. Bu şekilde çevreye ışın saçarak parçalanan maddelere “radyoaktif madde”, çevreye yayılan ışınlara ise “radyasyon” denir (26). Elektromanyetik dalgalar iyonlaştırma özelliklerine göre iyonize ve noniyonize olarak sınıflandırılır.

İyonize radyasyon, çarptığı maddede yüklü parçacıklar (iyonlar) oluşturabilen radyasyon türüdür (27). İyonize radyasyon ya direkt olarak DNA zincirinde tamir edilmeyen kırılmalar oluşturur ya da hücre içindeki moleküllerle etkileşerek oksijen radikalleri oluşumunu sağlar. Oksijen radikalleri de DNA bileşenleri ile etkileşerek zincirde kırılmalara (baz hasarı, tek ve çift zincir kırılmaları) yol açar. (26, 28). Metafaz öncesi bu kırık uçlar arasında yanlış eşleşmeler oluşur (28). Lai ve ark. (29) 2450 megahertz’lik radyofrekans dalgalarına maruz bıraktıkları ratların beyin hücrelerinde DNA tek ve çift zincir kırıkları oluştuğunu, Robison ve ark. (30) 60 hertz’lik elektromanyetik alan etkisi altında bıraktıkları HL-60 ve HL-60R hücrelerinde DNA tamir oranında azalmanın olduğunu göstermişlerdir. Radyasyon ayrıca; ring kromozom, disentrik kromozom ve haç şekilli kromozom gibi yapısal düzensizliklere ve bazı sayısal anomalilere de neden olur. Kromozomlarda meydana gelen bu değişiklikler lösemi insidansını arttırmaktadır (31). İyonize radyasyona düşük dozda maruz kalma çocukluk çağı lösemilerinden özellikle AML ile ilişkilendirilmiştir. Riskin büyüklüğü maruz kalınan radyasyonun dozuna, süresine ve bireyin yaşına bağlıdır. Hiroşima ve

Nagazaki'de atom bombasının patladığı yerden 1000 m uzaklıktaki alan içinde bulunan insanlarda lösemi riskinde 20 kat artış görülmüştür (32). İngiltere'deki Sellafield Nükleer Santralinde çalışan ve konsepsiyon döneminde 100 mSv ya da daha fazla iyonize radyasyona maruz kalan babaların çocuklarında ya da bu bölgede yaşayan ailelerin çocuklarında lösemi riskinde artış olduğunu saptamışlardır. Bazı çalışmalarda konsepsiyon öncesi babanın X-ray'e maruz kalması ile çocukluk çağı lösemi riskinde artışın olduğu tespit edilirken (33, 34), Bartley ve ark. (35) annenin konsepsiyon öncesi iyonize radyasyona maruz kalması ile çocukluk çağı lösemileri arasında ilişkinin olmadığını tespit etmişlerdir. Postnatal dönemde ise bir ya da daha fazla radyasyona maruz kalma ile pre-B-cell ALL arasında ilişki bulunmuştur (36). İn utero radyasyona maruz kalma ile çocukluk çağı lösemileri ve diğer kanserlere yakalanma riskinde % 40 artış olduğu bazı çalışmalarda tespit edilmiştir (37-39).

Noniyonize radyasyon atomik bağları kırmak için yeterli enerjiye sahip olmayan fotonları içeren elektromanyetik parçalar için genel bir terimdir. Bu gruba giren dalgalar az enerjiden yüksek enerjiye doğru; radyo dalgaları, mikro dalgalar, infrared radyasyon, görünür ışınlar, laser ışınları ve ultraviyole ışınlarıdır. Yüksek yoğunluktaki noniyonize radyasyon; ısınmaya, kimyasal reaksiyonlarda değişmeye ya da hücreler ve dokularda elektrik akımının indüklenmesine neden olabilirler. Her ne kadar farklı frekanslarda ve etkilenme düzeylerinde çeşitli biyolojik etkileri gözlenmiş olsa da, elektromanyetik dalgaların tehlikeli mi yoksa güvenilir mi olduğu konusundaki çelişki sürmektedir (40). Bazı çalışmalar (41-45) noniyonize radyasyona maruz kalma ile çocukluk çağı lösemileri arasında ilişkinin varlığına işaret ederken, bu ilişkiyi doğrulamayan çalışmalar da mevcuttur (46-48).

2.1.4.1.2. Benzen

Lösemiye yakalanmada risk faktörü olarak değerlendirilen benzenin kanser oluşturma mekanizmasının anlaşılması için toksik olan metabolitlerinin ve bunların ara etkileşimlerinin bilinmesi gerekir. Benzen, karaciğerdeki Sitokrom P 450 sistemi ile okside edildiğinde benzen okside dönüşür. Benzen oksidin büyük bir kısmı spontan olarak fenolü oluşturmak üzere yeniden düzenlenir. Fenol de; hidrokinon, 1,4-

benzokinon ve 1,2,4-benzotriole metabolize olur. Kalan benzen oksid ise katekol, mukonaldehitler ve 1,2-benzokinona metabolize olur. Ayrıca glutasyon ile reaksiyona girerek S-fenilmerkaptürikasiti oluşturur. İnsanlar yaşamları esnasında hava yoluyla 0.1 -10 ppm konsantrasyonunda benzene maruz kalırlar (49). Kırk yılı aşkın bir süre 10 ppm üzerinde benzene maruz kalındığında ise lösemi riskinin normal popülasyona göre 154 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (50).

Vücuda alınan benzen metabolitlerinden S-fenilmerkaptürikasitin % 1'i, mukonaldehit, katekol ve hidrokinonun % 5-10'u ve fenolün % 70-85'i idrar yoluyla atılır. Vücutta kalan benzen oksidler, mukonaldehitler ve benzendiol epoksidler elektrofilik özellikleri nedeniyle proteinler ile kolayca reaksiyona girerek hücrel fonksiyonları bozar. Benzen metabolizması sonucu oluşan oksidatif stres bir yandan DNA hasarı oluştururken diğer yandan hematopoetik hücre sinyalinde değişmeye neden olabilir. Lösemi gelişimi için benzenin reaktif metabolitleri insan kök hücrelerinde çoğalma ve farklılaşma ile ilişkili kritik gen veya gen setlerinde kromozom aberasyonları (anöploidi, translokasyon, inversiyon ve delesyonlar), normal olmayan/anormal mitotik rekombinasyon, gen mutasyonları ve/veya epigenetik değişikliklere yol açarak mutasyon oluştururlar. Benzen maruziyeti sonrası oluşan bu mutasyonlar ile lösemik kök hücreler sürekli üretilmeye başlar. Eş zamanlı olarak kemik iliği stromal hücrelerinde de benzenin yan etkileri oluşur ve hücrelerin sürekli proliferasyonu başlar. Azalmış immüno-sürveyans prelösemik klonların saptanması ve eliminasyonundan kurtulmasına neden olabilir (49).

2.1.4.1.3. Pestisidler

Vektör kaynaklı hastalıkların yok edilmesinde, zirai bitkilerdeki üretim ve kalite artışını sağlamada, ormanlar ve tarlaların korunmasında önemli katkıları olmasına rağmen, çevre ve hedef olmayan canlılar için potansiyel tehlike kaynağıdır. Pestisidlerin kanser riski oluşturduğuna dair pek çok epidemiyolojik çalışma mevcuttur (51, 52). Pestisidlerin kullanılmaları sonucu serbest oksijen radikalleri açığa çıkar. Bu radikaller biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girerek DNA hasarı ve kanser oluşumuna neden olurlar (52). Pestisidlerin çoğu mutajenite testlerinde potansiyel kimyasal

mutajenler olarak değerlendirilmektedir. İnsanlar pestisitlere hem mesleki hem de çevresel olarak maruz kaldıkları için insanlar üzerinde oluşturdukları genotoksik potansiyeli tahmin etmek güçtür. Ancak genotoksikolojik biyogöstergeler ile kompleks pestisid birleşimlerine maruz kalındığında oluşan genetik risklerin izlenmesi mümkündür (53). Biyogöstergeler farklı genetik markerler kullanılarak yapılabilir. Kromozomal aberasyonlar, mikronukleuslar ve kardeş kromatid değişimleri gibi sitogenetik markerlar pestisidlerin genotoksik etkilerinin tespit edilmesinde kullanılan en yaygın markerler arasındadır (51). Son yıllarda giderek daha fazla kullanılan alkalın tek hücre jel elektroforez yöntemi (alkaline single-cell gel electrophoresis assay, alkaline SCGE) veya Comet tekniği ile hücre düzeyinde farklı bileşiklerin DNA üzerinde verdiği hasarların etkisi hızlı ve duyarlı bir şekilde ölçülmektedir (53). Pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri; akut dönemde ve kronik dönemde farklılık gösterir Akut dönemdeki toksik etkiler; nörotoksisite, irritasyon, kimyasal yanıklar iken, kronik dönemdeki etkiler; endokrin bozukluk, immünotoksisite, immünojenik anormallikler, üreme ve gelişim üzerinde yan etkiler ve nörodegeneratif hastalıklardır. Ayrıca pestiste maruz kalma ile lenfatik ve hemopoetik sistemin kanserleri, deri, yumuşak doku, dudak, prostat, beyin ve mide kanseri gibi çeşitli kanserler ilişkilendirilmiştir (54).

Karaciğerde sentezlenen ve dolaşıma verilen paraoksonazlı (PON1) enzimi, insektisidleri hidroliz ederek koruyucu etki gösterir. Organik fosforlu bir insektisit olan paration, sitokrom P-450 enzim sistemi ile oksonlara katalize edilir. PON1 esteraz aktivitesi sayesinde oksonların ester bağı hidrolize olur. Böylece PON1 aktive oksonların hidrolizi ile daha az zararlı olan p-nitro fenol ve di etil fosfat bileşiklerinin oluşmasını sağlayarak detoksifikasyona yardımcı olur (55).

Yeni doğan ve infantlar, PON1 aktiviteleri erişkinlerden daha düşük düzeylerde olduğu için inutero ve erken neonatal dönemde insektisitlere maruz kaldıklarında daha çok etkilenirler. Bu dönemde; yaşamsal organların ve metabolik yolun gelişimi, hücrelerin farklılaşması ve hızlı büyümeleri olduğundan hastalıklara yatkınlıkları yüksektir (56). Yapılan çalışmalarda hamilelik veya çocukluk döneminde bahçede ya da evde pestisite maruz kalmanın, çocukluk çağı akut lösemisi için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (57-61). Ayrıca pedikülozis tedavisi için kullanılan insektisitlerin de çocuklarda akut lösemiye neden olabileceği saptanmıştır (61). İlerleyen yaşlarda artan

oksidatif stresle PON1 düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir (62). Pestisid üretiminde çalışan işçilerde myeloid lösemi (63), pestisid kullanan çiftçilerde KLL ve diğer lösemilerin görülme oranının topluma göre daha sık olduğu tespit edilmiştir (64-66).

2.1.4.1.4. Alkol

Hamilelik dönemindeki alkol tüketimi ile erken çocuklukta ortaya çıkan AML arasında ilişki bulunmuştur (34, 67, 68). Shu ve ark. (67) özellikle gebelikten 1 ay önce başlayan ve gebelik boyunca süren alkol alımı ile çocukluk çağı lösemisi arasındaki ilişkiyi bulmuşlardır. Severson ve ark. (68) hamile iken alkol tüketen annelerin üç yaş altındaki çocuklarında, monositik ve myelomonositik lösemi görülme riskinde artış olduğunu saptamışlardır. Maternal alkol tüketimi ile AML gelişme riski, ALL gelişme riskinden iki kat fazla bulunmuştur. Konsepsiyon öncesi paternal alkol tüketiminin çocukluk çağı lösemi gelişme riskine etkisi belirlenememiştir (67).

2.1.4.1.5. Sigara

Sigara katranı 3000'den fazla bileşik içermektedir. Bunların 30 tanesinin karsinojen olduğu bilinmektedir. Sigara dumanındaki en önemli karsinojenler; polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aril aminler, heterosiklik aromatik aminler (HAA) ve N-nitrosaminlerdir. Sigara dumanı ile vücuda alınan PAH'lar ilk evrede: Sitokrom P-4501A1 (CYP1A1), ikinci evrede ise Glutasyon S transferaz (GST) enzimleri tarafından detoksifiye edilerek suda çözünebilir türevlere dönüştürülür. PAH'lar mutajenik etkiye sahiptir (69-71).

Sigara dumanı oksijen radikalleri bakımından zengindir. Sigara dumanındaki semiquinon radikalleri oksijene indirgendiğinde süperoksidler oluşur. Bu şekilde hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretimi stimüle olur (72). Hidroksil

radikalleri reaktif olduklarından DNA'da endojen oksidasyon oluşmasına neden olurlar (73, 74).

Sigara ve lösemi arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak bu mekanizmada rol oynayan benzen metabolitlerinin, DNA hasarına neden olduğu ve kemik iliğindeki hematopoetik hücrelerde DNA onarımını bozduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda sigara içiminin, lenfositlerde ve myeloid dokuda mikronükleus formasyonunu ve kromatid değişimini artırdığı gösterilmiştir (75). Lökomojenik olan benzenin eşik seviyesi tam olarak bilinmemektedir. Bu seviyenin detoksifiye edici enzimlerdeki polimorfizmlerle etkilenebildiği tespit edilmiştir (76, 77). Diğer bir karsinogen olan nitrozamin, mitokondrial DNA'ya bağlanarak mitokondriye hasar verir ve nükleotid eksizyon onarımının yapılmasını önler. Mitokondride oksijen radikallerinin yapımı ve salınımı artar (78).

Adult lösemi ile sigara kullanımı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda yoğun sigara içimi AML ile ilişkilendirilirken (79-80), KML ve ALL ile ilişkinin daha zayıf olduğu bulunmuştur (80). Hamilelik döneminde sigara kullanımı ile sigara dumanındaki toksik bileşiklerin, anne sütüne, yenidoğan bebeğin idrar, kan ve plasentasına geçtiği saptanmıştır (81). Maternal PAH'e maruz kalma, düşük doğum ağırlığı ve erken doğum riskini artırmaktadır (69). Paternal veya maternal sigara kullanımı ile çocukluk çağı lösemisi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda tutarlı bir ilişki bulunamamıştır. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda (82-84) hamilelik sırasında sigara içen annelerin çocuklarında akut lösemi riskinin arttığı saptanırken, diğer çalışmalarda (68, 85, 86) böyle bir ilişki saptanamamıştır. Yapılan bazı çalışmalarda ise babanın sigara içmesi ile ALL riskinde artış olduğu saptanmıştır (87, 88).

2.1.4.1.6. Diyet

İnsanların aldığı günlük besinler çok çeşitli doğal karsinojenler ve anti-karsinojenleri içerir (89).

Çay, katekinler olarak bilinen ve kanser önleyici ajan olduğu düşünülen polifenolik maddeler içerir (90). Yeşil çaydaki başlıca katekinler; epikatekin (EC), epigallokatekin (EGC), epikatekin-3-gallat (ECG) ve epigallokatekin-3-gallatır (EGCG) (91). Yapılan çalışmalarda EGCG'nin, mutator bir suş olan *Bacillus subtilis* suşunun neden olduğu mutasyonları azalttığı ve katekinler içinde kansere karşı en koruyucu ajan olduğu saptanmıştır (90, 92). Yeşil çaydaki polifenoller fotokarsinogenlerin indüklediği oksidatif strese karşı bir bariyer etkisi göstermektedir. Deney hayvanları ile yapılan bir çalışmada topikal olarak ECGC uygulanmış fareler UVB'ye maruz bırakılmış ve bu uygulama ile UVB'nin antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz, CAT ve glutatyon üzerindeki etkisinde azalma olduğu tespit edilmiştir (93). Diğer bir çalışmada CD-1 farelerine topikal olarak bir tümör promoter ajan olan 12-O-tetradekanilforbol 13-asetat uygulandığında yeşil çaydaki polifenollerin tümör gelişimini baskıladığı ve H₂O₂ üretimini azalttığı gösterilmiştir (94). Yeşil çay içeriğinde bulunan polifenolik bileşenlerin ROS ile etkileşerek hızla metabolize olması nedeniyle serbest radikallere karşı savunma hattı oluşturan bir ajan olduğu düşünülmektedir (95).

Karotenoidlerden A vitamini, hücre farklılaşmasında regülatör olarak rol oynadığı için hücrelerin malign forma geçişini önleyebilir (96). Diyetle alınan α -tokoferol lipid peroksidasyona karşı korur ve steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişimine karşı kullanılabilir. Ancak C ve E vitaminlerinin, artmış lipid peroksidasyon ve serbest radikallere karşı savunmada yetersiz kaldığı belirtilmiştir (97). Riboflavin ve niasin suda eriyen vitaminlerdir. Riboflavinin aktif şekli: Flavin mononükleotid (FMN) ve flavin adenin dinükleotid (FAD)'dir. Riboflavin solunum zinciri yoluyla enerji üretimine ve sayısız metabolik yolla oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına katılır (98). Niasin, önemli kofaktörler olan nikotiamid adenin dinükleotid (NAD) ve nikotiamid adenin dinükleotid fosfat (NADP)'ın sentezi için gereklidir. Nikotinamid, serbest radikal artkçısı olduğundan karsinogenlere karşı koruyucu etkisinin olduğu düşünülmektedir (99).

2.1.4.1.7. Obesite

Obesitenin karsinogenezdeki rolü net değildir. Aşırı kilo ve obesitenin tek başına kanseri başlatabileceği kanıtlanamamıştır. Bununla birlikte, yağ dokusunda çevresel kimyasal kanserojenlerin birikimi dolaylı olarak kanser oluşumuna katkıda bulunabilir. Irigaray ve ark. (100) benzopren gibi lipofilik organik ksenobiyotiklerin yağ dokusunda biriktiğini göstermişlerdir. Bu dokuların; dioksinler ve poliklorlu bifeniller gibi kalıcı organik kirleticileri içeren lipofilik ksenomoleküller ile karsinojenik, mutajenik ve reprotoksik olan pestisidler ve diğer endokrin bozucu ajanlar için rezervuar olduğunu ve yağ dokusunda biriken bu moleküllerin nekroz veya apoptozis yoluyla ölen adipositlerinden plazmaya salınarak toksik etki gösterdiğini saptamışlardır (100). Yapılan çalışmalarda obesite, hem erkek hem de kadınlarda tüm lösemi tipleri ile ilişkilendirilmiştir (101-104).

2.1.4.1.8. Virüsler

Bazı virüsler biyolojik karsinojenler olarak rol oynarlar. Human papilloma virüsler (HPV16 ve HPV18) servikal kanser ve diğer genital kanserlere neden olan faktörler olarak belirlenmiştir. Ayrıca baş boyun ve deri kanserlerinin gelişiminde de etkili oldukları düşünülmektedir. Papovavirüslerden simian virüs 40'ın hayvan ve özellikle insan hücrelerinde invitro olarak kanser oluşturduğu saptanmıştır. Nadir görülen kanserlerden mezotelyoma gelişimindeki ana faktör, simian virüs 40 ve asbestoza maruz kalınmasıdır. Herpes virüslerden Human Herpes Virüs 8 (HHV8) kaposi sarkomada, Epstein-Barr virüs (EBV) ise lenfomada karsinojen ya da ko-karsinojen olarak rol oynarlar (105).

Human retrovirüslerden Human T-cell Leukemia Virus- 1 (HTLV-1) Erişkin T Hücreli Lösemi gelişmesine neden olurken HTLV-II ise tüylü hücreli (hairy-cell) lösemiden sorumludur. HTLV-1 diğer virüslere benzer şekilde env, gag ve pol olmak üzere üç ana genomik bölgeye sahiptir. Ancak diğer virüslerden farklı olarak pX olarak adlandırılan bir bölgeyi de taşır. Bu bölge transkripsiyonel düzenleme proteinleri olan, Tax ve Rex proteinlerini kodlar. Rex protein viral mRNA'ları stabilize eder, onların splicinglerini ve transportunu düzenler (106). HTLV-1'le enfekte olan hücreler ya Tax

onkoproteininin ekspresyonu ile transformasyona uğrar ya da apoptosize girer. Tax onkoproteini virüs dinamiği için önemlidir. Bu onkoprotein birçok transkripsiyon faktörün modülatörüdür ve sinyal transdüksiyon yolunun molekülleri ile ilişkilidir (107). Hamileliğin 12-14. haftaları arasında EBV'e maruz kalan ve EBV IgM (+) olan annelerin çocuklarında ALL sıklığında artış olduğu gösterilmiştir. Ancak daha sonraki çalışmalarda ise ALL, EBV viral kapsid antijeni IgM ile ilişkilendirilmemiştir (108). İn utero olarak EBV'a maruz kalmanın genotoksik hasarla sonuçlandığı ve infantlarda MLL ve TEL-AML1 gen füzyonlarının olduğu öne sürülmüştür (109, 110).

2.1.4.1.9. İlaç Kullanımı

Maternal ilaç kullanımı; çocukta fiziksel ve gelişim geriliğine, kongenital anomalilere, düşük doğum ağırlığına ve fetal ölüme neden olmaktadır. Maternal ilaç kullanımı ile çocukluk çağı kanserlerinden lösemi gelişmesi arasında ilişki olabileceğine dair görüşler bulunmaktadır. Antenatal periyottaki kadınlar; demir, kalsiyum, folat, vitamin, analjezik, spazmolitik, antiasit, sistemik antibiyotik ve antiemezis kullanmaktadır. Maternal marihuana, antihistaminik ve antiemetik ilaç kullanımı ile çocukluk çağı AML, hem maternal hem de paternal marihuana kullanımı sonrası ALL riski artmaktadır. Yetişkinlerde ise uyuşturucu kullanımı non-Hodgkins's lenfoma ve lösemi ile ilişkilendirilmiştir (111).

2.1.4.2. Genetik Faktörler

Hücre kültüründe normal hücreler, proliferasyon için büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar ve sınırlı bir yaşam süreleri vardır. Kanser hücresinde ise; büyüme faktörüne gereksinim azalır, kontakt inhibisyon kaybı olur, sonsuz bölünme kapasitesi kazanır ve belli bir yere bağlı olmayan büyüme gözlenir (112). Kanserleşmiş bir hücrede en az şu üç özelliğin bulunması gerekir: Hiperplazi (hücrelerin sayısında artış), anaplazi (hücresinin kendine has özelliklerini kaybetmesi) ve metastaz (uzak doku ve organlara

yayıma). Kanserleşmiş bir hücrenin metastaz yapabilmesi için ise aşağıdaki evreleri geçirmesi gerekir:

1. Çevrelerindeki hücrelerden kopma
2. Bazal membranı geçme
3. Ekstrasellüler matriks içinde ilerleme
4. Kan veya lenf damarlarına girme
5. Dolaşımında canlı kalabilme
6. Dolaşımdan yeni bir doku bölgesine çıkma
7. Burada angiogenezi de içeren bir olaylar serisi ile metastaz halinde gelişmedir (113).

2.1.4.2.1. Karsinogeneziste Germ Hücre Dizilerinin Rolü

Ailesel kanser sendromlarına ait çalışmalar, kanser gelişiminde kalıtımın iki ayrı mekanizma ile etkili olabileceğini göstermiştir.

1- Germ hücreleri, embriyogenez sırasında normal allelin varlığı nedeniyle kompanse edilmiş durumda olan mutasyonlar aracılığıyla direkt olarak malign transformasyona katılabilir. Kişinin postnatal yaşamı sırasında, sağlıklı allelde gelişecek olan somatik mutasyon, daha önceki mutasyonu maskesiz hale getirecektir. Bunun en iyi örneklerinden biri otozomal dominant kalıtım gösteren ailesel retinoblastomadır.

2- Somatik mutasyon sıklığını arttırarak kanser gelişme ihtimalini arttıran kalıtsal durumlar (112). Ataksia telenjektazia (AT), Bloom sendromu, Kseroderma pigmentozum ve Fanconi anemisi (FANC) gibi kalıtsal hastalıklar; DNA tamir yollarındaki hasarlar, anöploidi ve translokasyonlar gibi kromozomal anormallikler ile karakterizedir (34). Ataksi-telenjektazili hastalarda DNA çift zincir kırıklarının tanınması ve onarımında önemli bir rol oynayan ATM genindeki mutasyon nedeniyle, T hücre veya immunoglobulin antijen reseptörlerini içeren kromozomal translokasyonların gelişmesine yatkınlıkları artmıştır (114). Ataksi-telenjektazinin kökeninde kemoterapi veya radyoterapi sonrası oluşan aşırı toksisite ile DNA'daki hasarın olabileceği düşünülmektedir. Ataksi-telenjektazi; ALL ve lenfoma gelişimine yatkınlık oluşturur (81). Bloom sendromlu hastalarda; homolog rekombinasyon eğilimi

artar, quadriradiyal formasyon, Sister Chromatid Exchange (SCE) sıklığında artış vardır. Kseroderma pigmentozum hastalığındaki temel anormallik DNA tamir mekanizmasındaki azalmadır (115). FANC genlerindeki mutasyon, çeşitli konjenital anomaliler, aplastik anemi ve kötü prognozla karakterize olan akut miyeloid lösemiye yatkınlık oluşturur. FANC D1 /BRCA2 (=Breast Cancer Susceptibility Gene= Meme kanseri yatkınlık geni)'deki mutasyonlar lösemi, meme kanseri ve solid tümörlere yol açarlar (81).

Kanser oluşumunda yer alan genler, iki temel gruba ayrılmaktadır: Onkogenler ve tümör süpresör genler. Hasara uğrayan DNA onarımını düzenleyen gen türü de karsinogenezde önemli bir yere sahiptir. DNA onarım genleri protoonkogen, tümör süpresör gen ve apoptozu düzenleyen gen gibi diğer genlere bağlı ölümcül olmayan hasarları onarım yeteneğini etkileyerek dolaylı olarak hücrenin çoğalmasını veya yaşamını düzenler. DNA onarım genlerindeki hasar genomda mutasyona zemin hazırlar ve bu nedenle neoplastik değişim ortaya çıkar. Ayrıca bazı polimorfik yapıların kansere yatkınlığa yol açtığına ilişkin görüş ve çalışmalar bulunmaktadır (6, 116, 117).

Onkogenez sırasında DNA'da yalnızca nükleotit diziliminde değişiklikler olmadığı (nokta mutasyonu, delesyon ve insersiyonlar gibi) DNA düzeyinde bazı kimyasal modifikasyonların da gen ekspresyonunu etkilediği anlaşılmıştır. Özellikle DNA metilasyonu ve kromatinin yapısında bulunan histon proteinlerinin modifikasyonu malign transformasyonda önemli rol oynamaktadır (118).

2.1.4.2.2. Onkogenler-Protoonkogenler

Onkogenler, çoğunlukla proto-onkogen adını verilen normal hücrel genlerin mutant allelleri olmakla birlikte telomerazları kodlayan veya apoptozisi bloke eden genler de olabilirler. Onkogenler genellikle fonksiyon kazandıran mutasyon özelliğine sahip olup, proliferasyonu stimüle etme, tümörün kanlanması artırma ve apoptozu engelleme gibi mekanizmalarla malign transformasyonu gerçekleştirmektedir. Kanserin başlangıcında rol oynayan genler;

- Hücre proliferasyonunda sinyal iletiminde yer alan proteinleri,
- Kontakt inhibisyonun oluşumunda yer alan hücre komponentleri,
- Mitotik siklus regülatörleri,
- Programlanmış hücre ölüm komponentleri ve
- Mutasyonların tanımlanması ve tamirinden sorumlu olan proteinleri kodlamaktadır.

Kansere neden olan mutasyonlar ait olduğu hücreye, hücresele proliferasyon ve uzun hücresele yaşam için pozitif seleksiyon sağlar (116). Gonadların germ hücrelerindeki mutasyonların bazı kanser veya lösemileri oluşturabilmesi için çevresel faktörlerin katkısına ihtiyacı bulunduğu ve bu mutant genlerin tek başına % 5'den daha az oranda lösemiye neden olduğu tahmin edilmektedir. Çocukluk çağı lösemi insidansının 2-5 yaşlarında ikincil bir olaya bağlı olarak arttığı düşünülmektedir (81). Kansere oluşumundan sorumlu mutasyonlar:

- Bir proto-onkogenin, bir allelinin fonksiyon kazandıran mutasyonla aktivasyonu
- Bir tümör süpresör gene ait, bir allelinin dominant negatif mutasyonu ya da her iki allelinin fonksiyon kaybı
- Genlerin yanlış eksprese olmasına ya da yeni bir fonksiyon kazandıran, kimerik genlerin oluşumuna neden olan kromozomal translokasyonlardır (116).

2.1.4.2.2.1. Kromozomal Translokasyonlar

Gen mutasyonu, proto-onkogenlerin aktivasyonunu sağlayan çeşitli mekanizmalarından yalnızca biridir. Bazı durumlarda, bir protoonkogen genellikle translokasyon şeklinde, bir kromozomal mutasyon tarafından aktive edilir. Lösemilerde onkojenik kromozom translokasyonları tanımlanmıştır. Bazı olgularda, translokasyon kırık noktaları iki genin intronları içinde yer alır; böylece yeni bir özelliğe sahip yani onkojenik olan, kimerik bir protein oluşur (116).

Lösemi hücresinde meydana gelen kromozomal translokasyonla transkripsiyon faktörünü kodlayan gen bir başka genle füzyona uğrar. Oluşan yeni gen ürünü

onkojenik özellik gösterir ve hematopoetik farklılaşma kusurlarına neden olur. Tirozin kinaz yapısındaki reseptörü kodlayan genin başka genle füzyon yapması sonucu tirozin kinaz aktive olur ve kontrolsüz hücre proliferasyonu başlar (114). Çocukluk çağı lösemisinin inutero olarak başladığına ilişkin görüşleri desteklemek için ALL tanılı hastaların yenidoğan dönemindeki topuk kan örneklerinden geriye dönük yapılan incelemelerde translokasyonlar ve füzyon gen ürünlerinin doğumda bazı hücrelerde mevcut olduğu gösterilmiştir (34).

Kromozom kırılma noktaları genellikle DNA'nın transkripsiyonel olarak aktif bölgelerinde oluşmaktadır. Füzyon gen transkriptleri; hücre döngüsü regülatörleri, transkripsiyon faktörleri, sinyal iletim molekülleri, reseptörler ya da immunoglobulin ve T hücre reseptörü moleküllerini kodlayan genleri içerir. B-hücre kökenli ALL'de sık saptanan kromozomal translokasyonlar ve füzyon genleri; mBCR-ABL, E2A-PBX1, TEL-AML1 ve MLL-AF4'dir (119).

t(9;22)(q34;q31) translokasyonu sonucu oluşan "Philadelphia" (Ph) kromozomu KML hastalarında % 90, çocukluk çağı ALL'de % 2-5, yetişkinlerde ise % 25 oranında görülmektedir. 9. kromozomda yer alan ABL (Abelson mürin lösemi virusu) geni ile 22. kromozomda bulunan BCR (birleşme bölgesindeki kırılma noktası = breakpoint cluster region) genlerinin birleşmesi ile kimerik proteini kodlayan füzyon gen oluşur. BCR-ABL füzyon proteininin sürekli olarak üretilmeye başlaması tirozin kinaz aktivitesini kontrolsüz hale getirmekte ve sürekli üretilmektedir (120, 121). ABL proteini tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Tirozin kinaz aktivitesi, sinyal iletimi ve hücre büyümesinin düzenlenmesi ile ilişkilidir. BCR proteini ise fosforilasyon reaksiyonunu aktive eder. BCR-ABL myeloid hücrelerde overekspresyon göstererek; Ras ve MAP Kinaz yolları, JAK/STAT yolağı ve PI-3 Kinaz yolağı gibi farklı hücre sinyal kaskadlarını aktive ederek kontrolsüz hücre proliferasyonu ve apoptozis inhibisyonuna neden olur (122,123). KML hastalarının % 10'unda Philadelphia translokasyonu saptanamaz. Ancak bu hastaların yarısında moleküler incelemelerle füzyon gen (Ph⁻ BCR-ABL⁺ CML) saptanabilir. BCR'deki kırılma noktalarının yerine göre çeşitli boyutlarda BCR-ABL füzyon geni oluşur ve bunlar molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. İki genin kırılma noktaları önemli ölçüde değişiklik gösterir, ancak genellikle tanımlanmış bölgelerde meydana gelir. ABL'deki kırıkların hemen hepsi yaklaşık 200 kb'dan daha uzun bir alanda, ekson 1a-1b arasında meydana gelmektedir. KML hastalarında BCR

bölgesindeki kırıkların büyük bir çoğunluğu; MBCR'yi içeren 5.8 kb'lık bir alanda, ekson b2-b3 veya ekson b3-b4 arasında olur. BCR bölgesindeki kırıklar ALL'lilerde ve nadiren bazı KML'lilerde mBCR'yi içeren 54.4 kb'lık bir alan içerisinde ekson e1-e2 arasında meydana gelir (119).

TEL/AML1 füzyon geni [t(12;21)(p13;q22)], 21 numaralı kromozom üzerinde bulunan AML1 (RUNX1) ile 12. kromozom üzerinde yer alan TEL (Translocation ETS Leukemia: ETS lösemi translokasyonu) gen bölgeleri arasındaki translokasyonla oluşur ve prekürsör B-ALL hastalarının % 25'inde görülür. t (12;21) yetişkin ALL hastalarında ise yaklaşık % 3 oranında görülmektedir. TEL, ETS benzeri transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir ve 5' heliks ilmek heliks (helix-loop-helix =HLH) domain ve karboksi terminal DNA-bağlanma bölgesi içerir. Lösemi ile ilişkilendirilen TEL-AML1 kimerik protein: Aminoterminalden ETS DBD (DNA Binding Domain)'e kadar olan TEL bölgesi ile AML1'in RHD (Runt Homology Domain) ve transaktivasyon bölgelerini içerir (112, 124, 125). Konvansiyonel sitogenetik yöntem ile hastaların ancak % 0.05'den daha azında bu translokasyonlar tespit edilebildiğinden Southern blot, Floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve Reverse Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) gibi diğer tekniklere başvurulur. TEL-AML1 onkoproteininin lökomogenezisteki rolü hala belirsizdir ancak normal hematopoezis için gerekli olan AML1'in transkripsiyonel aktivitesini değiştirdiği düşünülmektedir (126). AML1'in transkripsiyon aktivitesi p300'e ve baskılama yetenekleri mSin3A ve HDAC'a bağlı olan bir faktördür ve bunlar fosforilasyon gibi mekanizmalar ile düzenlenir. AML1'in hedef gene bağlanması regülatör alt-birim CBF β (core binding factor β) ile birlikte olmaktadır. AML1 korepresör mSin3A ile etkileşime girdiği zaman, H3 ve H4 histonlarının amino terminal uçlarında yerleşen lizin rezidülerinden asetil gruplarını uzaklaştıran HDAC'ın da indirekt olarak katılımı ile transkripsiyonu baskılar. Bu da yoğun veya repress olmuş kromatin formasyonuna müsaade eder ve temel transkripsiyonel mekanizmaya promotörün erişilebilirliğini belirgin şekilde azaltır. ALL tanısı konmadan on yıl veya daha uzun süren postnatal interval veya latens göstermesi ve ikizlerde konkordans oranının yaklaşık % 10 olması nedeniyle, TEL-AML1 füzyonunun ALL gelişimi için yeterli olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca; normal yeni doğanlarda fonksiyonel TEL-AML1 füzyonlarının frekansının TEL-AML1 füzyon geni

bulunan ALL hastalarının insidansından 100 kat daha sık olması bunu güçlendirmektedir (124).

E2A geni 19p13'de lokalizedir ve kromozom 1'de lokalize olan PBX1 geni ile füzyon yapar (127). Normal E2A proteini transkripsiyonel aktivatördür ve immünglobulin kappa hafif zincir geninin ekspresyonunu aktive eden faktörlerden biridir (128). E2A geni, temel heliks-ilmek-heliks (basic helix-loop-helix =bHLH) transkripsiyon faktörleri olan E12 ve E47 proteinlerini kodlar. E12 ve E47 proteinleri B hücre maturasyonunda önemli rol oynarlar. PBX1 geni bir 'homeobox' (HOX) genidir, B ve T lenfositler hariç tüm dokularda eksprese edilirler (127). E2A(TCF3)- PBX1 gen füzyonu; pre-B hücre hatlarında myeloid öncü hücrelerin farklılaşmasını önlerken apoptozisi indükler, lenfoid progenitör kültürlerinde dönüşüm fonksiyonunu önler (129). t(1;19)(q23;p13) çocukluk çağı ALL'lilerde % 5, çocukluk çağı pre-B ALL'lilerde ise % 20-25 oranında görülmektedir (130). E2A'nın dimerizasyon ve DNA-bağlanma fonksiyonları, proteinin karboksi terminal domainiyle yakından ilişkilidir. E2A'nın amino-terminal yarısı bir transaktivasyon domain içerir ve bu bölge diğer heterolog DNA-bağlanma domainleri üzerinde güçlü bir transaktivasyon aktivitesi gösterir. E2A- PBX1 füzyon geninde, E2A'nın dimerizasyon ve DNA-bağlanmasıyla ilgili bölgelerini kodlayan dizilerin yerini Pbx1 homeodomaini kodlayan Pbx1 dizileri almaktadır (131).

MLL (miyeloid/Lenfoid Lösemi veya mixed lineage lösemi) geni kromozom 11q23'de lokalizedir ve HRX, Htrx-1 veya ALL-1 olarak da adlandırılır (131). MLL 50'den fazla farklı gen ile translokasyon yaparak çeşitli füzyon genlerini oluşturur (132). Bunlardan MLL-AF4 (MLL-MLLT2), MLL-AF9 (MLL-MLLT3) ve MLL-ENL (MLL-MLLT1) füzyonları en sık görülenleri olup 11q23 anomalilerinin % 60'ından fazlasını oluşturmaktadır (133). Kimerik MLL genlerinin insidansı; ALL'lilerde % 7-10, AML'lilerde % 5-6 ve topoizomeraz II inhibitörü kullanımına sekonder gelişen AML'lilerde % 80'den fazladır (134). MLL transkripsiyondan hemen sonra parçalanır ve birbirine non kovalent olarak bağlı olan iki peptid yapı meydana gelir. MLL'nin 50 kDa'luk aminoterminal kısmındaki AT-hook domaini hücre siklusu arrestine neden olur (132, 134). Tümör süpresör genler karsinogeneziste DNA metilasyonu ile etkisizleştirilir. MLL'nin karboksi terminal bölgesindeki SET domaini metiltransferaz

aktivitesine sahiptir. SET geninin aşırı ekspresyonu, metile olmuş DNA'nın demetilasyonunu engelleyerek tümör süpresör genlerin tekrar aktivite kazanmasını önler. Bu bölgedeki transkripsiyonel aktivasyon domaini (TAD) ise CBP aracılığıyla HOX gen bölgesi içerisindeki H3 ve H4'ün asetillenmesinde görev alır. MLL geni, embriyogenez sırasında eksprese edilir ve embriyonik gelişimde görevli genler olan HOX genlerini regüle eder. Ancak translokasyon sonrası oluşan MLL füzyon geni, HOX'un hematopoezi regüle edici fonksiyonunu kaybetmesine neden olur (132).

2.1.4.2.3. Tümör Süpresör Genler

Tümör süpresör genler ise hücre büyümesini düzenleyerek tümör gelişimini engelleyen genlerdir. Tümör süpresör genler tarafından kodlanan proteinlerin fonksiyon kaybı; kontrolsüz hücre bölünmesi, anormal hücre büyümesi ve defektif apoptozise neden olmaktadır.

Onkogenlerin hücre proliferasyonunu aktive etme, tümör süpresör genlerin ise inhibe edebilme yetenekleri, bu genlerin hücre döngüsünün düzenlenmesinde anahtar bir role sahip olduklarını göstermektedir. Hücre döngüsünün S (sentez) fazında DNA replikasyonu olmakta; M (mitoz) fazında ise hücre bölünmektedir. Bu evreler arasında ise iki G (growth= büyüme) fazı vardır: G1, S fazından önce, G2 ise M fazından öncedir. G1'de, S fazında gerekli olacak DNA replikasyonu için nükleotid biosentezinden DNA polimerazlara kadar pek çok gen ürünü hazırlanır. G2'de ise, hücrenin fiziksel olarak bölünmesi sırasında gerekli olacak tubulin gibi proteinlerin sentezi sağlanır. Hücrelerin, hücre siklusu içindeki ilerlemeleri 'siklin' denen düzenleyici alt üniteler ve 'siklin bağımlı kinaz' (cyclin-dependent kinase-CDK) denen katalitik alt üniteleri de ilgilendiren bir dizi protein-kinaz kompleksler tarafından gerçekleştirilir.

Hücre siklusunun farklı fazlarında, siklin ailesinden sadece birinin düzeyi artar. Erken G1 döneminde, siklin D; G1/M geçiş döneminde, siklin E; S'de siklin A; G2/M geçiş döneminde ise siklin B artar. Her bir siklin, belli özelliklere sahip CDK'lar ile etkinleşir. Bu sayede her faz belirli bir siklin ve ona bağımlı bir dizi CDK ekspresyonu ile ayırt edilebilir. Hücre 'S' fazına geçebilmek için, dış çevreden gelen çok sayıda

sinyali entegre etmek zorundadır. Bu noktada büyüme faktörü reseptörlerinin çok önemli bir rolü vardır. Ancak hücre içi şartlar, özellikle genomun bütünlüğü de 'S' fazına girişte anahtar rol oynar. Radyasyon ya da sitotoksik ajanlara maruz kalmak hücre döngüsünde duraklamaya neden olur. Çünkü artık öncelik replikasyonda değil DNA onarımındadır. Bu sayede hücre hasarlı DNA'yı taşıyarak çoğalma tehlikesinden kurtulur. P53 ve pRB'nin, TGF- β gibi peptit büyüme faktörleri aracılığıyla hücre siklusunda duraklama yapabilecekleri gösterilmiştir. Mutasyon taşıyan p53 ise radyasyondan sonra hücre siklusunda duraklama oluşturulamaz. P53'ün aktive ettiği genlerden bir tanesi p21 deneni proteini kodlar. Siklin-CDK kompleksi ile etkileşerek CDK aktivitesini inhibe eder böylece hücre siklusunu durdurarak DNA onarımını başlatır. P16 da p21'e benzer şekilde inhibisyon yapabilir. Bazı kanserlerde p16 geninin mutasyonlar göstermiş olması, CDK inhibitörlerinin ekspresyonlarındaki kayıpların düzensiz hücre çoğalmasına neden olabileceği gösterilmiştir (112).

2.2. PON Gen Ailesi

PON ailesi enzimleri parationun aktif katabolik metaboliti olan paraoksonun hidrolizini katalizlediğinden paraoksonaz olarak isimlendirilmiştir (135). Paraoksonaz gen ailesi 7. kromozomun uzun kolunda (q21.3-22.1) bulunur ve birbirine komşu PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır (136). İnsanlardaki PON1, PON2 ve PON3 genleri nükleotit dizileri bakımından % 70, amino asit dizileri bakımından % 65 benzerlik gösterirler. PON1 mRNA karaciğerde eksprese edilip kana salınırken PON3 ise hem karaciğerde hem de böbrekte eksprese edilir. Buna karşın PON2; kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, plasenta, ince bağırsak, dalak, mide ve testiste bulunur. PON2 aynı zamanda makrofajlar, düz kas hücreleri, endotel hücrelerini içeren arter duvarındaki hücrelerde de tespit edilmiştir (137).

2.2.1. PON1

PON1; paraoksonaz, aril esteraz ve laktonaz aktivitesine sahiptir (138). İnsan serum PON1'i sinir gazı ajanları (somon ve sarin) ve organofosfatların (paration, diazinon, klorprifos) toksik okson metabolitlerini hidrolize eder (139). Paraoksanın (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat) PON1 tarafından hidrolize edilmesiyle paraoksana oranla göreceli olarak daha az zararlı p-nitro fenol ve dietil hidroksi fosfat bileşikleri oluşur. PON1'in hidrolitik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON1 aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir (140). Ayrıca aromatik karboksilik asit esterlerinden fenil asetat, enzimin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Etilediamintetraasetik asit (EDTA) varlığında, plazma ve karaciğer dokusundaki PON1 aktivitesi inhibe olduğu için aktivite tayini heparinli plazmada ve tercihen serumda yapılmaktadır (141). Homogentisik asit lakton, dihidrokumarin, γ -butirolakton ve homosistein tiolakton gibi birçok laktonlar ve siklik karbonatlar da PON1 tarafından hidrolize edilir (139). Önceleri organofosfat bileşiklerini hidrolize etme özelliği nedeniyle toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON1, hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle son yıllarda antioksidan etkileriyle de güncellik kazanmıştır (142, 143).

2.2.1.1. PON1 Enziminin Biyokimyasal Yapısı

İnsan serum PON1'i, 43–45 kDa molekül ağırlığında, 354 amino aminoasitten oluşan bir glikoprotein yapıya sahiptir (138). Her molekül toplam ağırlığının % 15.8'ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içerir. İzoelektrik noktası 5.1'dir. Aminoasit bileşimi yüksek lösin içeriğine sahiptir (144). PON1 yapısında; 42, 284 ve 353. pozisyonlarında yer alan üç adet sistein (cistein=C) rezidü içermektedir. Bu sistein rezidülerinden 284'teki serbest iken 42 ve 353. pozisyonlarındaki rezidüler arasında disülfid bağları bulunur (145). Josse ve ark. (146) C42 veya C353 pozisyonundaki sisteinin alanine dönüşümünün PON1'in inaktivasyonuna veya sekresyonunda azalmaya neden olduğunu

göstermiştir. Sorenson ve ark. (147) ise C284 pozisyonundaki sisteinin, alanin veya serine dönüşümü ile PON1'in sekresyonunda azalma olduğunu saptamışlardır.

PON1 her biri dört zincirden oluşan 6 adet beta tabakalı yapıya sahiptir. Enzim beta tabakaların merkez kısmında 7.4 Å aralıklı iki tane kalsiyum bağlama bölgesine sahiptir. Bu kalsiyumlardan biri bu yapıda en üstte bulunur ve katalitik etkinlikte görev alır. Diğer kalsiyum ise merkezde bulunur ve yapıdan uzaklaştırılması dönüşümsüz denatürasyona neden olur. Katalitik kalsiyum iyonu 2.2-2.5 Å uzaklıkta beş adet amino asit rezidüsü (Asn224, Asn270, Asn168, Asp168, Asp269 ve Glu53) ile etkileşim halindedir. Bu kalsiyum iyonları farklı afiniteye sahiptir. Üstte bulunan kalsiyumun bağlanması merkezde bulunan kalsiyuma göre daha fazladır (148). Ca^{+2} 'nin şelat yapıcı ajanlarla uzaklaştırılması ile PON1, aktivitesini dönüşümsüz olarak yitirirken Zn, Mn ve Mg gibi bazı divalent iyonlar ise PON1'i stabil hale getirir (145). PON1'de H1, H2 ve H3 olmak üzere hidrofobik heliks yapıları vardır. Bunlardan H2 ve H3 heliks yapıları PON1'in aktif bölgesinde bulunmaktadır. Bu heliks yapıları aktif bölgenin yapısının korunması ve enzimin yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'ye bağlanmasında rol oynamaktadırlar. PON1 glikolize bir proteindir. PON1 üzerinde dört tane potansiyel N-glikozilasyon bölgesi bulunmaktadır. Bunlardan Asn 227 ve Asn 270 beta tabakalı yapının merkezinde, Asn 253 ve Asn 324 ise yüzeyde yer alır. Glikozillenme PON ailesinin hidrolitik aktivitesi için gerekli değildir. Ancak hücre membranlarına spesifik olmayan bağlanmayı önler, kararlılığı ve çözünürlüğü artırmada önemlidir (139, 145, 148).

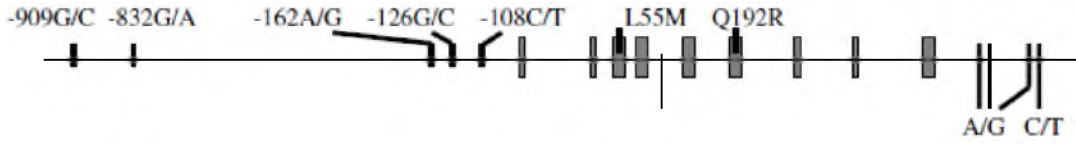
2.2.1.2. PON1 Gen Polimorfizmleri

Kromozom 7q21.3-22.1'de lokalize olan PON1 geni dokuz adet ekson içerir. PON1 substratlarının hidrolitik katalitik aktivitesi bireyler arasında farklılıklar göstermektedir. Bireyler arasında görülen bu farklılık ve çeşitliliğin genetik temeli, PON1 genindeki polimorfizmlerin varlığına bağlı olabilir (149, 150).

Karsinogenik oksidatif stres ürünleri detoksifiye etme yeteneğine sahip olan PON1 geninde 200'den fazla polimorfizm tanımlanmıştır. PON1 genindeki polimorfizmlerin, PON1'in konsantrasyonu, aktivitesini etkileyebileceği ve kanser riskini arttırabileceği

ileri sürülmüş ve serum PON1 aktivitesinin gastrik, pankreatik ve akciğer kanserlerinde düşük olduğu gösterilmiştir. Ovulasyon sırasında meydana gelen oksidatif stresin, overin epitelyal hücrelerindeki DNA hasarı ve malign transformasyon potansiyelini artırdığı düşüncesinden hareketle PON1 polimorfizmlerinin over kanser riskini arttırabileceği ileri sürülmüştür. Epitelyal over kanserli hastalarda hastalığın derecesi ve CA-125 düzeyi ile PON aktivitesi arasında ters korelasyon tespit edilmiştir (151-153).

PON1 geninin promotor bölgesinde pozisyon -108, -126, -162, -832 ve -909'da olmak üzere beş adet polimorfizm tanımlanmıştır (Şekil 2.1.) (149).



Şekil 2.1. PON1geninin polimorfizmleri. Promotor bölgede 5 polimorfizm (-108, -126, -162, -832, -909) ve kodlama bölgesindeki L55M ve Q192R polimorfizmleri görülmektedir (149).

Pozisyon -108'deki polimorfizmin, arilesteraz aktivitesinde en büyük etkiye sahip olduğu ve aril esteraz aktivitesinin % 22'sinden, pozisyon -192, -55, -162'deki polimorfizmlerin ise sırasıyla % 5.7, % 4.1 ve % 1.1'inden sorumlu olduğu gösterilmiştir (154). Promotor bölgenin Sp-1 bağlanma bölgesindeki C-108T polimorfizminde, C-108 alleleline sahip kişilerde, T-108 alleleline sahip olanlara göre PON1'in ekspresyon kapasitesi iki kat daha yüksektir. Genin Promotor bölgesinde bulunan A-162G ve C-909G polimorfizmlerinin PON1 ekspresyonuna etkisi daha düşüktür (150).

PON1 geninin kodlanma bölgesinde: Pozisyon 55'de (L55M) lösin/metiyonin (dbSNP:rs854560) ve pozisyon 192'de (Q192R) glutamin/arginin (dbSNP:rs662) yer değişimi olmak üzere iki yaygın polimorfizmi vardır. L55M ve/veya Q192R polimorfizmleri; meme kanseri, akciğer kanseri, over kanseri, prostat kanseri, non-hodgkin lenfoma ve multipl myelom ile ilişkilendirilmiştir (153, 155-159). PON1 192R izoformu; paraokson ve klorpirofos oksonu PON1 192Q izoformuna göre daha hızlı hidroliz ederken, PON1 192Q izoformu diazokson, soman ve sarini daha hızlı hidroliz

eder. Kodon 55'deki polimorfizm, PON1 enziminin katalitik aktivitesini etkilemezken, mRNA ve protein seviyelerini etkilemektedir. Bu etkinin PON155M alleli ile genin promotor bölgesindeki pozisyon -108 polimorfizmi arasında bağlantı eşitsizliğinin olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (154).

Yüksek aktiviteye sahip R allelinin farklı toplumlardaki frekansı; Finlilerde (160) % 26, İtalyanlarda (161) % 27, Beyaz Amerikalılarda (162) % 27 ve İngilizlerde (163) % 29'dur. Diğer yandan Çinlilerde (164) ve Japonlarda (165) ise R allel frekansı Q frekansının iki katıdır (sırasıyla R alleli: % 64.8 ve % 59). Aynacıoğlu ve ark. (166)'nın ülkemize ait örneklerinde: Gaziantep yöresinde yaptıkları çalışmada R allel frekansı % 31'dir. Karakaya ve ark. (167) ise Ankara yöresinde R allel frekansını % 36.8 olarak tespit etmişlerdir.

Ağaçhan ve ark. (168) İstanbul yöresinde yaptıkları çalışmada LL ve LM genotip frekanslarını birbirine eşit % 46.8, MM frekansını ise % 6.4 olarak, QQ frekansını % 33.6, QR frekansını % 9.3 ve RR frekansını % 57.1 olarak bulmuşlardır. Fong ve ark. (169) Tayvan toplumu için genotip frekanslarını; L: % 93.2, LM: % 6.2 ve MM: % 0.6 olarak saptamışlardır. Grdic ve ark. (170) Hırvatistan toplumu için kontrol grubundaki QQ, QR ve RR frekanslarını sırasıyla; % 60, % 34 ve % 6 ayrıca LL, LM ve MM frekanslarının dağılımını da; % 44, % 43 ve % 13 olarak saptamışlardır.

2.2.1.3. PON1 Enziminin Regülasyonu

Serum PON1 aktivitesi; ilaçlar, beslenme, sigara, alkol ve bazı patolojik ve fizyolojik koşulları içeren çevresel faktörler ve genetik faktörlere bağlı olarak bireyler arasında yaklaşık 40 kat farklılık göstermektedir (170).

Beslenme sırasında alkol, nar suyu ve yağ alımının, PON1 aktivitesini arttırarak koroner kalp hastalığı riskini azaltabileceği öne sürülmüştür (171). Beslenmede bir likopen kaynağı olan domates ve domates ürünleri tüketiminin, yağ dokusundaki likopen derişimini arttırarak miyokard enfarktüsü riskini azalttığı (172), düşük serum likopen konsantrasyonunun ise akut koroner olaylar ve inme insidansında artmaya neden olduğu gösterilmiştir (173). Kleemola ve ark. (174) ise 3 gün beta-karoten verilen

bireylerde ve fazla miktarda sebze tüketen bireylerde PON1 aktivitesinde azalma olduğunu saptamışlardır.

PON1 aktivitesi gelişimsel süreçle de ilişkilidir. Karaciğerde sentezlenerek dolaşıma verilen PON1' in aktivitesi yeni doğanlarda çok düşüktür. Bu durum yaşamın ilk altı ayına kadar devam eder. PON1 düzeyleri altıncı ayda artmaya başlar ve 2 yaşına kadar devam ederek plato düzeylerine ulaşır. Preterm bebeklerdeki PON1 seviyeleri, term bebeklere göre % 24 daha düşüktür. Fötustaki PON1 seviyelerinin daha düşük olduğu ileri sürülmüştür. PON1 düzeyleri yetişkin sağlıklı bireylerde stabildir ancak ileri yaşlarda giderek azalır (175, 176).

Karaciğerde eksprese edilip kana salınan PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığı ile HDL'ye bağlanır (139). HDL yaklaşık 10 nm çapında bir partiküldür (148). HDL'nin yapısında; fosfolipidler, kolesterol ve kolesterol esterleri gibi membran bileşenleri ve protein bileşenleri yer alır. Apolipoprotein A-1 (apoA-1) HDL'de bulunan major yapısal proteindir ve HDL partiküllerinin yapısı ve bileşiminin belirlenmesinde önemli rol oynar (177). HDL'nin diğer protein bileşeni apoA2'dir. Ancak PON1'in büyük bir kısmı apoA-1 içeren HDL ile ilişkilidir. PON1, apoJ ve clusterin içeren HDL'ye ise daha az miktarlarda bağlanmaktadır (178). PON1-HDL kompleksi; okside makrofajlar, aterosklerotik lezyonlar ve okside LDL'lerdeki okside lipidleri hidrolize ederek aterosklerotik lezyonların başlaması ve ilerlemesini önler (139). HDL-eksikliği durumunda, PON1 daha az sekrete edildiği için serum düzeylerinde düşüş olmaktadır. Bu da HDL'nin, PON1'in enzim konsantrasyonunun saptanmasında serum vektörü olarak önemli volabileceğini düşündürmektedir (178). Van der Gaag ve ark. (179) su tüketen ve orta düzeyde alkol tüketen orta yaşlı erkekleri üç hafta sonra karşılaştırdıklarında, orta düzeyde alkol tüketenlerde PON 1 aktivitesindeki artışla birlikte, HDL ve apoA-1 konsantrasyonunda da yükselme olduğunu saptamışlardır.

Sigara kullanımı serum PON1 aktivitesini düşürmektedir. Sigara içen ve içmeyen bireylerin serum PON1 seviyeleri karşılaştırıldığında sigara içen bireylerde serum konsantrasyon ve aktivitelerinin etkilenecek şekilde PON1 düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Sigarayı bırakanların serum PON1 aktivitelerinde ve konsantrasyonlarında tekrar artış olduğu sigara içmenin PON1 aktivitesi üzerinde yarattığı etkinin geri dönüşümlü olduğu gözlenmiştir. İlginçtir ki, sigara içen bireylerden alkol kullanan ya da egzersiz yapanların serum PON1 düzeylerinin sigara içmeyen bireylere benzediği ve bu

aktivitelerin sigaranın PON1 üzerinde olan olumsuz etkilerini azalttığı gösterilmiştir (178).

Multifonksiyonel antioksidan enzim olan PON1, homosistein laktonaz aktivitesi ile ateroskleroza yol açan homosistein tiolakton gibi homosistein metabolitlerini detoksifiye eder. Homosistein tiolakton, lizin rezidülerinin homosisteinilasyonuna neden olarak protein hasarına yol açar. LDL'nin major apoproteini olan apo B100'ün homosisteinlenmesi ile LDL oksidlenmeye karşı daha duyarlı hale gelir. PON1'in homosistein laktonaz aktivitesi sayesinde kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir. Tip II Diyabetli hastalarda bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların şiddetinde azalma olduğu gösterilmiştir (180-182). PON1 aktivitesinin renal hastalık, diabetes mellitus, karaciğer sirozu, hepatit-C, HIV enfeksiyonu, anksiyete bozukluğu ve ALS gibi nörolojik hastalıklarda serum düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (136,183). Diğer yandan simvastatin ve hormon replasman tedavisi alanlarda ise serum PON1 aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (183).

2.2.2. PON2

PON2 molekül ağırlığı 44 kDa olup yaygın bir şekilde hücre içinde ekspre edilir (137). PON2 N-terminal sinyal dizisine sahiptir ve hücrelerde plazma membranı ile bağlantılıdır. Antioksidan özelliğe sahip olan PON2, hücre içi oksidatif stresi azaltır ve LDL oksidasyonunu engeller (184).

PON2 sentezleyen hücrelerde yapılan çalışmalarda, PON2 ekspresyonunun PON1'in aksine oksidatif stres sonrası olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada fare periton makrofajları oksidatif stres indükleyici ajanlarla muamele edildikten sonra PON2 mRNA sentezinde artış tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise fareler yüksek miktarlarda yağ, kolesterol ve kolat içeren diyetle 8-15 hafta beslendikten sonra karaciğer PON2 seviyelerinde artış gözlenmiştir. Hiperkolesterolemisi olan bireylerde monositten oluşan makrofajlardaki PON2 düzeyleri sağlıklı bireylere göre daha düşüktür (137).

PON2 geninde yer alan bazı polimorfizmler çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmişlerdir. PON2: Kodon 148'de (A148G) alanin/glisin ve kodon 311'de

(S311C) serin/sistein yer değişimi olmak üzere iki polimorfizm göstermektedir (137). A148G polimorfizmi total ve LDL kolesterol, açlık kan şekeri ve doğum ağırlığı ile ilişkilendirilirken, S311C polimorfizmi; koroner arter hastalığı, tip 2 diyabetli hastalarda iskemik inme, geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı ve postmenopozal kadınlarda kemik kütleinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (137, 185, 186).

2.2.3. PON3

PON3 en son tanımlanan ve en az bilinen PON üyesidir. Yaklaşık 40-kDa moleköl ağırlığındadır. Karacięerde sentezlenen PON3, serumdaki HDL ile ilişkilendirilmiştir. Ancak PON1'e göre serum düzeyleri daha dūřüktür. (184). PON3'un arilesteraz aktivitesi sınırlıyken statin gibi laktonları hızla hidrolize eder (136). Güney İtalyan popülasyonu ile yapılan bir çalışmada 311. kodonda serin/treonin ve 324. kodonda glisin/aspartik asit yer değişimi saptanmış ancak bu değişimlerin protein fonksiyonu üzerinde bir etkisi gösterilememiştir. PON3, PON1 ve PON2 gibi antioksidan özellik göstermektedir. Tavřan serumundan saflaştırılan PON3'un in vitro olarak LDL oksidasyonunu arttıran bakını inhibe ettiği ve tavşan PON3'ünün PON1'e göre LDL'yi oksidasyona karşı 100 kat daha fazla koruduğu belirlenmiştir (137, 187).

2.3. Katalaz

Canlı organizmadaki oksidasyon (yükseltgenme) ve redüksiyon (indirgenme) olayları, oksidoredüktazlar olarak adlandırılan enzimler tarafından katalizlenir. Oksidoredüktazlar; oksidazlar, dehidrojenazlar, hidroperoksidazlar ve oksijenazlar olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Bunlardan hidroperoksidazlar, substrat olarak hidrojen peroksit veya organik peroksit kullanan oksidoredüktazlardır ve zararlı peroksitlere karşı vücudu korurlar. Katalaz, hidroperoksidazlar sınıfında yer alır ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ile oluşan hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasını

hızlandıran anahtar bir antioksidan enzimdir (188, 189). Ayrıca; etanol, format ve nitritin oksidasyonunu da katalizler (190).

Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) dört alt birimden oluşur. Her bir alt birimin molekül ağırlığı yaklaşık 60 kDa ağırlığındadır ve her biri hematin (Fe^{+3} -protoporfirin IX) grubu içerir (191). Bu enzim peroksizomlarda yoğun bir şekilde bulunurken daha az olarak; eritrosit, hepatosit ve böbreklerde bulunur (192). Hidrojen peroksit, CAT tarafından parçalanmazsa Fenton reaksiyonu ile vücut için çok tehlikeli bir serbest radikal olan OH oluşumuna neden olur (4). CAT aerobik metabolizma sırasında sürekli üretilir. Düşük miktardaki H_2O_2 , CAT tarafından efektif olarak katalize edilir. Ancak yüksek miktardaki H_2O_2 , lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olur (189).

Nörodejeneratif hastalıklar, lipid bozuklukları, diyabet, ateroskleroz gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda CAT aktivitesinde düşme olduğu ve transgenik farelerde CAT'nin overespresyonu ile aterosklerozda azalma ya da gecikme olduğu bilinmektedir. Ayrıca CAT uygulaması ile ooforektomi sonrası kemik kaybının önlendiği saptanmış ve CAT aktivitesinin postmenapozal osteoporoz gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıkların gelişimi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (193).

Nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücreler patojenleri öldürmek, nekrotik dokuları temizlemek için oksijen radikallerini kullanırlar. Aktive olmuş makrofajlar ve nötrofiller fagositoz esnasında bir respiratuvar burst (solunum patlaması) enzimi olan NADPH oksidazı uyarırlar. Plazma membranının dış yüzeyinde bulunan NADPH oksidaz, moleküler oksijene bir elektron transferi yaparak süperoksid oksijen radikallerini oluşturur. Fagolizozomlarda düşük pH'da süperoksid oksijen radikalinin neredeyse tamamı H_2O_2 'e (yaklaşık 100mM) dönüşür. Serbest radikallerin oluşumuyla birlikte mitokondri dışında oksijen tüketimindeki artışla bir solunumsal patlama gerçekleşir ve solunumsal patlama ürünlerinin etkisi ile bakteriler öldürülür. Bu reaksiyonlar hücrelerin savunma mekanizması için gereklidir ancak serbest radikallerin fazla üretimi; işlev bozukluğu, hücre ölümü ya da tümör oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri fagositlere de zarar verebilirler. Ancak fagositler reaktif oksijen radikallerinin kendilerine zarar vermesini CAT, SOD, glutatyon peroksidaz, alfa tokoferol ve askorbik asid gibi antioksidanlar ile engellerler (194).

2.3.1. CAT Gen Polimorfizmleri

Antioksidan enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen genetik değişiklikler enzimlerin aktivite ve ekspresyonunda değişikliğe neden olurlar (195). Goth ve ark. (196)'na göre kanser hastalarındaki düşük CAT seviyeleri, azalmış enzim sentezinden çok CAT genindeki mutasyonlarından kaynaklanmaktadır.

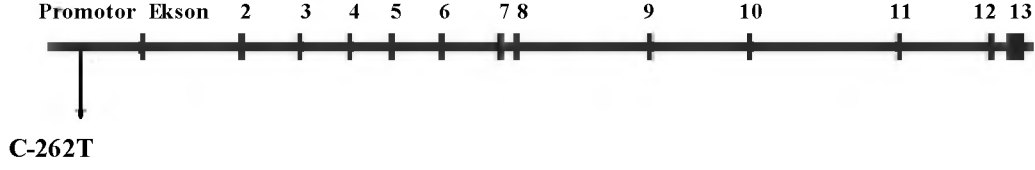
CAT geni 11p13'de lokalizedir (Şekil 2.2.), 34 kb uzunluğunda ve 13 ekson ile 12 introndan oluşmaktadır (197).



Şekil 2.2. CAT geninin kromozom 11p13'deki lokalizasyonu (198).

Moleküler genetik çalışmalar ile CAT geninde birçok polimorfik bölge tanımlanmış ve bunlardan birkaçı akatalazemi/hipokatalazemi, hipertansiyon, vitiligo, tip II diabetes mellitus gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (197, 199). İntron 4'deki G/A yer değişimi anormal splicing'e neden olurken ekson 4'deki (358T) timin delesyonu akatalazemiye neden olmaktadır (195). Akatalazemi kalıtsal CAT eksikliği bakımından homozigotluk gösterirken hipokatalazemi heterozigot forma sahiptir (200). Akatalazemik eritrositler normal kan CAT aktivitesinin % 10'undan daha düşük aktiviteye sahiptir (196). Akatalazeminin frekansı İsviçre'de 0.04:1000, Japonya'da 0.08:1000 ve Macaristan'da 0.05:1000'tir. Japonya'da (TipA: İntron 4 G4A ve tip B: ekson 4 358T delesyonu), Avusturya'da (ekson 3 C96T), Amerika'da (ekson 9 G113A) ve Macaristan'da (tipA: ekson 2 138GA insersiyon, tip B: ekson 2 79G insersiyon, tip C: intron 7 G5A, tip D: ekson 9 G5A) akatalazemi mutasyonları tespit edilmiştir. Akatalazemi bakımından homozigot olan bireylerin çoğu asemptomatiktir ve kan CAT seviyeleri tarama testleri sırasında veya tesadüfen belirlenmektedir (200).

C-262T, C-844CT ve A-21T polimorfizmleri CAT geninin promotor bölgesinde lokalizedir (199). Nükleotid -262'deki (rs1001179) sitozin timidin yer değişimi (C>T); transkripsiyon bağlanma faktörü ve gen transkripsiyonunu etkileyerek, bazal CAT ekspresyonu ve eritrosit CAT seviyelerini değiştirmektedir (Şekil 2.3.) (199, 201).



Şekil 2.3. CAT geninin promotor bölgesinde bulunan C-262T polimorfizmi (197).

-262T polimorfik allelinin ülkelere göre frekans dağılımı: Yunanistan ve Amerika'da % 18, İsveç'te % 29, Çin'de % 14 iken Macaristan'da % 41'dir. İngiltere'de görülen T polimorfik allel oranı % 22 olup (200) bu oran Türkiye'de Suzen ve ark. (1)'nin Ankara yöresine ait çalışmasındaki oranla aynıdır. C-262T polimorfizmi; Tip I diyabet, diyabetik polinöropati ve hepatoselüler karsinoma ile ilişkilendirilirken, tip II diyabet ve alzheimer olan yatkınlığı etkilememektedir (189, 200). -262T alleli nörodejenerasyona karşı koruyucu etki göstermekte ve kognitif fonksiyonların düzelmesine yardımcı olmaktadır (195).

-21A>T (rs7943316) polimorfizmi alerjik astım ve alerjik olmayan astımla ilişkilendirilirken (199), 844C>T polimorfizmi hipertansiyonla ilişkilendirilmiştir (202).

Ekson 9 kodon 389'daki yer alan C/T polimorfizminde (rs769217) polimorfik TT genotipi Kuzey Amerika populasyonunda % 5.08, İngiliz populasyonunda % 3.5, Kore populasyonunda % 12 ve Hindistan populasyonunda % 0.69'dur. Bulut H ve ark. (203) 49 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu ile 34 vitiligolu hastadan oluşan hasta grubunu karşılaştırmak amacıyla İzmir yöresinde yaptıkları çalışmada; kontrol grubunda TT polimorfik genotipe rastlamamış, hasta grubunda ise TT genotip oranını % 5.9 olarak tespit etmişlerdir. Kodon 389'daki C/T polimorfizmini Türk populasyonunda vitiligoya yatkınlık ile ilişkilendirmemişlerdir. Bu polimorfizm, Kuzey Amerika populasyonu ve İngiliz populasyonunda vitiligo ile ilişkilendirilirken Kore populasyonunda bu ilişki saptanamamıştır (204-206).

Ekson 10 kodon 419'da bulunan C/T polimorfizminin (rs11032709) allel genotip dağılımları farklı populasyonlarda incelediğinde bu polimorfizmin vitiligoya yatkınlığı artırdığı saptanmıştır (204).

3- GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

CAT C-262T ve PON1 L55M polimorfizmleriyle lösemi arasındaki ilişkiyi belirlemek için hasta grubu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalında lösemi tanısı konmuş 140 bireyden oluşturuldu. Hasta grubunun 54'ü (% 38.6) kadın ve 86'sı (% 61.4) erkek olup yaş dağılımı 3-17 yıl olan 45 çocuk ve yaş dağılımı 19-71 yıl olan 95 erişkin bireyden oluşurken kontrol grubuna herhangi bir kanser tanısı almamış 140 birey katıldı. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin 82'si (% 58.6) kadın, 58'i (% 41.4) erkekti. Bu grup yaş dağılımı 6-14 yıl olan 48 çocuk ve yaş dağılımı 29-79 yıl olan 92 erişkin bireyden oluştu. Etik kurul onayı alındıktan sonra bireylerden detaylı anamnez alındı ve bilgi formlarına bilgiler kaydedildi. Bireylerden alınan 8 cc periferik kan, 1 ml % 2'lik EDTA içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu. DNA izolasyonuna kadar -20 °C'de saklandı. Bu kanlardan Miller'in tuz çöktürme yöntemine göre DNA izolasyonu yapıldı (207).

PON1 L55M ve CAT C-262T polimorfizmlerine ait bölgeler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) ile amplifiye edilip elektroforezle görüntülendi. Elde ettiğimiz DNA PCR'a dayalı Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism)'nde bir kalıp olarak kullanıldı ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1.1. Genotip Belirlenmesinde Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Mikropipet Seti (Eppendorf)

- Santrifuj (Nüve NF-800)
- Mikrosantrifuj (Hermle. Z 160M)
- Otoklav (Nüve OT 40L)
- Etiv (Nüve EN-500)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Vorteks (VELP)
- Termal Cykler (Techne TC-412)
- Hassas Terazi (AND)
- Mikrodalga Fırın (Samsung)
- Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK-418)
- Elektroförez Tankı (Thermo EC-330)
- Elektroförez Güç Kaynağı (EC-135-90)
- Jel Görüntüleme (Vilber Lourmat Marne La Vallee, France)

3.1.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
- Sodyum Klorür (Riedel-de Haen)
- Na₂EDTA (Sigma E-5134)
- Sodyum Dodesil Sülfat (Sigma L-5750)
- Proteinaz K (Fermentas E00491)
- Etanol Meck (ZD-002)
- Tris Base (Sigma T-6066)
- Borik Asit (Applichem A2940)
- Agaroz (Prona Agarose Plus, HS8045)
- Etidyum Bromid (Sigma E-1510)
- Orange G (Applichem A1404)
- Gliserol (Merck 4091)
- Taq DNA Polimeraz 500 U (Fermentas FE- EP0402)

- Hin1II 300 U (Fermentas FE-ER1831)
- SmaI 2000 U (Fermentas FE-ER0665)
- Gene Ruler 100 bç DNA Ladder plus (Fermentas FE-SM0321)
- Gene Ruler 50 bç DNA Ladder (Fermentas FE-SM0371)
- dNTP Mix 2mM (Fermentas EP0242)
- 10×PCR Buffer (Fermantes EP0402)
- Bidistile Su (Applichem A7398)

3.1.1.3. Kullanılan Tampon Çözeltileri

3.1.1.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler

- **Nüklei Lizis Buffer**

- Tris HCl.....1.576 g
- NaCl.....23.4 g
- Na₂EDTA.....0.7 g

1 litre distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda steril edildi ve +4 °C'de saklandı.

- **% 10 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Çözeltisi:** 10 g SDS, 100 ml distile suda çözüldü.
- **6 M NaCl Çözeltisi:** 35.5 g NaCl, 100 ml distile suda çözüldü.
- **TE Buffer:**
 - Tris-HCl.....0.394 g
 - Na₂EDTA.....0.093 g

250 ml distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda steril edildi ve +4°C’de saklandı.

- **Proteinaz K:** Liyofilize 100 mg proteinaz-K, 10 ml steril distile su ile çözümlenerek 10 mg/ml’lik konsantrasyona getirildi ve -20 °C’de saklandı.

3.1.1.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Çözeltiler

- **10×TBE (Tris-Borat-EDTA)**

- Tris Base.....10.8 g
- Borik Asit.....54.8 g
- Na₂EDTA.....5.44 g

Distile su ile 1 litreye tamamlanarak çözüldü.

- **Elektroforez Yürütme Tamponu:** 10×TBE Buffer’den distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1×TBE içerisine 0.5 µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromid konulduktan sonra karıştırıldı.

- **Agaroz Jel Çözeltisi (% 3’lük):** 140 ml 1×TBE Buffer içerisine 4.2 g agaroz bırakılıp mikrodalga fırında 4 dakika süren eritme işlemi gerçekleştirildikten sonra konsantrasyonu 0.5 µg/ml olacak şekilde etidyum bromid eklendi.

- **Orange G Çözeltisi:**

- Na₂EDTA2.232 g
- Orange G.....200 mg

60 ml gliserol ve 40 ml distile sudan oluşan solüsyon içerisinde çözüldü.

3.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden alınan 8 ml venöz kan 1 ml EDTA içeren tüplere konularak -20 °C'de saklandı. İlk gün tüplerdeki kanların üzerine pipetle distile su ilave edilerek 14 ml'ye tamamlandı ve 5 dakika iyice çalkalandı. 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildikten sonra santrifüjlenen tüplerin süpernatant kısımları transfer pipetiyle alınarak atıldı. Tüplere tekrar distile su ilave edilerek 14 ml'ye tamamlandı ve santrifüj edildi. Süpernatant kısım berrak bir görüntü alana kadar bu işlemleri tekrarlandı. Son santrifüjlemeden sonra süpernatant atıldı ve pelet üzerine 3 ml nüklei lizis buffer, 200 µl % 10'luk SDS ve 25 µl proteinaz-K (10 mg/ml) eklenerek 37 °C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün bir saat 55 °C'de bekletildikten sonra işlemin ikinci aşamasına geçildi. Inkübasyon sonrası tüplere 2 ml 6 M'lik NaCl çözeltisi ilave edildikten sonra yavaşça karıştırıldı ve oda ısısında 10 dk bekletildi. Daha sonra tüpler 15 dk 3500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjlemeden sonra tüplerdeki süpernatant kısım transfer pipetiyle temiz bir falkona aktarılarak üzerine absolu etanol eklendi ve böylece DNA'nın presipitasyonu sağlandı. Görünür hale gelen DNA steril bir mikropipet ucuyla daha önce 500 µl TE buffer konulan ependorf tüplere aktarıldı. 37 °C etüvde bir gece bekletilen DNA örnekleri +4 °C'de muhafaza edildi.

3.3. Moleküler Analiz

PCR yöntemi; bir organizma veya mutant gene ilişkin normal ya da parçalanmış DNA ya da RNA'nın in vitro çoğalmasına olanak veren bir yöntemdir. DNA izolasyonu ile elde ettiğimiz DNA örneklerinden CAT C-262T ve PON1 L55M polimorfizmlerini belirlemek amacıyla, polimorfizmlerin olduğu gen bölgeleri bu yöntem ile çoğaltıldı. Bu PCR ürünleri restriksiyon enzimi ile kesildi ve oluşan elektroforetik paterne bakılarak oluşan RFLP fragmentleri değerlendirildi.

3.3.1. PON1 L55M ve CAT C-262T Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

PON1 geninin kodlama bölgesindeki L55M polimorfizmini belirlemek için Rea ve ark. (208)'nin çalışmalarında kullandıkları primerler seçildi. 170 bç'lik PCR ürünü, kullanılan spesifik primerlerle çoğaltıldı. Amplifikasyon için kullanılan primer dizileri aşağıda gösterilmiştir:

- PON1 L55M-F: 5'- GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG-3'
- PON1 L55M-R: 5'- TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3'

Çalışmamızda CAT geninin promotor bölgesinde bulunan C-262T polimorfizmini belirlemek için Bastaki ve ark. (5)'nin çalışmalarında kullandıkları primerler seçildi. 185 bç'lik PCR ürünü, kullanılan spesifik primerlerle çoğaltıldı. Amplifikasyon için kullanılan primer dizileri aşağıda gösterilmiştir:

- CAT C-262T-F: 5'-TAAGAGCTGAGAAAGCATAGCT-3'
- CAT C-262T-R: 5'-AGAGCCTCGCCCCGCCGGACCG-3'

Çizelge 3.1. Bir örnek için PCR ortamında kullanılan malzeme ve miktarları

| Reaksiyon Karışımı | Kullanılan Miktar (µl) |
|--|------------------------|
| Bidistile Su | 16 µl |
| 10×PCR Buffer (NH ₂ (SO ₄)) | 2.5 µl |
| 2 Mm dNTP mix | 2.5 µl |
| Primer (Forward) | 0.5 µl |
| Primer (Reverse) | 0.5 µl |
| MgCl ₂ | 1.5 µl |
| Taq DNA polimeraz (5U/ µl) | 0.2 µl |
| Total Hacim | 23.7 µl |

Çalışılacak örnek sayısına göre miktarlar hesaplandıktan sonra steril ependorf tüpe yukarıdaki sırayla malzemeler bırakıldı. Karışım vortekslelendikten sonra her bireye ait protokol numarasını içeren, 0.5 ml'lik steril ependorf tüplere eşit miktarlarda dağıtıldı (Çizelge 3.1.). Her tüpe ait olduğu bireyin DNA'sından 1'er µl eklendi. Ependorf tüpleri thermal cyler cihazına yerleştirildi. Thermal cyler'da aşağıdaki tablolarda gösterilen PCR sıcaklık profilleri kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi. Çizelge 3.2.'de PON1 L55M polimorfizmi için optimal reaksiyonun gerçekleştiği PCR reaksiyonları verilmiştir.

Çizelge 3.2. PON1 L55M polimorfizmi için uygulanan PCR reaksiyon ısı döngüleri

| Reaksiyon Aşaması | Sıcaklık °C | Süre | Döngü Sayısı |
|-------------------------------|-------------|-----------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 94 °C | 4 dakika | 1 döngü |
| Denatürasyon | 94 °C | 40 saniye | 35 döngü |
| Annealing (Primer Bağlanması) | 56 °C | 45 saniye | |
| Sentez (Extension) | 72 °C | 40 saniye | |
| Son Uzama (Final Extension) | 72 °C | 7 dakika | 1 döngü |

Çizelge 3.3.'de CAT C-262T polimorfizmi için optimal reaksiyonun gerçekleştiği PCR reaksiyonları verilmiştir.

Çizelge 3.3. CAT C-262T polimorfizmi için uygulanan PCR reaksiyon ıs1 döngüleri

| Reaksiyon Aşaması | Sıcaklık °C | Süre | Döngü Sayısı |
|-------------------------------|-------------|-----------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 95 °C | 15 dakika | 1 döngü |
| Denatürasyon | 94 °C | 30 saniye | 35 döngü |
| Annealing (Primer Bağlanması) | 60 °C | 45 saniye | |
| Sentez (Extension) | 72 °C | 30 saniye | |
| Son Uzama (Final Extension) | 72 °C | 10 dakika | 1 döngü |

PON1 L55M polimorfizmini RFLP yöntemi ile belirleyebilmek için Hin1II restriksiyon enzimi kullanıldı. Bu enzim T nükleotidinin A nükleotidine transisyonu ile ...NCATG↓N... baz sırasına sahip DNA bölgesini tanır ve 5' ucundan CATG bazlarından sonra kesim yapar.

PON1 L55M polimorfizmi için 170 bç'lik PCR ürününün Hin1II restriksiyon enzimi ile kesimini gerçekleştirmek için reaksiyon karışımı hazırlandı. Bir örnek için karışım şunları içerdi:

Bidistile Su9.5 µl
10X Buffer G.....2.5 µl
Enzim (Hin1II).....(5 U/µl) 0.2 µl

Çalışılacak örnek sayısına göre hazırlanan karışım vortekslelendikten sonra eşit miktarda PCR ürünlerinin üzerine bırakıldı. Mikrosantrifüjde kısa süre çevrilen örnekler 37°C'lik etüvde 16 saatlik inkübasyona bırakıldı.

CAT C-262T polimorfizmini RFLP yöntemi ile belirleyebilmek için SmaI restriksiyon enzimi kullanıldı. Bu enzim T nükleotidinin C nükleotidine transisyonu ile 5'....CCC↓GGG...3' baz sırasına sahip 6 baz çiftlik DNA bölgesini tanır ve 5' ucundan CCC bazlarından sonra kesim yapar.

CAT C-262T polimorfizmi için 185 bç'lik PCR ürününün SmaI restriksiyon enzimi ile kesimini gerçekleştirmek için reaksiyon karışımı hazırlandı. Bir örnek için karışım şunları içerdi:

Bidistile Su9.5 µl
10X Buffer Tango.....2.5 µl
Enzim (SmaI)(10 U/µl) 0.3 µl

Çalışılacak örnek sayısına göre hazırlanan karışım vortekslendikten sonra eşit miktarda PCR ürünlerinin üzerine bırakıldı. Mikrosantrifüjde kısa süre çevrilen örnekler 30 °C'lik etüvde 4 saatlik inkübasyona bırakıldı.

3.3.2. % 3'lük Agaroz Jelin Hazırlanması

% 3'lük agaroz jel için 4.2 g tartılan agaroz beher içine konuldu. Bunun üzerine 140 ml 1×TBE solüsyonu eklendikten sonra mikrodalga fırında homojen ve şeffaf bir görünüm elde edilinceye kadar ısıtıldı. Bu karışım manyetik karıştırıcıda 200 devir/dk, yaklaşık 5 dk soğuyana kadar (50-55 °C) karıştırıldı. Karıştırma işlemi devam ederken jel içerisine 0.5 µg/ml'lik etidyum bromid eklendi. Jel uygun ısıya düşünce jel kalıbına döküldükten sonra taraklar takıldı. Oda ısısında jelin polimerize olması beklendi. Sonra taraklar çıkarıldı ve bir süre buzdolabında bekletilerek kullanıma hazır hale getirildi.

3.3.3. Elektroforez İşlemi

PCR ile amplifiye edilen gen bölgelerinin uzunluğunu belirlemek ve amplifiye edilen ürünlerin restriksiyon endonükleazlarla kesilip kesilmediğini kontrol etmek için agaroz jel elektroforez tekniği kullanıldı. % 3'lük agaroz jel elektroforez tankına yerleştirildi. Ependorf tüplerindeki PCR ile amplifiye edilen ve restriksiyon enzimi ile kesilen örnekler üzerine 10 µl Orange-G katıldıktan sonra birkaç saniye mikrosantrifüjde 3500 rpm'de çevrildi. Bu işlemi takiben tankın içindeki jelin kuyucuklarına örnekler sırayla bırakıldı. Ürün büyüklüğünü ölçebilmek için kuyucuklardan birine 3.5 µl 100 bç'lik DNA marker (DNA işaretçisi) kondu. Elektroforez tankının kapağı kapatılarak güç kaynağına bağlandı. Güç kaynağı 120 volt 40 mA olarak ayarlandı ve örnekler 30-33 dk süreyle elektroforeze tabi tutuldu. Örnekler Vilber Lourmat Marne LA Vallee, France görüntüleme sisteminde 260 nm dalga boyunda UV ışığı altında görüntülendi ve değerlendirildi.

Bant uzunluklarına göre yapılan değerlendirmede PON1 L55M polimorfizmi için:

- TT→ 170 bç
- CT→ 170+126+44 bç
- CC→ 126+44 bç

CAT C-262T polimorfizmi için:

- TT→ 185 bç
- CT→ 185+155+30 bç
- CC→ 155+30 bç

olarak tanımlandı.

3.4. Plazma PON1 ve CAT Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

Plazma Paraoksonaz1 (PON1) ve CAT enzimlerinin aktivite ölçümü: Ağustos 2009 - Aralık 2010 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalında yeni tanı alan akut ve kronik lösemili 55 erişkin hasta ile aynı yaş ve cinsiyetteki 57 sağlıklı bireyde yapıldı.

Kontrol grubu ve yeni tanı alan lösemili hastaların venöz kan örneklerinden elde edilen plazma PON1 ve CAT düzeyleri karşılaştırıldı. Lösemili hastaların plazma PON1 ve CAT düzeylerinin tedavi ile değişkenliğinin araştırılması amaçlandı. Bunun için de ilk ölçümden 1 ay sonra hastaların plazma düzeyleri tekrar ölçülerek ile bazal değerleri ile karşılaştırıldı. Hastaların büyük kısmında enfeksiyon görüleceği için de enfeksiyon tablosu ile hastaların plazma PON1 ve CAT düzeyleri arasındaki değişkenliğin vurgulanması amaçlandı. Bu nedenle C reaktif protein (CRP) değerleri 100 mg/L'yi aşmış, enfeksiyon bulgularını taşıyan hastalardan elde edilen plazma düzeyleri ile bazal değerler karşılaştırıldı.

3.4.1. Enzim Ölçümleri İçin Kullanılan Cihazlar

- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma,2-16K)
- Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
- Etüv (Binder)
- Spektrofotometre (Analytikjena-SPECORD 50)
- Hassas Terazî (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Vorteks (REAX)

- Mini santrifuj (Eppendorf)
- Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
- pH Metre (Mettler Toledo)
- Homojenizatör (Arzum motor, el yapımı uç)

3.4.2. Enzim Ölçümleri İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

3.4.2.1. PON1 Aktivitesi İçin Kullanılan Kimyasallar

| | |
|------------------|----------------------|
| Paraokson | 36186 (Fluka) |
| Tris-HCl | 234 (Amresco) |
| Tris-Base | 826 (Amresco) |
| Kalsiyum Klorür | 1.02378.0500 (Merck) |
| Sodyum Hidroksit | 1.06462.1000 (Merck) |
| Hidroklorik Asit | 1.00314.2500 (Merck) |
| Aseton | 1.00013.2500 (Merck) |

3.4.2.2. CAT Aktivitesi İçin Kullanılan Kimyasallar

| | |
|----------------------------|----------------------|
| Potasyum Dihidrojen Fosfat | 1.04873.1000 (Merck) |
|----------------------------|----------------------|

| | |
|--------------------------|----------------------|
| Disodyum Hidrojen Fosfat | 1.06586.0500 (Merck) |
| Hidrojen Peroksit | 1.08600.1000 (Merck) |

3.4.3. Kan Plazmasının Ayrılması

Heparinli tüpe alınan kanlar 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazma aktivite ölçümüne kadar -20 °C'de bekletildi.

3.4.4. Enzim Aktivite Tayini

3.4.4.1. PON1 Enzim Aktivitesi Tayini

PON1 aktivitesinin tayini Eckerson ve ark. (209)'nın yöntemine göre yapıldı. PON enziminin Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson kullanıldı. PON enzimi, paraoksonun p-nitrofenol ve dietilfosfata hidrolizini katalizler. Paraoksonazın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün 412 nm'deki oluşumu spektrofotometrik olarak ölçülerek, paraoksonaz enziminin aktivitesine bakıldı.

3.4.4.1.1. PON1 Enzim Aktivitesi Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

Tris-HCl Tamponu (pH:8, 20 mM)

CaCl₂ (1 mM)

Paraokson (1 mM)

p-nitrofenol (0.1 mM)

3.4.4.1.2. Paraokson Standart Grafiği

0,1 mM p-nitrofenolden 0.5-50 µM final konsantrasyonu verecek şekilde hazırlanan standart çözeltilerin optik dansiteleri okunarak grafik elde edildi ve grafiğin eğimi paraoksonaz aktivitelerinin hesaplanmasında kullanıldı.

Toplam 1 ml reaksiyon karışımında 20 mM tris-HCl (pH:8), 1 mM CaCl₂ ve 1 mM paraokson varlığında 10 µl supernatant örneğinin aktivitesi ölçüldü. İlk ölçüm 10. dk'da, ikinci ölçüm 25. dk'da yapıldı. İlk ölçüm hesaplamalarda kör olarak kullanılmıştır. Sonuçlar bir dakikada oluşan ürün miktarı olarak hesaplandı.

3.4.4.1.3. Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

Enzim Aktivitesi=(OD2-OD1)/0.0103x 100 / 15 nmol ürün.dk-1.ml-1 plazma (mIU/mL)

OD2 : 25. dakika sonunda optik dansite

OD1 : 10. dakika sonunda optik dansite

0.0103 : Standart eğrinin eğimi (OD / Konsantrasyon)

100 : Seyreltme faktörü 1ml plazma için

15 : 1 dakikalık aktiviteyi elde etme

3.4.4.2. CAT Enzim Aktivitesi Tayini

CAT aktivitesi tayini Aebi ve ark. (210)'nın tarif ettiği şekilde spektrofotometre ile yapıldı. Bu yöntemde deney ortamına eklenen H_2O_2 , CAT tarafından su ve oksijene dönüşür. Bu dönüşüm esnasında H_2O_2 'in 240 nm'deki absorbans azalması ölçülerek enzim aktivitesi tayin edildi.

3.4.4.2.1. CAT Enzim Aktivitesi Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

- Potasyum Dihidrojen Fosfat Çözeltisi (A): 0.681 g KH_2PO_4 bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.
- Disodyum Hidrojen Fosfat Çözeltisi (B): 2.77 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ bidistile suda çözülerek 155 mL'ye tamamlandı.
- Fosfat Tamponu (50 mM pH 7.0): A/B oranı 1/1.55 olacak şekilde karıştırılarak hazırlandı ve pH 7'ye ayarlandı.
- Hidrojen Peroksid Çözeltisi (30 mM): 34 μ l % 30'luk H_2O_2 10 mL'ye fosfat tamponu ile tamamlandı.

3.4.4.2.2. Deneyin Yapılışı

Kuvarz spektrofotometre küvetlerine 10 μ l 10.000 g süpernatant fraksiyonu ve üzerlerine 1990 μ l fosfat tamponu ilave edildi. Örnek küvetine 1 mL 30 mM H_2O_2 ilave edildi ve hemen karıştırılarak örneğin absorbansındaki azalma köre karşı 1 dakika boyunca 240 nm'de izlendi. Plazmadaki CAT aktivitesi U/mL olarak hesaplandı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 11.5 for windows paket programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alındı. CAT ve PON1 değerleri bakımından gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar Kruskal Wallis testi, alt grup karşılaştırmalarında Dunn testi ve eş karşılaştırmalarında Willcoxon rank testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm sonuçlar ortalama±standart sapma olarak belirtildi. Genotip ve allelerin görülme sıklığının ve gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde lojistik regresyon analizi kullanıldı. Genotiplerin, CAT ve PON1 enzimlerinin aktivitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. Allel ve genotip dağılımının Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı ki-kare testiyle belirlendi. Cinsiyetler arası karşılaştırma ki-kare analizi, yaş karşılaştırmaları student t testi kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki kontrol grubu ve lösemilileri yaş gruplarına göre değerlendirdiğimizde; toplam 140 hastanın 45'i (% 32.1) çocuk ve 95'i (% 67.9) erişkin iken kontrol grubumuzun 48'i (% 34.3) çocuk ve 92'si (% 65.7) erişkindir. Çocukluk döneminde yaş ortalamaları; kontrol grubunda 9.07 ± 2.18 iken hasta grubunda 8.89 ± 3.82 'dir. Erişkin döneminde ise kontrol grubunda 49.34 ± 12.78 iken hasta grubunda 51.27 ± 15.18 'dir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Kontrol ve lösemi hastalarının yaşa göre dağılımı

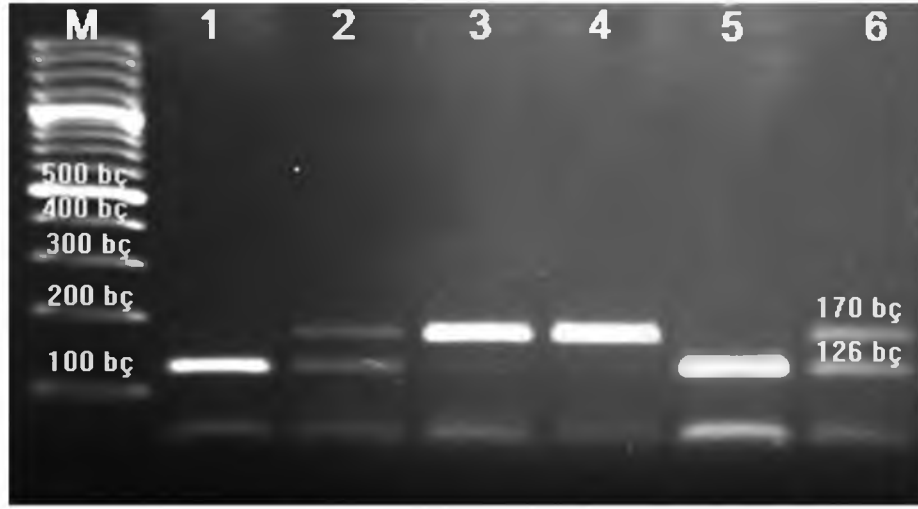
| | N | KONTROL | N | HASTA |
|--------------------------|-----|-------------------|-----|-------------------|
| Yaş (ortalama±sd) | 140 | 36.32 ± 21.64 | 140 | 37.65 ± 23.56 |
| Çocuk | 48 | 9.07 ± 2.18 | 45 | 8.89 ± 3.82 |
| Erişkin | 92 | 49.34 ± 12.78 | 95 | 51.27 ± 15.18 |

Lösemililer ve sağlıklı bireyleri cinsiyet gruplarına göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda toplam 140 kişinin 82'si kadın, 58'i erkek iken hasta grubundaki toplam 140 hastanın 54'ü kadın, 86'sı erkektir.

4.1. PON1 L55M ve CAT C-262T Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi

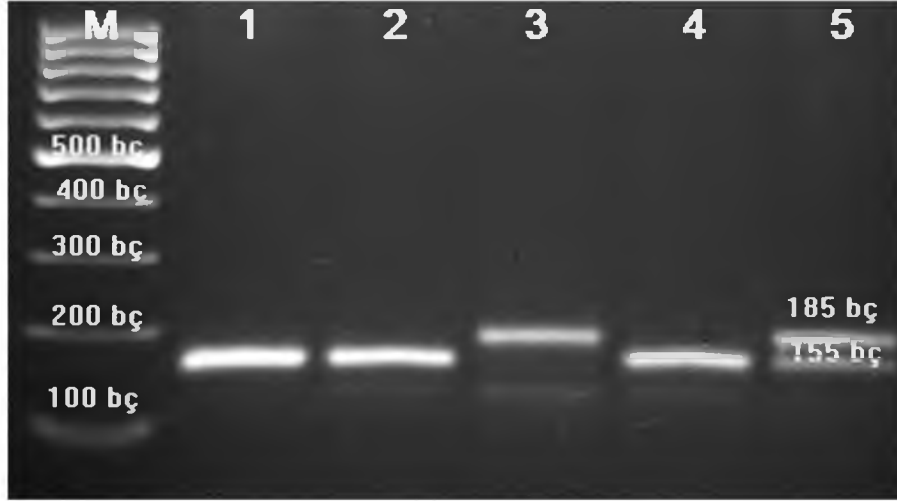
Çalışmamızda PON1 L55M polimorfizminin genotiplenmesi, 140 sağlıklı ve 140 lösemili olmak üzere toplam 280 bireyden oluşan örnek hacmi kullanıldı. Ancak hasta

grubundaki iki lösemili bireyin genotip sonuçları elde edilemediği için 138 kişi çalışmaya dahil edildi. PCR-RFLP sonrası elde edilen ürünler % 3'lük agaroz jele yüklendi. UV altında gözlenen bantların uzunlukları marker ile karşılaştırıldığında; LL genotipi için 170 bç'de tek bant, LM genotipi için 170, 126 ve 44 bç'de üç bant, MM genotipi için ise 126 ve 44 bç'de iki bant görüldü. PON1 L55M polimorfizmine ait genotip tayini için yapılan elektroforez görüntüsü Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. PON1 55 genotiplerinin % 3'lük agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi. M: 100 bç'lik markeri, 1, 5: MM genotipi 2,6: LM genotipi ve 3,4: LL genotipi göstermektedir.

CAT C-262T polimorfizminin genotipleme yapılrken PON1 L55M polimorfizminin genotip tayininde kullanılan 280 bireyden oluşan aynı örnek hacmi kullanıldı. TT genotipi için 185 bç'de tek bant, CT genotipi için 185, 155 ve 30 bç'de üç bant, CC genotipi için ise 155 ve 30 bç'de iki bant görüldü. CAT C-262T polimorfizmine ait genotip tayini için yapılan elektroforez görüntüsü Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. CAT genotiplerinin % 3'lük agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi. M: 100 bç'lik markeri, 1, 2, 4: CC genotipi, 3: TT genotipi ve 5: CT genotipi göstermektedir.

4.1.1. Kontrol Grubu ve Lösemililerde PON1 L55M ve CAT C-262T Polimorfizmlerine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Değerlendirilmesi

4.1.1.1. PON1 L55M Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları

Kontrol ve hasta grubundaki PON1 L55M polimorfizmine ait allel frekansları incelendiğinde; yabancıl L allel frekansı kontrol grubunda % 72.5 iken hasta grubunda % 68.1, polimorfik M allel frekansı kontrol grubunda % 27.5 iken hasta grubunda % 31.9'dur ($P=0.18$). Kontrol ve hasta grubundaki PON1 L55M polimorfizmine ait genotip frekansları ise; kontrol grubunda LL genotip frekansı % 50.7, LM genotip frekansı % 43.6 ve MM genotip frekansı % 5.7 olarak bulundu. Hasta grubumuzu oluşturan lösemililerde ise LL genotip frekansı % 43.5, LM genotip frekansı % 49.3 ve MM genotip frekansı % 7.2'dir ($P=0.34$) (Çizelge 4.2.). Populasyonumuz PON1 geni polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesi göstermektedir.

Çizelge 4.2. PON1 L55M polimorfizmine ait allel ve genotip frekansları

| PON1 L55M | KONTROL | HASTA | P |
|------------------|----------------|--------------|----------|
| | N (%) | N (%) | |
| Allel | | | |
| L | 203(72.5) | 188(68.1) | |
| M | 77(27.5) | 88(31.9) | 0.18 |
| Genotip | | | |
| LL | 71(50.7) | 60(43.5) | - |
| LM | 61(43.6) | 68(49.3) | 0.20 |
| MM | 8(5.7) | 10(7.2) | 0.34 |

4.1.1.2. CAT C-262T Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları

Kontrol ve hasta grubundaki CAT C-262T polimorfizmine ait allel frekansları incelendiğinde; yabancı C allel frekansı kontrol grubunda % 73.9 iken hasta grubunda % 71.8, polimorfik T allel frekansı kontrol grubunda % 26.1 iken hasta grubunda % 28.2'dir (P=0.49). Kontrol ve hasta grubundaki CAT C-262T polimorfizmine ait genotip frekansları incelendiğinde ise; kontrol grubunda CC genotip frekansı % 53.6, CT frekansı % 40.7, TT genotip frekansı % 5.7'dir. Hasta grubumuzu oluşturan lösemililerde ise CC homozigot yabancı genotip frekansı % 56.4 iken, heterozigot CT frekansı % 30.7 ve polimorfik TT genotip frekansı ise % 12.9 olarak bulundu (P=0.05) (Çizelge 4.3.). Populasyonumuz CAT geni polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesi göstermektedir.

Çizelge 4.3. CAT C-262T polimorfizmine ait allel ve genotip frekansları

| CAT C-262T | KONTROL N (%) | HASTA N (%) | P |
|------------|------------------|----------------|-------------|
| Allel | | | |
| C | 207(73.9) | 201(71.8) | |
| T | 73(26.1) | 79(28.2) | 0.49 |
| Genotip | | | |
| CC | 75(53.6) | 79(56.4) | |
| CT | 57(40.7) | 43(30.7) | 0.18 |
| TT | 8(5.7) | 18(12.9) | 0.05 |

4.2. Lösemili ve Sağlıklı Bireylerde Plazma PON1 ve CAT Düzeylerinin Karşılaştırılması

4.2.1. Plazma PON1 Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmamızda ilk olarak sağlıklı 57 erişkin bireyden oluşan kontrol grubu ile yeni lösemi tanısı alan 55 erişkinden oluşan hasta grubunun plazma PON1 enzim düzeylerini karşılaştırdığımızda: Plazma PON1 düzeyleri kontrol grubunda 184.04 ± 130.75 U/mL iken hasta grubunda 93.80 ± 62.58 U/mL'dir (P=0.001) (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Kontrol grubu ve lösemi hastalarında plazma PON1 düzeylerinin dağılımı

| PLAZMA PON1 DÜZEYLERİ | |
|--------------------------|------------------------|
| KONTROL (N=57) | HASTA (N=55) |
| 184.04 ± 130.75 U/mL | 93.80 ± 62.58 U/mL |

Hastalar lösemi tiplerine göre incelendiğinde; 30'u (% 54.5) AML, 13'ü (% 23.6) ALL, 9'u (% 16.4) KML ve 3'ü (% 5.5) KLL'dir. KML ve KLL olgularımızın sayısı istatistiksel değerlendirme için yeterli olmadığından değerlendirme dışı bırakıldı. Kontrol grubu ile yeni tanı alan AML ve ALL'li hastaların plazma PON1 düzeylerini karşılaştırdığımızda, kontrol grubunda 184.04±130.75 U/mL iken yeni tanı almış AML'lilerde 102.22±65.95 U/mL (P=0.005), yeni tanı almış ALL'lilerde ise 90.99±68.27 U/mL (P= 0.018) idi (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Plazma PON1 düzeylerinin kontrol grubu ile yeni tanı almış AML ve ALL'li hastalardaki dağılımı

| PLAZMA PON1 DÜZEYLERİ | | |
|------------------------------|--|--|
| KONTROL (n=57) | YENİ TANI ALMIŞ AML'Lİ HASTA (n=30) | YENİ TANI ALMIŞ ALL'Lİ HASTA (n=13) |
| 184.04±130.75 U/mL | 102.22±65.95 U/mL | 90.99±68.27 U/mL |

Lösemilerin büyük bir kısmında enfeksiyon tablosunun eşlik ettiği bilgisinden hareketle CRP (>100 mg/L) olan hastaların plazma PON1 düzeyleri ilk tanı anındaki plazma PON1 değerleri ile karşılaştırıldığında; yeni tanı alan AML'lilerde 99.63±71.77 U/mL iken, aynı bireylerin CRP >100 mg/L olduğunda 95.71±75.79 U/mL'dir (p=0.506), yeni tanı alan ALL'lilerde 126.22±84.15 U/mL iken CRP >100 mg/L olduğunda 74.06±69.46 U/mL'dir (p=0.345) (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. ALL, AML ve KML'li hastaların tanı anı ve CRP>100 iken plazma PON1 değerleri

| Plazma PON1 Lösemi Tipleri | YENİ TANI | CRP >100 mg/L | P |
|---|---------------------------|--------------------------|----------|
| AML | 99.63±71.77 U/mL N=22 | 95.71±75.79 U/mL N=22 | 0.506 |
| ALL | 126.22±84.15 U/mL N= 5 | 74.06±69.46 U/mL N=5 | 0.345 |
| KML | 159.41 U/mL N=1 | 96.10 U/mL N=1 | - |

AML ve ALL'li hastaların, yeni tanı anı ve 1 ay sonra yapılan kontroldeki plazma PON1 düzeyleri karşılaştırıldığında; yeni tanı alan AML hastalarında 93.02±79.16 U/mL iken 1 ay sonraki kontrolde 70.69±42.68 U/mL (p=0.311), yeni tanı alan ALL hastalarında 75.06±52.43 U/mL iken 1 ay sonraki kontrolde 90.82±34.41 U/mL (p=0.463) olduğu saptandı (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. AML, ALL ve KML'li hastaların tanı anı ve 1 ay sonrasındaki plazma PON1 değerleri

| Plazma PON1 Lösemi Tipleri | YENİ TANI | 1. AY KONTROL | P |
|---|--------------------------|--------------------------|----------|
| AML | 93.02±79.16 U/mL N=13 | 70.69±42.68 U/mL N=13 | 0.311 |
| ALL | 75.06±52.43 U/mL N=6 | 90.82±34.41 U/mL N=6 | 0.463 |
| KML | 72.08 U/mL N=1 | 63.30 U/mL N=1 | |

4.2.2. Plazma CAT Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmamızda ikinci olarak 57 erişkin bireyden oluşan kontrol grubu ile yeni lösemi tanısı alan 55 erişkinden oluşan hasta grubunun plazma CAT düzeylerini

karşılaştırdığımızda: Plazma CAT düzeyleri kontrol grubunda 185.85 ± 175.40 U/mL iken, hasta grubunda 186.30 ± 158.45 U/mL'dir ($P=0.885$) (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Kontrol grubu ve lösemi hastalarında plazma CAT düzeylerinin dağılımı

| PLAZMA CAT DÜZEYLERİ | |
|-----------------------------|--------------------------|
| KONTROL (N=57) | HASTA (N=55) |
| 185.85 ± 175.40 U/mL | 186.30 ± 158.45 U/mL |

Kontrol grubu ile yeni tanı alan AML ve ALL'li hastaların plazma CAT düzeylerini karşılaştırdığımızda; kontrol grubunda 185.85 ± 175.40 U/mL iken yeni tanı almış AML'lilerde 170.89 ± 123.57 U/mL ($P=0.855$), yeni tanı almış ALL'lilerde ise 180.46 ± 180.25 U/mL olduğu saptandı ($P=0.602$) (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Plazma CAT düzeylerinin kontrol grubu ile yeni tanı almış AML ve ALL'li hastalardaki dağılımı

| PLAZMA CAT DÜZEYLERİ | | |
|-----------------------------|--|--|
| KONTROL (n=57) | YENİ TANI ALMIŞ AML'Lİ HASTA (n=30) | YENİ TANI ALMIŞ ALL'Lİ HASTA (n=13) |
| 185.85 ± 175.40 U/mL | 170.89 ± 123.57 U/mL | 180.46 ± 180.25 U/mL |

C reaktif protein (CRP) (>100 mg/L) olan hastaların plazma CAT düzeyleri ilk tanı anındaki plazma CAT değerleri ile karşılaştırıldığında; yeni tanı alan AML'lilerde 156.30 ± 110.31 U/mL iken, aynı bireylerin CRP >100 mg/L olduğunda 141.76 ± 136.48

U/mL'dir ($p=0.758$), yeni tanı alan ALL'lilerde 162.58 ± 209.77 U/mL iken CRP >100 mg/L olduğunda 320.90 ± 275.08 U/mL'ye yükselmekle beraber düşük N sayısı nedeniyle sonuca yansımamıştır ($p=0.465$) (Çizelge 4.10.)

Çizelge 4.10. ALL, AML ve KML'li hastaların tanı anı ve CRP>100 iken plazma CAT değerleri

| Plazma CAT Lösemi Tipleri | YENİ TANI | CRP >100 mg/L | P |
|--|----------------------------------|----------------------------------|----------|
| AML | 156.30 ± 110.31 U/mL N=22 | 141.76 ± 136.48 U/mL N=22 | 0.758 |
| ALL | 162.58 ± 209.77 U/mL N=5 | 320.90 ± 275.08 U/mL N=5 | 0.465 |
| KML | 22.97 U/mL N=1 | 26.91 U/mL N=1 | - |

AML ve ALL'li hastaların, yeni tanı anı ve 1 ay sonra yapılan kontroldeki plazma CAT düzeyleri karşılaştırıldığında; yeni tanı alan AML hastalarında 149.96 ± 103.89 U/mL iken 1 ay sonraki kontrolde 150.14 ± 170.46 U/mL ($p=0.917$), yeni tanı alan ALL hastalarında 79.26 ± 103.67 U/mL iken 1 ay sonraki kontrolde 329.94 ± 403.05 U/mL'e yükseldiği görülmekle beraber düşük N sayısı nedeniyle sonuca yansımamıştır ($p=0.345$) (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. AML, ALL ve KML'li hastaların tanı anı ve 1 ay sonrasındaki plazma CAT değerleri

| Plazma CAT Lösemi Tipleri | YENİ TANI | 1. AY KONTROL | P |
|--|----------------------------------|----------------------------------|----------|
| AML | 149.96 ± 103.89 U/mL N=13 | 150.14 ± 170.46 U/mL N=13 | 0.917 |
| ALL | 79.26 ± 103.67 U/mL N=6 | 329.94 ± 403.05 U/mL N=6 | 0.345 |
| KML | 154.74 U/mL N=1 | 7.42 U/mL N=1 | |

4.3. Plazma PON1 ve CAT Aktivitesinin Genotiplerine Göre Dağılımı

4.3.1. Plazma PON1 Aktivitesinin PON1 L55M Genotiplerine Göre Dağılımı

Plazma PON1 aktivitesi kontrol grubunda 184.04 ± 130.75 U/mL iken lösemililerde 93.81 ± 62.59 U/mL olarak bulundu ($P=0.001$). Plazma PON1 aktivitesinin PON1 L55M genotiplerine göre dağılımı incelendiğinde; kontrol grubunda LL genotipi taşıyanlarda 196.11 ± 117.16 U/mL iken lösemililerde 103.37 ± 64.89 U/mL'dir ($P=0.005$). Kontrol grubunda LM genotipi taşıyanlarda 179.60 ± 147.01 U/mL iken lösemililerde 90.87 ± 60.73 U/mL ($P=0.018$), MM genotipi taşıyanlarda 66.92 ± 26.15 U/mL iken lösemililerde 61.40 ± 77.19 U/mL olarak saptandı ($P=0.564$). Kontrol grubundaki M allelini taşıyanlarda (LM+MM) ise 171.55 ± 144.60 U/mL iken lösemililerde 88.34 ± 61.51 U/mL'ye düşmüştür ($P=0.019$) (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Plazma PON1 aktivitesinin genotiplerine göre dağılım

| PON1 L55M | N | KONTROL | N | HASTA | P |
|-----------------|----|---------------------|----|--------------------|--------------|
| PON1 aktivitesi | 57 | 184.04 ± 130.75 | 55 | 93.81 ± 62.59 | 0.001 |
| LL | 29 | 196.11 ± 117.16 | 20 | 103.37 ± 64.89 | 0.005 |
| LM | 26 | 179.60 ± 147.01 | 32 | 90.87 ± 60.73 | 0.018 |
| MM | 2 | 66.92 ± 26.15 | 3 | 61.40 ± 77.19 | 0.564 |
| LM+MM | 28 | 171.55 ± 144.60 | 35 | 88.34 ± 61.51 | 0.019 |

4.3.2. Plazma CAT Aktivitesinin CAT C-262T Genotiplerine Göre Dağılımı

Plazma CAT aktivitesi kontrol grubunda 185.85 ± 175.40 U/mL iken lösemililerde 186.30 ± 158.45 U/mL olduğu saptandı ($P=0.885$). Plazma CAT aktivitesinin CAT C-262T genotiplerine göre dağılımı incelendiğinde; kontrol grubunda CC genotipi

taşıyanlarda 188.47 ± 190.22 U/mL iken lösemililerde 230.95 ± 192.39 U/mL dir. (P=0.412). Kontrol grubunda CT genotipi taşıyanlarda 197.77 ± 170.95 U/mL iken lösemililerde 166.58 ± 99.33 U/mL olduğu (P=0.949), TT genotipi taşıyanlarda ise 132.63 ± 111.33 U/mL iken lösemililerde 101.34 ± 81.93 U/mL olduğu saptandı (P=0.482). Kontrol grubundaki T allelini taşıyanlarda (CT+TT) ise 182.73 ± 159.60 U/mL iken lösemililerde 139.99 ± 96.65 U/mL olarak bulundu (P=0.444) (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4.13. Plazma CAT aktivitesinin genotiplerine göre dağılımı

| CAT C-262T | N | KONTROL | N | HASTA | P |
|-----------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|
| CAT aktivitesi | 57 | 185.85 ± 175.40 | 55 | 186.30 ± 158.45 | 0.885 |
| CC | 31 | 188.47 ± 190.22 | 28 | 230.95 ± 192.39 | 0.412 |
| CT | 20 | 197.77 ± 170.95 | 16 | 166.58 ± 99.33 | 0.949 |
| TT | 6 | 132.63 ± 111.33 | 11 | 101.34 ± 81.93 | 0.482 |
| CT+TT | 26 | 182.73 ± 159.60 | 27 | 139.99 ± 96.65 | 0.444 |

5. TARTIŞMA

PON1 L55M polimorfizminin çeşitli hastalıklara olası etkileri daha önce; koroner arter hastalığı (211-214), myokard infarktüsü (215), meme kanseri (159, 216, 217), romatoid artrit (218) ve multipl sklerozda (219) çalışılmıştır. Ülkemizde ise farklı araştırmacılar tarafından diabetes mellitus (220-225), koroner arter hastalığı (226, 227), migren (228), myokard infarktüsü (229) ve eklampsi (230) ile olası ilişkileri araştırılmıştır.

Arca ve ark. (211), PON1-55 genotip dağılımının koroner arter stenozu % 50'nin üzerinde olan koroner arter hastaları ile koroner arter stenozu % 10'dan az olanlar ve kontrol grubu arasında benzer olduğunu saptamışlardır. Ayrıca L55M polimorfizmini; sigara içme, diyabet, hipertansiyon, düşük dansiteli lipoprotein ve yüksek dansiteli lipoprotein ile de ilişkilendirmemişlerdir. Aynı araştırmacılar Q192R polimorfizmini de genotip dağılımı bakımından değerlendirmişler ve QQ/MM taşıyanlarda miyokard infarktüsü riskinin daha düşük olduğunu saptamışlardır (OR:0.51;% 95CI:0.26-0.99). Sanghera ve ark. (212), Singapurda yaşayan Çinlilerde L allel frekansının Hint Asya kökenlilere göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (P=0.0001). Ancak ırklar arasındaki frekans farkına karşın kodon 55 polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı ve plazma lipoprotein lipid düzeyleri arasında ilişki saptamamışlardır. Chen ve ark. (214) koroner arter stenozu olan beyaz ve zenci kadınları stenozun derecesine göre sınıflandırdıkları çalışmada L55M polimorfizmini her iki ırkta stenozun derecesi ile ilişkilendirmemişlerdir. Lakshmy ve ark. (215) PON1 55MM genotip prevalansının koroner arter hastaları ile kontrol grubunda birbirine yakın olduğunu bulmuş ve bu polimorfizmi koroner arter hastalığı ile ilişkilendirmemiştir (P=0.054). Antognelli ve ark. (216) PON1 55MM genotipini taşıyan premenapozal (OR:3.83;% 95CI:2.15-5.87) ve postmenapozal kadınlarda (OR:2.06;% 95CI:1.30-2.97) meme kanseri riskinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Naudi ve ark. (159) MM genotipine sahip olan kadınların meme kanserine yakalanma riskinin 2.23 kat, Hussein ve ark. (217) ise 2.07 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Hashemi ve ark. (218) PON1 55MM genotip prevalansını romatoid artritlilerde kontrol grubuna göre daha yüksek

olarak tespit etmişler (OR:3.75,% 95CI:1.87-11.84) ve bu genotipin romatoid artrit için bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır. Sidoti ve ark. (219) multipl skleroz riskinin PON1 55MM genotipine sahip olanlarda 2.83 kat, PON1 55LM genotipine sahip olanlarda 26.12 kat arttığını saptamışlardır.

Ünür ve ark. (220), Agaçhan ve ark. (221), Altuner ve ark. (222), Ergun ve ark. (223), Demirez (224), ile Önderci (225) PON1 55MM genotip frekansının diabetes mellitus hastalarında ve kontrol grubunda birbirine benzer oranda olduğunu saptamışlardır. Sesal ve ark. (226) PON1 55 gen polimorfizmini sigara içmeyenlerde Sendrom X ve koroner kalp hastalığına yatkınlıkla ilişkilendirmemiştir. Taşkıran (227) PON 55 M allel frekansının kontrollerde 0.20 iken hastalarda 0.30 olduğunu ve bu polimorfizmin koroner arter hastalığı riskini artırdığını tespit etmiştir. Yıldırım ve ark. (228) PON1 L55M polimorfizmi allel ve genotip dağılımının migrene yakalanma riskini etkilemediğini tespit etmişlerdir. Erden (229) PON1 55MM genotip frekansının ST elevasyonlu myokard infarktüsü hastalarla kontrol grubunda benzer olduğunu ve myokard infarktüsü geçirme riskini artırmadığını saptamıştır. İşbilen ve ark. (230) preeklampsi tanısı alan hamileler ile sağlıklı hamilelerin PON1 55 LL, LM ve MM frekansları arasında fark olmadığını saptamışlardır.

Farklı populasyonlardaki sağlıklı kontrollerin PON1 L55M Polimorfizmi için allel ve genotip dağılımları Çizelge 5.1.'de gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz PON1 L55M allel frekanslarını (L 0.73/ M 0.27) diğer populasyonlarla karşılaştırdığımızda; Malezya populasyonunda L 0.72/ M 0.28 (159), Hindistan populasyonunda L 0.78/ M 0.22 (215), İran populasyonunda L 0.75/ M 0.25 (218), Kanada populasyonunda L 0.76/ M 0.24'dür (231) ve bu oranlar bizim değerimizle büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. Hırvatistan populasyonunda L 0.66/ M 0.34 (170), İtalya ve Kuzey İrlanda populasyonunda L 0.63/ M 0.37 (208), İtalyan populasyonunda L 0.65/ M 0.35 (211), Hint Asyalı populasyonunda L 0.80/ M 0.20 (212), Amerikalı beyaz erkeklerde L 0.62/ M 0.38 ve Amerikalı beyaz kadınlarda L 0.66/ M 0.34 (213), Amerikalı beyaz kadınlarda L 0.62/ M 0.38 (214), Washington'da yaşayan Amerikalılarda L 0.64/ M 0.36 (232) olup bizim allel frekansımıza yakın değerlerden oluşmaktadır. PON1 L55M allel frekansları: Singapur'da yaşayan Çinlilerde L 0.96/ M 0.04 (212), İtalyan populasyonu (216) ve Mısır kadın

populasyonunda (217) L 0.46/ M 0.54 olup bu bizim allel frekansımızdan oldukça farklılık göstermektedir.

Çizelge 5.1. Farklı Populasyonlarda PONI L55M Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı

| Referans / Populasyon | N | Allel Frekansı | | Genotip Frekansı | | |
|---|-----|----------------|------|------------------|--------|--------|
| | | L | M | LL (%) | LM (%) | MM (%) |
| Naidu ve ark. (159) / Malezya | 252 | 0.72 | 0.28 | % 50 | % 43.3 | % 6.7 |
| Grdic ve ark. (170) / Hırvatistan | 166 | 0.66 | 0.34 | % 44 | % 43 | % 13 |
| Rea ve ark. (208) / İtalyan | 579 | 0.63 | 0.37 | % 40.2 | % 45.3 | % 14.5 |
| Rea ve ark. (208) / Kuzey İrlanda | 296 | 0.63 | 0.37 | % 37.5 | % 51.4 | % 11.1 |
| Arca ve ark. (211) / İtalyan | 178 | 0.65 | 0.35 | % 42.6 | % 45.5 | % 12 |
| Sanghera ve ark. (212) / Singapur'da yaşayan Çinlilerde | 181 | 0.96 | 0.4 | % 92.8 | % 7.2 | % 0. |
| Sanghera ve ark. (212) / Singapur'da yaşayan Hint Asyalılarda | 183 | 0.80 | 0.20 | % 65.0 | % 29.5 | % 5.5 |
| Thyagarajan ve ark. (213) / Amerikalı Zenci Erkekler | 362 | 0.80 | 0.20 | % 64.1 | % 30.9 | % 5 |
| Thyagarajan ve ark. (213) / Amerikalı Zenci Kadınlar | 510 | 0.80 | 0.20 | % 65.5 | % 29.4 | % 5.1 |
| Thyagarajan ve ark. (213) / Amerikalı Beyaz Erkekler | 599 | 0.62 | 0.38 | % 38.6 | % 46.1 | % 15.4 |
| Thyagarajan ve ark. (213) / Amerikalı Beyaz Kadınlar | 665 | 0.66 | 0.34 | % 45.1 | % 41.5 | % 13.4 |
| Chen ve ark. (214) / Amerikalı Beyaz Kadınlar | 589 | 0.62 | 0.38 | % 38.5 | % 47.9 | % 13.6 |
| Chen ve ark. (214) / Amerikalı Zenci Kadınlar | 122 | 0.81 | 0.19 | % 65.6 | % 30.3 | % 4.1 |
| Lakshmy ve ark. (215) / Hindistan | 221 | 0.78 | 0.22 | % 57.1 | % 40.9 | % 1.9 |

Çizelge 5.1. Devamı

| Referans / Populasyon | N | Allel Frekansı | | Genotip Frekansı | | |
|---|-----|----------------|------|------------------|--------|--------|
| | | L | M | LL (%) | LM (%) | MM (%) |
| Antognelli ve ark. (216) / İtalyan | 544 | 0.46 | 0.54 | % 34.6 | % 23 | % 42.4 |
| Antognelli ve ark. (216) / İtalyan (Premenapozal Kadımlar) | 230 | 0.49 | 0.51 | % 33.9 | % 30.4 | % 35.7 |
| Antognelli ve ark. (216) / İtalyan (Postmenapozal Kadımlar) | 314 | 0.44 | 0.56 | % 35.0 | % 17.5 | %47.5 |
| Hussein ve ark. (217) / Mısır (Kadın) | 100 | 0.46 | 0.54 | % 35 | % 23 | % 42 |
| Hashemi ve ark. (218) / İran | 78 | 0.75 | 0.25 | % 55.8 | % 39.0 | % 5.2 |
| Sidoti ve ark. (219) / İtalyan | 213 | 0.88 | 0.12 | % 86 | % 4 | % 10 |
| Cherki ve ark. (231) / Kanada | 40 | 0.76 | 0.24 | % 62.5 | % 27.5 | % 10 |
| Brophy ve ark. (232) / Washington'da yaşayan Amerikalı | 376 | 0.64 | 0.36 | % 39.1 | % 49.2 | % 11.7 |

Türk populasyonuna ait PON1 L55M polimorfizminin allel ve genotip frekanslarının dağılımı Çizelge 5.2'de gösterilmiştir. Türk populasyonunda yapılan çalışmalarda elde edilen PON1 L55M allel frekanslarını değerlendirdiğimizde; Ünür ve ark. (220) İstanbul örnekleme L 0.72/ M 0.28, Ağaçhan ve ark. (221) İstanbul örnekleme L 0.70/ M 0.30, Demirez (224) İstanbul örnekleme L 0.74/ M 0.26, Erden (229) İstanbul örnekleme L 0.74/ M 0.26, İşbilen ve ark. (230) İstanbul örnekleme L 0.71/ M 0.29 ve Aynacıoğlu ve ark. (233) Gaziantep örnekleme L 0.72/ M 0.28 şeklindedir ve bu oranlar bizim değerlerimizle benzerlik göstermektedir. Altuner ve ark. (222) Ankara örnekleme L 0.67/ M 0.33, Önderci (225) Elazığ örnekleme L 0.64/ M 0.36, Sesal ve ark. (226) İstanbul örnekleme L 0.62/ M 0.38, Taşkıran (227) Manisa örnekleme L 0.80/ M 0.20 ve Yıldırım ve ark. (228) Erzurum örnekleme L 0.62/ M 0.38 olup bizim allel frekansımıza yakın değerlerden oluşmaktadır. Ancak Ergun ve ark. (223)'nın Balıkesir örnekleminde yaptıkları çalışmada L allel frekansı 0.39 olup bizim bulgumuzdan daha düşük iken M allel frekansı 0.61 olup bizim allel frekansımızdan daha yüksektir.

Çizelge 5.2. Türk Populasyonuna ait PON1 L55M Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı

| Referanslar | N | Allel Frekansı | | Genotip Frekansı | | |
|--------------------------------------|-----|----------------|------|------------------|--------|--------|
| | | L | M | LL (%) | LM (%) | MM (%) |
| Ünür ve ark. (220) / İstanbul | 53 | 0.72 | 0.28 | % 52.8 | % 37.7 | % 9.4 |
| Ağaçhan ve ark. (221) / İstanbul | 109 | 0.70 | 0.30 | % 46.8 | % 46.8 | % 6.4 |
| Altuner ve ark. (222) / Ankara | 50 | 0.67 | 0.33 | % 42 | % 50 | % 8 |
| Ergun ve ark. (223) / Balıkesir | 80 | 0.39 | 0.61 | % 20 | % 37.5 | % 42.5 |
| Demirez (224) / İstanbul | 53 | 0.74 | 0.26 | % 52.8 | % 37.7 | % 9.4 |
| Önderci (225) / Elazığ | 102 | 0.64 | 0.36 | % 42.2 | % 44.1 | % 14 |
| Sesal ve ark. (226) / İstanbul | 26 | 0.62 | 0.38 | - | - | - |
| Taşkıran (227) / Manisa | 102 | 0.80 | 0.20 | % 65.7 | % 29.4 | % 4.9 |
| Yıldırım ve ark. (228) / Erzurum | 86 | 0.62 | 0.38 | % 36 | % 51.2 | % 12.8 |
| Erden (229) / İstanbul | 86 | 0.74 | 0.26 | % 39.5 | % 55.5 | % 4.6 |
| Işbilen ve ark. (230) / İstanbul | 39 | 0.71 | 0.29 | % 51.3 | % 38.5 | % 10.3 |
| Aynacıoğlu ve ark. (233) / Gaziantep | 381 | 0.72 | 0.28 | % 52.5 | % 38.6 | % 8.9 |

CAT C-262T polimorfizminin çeşitli hastalıklara olası etkileri daha önce; tip 1 diyabet (189), depresif bozukluk (195), astım (199, 202), vitiligo (205), romatoid artrit (234), Sistemik Lupus Eritematozis (SLE) (235), Alzheimer hastalığı (236, 237), asbestozis (238), nonhodgkin lenfoma (239), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (240), post-transplant diabetes mellitus (241), tip 1 diyabete bağlı gelişen diyabetik nöropati (242), tip 1 diyabete bağlı gelişen diyabetik retinopati ve nefropati (243) ve postmenopozal kadınlarda meme kanseri (244) ile olası ilişkileri araştırılmıştır.

Polonikov ve ark. (199) C-262T polimorfizminin astım gelişme riskini artmadığını saptarken, Mak ve ark. (202) sigara içmeyen bireylerde CT+TT'ye sahip olmanın astım gelişimine karşı koruyucu olduğunu saptamışlardır (OR = 0.35, % 95 CI: 0.15–0.85, P = 0.017). El-Sohemy ve ark. (234) romatoid artritli hasta grubu ile sağlıklı bireyler

arasında CC ve CT/ TT genotip dağılımının fark göstermediğini saptamışlardır. Eny ve ark. (235) bu polimorfizmin SLE hastalığına yakalanma riskini artırmadığı gibi hastalığın şiddetini de etkilemediğini belirlemişlerdir. Goulas ve ark. (236) genotip ve allel frekansı bakımından Alzheimer hastalarında ve kontrol grubunda bir fark olmadığını gözlemlemiş ve C-262T polimorfizminin Alzheimer hastalığına karşı koruyucu olmadığını ileri sürmüştür. Capurso ve ark. (237) hem genç yaşta ve hem de ileri yaşta başlayan Alzheimer hastalığı ile bu polimorfizm arasında ilişki tespit etmemişlerdir. Franko ve ark. (238) CAT -262 TT genotipi taşıyanlarda asbestozis gelişme riskinin 1.36 kat yüksek olduğunu ve bu riskin; cinsiyet, yaş ve sigara içimi ile ilişkili olmadığını ancak asbeste maruziyet sonrası 1.91 kat arttığını belirlemişlerdir. Chistiakov ve ark. (189) CC genotipine sahip olmanın tip 1 diyabet gelişme riskini artırdığını, Dutkiewicz ve ark. (241) ise transplantasyon sonrası gelişen DM ile bu ilişkiyi saptamamışlardır. Chistiakov ve ark. (242) başka bir çalışmada tip 1 diyabet hastalarından diyabetik nöropati gelişenler ile gelişmeyenleri bu polimorfizm açısından karşılaştırmışlar ve C allele sahip olmanın riski 1.98 kat artırdığını tespit etmişlerdir. Quick ve ark. (244) 5 yıldan daha uzun süre hormon replasman tedavisi alan postmenopozal kadınlardan T allele sahip olanların meme kanserine yakalanma riskinde 2.32 kat artış olduğunu saptamışlardır. Lightfoot ve ark. (239) bu polimorfizmin; nonhodgkin lenfoma, Büyük B-hücreli lenfoma veya folliküler lenfoma, Galecki ve ark. (195) depresif bozukluk, Gavalas ve ark. (205) vitiligo, Mak ve ark. (240) obstrüktif akciğer hastalığı, Hovnik ve ark. (243) tip 1 diyabet hastalarında diyabetik retinopati ve nefropatiye yakalanma riskini etkilemediğini belirlemişlerdir.

Farklı populasyonların kontrol gruplarındaki CAT C-262T polimorfizmi için allel ve genotip dağılımları çizelge 5.3.'de gösterilmiştir. Çalışmamızda C 0.74/ T 0.26 olarak belirlenen CAT C-262T allel frekanslarını diğer populasyonlarla karşılaştırdığımızda; Rus populasyonunda C 0.76/ T 0.24 (199), Minnesota'da yaşayan Beyaz Amerikalılarda C 0.76/ T 0.24 (236), Slovenya populasyonunda C 0.73/ T 0.27 (238), Polonya populasyonunda C 0.75/ T 0.25 (241), New York'ta yaşayan Beyaz Amerikalı Postmenapozal Kadınlarda 0.78/ T 0.22'ydi (244) ve bu oranlar bizim değerimizle büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. San Francisco'da yaşayan Asya kökenli Amerikalılarda 0.91/ T 0.09 ve Hispanik kökenli Amerikalılarda 0.90/ T 0.10 (5), Çin populasyonunda 0.95/ T 0.05 (202), İngiliz populasyonunda C 0.88/ T 0.12

(205), Kore populasyonunda C 0.97/ T 0.03 (234), New York'ta yaşayan Beyaz olmayan Amerikalı Postmenapozal Kadınlarda 0.94/ T 0.06 (244), Long İsland'da yaşayan Afrika kökenli Amerikalılarda C 0.95/ T 0.05 ve Amerikalı erkeklerde 0.89/ T 0.11 (245) ve olup yabancı C allel frekansı bizim allel frekansımızdan yüksek iken polimorfik T allel frekansı daha düşüktür. Rus populasyonunda ise C 0.44/ T 0.56 (189) olup bu allel dağılımı da bizim çalışmamızla uyum göstermemektedir. Süzen ve ark. (1)'nin Ankara örneğine ait Türk populasyonunda yaptığı çalışmada allel frekansı C 0.78/ T 0.22 olup bizim allel frekansımıza benzerlik göstermektedir.

Çizelge 5.3. Farklı Populasyonlarda CAT C-262T Polimorfizminin Allel ve Genotip Frekanslarının Dağılımı

| Referans / Populasyon | N | Allel Frekansı | | Genotip Frekansı | | |
|---|-----|----------------|------|------------------|--------|--------|
| | | C | T | CC (%) | CT (%) | TT (%) |
| Süzen ve ark. (1) / Türk | 250 | 0.78 | 0.22 | % 63.2 | % 30.4 | % 6.4 |
| Bastaki ve ark. (5) / San Francisco'da yaşayan Beyaz Amerikalı | 68 | 0.80 | 0.20 | % 64.7 | % 30.9 | % 6.8 |
| Bastaki ve ark. (5) / San Francisco'da yaşayan Asya kökenli Amerikalı | 118 | 0.91 | 0.09 | % 83.9 | %14.4 | % 1.7 |
| Bastaki ve ark. (5) / San Francisco'da yaşayan Hispanik kökenli Amerikalı | 21 | 0.90 | 0.10 | % 85.7 | % 9.5 | % 4.8 |
| Chistiakov ve ark. (189) / Rus | 258 | 0.44 | 0.56 | % 19.4 | % 49.6 | % 31 |
| Galecki ve ark. (195) / Polonya | 149 | 0.70 | 0.30 | % 49.7 | % 41.6 | % 8.7 |
| Polonikov ve ark. (199) / Rus | 214 | 0.76 | 0.24 | % 56.5 | % 38.8 | % 4.7 |
| Mak ve ark. (202) / Çin | 183 | 0.95 | 0.05 | % 90.6 | % 9.4 | % 0 |
| Gavalas ve ark. (205) / İngiliz | 169 | 0.88 | 0.12 | % 75.1 | % 24.9 | % 0.0 |
| El-Sohemy ve ark. (234) / Kore | 400 | 0.97 | 0.03 | % 93.5 | % 6.3 | % 0.2 |

Çizelge 5.3. Devamı

| Referans / Populasyon | N | Allel Frekansı | | Genotip Frekansı | | |
|--|-----|----------------|------|------------------|--------|--------|
| | | C | T | CC (%) | CT (%) | TT (%) |
| Goulas ve ark. (236) / Minnesota'da yaşayan Beyaz Amerikalı | 130 | 0.76 | 0.24 | % 56.9 | % 37.7 | % 5.4 |
| Capurso ve ark. (237) / İtalyan | 421 | 0.81 | 0.19 | % 66 | % 29 | % 4 |
| Franko ve ark. (238) / Slovenya | 262 | 0.73 | 0.27 | % 53.4 | % 40.1 | % 6.5 |
| Dutkiewicz ve ark. (241) / Polonya | 150 | 0.75 | 0.25 | % 56.7 | % 37.3 | % 6 |
| Quick ve ark. (244) / New York'ta yaşayan Beyaz Amerikalı Postmenapozal Kadınlar | 569 | 0.78 | 0.22 | % 61.4 | % 34.2 | % 4.4 |
| Quick ve ark. (244) / New York'ta yaşayan Beyaz olmayan Amerikalı Postmenapozal Kadınlar | 108 | 0.94 | 0.06 | % 89.8 | % 9.3 | % 0.9 |
| Ahn ve ark. (245) / Long Island'da yaşayan Afrika kökenli Amerikalı | 109 | 0.95 | 0.05 | % 90.8 | % 8.2 | % 1 |
| Ahn ve ark. (245) / Long Island'da yaşayan Beyaz Amerikalı | 266 | 0.82 | 0.18 | % 69.5 | % 25.9 | % 4.6 |
| Ahn ve ark. (245) / Long Island'da yaşayan Amerikalı Erkekler | 210 | 0.89 | 0.11 | % 78.6 | % 20 | % 1.4 |
| Ahn ve ark. (245) / Long Island'da yaşayan Amerikalı Kadınlar | 210 | 0.85 | 0.15 | % 75.2 | % 19.5 | % 5.3 |

Çalışmamızda kontrol grubunda 184.04 ± 130.75 U/mL olan plazma PON1 aktivitesini diğer populasyonlara ait değerlerle karşılaştırdığımızda; Mısır populasyonunda 39.66 ± 12.38 U/mL (246), Arjantin populasyonunda 537.12 ± 130.57 U/mL (247), Çin populasyonunda 146.43 ± 8.79 kU/L (248), Polonya populasyonunda 312.04 ± 129.77 U/L (249), Kore populasyonunda 241.8 ± 105.9 U/L (250), İngiliz populasyonunda 221.5 (99.3-303.2) nmol.min⁻¹.mL⁻¹ (251), Meksika populasyonunda 172.20 (116.27–262.40) nmol.min⁻¹.mL⁻¹ (253) iken Singapurda yaşayan Çinlilerde 266.5 ± 119.4 U/L, Malaylarda 266.3 ± 131.2 U/L ve Hintlilerde 165.6 ± 79.1 U/L (252) olarak tespit edilmiştir.

Türk popülasyonuna ait çalışmalarda elde edilen PON1 düzeyleri incelendiğinde; Elazığ örnekleminde yapılan bir çalışmada 452 ± 112 U/mL (254) iken diğer çalışmada 163.46 ± 53.0 U/L (255), Diyarbakır örnekleminde 342.4 ± 55.3 IU/L (256), Erzurum örnekleminde yapılan bir çalışmada 236.6 ± 98.0 U/L (257) iken diğer çalışmada 132.27 U/mL (258), Şanlıurfa örnekleminde yapılan bir çalışmada 264.36 ± 39.28 U/L (259) iken diğer çalışmada 185.04 ± 55.64 U/L (260), Antalya örnekleminde 309.70 ± 25.40 U/L (261), İstanbul örnekleminde 77.0 ± 36.8 U/mL (262) ve İzmir örnekleminde 50.7 ± 24.1 U/L (263) olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızdaki kontrol grubundaki plazma PON1 düzeyleri Erzurum örnekleminde yapılan çalışmadaki değerle uyumludur (258). Ancak bazı çalışmalarda elde edilen düzeylerden daha düşük (247, 254) bazılarında ise daha yüksektir (246, 262). Çalışmalarda elde edilen farklı enzim düzeyleri; popülasyonlar arasında değişiklik göstermesinden kaynaklanabilir. Ayrıca enzim aktivitesinin tayini için kullanılan yöntemler, kullanılan birimler ve bireylerin seçiminde kullanılan kriterlerin etkisi de vardır.

Abdin ve ark. (246) PON1 düzeylerinin kontrol grubunda 39.66 ± 12.38 U/mL iken Tip 2 diyabet hastalarından diyabetik nefropati gelişenlerde 14.25 ± 6.13 U/mL ve gelişmeyenlerde 23.33 ± 11.93 U/mL'ye düştüğünü saptamışlardır ($P < 0.001$). Diyabetik nefropati gelişen ve gelişmeyen Tip 2 diyabetlilerdeki PON1 aktivitesinin, glukoz ve LDL ile negatif- HDL ile pozitif korelasyon gösterdiğini ayrıca 12 hafta atorvastatin verdikleri bu hastaların serum PON1 düzeylerinin 22.50 ± 11.27 U/mL'den 35.17 ± 10.37 U/mL'ye yükseldiğini ($P < 0.001$) tespit etmişlerdir. Coria ve ark. (247) serum PON1 düzeylerini; subklinik hipotiroidili kadınlarda 506.05 ± 126.46 U/mL ve aşikar hipotiroidili kadınlarda 513.24 ± 95.53 U/mL iken ötiroid kadınlarda 537.12 ± 130.57 U/mL olarak bulmuşlardır. Chen ve ark. (248) PON1 aktivitesinin, kontrol grubunda 146.43 ± 8.79 kU/L iken esansiyel hipertansiyonlu hastalarda 112.21 ± 8.64 kU/L olduğunu ayrıca alt gruplar arasında yaptıkları değerlendirmede hipertansiyonlu kadınlarda da kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ($P = 0.004$) erkeklerde ise iki grup arasında fark olmadığını saptamışlardır ($P = 0.612$). Nowak ve ark. (249) serum PON1 düzeylerinin kontrol grubunda 312.04 ± 129.77 U/L iken tip 1 diabet hastalarında 266.83 ± 164.94 U/L, alt gruplar arasında yaptıkları değerlendirmede ise retinopatisi olan diabet hastalarında PON1 düzeylerinin 227.66 ± 123.57 U/L'e düştüğünü ($P < 0.05$) saptamışlardır. Eom ve ark. (250) Kore popülasyonunda serum PON1 düzeylerinin

sağlıklı erkeklerde 240.8 ± 91.6 U/L olduğunu ve kadınlardaki 241.9 ± 108.9 U/L miktarıyla hemen hemen aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Ayub ve ark. (251) myokard infarktüsü geçiren hastaların 1. gününde serum PON1 aktivitesi ve konsantrasyonunu ölçmüş ve sağlıklı bireylerden daha düşük değerlere sahip olduklarını saptamışlardır ve myokard infarktüsü için PON1'in daha sonra yapılacak çalışmalar ile desteklenmesi halinde bir prediktif risk faktörü olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Chia ve ark. (252) Singapurda yaşayan Çinli, Malay ve Hintli erkeklerde; serum PON1 düzeylerinin kontrol grubunda 178.2 ± 58.1 U/L iken pestisite maruziyet sonrası 299.4 ± 135.0 U/L'ye yükseldiğini bulmuşlardır ($P < 0.0001$). López-Flores ve ark. (253) İspanya'da çiçekçilikte çalışan ve organofosfat pestisitlerine maruz kalan bireylerde PON1'in erkek ve kadınlardaki değerlerinin birbirine benzer olduğunu tespit etmişlerdir ($P = 0.09$). Lu ve ark. (264) PON1 aktivitesinin açlık glukozu normal olanlarda 248.13 ± 96.82 mmol/min/ml iken koroner kalp hastalarında 218.56 ± 91.04 mmol/min/ml seviyesine düştüğünü ($P < 0.05$), hiperglisemisi olan koroner kalp hastalarında ise daha da düşerek 183.59 ± 70.33 mmol/min/ml olduğunu ($P < 0.01$) bulmuşlardır. Samy ve ark. (265) serum PON1 düzeylerinin obez, bozulmuş glukoz toleransı ve lipit profili bozukluğu olan obez hastalarda 28.33 ± 15.93 U/mL seviyelerinde olup kontrol grubundaki 39.66 ± 12.38 U/mL'den daha düşük olduğunu ve bu hastaların atorvastatin tedavisi sonrasında serum düzeylerinin 36.84 ± 10.13 U/mL'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir ($P = 0.028$). Ali ve ark. (266) Mısır popülasyonunda yaptığı çalışmada PON1 aktivitesinin kontrol grubunda 742 ± 172 nmol/ml/min düzeylerinde olduğu, kronik hepatit C'li hastalarda 434 ± 118 nmol/ml/min ve sirotik hastalarda 155 ± 49 nmol/ml/min'e düştüğünü saptamışlardır. Harangi ve ark. (267) daha önce hiperlipidemi tedavisi almamış tipII/a ve tipII/b hiperlipidemi hastalarına üç ay boyunca atorvastatin tedavisi uygulamışlar ve serum PON1 düzeylerinin tedavi sonrası %5 oranında arttığını bulmuşlardır. Maffei ve ark. (268) serum PON1 düzeylerinin kontrol grubunda 105.31 ± 34.70 nmol/ml/min iken kolon poliplilerde 98.91 ± 23.71 nmol/ml/min'e ve kolorektal kanserlilerde 72.40 ± 23.49 nmol/ml/min'e ($p < 0.05$) düştüğünü saptamışlardır.

Yukarıdaki literatür bilgilerinden de görüleceği gibi PON1 düzeyleri her ne kadar farklı hastalıklarda çalışılmış olsa da çalışmamızdakine benzer şekilde, hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görülmektedir. PON1 düzeyi Türk popülasyonunda da aynı şekilde; kronik hepatitlilerde (254), depresif hastalarda (255),

hepatosteatozislielerde (256), yaşa bağlı makuler dejenerasyon gelişen hastalarda (257), epilepsi hastalarında (258), beta talassemi minörlü hastalarda (259), erektil disfonksiyonlu hastalarda (260), koroner arter hastalarında (261), aktif sarkoidozlularda (262), tip II diyabetlilerde (263), travmalı hastalarda (269), pankreas kanserli hastalarda ve gastrik kanserli hastalarda (270) bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak kontrol grubundan daha düşüktür.

Çalışmamızda kontrol grubunun plazma CAT aktivitesi 185.85 ± 175.40 U/mL iken lösemi hastalarının plazma CAT aktivitesi 186.30 ± 158.45 U/mL'dir ($p > 0.05$). Kontrol grubuna ait literatür bulgularını incelediğimizde; serum CAT aktivitesi Tunus popülasyonunda 83.38 ± 91.7 U/mL (271) iken Tayvan popülasyonunda 11.1 ± 0.32 U/mL'dir (272). Hindistan popülasyonunda plazma CAT aktivitesi 7.45 ± 3.40 U/mg olarak bulunmuştur (273). Kan CAT enzim düzeyleri Macaristan popülasyonunda 105 ± 17 MU/L (200), Mısır popülasyonunda 18.87 ± 1.68 mg/mL (274) ve İran popülasyonunda 134 ± 4.3 KU/g Hb (275)'dir.

Türk popülasyonuna dair çalışmalarda elde edilen eritrosit CAT düzeyleri incelendiğinde; Elazığ örnekleminde 99.10 ± 12.40 k/gHb (276), Erzurum örnekleminde 23.6 ± 7.4 k/g Hb (277), Malatya örnekleminde yapılan bir çalışmada 62.6 ± 15.9 K/gHb (278) iken diğer çalışmada 175.4 ± 38.8 k/gHb (279) ve Van örnekleminde 61.4 ± 81.9 EU/gHb (280) olarak tespit edilmiştir. Serum CAT düzeylerine ait değerler ise; Diyarbakır örnekleminde 69 ± 20 U/L (281), Şanlıurfa örnekleminde $2,291.53 \pm 0.53$ U/L (282), Van örnekleminde 7586.65 ± 631.1 kUL (283), Mersin örnekleminde 280.18 ± 98.06 U/mL (284) ve Zonguldak örnekleminde 81.95 ± 2.80 U/mL (285) olarak bulunmuştur. Kontrol grubumuzdaki plazma CAT düzeyleri birçok çalışmadaki değerlerden daha yüksekken (271, 272, 285), Berköz ve arkadaşlarının bulgusundan daha düşüktür (284). Ancak söz konusu çalışmadaki birey sayısı sadece 22 (11E/11K) olup erkeklerin yaş ortalaması 35 ± 15 iken kadınların yaş ortalaması 36 ± 15 'dir. Bizim kontrol grubundaki yaş ortalamamız ise 49.34 ± 12.78 'dir. CAT düzeyimizin farklı olması; söz konusu çalışmadaki örneklem hacminin küçük olması yanında o bireylerin daha genç olması, metabolizma hızı ve beden kitle indeksi gibi demografik faktörlerden kaynaklanabilir.

Lösemi hastalarında plazma CAT aktivite değerimiz 185.85 ± 175.40 U/mL'dir. Literatür bulgularını incelediğimizde CAT aktivitesi, lösemilerden ziyade diğer hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Kosa ve ark. (200) kan CAT düzeyinin kontrol grubunda 105 ± 17 MU/L ve vitiligolularda da benzer seviyelerde 103 ± 18 MU/L ($P > 0.4$) olduğunu bulmuşlardır. Mak ve ark. (202) eritrosit CAT seviyesinin sigara içmeyen sağlıklı bireylerde 0.036 ± 0.028 U/g Hb iken sigara içmeyen astım hastalarında 0.073 ± 0.028 U/g Hb'e yükseldiğini ($P < 0.01$) ve CAT aktivitesinin astım hastalarından; sigara içmeyen, içen ve sigarayı bırakmış olan hastalarda benzer düzeylerde olduğunu tespit etmişlerdir. Chistiakov ve ark. (242) tip I diabet hastalarından diabetik nöropati olan ve olmayanları karşılaştırmış ve eritrosit CAT aktivitesinin diyabetik nöropati olmayanlarda 13.2 ± 2.7 IUX 10^4 /g Hb seviyelerinde iken diabetik nöropati olanlarda 15.3 ± 2.8 IUX 10^4 /g Hb'e yükseldiğini saptamışlardır. Mansour ve ark. (271) CAT düzeylerinin kontrol grubunda 83.38 ± 91.7 U/mL iken SLE'lilerde 125.54 ± 120.11 U/mL'ye ($P > 0.05$) ve romatoid artritlilerde 134.58 ± 107.426 U/mL'ye yükseldiğini bulmuşlardır ($P < 0.05$). Shah ve ark. (273) CAT aktivitesinin kontrol grubunda 7.45 ± 3.40 U/mg protein iken romatoid artritlilerde 4.64 ± 2.21 U/mg proteine düştüğünü ($P < 0.05$) ve SLE'lilerde daha düşük olup 3.33 ± 1.56 U/mg protein düzeylerinde olduğunu saptamışlardır ($P < 0.05$).

Ülkemizde yapılan literatür bulgularını değerlendirdiğimizde; Turgut ve ark. (276) kontrol grubunda 99.10 ± 12.4 k/gHb olan eritrosit CAT düzeylerinin preterm yenidoğan idyopatik hiperbilirubinemili hastalarda 63.00 ± 12.80 k/gHb'e düştüğünü saptamışlardır ($P = < 0.001$). Ece ve ark. (281) serum CAT düzeyinin kontrol grubunda 69 ± 20 U/L olduğunu ve bu değeri Henoch-Schönlein purpurası olan hastalar ile karşılaştırdığında: Aktif Henoch-Schönlein purpuralılarda 50 ± 27 U/L ($P = 0.002$) ve remisyondaki Henoch-Schönlein purpuralılarda 51 ± 26 U/L ($P = 0.004$) olarak bulmuşlar ve artmış oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun Henoch-Schönlein purpura vaskülitinin patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Altındag ve ark. (282) da benzer şekilde serum CAT düzeylerinin kontrol grubunda $2,291.53 \pm 0.53$ U/L iken osteoartritlilerde $1,196.75 \pm 0.56$ U/L'ye düştüğünü saptamışlardır ($P = < 0.001$). Cemek ve ark. (283) eritrosit CAT düzeyinin kontrol grubunda 7586.65 ± 631.1 kU/L, akut otitis medialılarda 9870.79 ± 1838.28 kU/L ($P < 0.01$) ve akut tonsillitlerde 9481.32 ± 466.37 kU/L ($P < 0.01$) olduğunu saptamışlardır. Ulker ve ark. (285) bronkoalveoler lavaj

sıvısındaki CAT seviyelerinin kontrol grubunda 81.95 ± 2.80 U/mL iken basit pnömokonyozlu kömür madeni işçilerinde 123.53 ± 4.99 U/mL'ye ($P < 0.01$) ve progresif massif fibrozisli işçilerde 140.53 ± 20.99 U/mL'ye yükseldiğini bulmuşlardır ($P < 0.01$). Serum CAT seviyelerinin; aktif çalışan kömür maden işçilerinde 46.13 ± 17.16 U/mL, emekli olanlarda 50.77 ± 20.05 U/mL, pnömokonyozlu işçilerde 59.73 ± 8.71 U/mL ve progresif massif fibrozisli işçilerde 72.27 ± 18.3 U/mL ($P > 0.05$) olduğunu saptamışlardır. Karlıdağ ve ark. (286) kronik otitis medialis hastalardan timpanosklerozlu olanlarla olmayanları karşılaştırdığında, timpanosklerozlularda 55.97 ± 9.51 U/gHb olan eritrosit CAT düzeylerinin timpanosklerozlu olmayanlarda 106.68 ± 18.30 U/gHb'e yükseldiğini belirlemişlerdir ($P = 0.001$).

CAT aktivitesinin kanserlerle ilişkisine dair çalışma örneklerini değerlendirmiş; Lin ve ark. (272) serum CAT düzeyinin kontrol grubunda 11.1 ± 0.32 U/mL iken evre I-II hepatosellüler karsinomalı hastalarda 8.26 ± 0.25 U/mL'ye düştüğünü ($P < 0.05$) ayrıca evre III-IV hepatosellüler karsinomalıları, evre I-II'deki hastalarla ve kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında 5.07 ± 0.37 U/mL'ye düştüğünü ($P < 0.05$) saptamışlardır. Negahdar ve ark. (275) tam kan CAT aktivitesinin kontrol grubunda 134 ± 4.3 KU/g Hb'den meme kanserlilerde 85 ± 5.8 KU/g Hb'e düştüğünü tespit etmişlerdir ($P < 0.001$). Kaynar ve ark. (277) eritrosit CAT aktivitesini; kontrol grubunda 23.6 ± 7.4 k/gHb, küçük hücreli akciğer kanserlilerde 44.9 ± 4.3 k/gHb ($P < 0.05$) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda 38.5 ± 14.9 k/gHb olarak tespit etmişlerdir ($P < 0.05$). Ayrıca küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastaları evrelerine göre gruplandırdıklarında enzim düzeyleri; evre I-II'deki hastalarda 35.3 ± 5.6 k/gHb ($P < 0.001$) ve evre III-IV'deki hastalarda 40 ± 17.9 k/gHb olarak tespit etmişlerdir ($P < 0.05$). Esmen ve ark. (287) tam kan CAT seviyelerinin kontrol grubunda 1769 ± 465 kU/L iken küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda 2583 ± 61 kU/L olduğunu ($P = 0.001$) bulmuşlardır. Evre I-II'deki hastaların CAT seviyeleri 2215 ± 359 kU/L iken evre III-IV'deki hastalarda 2690 ± 64 kU/L'e yükselmiştir. Ayrıca hastaları akciğer kanserinin histolojik tiplerine göre gruplandırdıklarında; adenokarsinomalılarda 2619 ± 71 kU/L ($P < 0.05$) ve skuamöz hücreli karsinomalılarda 2556 ± 56 kU/L ($P < 0.05$) ve büyük hücreli karsinomalılarda 2511 ± 29 kU/L olduğunu tespit etmişlerdir.

CAT aktivitesinin lösemilerle ilişkisine dair çalışma örneklerini değerlendirmiş; Al-Gayyar ve ark. (274) KML (N=11) ve KLL (N=9) hastalarında tedavi öncesi ve sonrası kan CAT aktivitesini karşılaştırdığı çalışmada; kontrol grubunda 18.87 ± 1.68 mg/mL iken tedavi öncesi KML'lilerde 58.47 ± 5.61 mg/mL ve KLL'lilerde ise 62.56 ± 5.87 mg/mL'dir ($P < 0.05$). Aynı hastaların tedavi sonrası değerleri KML'lilerde 81.57 ± 4.81 mg/mL'ye, KLL'lilerde ise 88.12 ± 6.83 mg/mL'ye yükselmiştir ($P < 0.05$). Bu çalışmada lösemilerde CAT düzeyi kontrol grubundan daha yüksekken çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmadı. Al-Gayyar ve ark. (274) tedavi sonrası CAT aktivitesinin arttığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde tedavi sonrası plazma CAT düzeyi ALL hastalarında 79.26 ± 103.67 U/mL'den 329.94 ± 403.05 U/mL'ye yükselmiştir. Berköz ve ark. (284) akut lösemili hastaların (N=21) serum CAT düzeyini 170 ± 45.05 U/ mL olarak ölçmüşlerdir. Bu değer bizim 186.30 ± 158.45 U/mL olan değerimize benzerlik göstermektedir. Ayrıca akut lösemili hastaların serum CAT düzeylerini alt gruplara göre değerlendirdiklerinde ise ALL'lilerde (N=8) 154.48 ± 35.97 U/mL olarak bulmuşlardır ve bu değer bizim 180.46 ± 180.25 U/mL olan plazma düzeyimizden daha düşüktür. AML'lilerdeki (N=10) 188.22 ± 54.21 U/mL olan düzeyleri ise bizim 170.89 ± 123.57 U/mL olan değerimize yakındır. Demir ve ark. (280) AML (N=25) ve ALL (N=6) hastaları ile yaptıkları çalışmada eritrosit CAT aktivitesinin kontrol grubunda 61.4 ± 81.9 EU/gHb iken akut lösemilerde 3.4 ± 1.5 EU/gHb olduğunu saptamışlardır. Battisti ve ark. (288) 3-23 yaşlarında olan ALL hastalarını tedavi dönemlerine göre sınıflandırmışlar ve CAT aktivitesinin tedavi alan lösemilerde kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde olduğunu ($p < 0.001$) ve tedavi almayan hastalarda ise bu farkın olmadığını tespit etmişlerdir. Bizim bulgumuz bu iki çalışma (280, 288) ile örtüşmemektedir.

Sağlıklı bireylerde serum CRP düzeyleri 1 mg/dL veya daha altındadır (289). CRP inflamasyonda iyi bilinen bir markerdir ve inflamasyonla artış gösterir (290). Aslan ve ark. (291) kemoterapinin indüklediği nötropenili akut lösemi hastalarında nonfebril periyotta serum CRP konsantrasyonlarının 0.89 mg/dL olduğunu ve bu hastalarda febril dönemde ise CRP'nin 9.57 mg/dL'ye kadar çıktığını göstermişlerdir ($P = 0.0001$). Santolaya ve ark. (292)'nin afebril nötropenik maligniteli hastalarda serum CRP düzeyleri için belirledikleri değer ise 9 ± 3.5 mg/L'dir. Oksidatif stresin büyüklüğünün

inflamasyonun şiddeti ile ilişkili olduğu düşüncesinden hareketle CRP düzeyi 100 mg/L'nin üzerindeki bireylerin plazma PON1 düzeylerini ölçerek yeni tanı anındaki plazma değerlerimizle karşılaştırdığımızda; ALL'li 5 hastanın PON1 düzeyleri tedavi öncesi 126.22 ± 84.15 U/mL iken CRP düzeyi >100 mg/L olduğunda 74.06 ± 69.46 U/mL, AML'lilerde ise PON1 düzeyleri tedavi öncesi 99.63 ± 71.77 U/mL iken CRP düzeyi >100 mg/L olduğunda 95.71 ± 75.79 U/mL'dir.

Oksidatif stresin arttığı lösemi hastalarında PON1 enzimi ile CRP ilişkisini değerlendirdiğimizde; lösemililerde söz konusu markerla PON1 enzimi arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle diğer hastalıklara ilişkin çalışma örnekleriyle indirekt kıyaslama yolunu seçtik. Rasic-Milutinovic ve ark. (293) serum PON1 düzeyinin kontrol grubunda 51.22 ± 12.06 U/L iken tip II diyabetlilerde 22.07 ± 9.78 U/L'ye düştüğünü ($P=0.01$) diğer yandan yüksek sensitiviteli CRP'nin ise 0.13 g/L'den 0.92 g/L'ye yükseldiğini ($P=0.01$) ve aralarında ters korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Benzer şekilde Nowak ve ark. (249) serum PON1 düzeyinin kontrol grubunda 312.04 ± 129.77 U/L iken retinopatisi olmayan diyabetlilerde 289.87 ± 157.07 U/L ve retinopatisi olan diabetlilerde 227.66 ± 123.57 U/L'ye düştüğünü ($P<0.05$), hsCRP'nin ise kontrol grubunda 0.57 ± 0.46 mg/L'den retinopatisi olmayanlarda 1.75 ± 1.02 mg/L ve olanlarda 3.71 ± 2.47 mg/L'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir. Her iki çalışmada da CRP düzeyi artarken PON1 düzeyinin düştüğünü saptamışlardır.

CRP düzeyi 100 mg/L'nin üzerindeki bireylerin plazma CAT düzeylerini ölçerek yeni tanı anındaki plazma değerleriyle karşılaştırdığımızda; ALL'li 5 hastanın CAT düzeyleri tedavi öncesi 162.58 ± 209.77 U/mL iken CRP düzeyi >100 mg/L olduğunda 320.90 ± 275.08 U/mL'e yükselirken, AML'li hastalarda ise CAT düzeyleri tedavi öncesi 156.30 ± 110.31 U/mL iken CRP düzeyi >100 mg/L olduğunda 141.76 ± 136.48 U/mL'dir. Literatürde lösemili hastaların CAT enzimi ile CRP ilişkisini değerlendiren bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle diğer hastalıklara ilişkin çalışma örnekleriyle indirekt kıyasladık. Ece ve ark. (294) Henoch-Schönlein purpurası aktif evrede olan hastalarda CAT ve CRP arasında pozitif korelasyon saptamışlardır ($P=0.019$). Taysi ve ark. (295) eritrosit CAT düzeyinin kontrol grubunda 4.6 ± 0.7 k/mg Hb iken Behçet hastalarında 2.4 ± 0.6 k/mg Hb'e düştüğünü, CRP'nin ters korelasyon göstererek 3.9 ± 1.8 mg/L'den 13.6 ± 5.4 mg/L'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Kodon 55, 102 ve 192'deki polimorfizmler serum paroksonaz aktivitesinin % 62'sinden sorumludur (296). Çalışmamızda lösemi hastalarındaki PON1 aktivitesinin genetik profile olan ilişkisi araştırıldı. Plazma PON1 aktivitesinin PON1 L55M genotiplerine göre dağılımı kontrol grubu ve hasta grubumuzda sırasıyla; LL 196.11±117.16 - 103.37±64.89 U/mL, LM 179.60±147.01 - 90.87±60.73 U/mL, MM 66.92±26.15 - 61.40±77.19 U/mL'dir. Plazma PON1 düzeyleri LM ve MM genotipine sahip olanlarda LL genotipine sahip olanlara göre daha düşüktür. Kontrol grubu ve lösemililerdeki MM genotipli bireylerin plazma PON1 düzeyleri arasında fark bulunamıştır.

Lösemililerdeki PON1 aktivite düzeyinin bireylerin genotipleri ile ilişkisini araştıran bir çalışma örneği olmadığı için farklı hastalıklarda yapılan literatür bulgularını incelediğimizde; Van Himbergen ve ark. (297) familial hiperkolesterolemili hastalardaki PON1 düzeylerinin LL genotiplilerde 87.3±22.4 µg/mL, LM genotiplilerde 72.1±18.6 µg/mL ve MM genotiplilerde 61.9±16.8 µg/mL olduğunu ve L allelinin PON1 düzeyinde artışa neden olduğunu saptamışlardır (P<0.001). Hasselwander ve ark. (298) renal transplantasyonlu hastalarda serum PON1 düzeylerinin MM genotiplilerde LL genotiplilere göre daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir (P<0.001). Jarvik ve ark. (299) kontrol grubu ve karotid arter hastalarında PON1 aktivitesinin LL>LM>MM sırasıyla olduğunu MM genotipli karotid arter hastalarında PON1 aktivitesinin düşük olduğunu saptamışlardır. Abdel-Azeez ve ark. (300) kontrol grubu ve SLE'li hastalarda PON1 aktivitesinin LL>LM>MM sırasıyla olduğunu bulmuşlardır (Hasta grubu P<0.05; Kontrol grubu P<0.05). Çalışmamızda kontrol grubu ve lösemililerde plazma PON1 düzeyleri LL>LM>MM sırasıyla ve yukarıdaki literatür bulgularıyla paralellik göstermektedir (297-300). Ancak kontrol grubu ve lösemililerdeki MM genotipli bireylerin PON1 düzeyleri arasında fark olmadığı şeklindeki bulgumuz Jarvik ve ark. (298)'nın çalışmasıyla uyumlu değildir.

Türkiye'de PON1 enzim aktivitesi ve ilgili genotiplerle ilişkisini araştıran çalışmaları incelediğimizde; Demirez (224) İstanbul örnekleminde PON1 aktivitesinin PON 55 genotiplerinde MM<LL<LM sırasıyla arttığını ve kontrol grubunda tip II diabetli ağız içi lezyonu olan hasta grubuna göre yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Önderci (225) Elazığ örnekleminde, kontrol grubunda ve tip II diabetli hastalarda PON1

aktivitesinin LL>LM>MM sırasıyla olduğunu ve MM genotipli bireylerin serum PON1 aktivitesinin kontrol grubunda 242.57 ± 81.13 U/L iken tip II diabetli hastalarda 276.84 ± 224.58 U/L ($P > 0.05$) olduğunu ve bu polimorfizmin tip II diabet gelişme riski üzerinde doğrudan bir etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Aksoy (301) kontrol grubunda LL genotipine sahip bireylerde PON aktivitesinin, LM ($P=0.096$) ve MM ($P=0.017$) genotiplilere göre yüksek olduğunu akciğer kanserlilerde ise PON aktivitesinin genotipler arasındaki dağılımının farklı olmadığını bulmuşlardır. Bulgularımız Demirez'in (224) PON 55 genotiplerinde MM<LL<LM sırasıyla arttığı şeklindeki bulgusu ile uyum göstermemektedir. Aksoy'un (301) LL genotipine sahip olan sağlıklı bireylerde PON1 düzeyinin yüksek olduğu bulgusuyla benzerlik gösterirken, Önderci'nin (225) kontrol grubunda ve hastalarda PON1 aktivitesinin LL>LM>MM sırasıyla olduğu ve MM genotipli bireylerin serum PON1 aktivitesinin kontrol grubunda ve hasta grubunda benzer değerlerde olduğu bulgularıyla birebir örtüşmektedir.

Plazma CAT aktivitesinin CAT C-262T genotiplerine göre dağılımı kontrol grubu ve hasta grubumuzda sırasıyla; CC 188.47 ± 190.22 - 230.95 ± 192.39 U/mL, CT 197.77 ± 170.95 - 166.58 ± 99.33 U/mL ve TT 132.63 ± 111.33 - 101.34 ± 81.93 U/mL'dir. Literatür bulgularını incelediğimizde (Lösemilerde yapılan çalışma örneği olmadığından farklı hastalıklarda CAT aktivitesine dair genotip bulguları alınmıştır); Bastaki ve ark. (5) CC genotipine sahip olan sağlıklı bireylerin CAT aktivitesinin 89.47 k/g Hb olup CT ve TT genotiplilerden daha yüksek olduğunu ayrıca cinsiyet ve ırkın CAT aktivitesini etkilemediğini tespit etmişlerdir. Kosa ve ark. (200) kan CAT aktivitesinin genotiplere göre dağılımını kontrol grubunda; CC 109 ± 18 MU/L, CT 102 ± 16 MU/L ve TT 103 ± 17 MU/L iken vitiligo lularında; CC 102 ± 20 MU/L, CT 98 ± 24 MU/L ve TT 107 ± 19 MU/L olduğunu saptamışlardır ($P > 0.18$). Mak ve ark. (240) TT genotipinin Çin popülasyonunda yaygın olmadığını ve CC genotipine sahip olan sağlıklı bireylerin CAT aktivitesinin 0.03 ± 0.02 U/g Hb iken kronik obstrüktif akciğer hastalarında 0.05 ± 0.03 U/g Hb olduğunu tespit etmişlerdir ($P=0.001$). Chistiakov ve ark. (242) tip I diabet hastalarından diabetik nöropati gelişen TT genotipli hastalarda eritrosit CAT aktivitesinin 17.8 IU/g Hb iken gelişmeyenlerde 13.8 IU/g Hb ($P < 0.002$) olduğunu saptamışlardır. Nadif ve ark. (302) maden işçilerindeki eritrosit CAT düzeylerinin; CC genotiplilerde 104 ± 29 k/g Hb, CT genotiplilerde 87 ± 30 k/g Hb ve TT

genotiplilerde 72 ± 11 k/g Hb ($P < 0.0001$) olduğunu ve CAT -262 T alleleline sahip olanlarda yüksek miktarda toza maruz kalma ile CAT aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır. Ahsan ve ark. (303) CT/TT genotipi taşıyan ve yüksek düzeylerde arseniğe maruz kalanların CC genotiplilere göre 4.6 kat daha fazla hiperkeratoz gelişme riskine sahip olduğunu gösterirken, Forsberg ve ark. (201) T alleleline sahip olmayı artmış hipertansiyon riski ile ilişkilendirmiştir ($P < 0.03$). Ho ve ark. (304) CC genotipine sahip olanlarda eritrosit CAT aktivitesinin, kontrol grubunda 0.034 ± 0.026 U/g Hb iken akciğer kanserlilerde 0.025 ± 0.035 U/g Hb olduğunu ($P < 0.05$) tespit etmişlerdir. TT genotipli bireylerin plazma CAT aktivitesinin kontrol grubunda ve hasta grubunda benzer değerlerde olduğu şeklindeki bulgumuz, Kosa ve ark. (200)'nın vitiligo hastalarıyla yaptıkları çalışmanın bulgularıyla uyumludur. Forberg ve ark. (201)'nin hipertansiyon riskinde artış olduğu, Mak ve ark. (240)'nin kronik obstrüktif akciğer hastalarındaki serum CAT aktivitesinin daha yüksek olduğu, Nadif ve ark. (302)'nin yüksek miktarda toza maruz kalma ile CAT aktivitesinin azaldığı, Chistiakov ve ark. (242)'nin TT genotipli diabetik nöropatili hastalarda CAT aktivitesinin arttığı, Ahsan ve ark. (303)'nin CT/TT genotipi taşıyan ve yüksek düzeylerde arseniğe maruz kalanların hiperkeratoz gelişme riskinin arttığı ve Ho ve ark. (304)'nin yabancı genotip için serum CAT aktivitesinin akciğer kanserlilerde daha düşük olduğu şeklindeki bulgularıyla benzerlik göstermez.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Türk Populasyonu Mersin Örnekleme için PON1 L55M polimorfizmine ait yabancı L ve polimorfik M allel frekansları kontrol grubunda % 72.5 ve % 27.5 iken lösemililerde: % 68.1 ve % 31.9'dur. PON1 L55M polimorfizmine ait LL, LM ve MM genotip oranları kontrol grubunda; % 50.7, % 43.6 ve % 5.7 iken lösemililerde; % 43.5, % 49.3 ve % 7.2'dir. PON1 L55M polimorfizmi allel ve genotipleri lösemiye yakalanma riskini etkilememektedir.
- Plazma PON1 aktivitesi kontrol grubunda 184.04 ± 130.75 U/mL iken lösemililerde 93.80 ± 62.58 U/mL'ye düşmüştür. Lösemilileri alt gruplarına göre sınıflandırarak yaptığımız değerlendirmede plazma PON1 düzeyleri yeni tanı almış AML'lilerde 102.22 ± 65.95 U/mL, yeni tanı almış ALL'lilerde ise 90.99 ± 68.27 U/mL'ye düşmüştür. Plazma PON1 düzeyleri, CRP>100 mg/L olduğunda ve ilk ölçümünden bir ay sonra yapılan tedavi almış olan bu hastaların değerlendirmesinde değişiklik göstermemiştir.
- CAT C-262T polimorfizmine ait yabancı C ve polimorfik T allel frekansları kontrol grubunda: % 73.9 ve % 26.1 iken lösemililerde: % 71.8 ve % 28.2'dir. CAT C-262T polimorfizmi CC ve CT genotip oranları kontrol grubunda; % 53.6 ve % 40.7 iken lösemililerde % 56.4, % 30.7'dir. TT genotip oranı kontrol grubunda % 5.7 iken lösemililerde % 12.9'a yükselmiştir. CAT C-262T polimorfizmine ait TT genotipine sahip olma lösemiye yakalanma riskini artırmaktadır.
- Lösemililerde plazma CAT aktivitesi etkilenmemiştir. Plazma CAT düzeyleri CRP>100 mg/L olduğunda ve ilk ölçümünden bir ay sonra yapılan tedavi almış olan bu hastaların antioksidan enzim değerleri de aynı şekilde etkilenmemiştir.

- PON1 L55M polimorfizmine ait LL, LM ve MM genotiplerini taşıyanları plazma PON1 aktiviteleriyle korele ettiğimizde, LL ve LM genotipli lösemililerin plazma PON1 düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşüktür. CAT C-262T polimorfizmine ait CC, CT ve TT genotiplerini taşıyanları plazma CAT aktiviteleriyle korele ettiğimizde, plazma CAT düzeyleri kontrol grubunda ve lösemililerde benzerdir.
- CAT C-262T ve PON1 L55M polimorfizimleri ve plazma enzim düzeylerinin lösemiye yakalanma riskine olası etkilerini inceleyen ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.
- Bu çalışmada elde edilen önemli bir yan sonuç; Türk Populasyonu Mersin Örnekleme için PON1 L55M polimorfizmine ait allel ve genotip oranları ve plazma PON1 aktivitesi - CAT C-262T polimorfizmine ait allel ve genotip oranları ve plazma CAT aktivitesine ait değerler saptanmıştır. Örnekleminiz ileride yapılacak olan söz konusu polimorfizmler ve enzim aktiviteleri ile ilgili başka hastalıklar arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalar için hazır veri olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Suzen HS, Gucyener E, Sakalli O, Uckun Z, Kose G, Ustel D, Duydu Y.** CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population. *Mol Biol Rep*, **2010**;37(1):87-92.
2. **Ahmad R, Tripathi AK, Tripathi P, Singh R, Singh Sushma, Singh RK.** Oxidative stress and antioxidant status in patients with chronic myeloid leukemia. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **2008**; 23(4):328-333.
3. **Tandon VR, Sharma S, Mahajan A, Bardi GH.** Oxidative Stress: A Novel Strategy in Cancer Treatment. *JK Sci*, **2005**;7(1):1-3.
4. **Toyokuni S, Okamoto K, Yodoib J, Hiai H.** Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters*, **1995**;358(1):1-3.
5. **Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, Tager IB, Holland N.** Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*, **2006**;16(4):279-286.
6. **Kumar V, Cotran RS, Robbins SL.** *Temel Patoloji*. 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, **2000**:373.
7. **Pinkel D.** Historical perspective In: Pui CH editor. *Childhood Leukemias*. 2nd Ed., Cambridge: Cambridge University Press, **1999**:3-18.
8. **Hamblin T.** Historical aspects of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*, **2000**;111(4):1023-1034.
9. **Yasmeen N, Ashraf S.** Childhood acute lymphoblastic leukaemia; epidemiology and clinicopathological features. *J Pak Med Assoc*, **2009**;59(3):150-153.
10. **Geary CG.** The story of chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol*, **2000**;110(1):2-11.
11. **Miller DR.** Hematologic malignancies: leukemia and lymphoma. In: Miller RM, Baehner RL, Miller LP. Eds. *Blood Diseases of Infancy and Childhood*. 10th Ed., St. Louis: Mosby, **2005**: 660-768.

12. **Doğru Ö.** Akut lenfoblastik lösemilerde genetik ve immünfenotipik özelliklerin klinik ve prognostik önemi. Yandal uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, **2009**.
13. **Şencan M.** Akut Lösemiler: Epidemiyoloji, Etiyoloji ve Patogenez. *Turkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics*, **2010**;3(2):1-4.
14. **Kızıltaş A.** Çocukluk çağı akut lösemilerde serum fas ve fas ligand düzeyleri. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, **2008**.
15. **Yılmaz Ö.** Akut lenfoblastik lösemili çocuklarda epidemiyolojik ve etiyolojik özelliklerin araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, **2008**.
16. **Chan KW.** Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, **2002**;32:40-49.
17. Erişim: <http://medicineworld.org/cancer/hematological/leukemias/acute-myeloid-leukemia-aml.html>. Erişim tarihi: 23.06.2012.
18. **Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M.** Cancer statistics, 2001. *CA Cancer J Clin*, **2001**;51(1):15-36.
19. **Ghia P, Ferreri AM, Caligaris-Cappio F.** Chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*, **2007**;64(3):234-246.
20. **Kalil N, Cheson BD.** Chronic Lymphocytic Leukemia. *The Oncologist*, **1999**;4:352-369.
21. **Eichhorst B, Goede V, Hallek M.** Treatment of elderly patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, **2009**; 50(2):171-178.
22. **Brave M, Goodman V, Kaminskas E, Farrell A, Timmer W, Pope S, Harapanhalli R, Saber H, Morse D, Bullock J, Men A, Noory C, Ramchandani R, Kenna L, Booth B, Gobburu J, Jiang X, Sridhara R, Justice R, Pazdur R.** Sprycel for chronic myeloid leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia resistant to or intolerant of imatinib mesylate. *Clin Cancer Res*, **2008**;14(2):352-359.
23. Erişim: http://www.thd.org.tr/html/file/THD_VT-proje.pdf. Erişim tarihi:23.06.2012.

24. **Büyükaşık Y, Haznedaroğlu İC, İlhan O.** Chronic Myeloid Leukemia: Practical Issues in Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *International Journal of Hematology and Oncology*, **2010**;2(1):1-12.
25. **Smith KL, Johnson W.** Classification of chronic myelocytic leukemia in children. *Cancer*, **1974**;34(3):670-679.
26. **Başoğlu F, Önal AE.** Çevresel etkenlerin genler üzerine etkisi ve genetik analiz yöntemleri. *İst Tıp Fak Derg*, **2009**;72:108-111.
27. **Yaren H, Karayılanoğlu T.** Radyasyon ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, **2005**;4(4):199-208.
28. **Hatayoğlu SE, Orta T.** Relationship between Radiation Induced Dicentric Chromosome Aberrations and Micronucleus Formation in Human Lymphocytes. *J Exp Clin Cancer Res*, **2007**;26(2):229-234.
29. **Lai H, Singh NP.** Melatonin and a Spin-Trap Compound Block Radiofrequency Electromagnetic Radiation-Induced DNA Strand Breaks in Rat Brain Cells. *Bioelectromagnetics*, **1997**;18:446-454.
30. **Robison JG, Pendleton AR, Monson KO, Murray BK, O'Neill KL.** Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics*, **2002**;23(2):106-112.
31. **Altunbaşak A.** Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Bünyesinde Kemoterapi Tedavisi Gören Lösemi Hastalarında G-bantlama Metodu ile Sitogenetik Analizler. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, **2006**.
32. **Gardner MJ, Snee MP, Hall AJ, Powell CA, Downes S, Terrell JD.** Results of case-control study of leukemia and lymphoma among young people near Sellafield nuclear plant in West Cumbria. *BMJ*, **1990**;300:423-429.
33. **Shu XO, Reaman GH, Lampkin B, Sather, HN, Pendergras TW, Robison LL.** Association of paternal diagnostic X-ray exposure with risk of infant leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **1994**;3:645-653.
34. **Belson M, Kingley B, Holmes A.** Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect*, **2007**;115(1):138-145.

35. **Bartley K, Metayer C, Selvin S, Ducore J, Buffler P.** Diagnostic X-rays and risk of childhood leukaemia. *Int J Epidemiol*, **2010**;39(6):1628-1637.
36. **Infante-Rivard C, Mathonnet G, Sinnott D.** Risk of childhood leukemia associated with diagnostic irradiation and polymorphisms in DNA repair genes. *Environ Health Perspect*, **2000**;108:495-498.
37. **Buffler PA, Kwan ML, Reynolds O, Urayama KY.** Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer Invest*, **2005**;23(1):60-75.
38. **Mole RH.** Childhood cancer after prenatal exposure to diagnostic X-ray examinations in Britain. *Br J Cancer*, **1990**;62(1):152-168.
39. **Graham S, Levin ML, Lilienfeld AM, Schuman LM, Gibson R, Dowd JE, Hempelmann L.** Preconception, intrauterine, and postnatal irradiation as related to leukemia. *Natl Cancer Inst Monogr*, **1966**;19:347-371.
40. **Yağmur F, Bozbuğuk, Hancı İH.** Elektromanyetik Dalgaların İnsan Biyokimyası Üzerine Etkileri. *Sted*, **2003**;12(8):296-297.
41. **Ahlbom A, Day N, Feychting M, Roman E, Skinner J, Dockerty J, Linet M, McBride M, Michaelis J, Olsen JH, Tynes T, Verkasalo PK.** A pooled analysis of magnetic fields and childhood leukaemia. *Br J Cancer*, **2000**;83:692-698.
42. **Greenland S, Sheppard AR, Kaune WT, Poole C, Kelsh MA.** A pooled analysis of magnetic fields, wire codes, and childhood leukemia, Childhood leukemia-EMF Study Group. *Epidemiology*, **2000**;11(6):624-634.
43. **Hatch EE, Linet MS, Kleinerman RA, Tarone RE, Severson RK, Hartsock CT, Haines C, Kaune WT, Friedman D, Robison LL, Wacholder S.** Association between childhood acute lymphoblastic leukemia and use of electrical appliances during pregnancy and childhood. *Epidemiology*, **1998**;9(3):234-245.
44. **Infante-Rivard C, Deadman JE.** Maternal occupational exposure to extremely low frequency magnetic fields during pregnancy and childhood leukemia. *Epidemiology*, **2003**;14(4):437-441.
45. **Savitz DA, Chen JH.** Parental occupation and childhood cancer: review of epidemiologic studies. *Environ Health Perspect*, **1990**;88:325-337.

46. **Kleinerman RA, Kaune WT, Hatch EE, Wacholder S, Linet MS, Robison LL, Niwa S, Tarone RE.** Are children living near high-voltage power lines at increased risk of acute lymphoblastic leukemia? *Am J Epidemiol*, **2000**;151(5):512-515.
47. **Linet MS, Hatch EE, Kleinerman RA, Robison LL, Kaune WT, Friedman DR, Severson RK, Haines CM, Hartsock CT, Niwa S, Wacholder S, Tarone RE.** Residential exposure to magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children. *N Engl J Med*, **1997**;337:1-7.
48. **Myers A, Clayden AD, Cartwright RA, Cartwright SC.** Childhood cancer and overhead powerlines: a case-control study. *Br J Cancer*, **1990**;62(6):1008-1014.
49. **Smith MT, Zhang L, McHale CM, Skibola CF, Rappaport SM.** Benzene, the exposome and future investigations of leukemia etiology. *Chem Biol Interact*, **2011**;192(1-2):155-159.
50. **Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, Filloon TG, Young RJ, Okun AH, Landrigan PJ.** Benzene and leukemia. An epidemiologic risk assessment. *N Engl J Med*, **1987**;316(17):1044-1050.
51. **Grover P, Danadevi K, Mahboob M, Rozati R, Banu BS, Rahman MF.** Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay. *Mutagenesis*, **2003**;18(2):201-205.
52. **Kaya E.** Klorprifos ve Deltamethrin'in Kan ve Beyin Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, **2005**.
53. **Liu YJ, Huang PL, Chang YF, Chen YH, Chiou YH, Xu ZL, Won RH.** Gstp1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2006**;15(4):659-666.
54. **Merhi M, Raynal h, Cahuzac E, Vinson F, Cravedi JP, Gamet-Payrastre L.** Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer Causes Control*, **2007**;18(10):1209-1226.
55. **Furlong CE.** Genetic Variability in the Cytochrome P450-Paraoxonase 1 (PON1) Pathway for Detoxication of Organophosphorus Compounds. *J Biochem Mol Toxicol*, **2007**;21(4):197-205.
56. **Berkowitz GS, Wetmur JG, Birman-Deych E, Obel J, Lapinski RH, Godbold JH, Holzman IR, Wolff MS.** In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference. *Environ Health Perspect*, **2004**;112(3):388-391.

57. **Infante-Rivard C, Labuda D, Krajinovic M, Sinnett D.** Risk of childhood leukaemia associated with exposure to pesticides and with gene polymorphisms. *Epidemiology*, **1999**;10(5):481-487.
58. **Leiss JK, Savitz DA.** Home pesticide use and childhood cancer: a case-control study. *Am J Public Health*, **1995**;85(2):249-252.
59. **Ma X, Buffler PA, Gunier RB, Dahl G, Smith MT, Reinier K, Reynolds P.** Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukaemia. *Environ Health Perspect*, **2002**;110(9):955-960.
60. **Meinert R, Schüz J, Kaletsch U, Kaatsch P, Michaelis J.** Leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma in childhood and exposure to pesticides: results of a register-based case-control study in Germany. *Am J Epidemiol*, **2000**;151(79):639-646.
61. **Menegaux F, Baruchel A, Bertrand Y, Lescoeur B, Leverger G, Nelken B, Sommelet D, Hémon D, Clavel J.** Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. *Occup Environ Med*, **2006**;63:131-134.
62. **Sentí M, Tomás M, Fitó M, Weinbrenner T, Covas ML, Sala J, Masiá R, Marrugat J.** Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, **2003**;88(11):5422-5426.
63. **Van Maele-Fabry G, Duhayon S, Mertens C, Lison D.** Risk of leukaemia among pesticide manufacturing workers: a review and meta-analysis of cohort studies. *Environ Res*, **2008**;106(1):121-137.
64. **Brown LM, Blair A, Gibson R, Everett GD, Cantor KP, Schuman LM, Burmeister LF, Van Lier SF, Dick F.** Pesticide Exposures and Other Agricultural Risk Factors for Leukemia Among Men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res*, **1990**;50(20):6585-6591.
65. **McLean D, Mannetje A, Dryson E, Walls C, McKenzie F, Maule M, Cheng S, Cunningham C, Kromhout H, Boffetta P, Blair A, Pearce N.** Leukaemia and occupation: a New Zealand Cancer Registry-based case-control Study. *Int J Epidemiol*, **2009**;38(2):594-606.
66. **Van Maele-Fabry G, Lantin AC, Hoet P, Lison D.** Residential exposure to pesticides and childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int*, **2011**;37(1):280-291.
67. **Shu XO, Ross JA, Pendergrass TW, Reaman GH, Lampkin B, Robison LL.** Parental alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of infant leukemia: a Children's Cancer Group study. *J Natl Cancer Inst*, **1996**; 88(1):24-31.

68. **Severson RK, Buckley JD, Woods WG, Benjamin D, Robison LL.** Cigarette smoking and alcohol consumption by parents of children with acute myeloid leukemia: an analysis within morphological subgroups—a report from the Childrens Cancer Group. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **1993**;2(5):433-499.
69. **Eras-Erdogan N, Akbas E, Senli H, Kul S, Colak T.** Relationship between polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene and breast cancer. *Mutat Res*, **2009**;680(1-2):7-11.
70. **Mitrunen K, Hirvonen A.** Molecular epidemiology of sporadic breast cancer the role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutation Research*, **2003**;544:9-41.
71. **Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K.** Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2000**;9:3-28.
72. **Gilks CB, Price K, Wright JL, Churg A.** Antioxidant gene expression in rat lung after exposure to cigarette smoke. *Am J Pathol*, **1998**;152:269-278.
73. **Pryor WA.** Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ. Health Perspec*, **1997**;105:875-882.
74. **Marnett LJ.** Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, **2000**;21:361-370.
75. **Varadarajan R, Cummings MK, Hyland AJ, Wang ES, Wetzler M.** Can decreasing smoking prevalence reduce leukemia mortality? *Ann Hematol*, **2010**;89(9):873-876.
76. **Lichtman MA.** Cigarette smoking, cytogenetic abnormalities, and acute myelogenous leukemia. *Leukemia*, **2007**;21(6):1137-1140.
77. **Kim SY, Choi JK, Cho YH, Chung EJ, Paek D, Chung HW.** Chromosomal aberrations in workers exposed to low levels of benzene: association with genetic polymorphisms. *Pharmacogenetics*, **2004**;14(7):453-463.
78. **Mutlu AG, Fişkın K.** Can Vitamin E and Selenium Prevent Cigarette Smoke-Derived Oxidative mtDNA Damage?. *Turk J Biochem*, **2009**;34(3):167-172.
79. **Kasim K, Levallois P, Abdous B, Auger P, Johnson KC.** Lifestyle factors and the risk of adult leukemia in Canada. *Cancer Causes Control*. **2005**;16(5):489-500.

80. **Richardson DB, Terschüren C, Pohlabein H, Jöckel KH, Hoffmann W.** Temporal patterns of association between cigarette smoking and leukemia risk. *Cancer Causes Control*, **2008**;19(1):43-50.
81. **Eden T.** Aetiology of childhood leukemia. *Cancer Treat Rev*, **2010**;36(4):286-297.
82. **Stjemfeldt M, Berglund K, Lindsten J, Ludvigsson J.** Maternal smoking and irradiation during pregnancy as risk factors for child leukemia. *Cancer Detect Prev*, **1992**;16(2):129-135.
83. **John EM, Savitz DA, Sandier DP.** Prenatal exposure to parents' smoking and childhood cancer. *Am J Epidemiol*, **1991**;133(2):123-132.
84. **Neutel CI, Buck C.** Effect of smoking during pregnancy on the risk of cancer in children. *J Natl Cancer Inst*, **1971**;47(1):59-63.
85. **Pershagen G, Ericson A, Otterblad-Olausson P.** Maternal smoking in pregnancy: does it increase the risk of childhood cancer? *Int J Epidemiol*, **1992**;21(1):1-5.
86. **Magnani C, Pastore G, Luzzatto L, Terracini B.** Parental occupation and other environmental factors in the etiology of leukemias and non-Hodgkin's lymphomas in childhood: a case-control study. *Tumori*, **1990**;76(5):413-419.
87. **Ji BT, Shu XO, Linet MS, Zheng W, Wacholder S, Gao YT, Ying DM, Jin F.** Paternal cigarette smoking and the risk of childhood cancer among offspring of nonsmoking mothers. *J Natl Cancer Inst*. **1997**;89(3):238-244.
88. **Sasco AJ, Vainio H.** From in utero and childhood exposure to parental smoking to childhood cancer: a possible link and the need for action. *Hum Exp Toxicol*, **1999**;18(4):192-201.
89. **Sugimura T.** Nutrition and dietary carcinogens. *Carcinogenesis*, **2000**;21:387-395.
90. **Mukhtar H, Ahmad N.** Green tea in chemoprevention of cancer. *Toxicol Sci*, **1999**;52(2):111-117.
91. **Yuan JM, Sun C, Butler LM.** Tea and cancer prevention: epidemiological studies. *Pharmacol Res*, **2011**;64(2):123-135.

92. **Kuo YC, Yu CL, Liu CY, Wang SF, Pan PC, Wu MT, Ho CK, Lo YS, Li Y, Christiani DC;** Kaohsiung Leukemia Research Group. A population-based, case-control study of green tea consumption and leukemia risk in southwestern Taiwan. *Cancer Causes Control*, **2009**;20(1):57-65.
93. **Khan SG, Katiyar SK, Agarwal R, Mukhtar H.** Enhancement of antioxidant and phase II enzymes by oral feeding of green tea polyphenols in drinking water to SKH-1 hairless mice: possible role in cancer chemoprevention. *Cancer Res*, **1992**;52(14):4050-4052.
94. **Huang MT, Ho CT, Wang ZY, Ferraro T, Finnegan-Olive T, Lou YR, Mitchell JM, Laskin JD, Newmark H, Yang CS, et al.** Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin. *Carcinogenesis*, **1992**;13(6):947-954.
95. **Frei B, Higdon JV.** Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr*, **2003**;133(10):3275-3284.
96. **Topuz E, Aydiner A, Dinçer M.** *Meme Kanseri*. 2. Baskı, Nobel Matbaacılık: Nobel tıp kitabevi, **2003**.
97. **Mercan U.** Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg*, **2004**;15(1-2):91-96.
98. **Perumal SS, Shanthi P, Sachdanandam P.** Augmented efficacy of tamoksifen in rat breast tumorigenesis when gavaged along with riboflavin, niacin, and CoQ₁₀: Effects on lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria. *Chemico-Biological Interactions*, **2005**;152:49-58.
99. **Gale EAM.** Molecular mechanisms of beta-cell destruction in IDDM: the role of nicotinamide. *Horm Res*, **1996**;45:40-43.
100. **Irigaray P, Newby JA, Clapp R, Hardell L, Howard V, Montagnier L, Epstein S, Belpomme D.** Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed Pharmacother*, **2007**;61(10):640-658.
101. **Larsson SC, Wolk A.** Overweight and obesity and incidence of leukemia: a meta-analysis of cohort studies. *Int J Cancer*, **2008**;122(6):1418-1421.
102. **Ross JA, Parker E, Blair CK, Cerhan JR, Folsom AR.** Body mass index and risk of leukemia in older women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2004**;13(11):1810-1813.

103. **Samanic C, Gridley G, Chow WH, Lubin J, Hoover RN, Fraumeni JF Jr.** Obesity and cancer risk among white and black United States veterans. *Cancer Causes Control*, **2004**;15(1):35-43.
104. **Engeland A, Tretli S, Hansen S, Bjorge T.** Height and body mass index and risk of lymphohematopoietic malignancies in two million Norwegian men and women. *Am J Epidemiol*, **2007**;165(1):44-52.
105. **Schulz WA.** Molecular Biology of Human Cancers: An Advanced Student's Textbook eBook. 2005;7-8.
Erişim:http://books.google.com.tr/books/about/Molecular_Biology_of_Human_Cancers.html?id=XsbzAjEe-sAC&redir_esc=y. Erişim Tarihi:14.04.2012.
106. **Goon PK, Hanon E, Igakura T, Tanaka Y, Weber JN, Taylor GP, Bangham CR.** High frequencies of Th1-type CD4(+) T cells specific to HTLV-1 Env and Tax proteins in patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Blood*, **2001**; 99(9):3335-3341.
107. **Marriott SJ, Semmes OJ.** Impact of HTLV-I Tax on cell cycle progression and the cellular DNA damage repair response. *Oncogene*, **2005**;24(39):5986-5995.
108. **Tedeschi R, Luostarinen T, Marus A, Bzhalava D, Ogmundsdottir HM, Dillner J, De Paoli P, Surcel HM, Pukkala E, Lehtinen M, Lehtinen T.** No risk of maternal EBV infection for childhood leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2009**;18(10):2790-2792.
109. **Greaves MF.** Aetiology of acute leukaemia. *Lancet*, **1997**;349:344-349.
110. **Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, Eden OB, Addison GM, Masera G, Saha V, Biondi A, Greaves MF.** Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *Lancet*, **1999**;354(9189):1499-1503.
111. **Tracy J Lightfoot TJ, Roman E.** Causes of childhood leukaemia and lymphoma. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;199(2):104-117.
112. **Taçyıldız N.** Moleküler Onkoloji. *Moleküler Patoloji'ye Giriş*. "2. Baskı", Ankara: Antıp Yayınları, **1999**:308-323.
113. **Yilmazer S.** Metastaz Biyolojisi. 7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Eskişehir, **2001**:40.
114. **Aplan PD.** Causes of oncogenic chromosomal translocation. *Trends Genet*, **2006**;22(1):46-55.

115. **Karagüzel A.** Kanser Sitogenetiği. 7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi. Eskişehir, **2001**:45.
116. **Aktaş D.** Genetik ve Kanser. *Thompson & Thompson*. 6. Baskı, İstanbul: Güneş Kitabevi LTD. ŞTİ.,**2005**:311-313.
117. **Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ.** Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, **2008**;21(3);282-295.
118. **Sudhakar N, Rajalekshmy KR, Rajkumar T, Nancy KN.** RT-PCR and real-time PCR analysis of E2A-PBX1, TEL-AML1,mBCR-ABL and MLL-AF4 fusion gene transcripts in de novo B-lineage acute lymphoblastic leukaemia patients in south India. *J Genet*, **2011**;90(2):349-353.
119. **Sinclair PB, Green AR, Grace C, Nacheva EP.** Improved sensitivity of BCR-ABL detection: a triple-probe three-color fluorescence in situ hybridization system. *Blood*, **1997**;90(4):1395-1402.
120. **Tchirkov A, Bons JM, Chassagne J, Schoepfer C, Kanold J, Briançon G, Giollant M, Malet P, Deméocq F.** Molecular detection of a late-appearing BCR-ABL gene in a child with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol*, **1998**;77(1-2):55-59.
121. **Çefle K.** Kanser Genetiği. *Klinik gelişim*, **2009**;22(3):50-59.
122. **Deininger MW, Goldman JM, Melo JV.** The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*, **2000**;96:3343-3356.
123. **Stanglmaier M, Warmuth M, Kleinlein I, Reis S, Hallek M** The interaction of the Bcr-Abl tyrosine kinase with the Src kinase Hck is mediated by multiple binding domains. *Leukemia*, **2003**;17(2):283-289.
124. **Zelent A, Greaves M, Enver T.** Role of the TEL-AML1 fusion gene in the molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Oncogene*, **2004**;23(24):4275-4283.
125. **Lo Coco F, Pisegna S, Diverio D.** The AML1 gene: a transcription factor involved in the pathogenesis of myeloid and lymphoid leukemias. *Haematologica*, **1997**;82:364-370.
126. **Shaker HM, Sidhom IA, El-Attar IA.** Frequency and Clinical Relevance of TEL-AML1 Fusion Gene in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Egypt. *Journal of the Egyptian Nat Cancer Inst*, **2001**;13(1):9-18.

127. **Burmeister T, Gökbuget N, Schwartz S, Fischer L, Hubert D, Sindram A, Hoelzer D, Thiel E.** Clinical features and prognostic implications of TCF3-PBX1 and ETV6-RUNX1 in adult acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, **2010**;95(2):241-246.
128. **Lu Q, Wright DD, Kamps MP.** Fusion with E2A Converts the Pbx1 Homeodomain Protein into a Constitutive Transcriptional Activator in Human Leukemias Carrying the t(1;19) Translocation. *Mol Cell Biol*, **1994**;14(6):3938-3948.
129. **Sykes DB, Kamps MP.** E2a/Pbx1 induces the rapid proliferation of stem cell factor-dependent murine pro-T cells that cause acute T-lymphoid or myeloid leukemias in mice. *Mol Cell Biol*, **2004**;24(3):1256-1269.
130. **He G, Wu D, Zhang X, Li Y, Xin C, Zhang R.** Acute T cells lymphoblastic leukemia associated with t(1;19)(q23;p13)/E2A-PBX1 in an adult. *Leuk Res*, **2010**;34(1):15-16.
131. **Gue M, Sun JS, Boudier T.** Simultaneous localization of MLL, AF4 and ENL genes in interphase nuclei by 3D-FISH: MLL translocation revisited. *BMC Cancer*, **2006**;20:1-6.
132. **Xia ZB, Popovic R, Chen J, Theisler C, Stuart T, Santillan DA, Erfurth F, Diaz MO, Zeleznik-Le NJ.** The MLL fusion gene, MLL-AF4, regulates cyclin-dependent kinase inhibitor CDKN1B (p27kip1) expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2005**;102(39):14028-14033.
133. **Metzler M, Forster A, Pannell R, Arends MJ, Daser A, Lobato MN, Rabbitts TH.** A conditional model of MLL-AF4 B-cell tumorigenesis using inverter technology. *Oncogene*, **2006**;25(22):3093-3103.
134. **Caslini C, Alarcón AS, Hess JL, Tanaka R, Murti KG, Biondi A.** The amino terminus targets the mixed lineage leukemia (MLL) protein to the nucleolus, nuclear matrix and mitotic chromosomal scaffold. *Leukemia*, **2000**;14(11):1898-1908.
135. **Richter RJ, Jarvik GP, Furlong CE.** Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic organophosphate substrates. *Circ Cardiovasc Genet*, **2008**;1(2):147-152.
136. **Gupta N, Gill K, Singh S.** Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease. *Indian J Med Res*, **2009**;130(4):361-368.
137. **Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST.** The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*, **2005**;38(2):153-163.

138. **Zhu J, Ze Y, Zhang C, Zang Y, Lu H, Chu P, Sun M, Qin J.** High-level expression of recombinant human paraoxonase 1 Q in silkworm larvae (*Bombyx mori*). *Appl Microbiol Biotechnol*, **2006**;72(1):103-108.
139. **Karban A, Hartman C, Eliakim R, Waterman M, Nesher S, Barnett-Griness O, Shamir R.** Paraoxonase (PON)1 192R allele carriage is associated with reduced risk of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*, **2007**;52(10):2707-2715.
140. **Gülden Başkol, Kader Köse.** Paraoksonaz: biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Dergisi*, **2004**;26(2):75-80.
141. **Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E, Kılınc K.** Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: paraoksonaz. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **2005**;36:147-151.
142. **Kaya MO.** Meme Kanseri Olgularında Paraoksonaz (Pon1) Polimorfizminin Belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, **2009**.
143. **Türkoğlu S, Gülcü Bulmuş F, Parmaksız A, Özkan Y, Gürsu F.** Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz 1 ve Arilesteraz Aktivite Düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, **2008**;13(2): 110-115.
144. **Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN.** Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos*, **1991**;19(1):100-106.
145. **Draganov DI, La Du BN.** Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **2004**;369(1):78-88.
146. **Josse D, Xie W, Renault F, Rochu D, Schopfer LM, Masson P, Lockridge O.** Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry*, **1999**;38:2816-2825.
147. **Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN.** Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1995**;92:7187-7191.
148. **Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RB, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS.** Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol*, **2004**;11(5):412-419.

149. **Costa LG, Richter RJ, Li WF, Cole T, Guizzetti M, Furlong C.** Paraoxonase (PON1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. *Biomarkers*, **2003**;8:1-12.
150. **Holland N, Furlong C, Bastaki M, Richter R, Bradman A, Huen K, Beckman K, Eskenazi B.** Paraoxonase polymorphisms, haplotypes, and enzyme activity in Latino mothers and newborns. *Environ Health Perspect*, **2006**;114(7):985-991.
151. **Uysal S, Akyol S, Hasgül R, Armutcu F, Yiğitoğlu MR.** Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Dergisi*, **2011**;28(3):136-141.
152. **Lurie G, Wilkens LR, Thompson PJ, McDuffie KE, Carney ME, Terada KY, Goodman MT.** Genetic polymorphisms in the paraoxonase 1 gene and risk of ovarian epithelial carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2008**;17(8):2070-2077.
153. **Camuzcuoglu H, Arioz DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O.** Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, **2009**;112(3):481-485.
154. **Kelada SN, Costa-Mallen P, Checkoway H, Viemes HA, Farin FM, Smith-Weller T, Franklin GM, Costa LG, Longstreth WT Jr, Furlong CE, Jarvik GP, Swanson PD.** Paraoxonase 1 promoter and coding region polymorphisms in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, **2003**;74(4):546-547.
155. **Lee CH, Lee KY, Choe KH, Hong YC, Kim YD, Kang JW, Kim H.** Effects of oxidative DNA damage induced by polycyclic aromatic hydrocarbons and genetic polymorphism of the paraoxonase-1 (PON1) gene on lung cancer. *J Prev Med Public Health*, **2005**;38(3):345-350.
156. **Antognelli C, Mearini L, Talesa VN, Giannantoni A, Mearini E.** Association of CYP17, GSTP1, and PON1 polymorphisms with the risk of prostate cancer. *Prostate*, **2005**;63(3):240-251.
157. **Kerridge I, Lincz L, Scorgie F, Hickey D, Granter N, Spencer A.** Association between xenobiotic gene polymorphisms and non-Hodgkin's lymphoma risk. *Br J Haematol*, **2002**;118(2):477-481.
158. **Lincz LF, Kerridge I, Scorgie FE, Bailey M, Enno A, Spencer A.** Xenobiotic gene polymorphisms and susceptibility to multiple myeloma. *Haematologica*, **2004**;89(5):628-629.
159. **Naidu R, Har YC, Taib NA.** Genetic Polymorphisms of Paraoxonase 1 (PON1) Gene: Association Between L55M or Q192R with Breast Cancer Risk and Clinico-Pathological Parameters. *Pathol Oncol Res*, **2010**. [Epub ahead of print]

160. **Antikainen M, Murtomäki S, Syväne M, Pahlman R, Tahvanainen E, Jauhiainen M, Frick MH, Ehnholm C.** The Gln-Arg191 Polymorphism of the Human Paraoxonase Gene (HUMPONA) Is Not Associated with the Risk of Coronary Artery Disease in Finns. *J Clin Invest*, **1996**;98(4):883-885.
161. **Ombres D, Pannitteri G, Montali A, Candeloro A, Seccareccia F, Campagna F, Cantini R, Campa PP, Ricci G, Arca M.** The Gln-Arg192 Polymorphism of Human Paraoxonase Gene Is Not Associated With Coronary Artery Disease in Italian Patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1998**;18(10):1611-1616.
162. **Chen J, Kumar M, Chan W, Berkowitz G, Wetmur JG.** Increased influence of genetic variation on PON1 activity in neonates. *Environ Health Perspect*, **2003**;111:1403-1409.
163. **Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness ML.** Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2001**;21:1451-1457.
164. **Wang X, Fan Z, Huang J, Su S, Yu Q, Zhao J, Hui R, Yao Z, Shen Y, Qiang B, Gu D.** Extensive Association Analysis Between Polymorphisms of PON Gene Cluster With Coronary Heart Disease in Chinese Han Population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2003**;23(2):328-334.
165. **Zama T, Murata M, Matsubara Y, Kawano K, Aoki N, Yoshino H, Watanabe G, Ishikawa K, Ikeda Y.** A 192 Arg variant of the human paraoxonase (HUMPONA) gene polymorphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1997**;17(12):3565-3569.
166. **Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyigit EE, Roots I.** Paraoxonase 1 mutations in a Turkish population. *Toxicol Appl Pharmacol*, **1999**;157(3):174-177.
167. **Karakaya A, Suzen S, Sardas S, Karakaya AE, Vural N.** Analysis of the serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. *Pharmacogenetics*, **1991**;1:58-61.
168. **Agachan B, Yilmaz H, Ergen HA, Karaali ZE, Isbir T.** Paraoxonase (PON1) 55 and 192 Polymorphism and Its Effects to Oxidant-Antioxidant System in Turkish Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiol. Res*, **2005**;54:287-293.
169. **Fong CS, Cheng CW, Wu RM.** Pesticides Exposure and Genetic Polymorphism of Paraoxonase in the Susceptibility of Parkinson's Disease. *Acta Neurol Taiwan*, **2005**;14(2):55-60.

170. **Grdic Mĭ, Barisic K, Rumora L, Salamunic I, Tadijanovic M, Grubusic TZ, Psikalova R, Flegar-Mestric Z, Juretic D.** Genetic Frequencies of Paraoxonase 1 Gene Polymorphisms in Croatian Population. *Croat Chem Acta*, **2008**;81(1):105-111.
171. **Bub A, Barth S, Watzl B, Briviba K, Herbert BM, Lührmann PM, Neuhäuser-Berthold M, Rechkemmer G.** Paraoxonase 1 Q192R (PON1-192) polymorphism is associated with reduced lipid peroxidation in R-allele-carrier but not in QQ homozygous elderly subjects on a tomato-rich diet. *Eur J Nutr*, **2002**;41(6):237-243.
172. **Kohlmeier L, Kark JD, Gomez Gracia E, Martin BC, Steck SE, Kardinaal AFM, Ringstad J, Thamm M, Masaev V, Riemersma R, Martin Moreno JM, Huttunen JK, Kok FJ .** Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol*, **1997**;146(8):618-626.
173. **Rissanen TH, Voutilainen S, Nyysönen K, Lakka TA, Sivenius J, Salonen R, Kaplan GA, Salonen JT.** Low serum lycopene concentration is associated with an excess incidence of acute coronary events and stroke: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Br J Nutr*, **2001**;85:749-754.
174. **Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alftha G, Mutanen M.** Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis*, **2002**;160(2):425-432.
175. **Carmine A, Buervenich S, Sydow O, Anvret M, Olson L.** Further evidence for an association of the paraoxonase 1 (PON1) Met-54 allele with Parkinson's disease. *Mov Disord*, **2002**;17(4):764-766.
176. **Huen K, Harley K, Brooks J, Hubbard A, Bradman A, Eskenazi B, Holland N.** Developmental changes in PON1 enzyme activity in young children and effects of PON1 polymorphisms. *Environ Health Perspect*, **2009**;117(10):1632-1638.
177. **Gaidukov L, Tawfik DS.** High affinity, stability, and lactonase activity of serum paraoxonase PON1 anchored on HDL with ApoA-I. *Biochemistry*, **2005**;44(35):11843-11854.
178. **Deakin SP, James RW.** Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci (Lond)*, **2004**;107(5):435-447.
179. **Van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HF.** Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis*, **1999**;147(2):405-410.
180. **Varatharajalu R, Garige M, Leckey LC, Gong M, Lakshman MR.** Betaine protects chronic alcohol and omega-3 PUFA-mediated down-regulations of PON1 gene, serum PON1 and

- homocysteine thiolactonase activities with restoration of liver GSH. *Alcohol Clin Exp Res*, **2010**;34(3):424-431.
181. **Jakubowski H**. The molecular basis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease. *Clin Chem Lab Med*, **2007**;45:1704-1716.
182. **Lakshman MR, Gottipati CS, Narasimhan SJ, Munoz J, Marmillot P, Nylon ES**. Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thio-lactonase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, **2006**;55:1201-1206.
183. **Ferre N, Camps J, Fernandez-Ballart J, Arijia V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnes E, Vilella E, Tous M, Joven J**. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem*, **2003**;49(9):1491-1497.
184. **Rajkovic MG, Rumora L, Barisic K**. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochemia Medica*, **2011**;21(2):122-130.
185. **Mackness B, Durrington PN, Mackness ML**. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*, **2002**;13:357-362.
186. **Li HL, Liu DP, Liang CC**. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med*, **2003**;81:766-779.
187. **Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN**. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem*, **2000**;275(43):33435-33442.
188. **Altınışık M**. Hücre Enerji Metabolizması. Erişim: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-20.pdf>. Erişim tarihi: 03.01.2012.
189. **Chistiakov DA, Savost'anov KV, Turakulov RI, Titovich EV, Zilberman LI, Kuraeva TL, Dedov II, Nosikov VV**. A new type 1 diabetes susceptibility locus containing the catalase gene (chromosome 11p13) in a Russian population. *Diabetes Metab Res Rev*, **2004**;20(3):219-224.
190. **Çaylak E, Halifeoğlu İ**. Kurşunun çocuklardaki antioksidan enzimler üzerine etkileri ve antioksidanların tedavi edici/koruyucu rolü. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **2010**;53:159-173.

191. **Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I.** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, **1999**; 32:595-603.
192. **Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R.** Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys*, **2001**;389(1):84-93.
193. **Oh B, Kim SY, Kim DJ, Lee JY, Lee JK, Kimm K, Park BL, Shin HD, Kim TH, Park EK, Koh JM, Kim GS.** Associations of catalase gene polymorphisms with bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. *J Med Genet*, **2007**;44(1):1-6.
194. **Dröge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, **2002**;82(1):47-95.
195. **Galecki P, Szemraj J, Zboralski K, Florkowski A, Lewinski A.** Relation between functional polymorphism of catalase gene (-262C>T) and recurrent depressive disorder. *Neuro Endocrinol Lett*, **2009**;30(3):357-362.
196. **Goth L, Vitai M.** Polymorphism of 52 of the catalase gene in Hungarian acatalasemia and hypocatalasemia. *Electrophoresis*, **1997**;18(7):1105-1108.
197. **Liu L, Li C, Gao J, Li K, Zhang R, Wang G, Li C, Gao T.** Promoter variant in the catalase gene is associated with vitiligo in chinese people. *J Invest Dermatol*, **2010**; 130(11):2647-2653.
198. Erişim: <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg19&hgFind=omimGeneAcc&position=11550>. Erişim tarihi: 20.01.2012.
199. **Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA, Kozuhov MA, Panfilov VI.** Tobacco Smoking, Fruit and Vegetable Intake Modify Association Between -21A>T Polymorphism of Catalase Gene and Risk of Bronchial Asthma. *Journal of Asthma*, **2009**;46:217-224.
200. **Kósa Z, Fejes Z, Nagy T, Csordás M, Simics E, Remenyik E, Góth L.** Catalase 2262C>T polymorphisms in Hungarian vitiligo patients and in controls: further acatalasemia mutations in Hungary. *Mol Biol Rep*. **2012**;39(4):4787-4795.
201. **Forsberg L, Lyrenas L, de Faire U, Morgenstern R.** A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels. *Free Radic Biol Med*. **2001**;30(5):500-505.

202. **Mak JC, Leung HC, Ho SP, Ko FW, Cheung AH, Ip MS, Chan-Yeung MM** Polymorphisms in manganese superoxide dismutase and catalase genes: functional study in Hong Kong Chinese asthma patients. *Clin Exp Allergy*, **2006**;36(4):440-447.
203. **Bulut H, Pehlivan M, Alper S, Tomatir AG, Onay H, Yuksel SE, Ozkinay F, Pehlivan S.** Lack of association between catalase gene polymorphism (T/C exon 9) and susceptibility to vitiligo in a Turkish population. *Genet Mol Res*, **2011**;31;10(4).
204. **Casp CB, She JX, McCormack WT.** Genetic association of the catalase gene (CAT) with vitiligo susceptibility. *Pigment Cell Res*, **2002**;15(1):62-66
205. **Gavalas NG, Akhtar S, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP, Kemp EH.** Analysis of allelic variants in the catalase gene in patients with the skin depigmenting disorder vitiligo. *Biochem Biophys Res Commun*, **2006**;345:1586-1591.
206. **Park HH, Ha E, Uhm YK, Jin SY, Kim YJ, Chung JH, Lee MH.** Association study between catalase gene polymorphisms and the susceptibility to vitiligo in Korean population. *Exp Dermatol*, **2006**;15(5):377-380.
207. **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **1988**; 16: 1215.
208. **Rea IM, McKeown PP, McMaster D, Young IS, Patterson C, Savage MJ, Belton C, Marchegiani F, Olivieri F, Bonafe M, Franceschi C.** Paraoxonase polymorphisms PON1 192 and 55 and longevity in Italian centenarians and Irish nonagenarians. A pooled analysis. *Exp Gerontol*, **2004**;39(4):629-635.
209. **Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN.** The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet*, **1983**;35:1126-1138.
210. **Aebi H.** Catalase In: Bergmeyer U, ed. Methods of enzymatic analysis. New York and London *Academic Press*. **1974**, 673-677.
211. **Arca M, Ombres D, Montali A, Campagna F, Mangieri E, Tanzilli G, Campa PP, Ricci G, Verna R, Pannitteri G.** PON1 L55M polymorphism is not a predictor of coronary atherosclerosis either alone or in combination with Q192R polymorphism in an Italian population. *Eur J Clin Invest*, **2002**;32(1):9-15.
212. **Sanghera DK, Saha N, Kamboh ML.** The codon 55 polymorphism in the paraoxonase 1 gene is not associated with the risk of coronary heart disease in Asian Indians and Chinese. *Atherosclerosis*, **1998**;136(2):217-223.

213. **Thyagarajan B, Jacobs DR Jr, Carr JJ, Alozie O, Steffes MW, Kailash P, Hayes JH, Gross MD.** Factors associated with paraoxonase genotypes and activity in a diverse, young, healthy population: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Clin Chem*, **2008**;54(4):738-746.
214. **Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, McNamara DM, Holubkov R, Sharaf BL, Sopko G, Pauly DF, Merz CN, Kamboh MI; WISE Study Group.** Association between the Severity of Angiographic Coronary Artery Disease and Paraoxonase Gene Polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute–Sponsored Women’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. *Am J Hum Genet*, **2003**;72(1):13-22.
215. **Lakshmy R, Ahmad D, Abraham RA, Sharma M, Vemparala K, Das S, Reddy KS, Prabhakaran D.** Paraoxonase gene Q192R & L55M polymorphisms in Indians with acute myocardial infarction & association with oxidized low density lipoprotein. *Indian J Med Res*, **2010**;131:522-529.
216. **Antognelli C, Del Buono C, Ludovini V, Gori S, Talesa VN, Crinò L, Barberini F, Rulli A.** CYP17, GSTP1, PON1 and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer*, **2009**;9:115.
217. **Hussein YM, Gharib AF, Eteawa RL, ElSawy WH.** Association of L55M and Q192R polymorphisms in paraoxonase 1 (PON1) gene with breast cancer risk and their clinical significance. *Mol Cell Biochem*, **2011**;351(1-2):117-123.
218. **Hashemi M, Moazeni-Roodi AK, Fazaeli A, Sandoughi M, Taheri M, Bardestani GR, Zakeri Z, Kordi-Tamandani DM, Ghavami S.** The L55M polymorphism of paraoxonase-1 is a risk factor for rheumatoid arthritis. *Genet Mol Res*, **2010**;9(3):1735-1741.
219. **Sidoti A, Antognelli C, Rinaldi C, D'Angelo R, Dattola V, Girlanda P, Talesa V, Amato A.** Glyoxalase I A111E, paraoxonase 1 Q192R and L55M polymorphisms: susceptibility factors of multiple sclerosis? *Mult Scler*, **2007**;13(4):446-453.
220. **Unür M, Demirez E, Ağaçhan B, Görmüş U, Ergen A, Dalan B, Isbir T.** The relationship of oral disturbances of diabetes mellitus patients with paraoxonase gene polymorphisms. *Cell Biochem Funct*, **2008**;26(8):870-873.
221. **Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, Isbir T.** Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct*, **2004**;22(3):163-168.

222. **Altuner D, Ates I, Suzen SH, Koc GV, Aral Y, Karakaya A.** The relationship of PON1 QR 192 and LM 55 polymorphisms with serum paraoxonase activities of Turkish diabetic patients. *Toxicol Ind Health*, **2011**;27(10):873-878.
223. **Ergun MA, Yurtcu E, Demirci H, Ilhan MN, Barkar V, Yetkin I, Menevse A.** PON1 55 and 192 Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetes Mellitus Patients in a Turkish Population. *Biochem Genet*, **2011**;49:1-8.
224. **Demirez E.** Tip 2 Diabetik Hastalarda Paraoksonaz (Pon 55 ve Pon 192) Gen Polimorfizmlerinin Serum Paraoksonaz Aktivitesi ile Etkileşimlerinin Ağız Dokusu Harabiyetiyle Olan İlişkisinin Araştırılması. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2006**.
225. **Önderci M.** Tip 2 Diyabetli Hastalarda Paraoksonaz 1 L/M 55 Ve Q/R 192 Polimorfizmlerinin Paraoksonaz 1 Ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri İle Lipid Düzeyleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, **2007**.
226. **Sesal C, Ciloglu F, Peker I, Sayar N.** Role of angiotensin converting enzyme, paraoxonase 1 55, 192 gene polymorphisms in syndrome X and coronary heart disease. *Pak J Biol Sci*, **2009**;12(1):46-51.
227. **Taşkıran P.** Koroner arter hastalığı riski ile Paraoksonase (PON1) Geninde Leu-Met (55) ve Gln-Arg (192) polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Manisa, **2005**.
228. **Yıldırım S, Akar S, Kuyucu M, Yıldırım A, Dane S, Aygül R.** Paraoksonase 1 gene polymorphisms, paraoxonase/arylesterase activities and oxidized low-density lipoprotein levels in patients with migraine. *Cell Biochem Funct*, **2011**;29:549-554.
229. **Erden İ.** ST elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) hastalarda insan paraoksonase geni Met-Leu/55 polimorfizmi. Uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul, **2004**.
230. **İsbilen E, Yılmaz H, Arzu Ergen H, Unlucerci Y, İsbir T, Gurdol F.** Association of Paraoksonase 55 and 192 Gene Polymorphisms on Serum Homocysteine Concentrations in Preeclampsia. *Folia Biol (Praha)*, **2009**;55(2):35-40.
231. **Cherki M, Berrougui H, Isabelle M, Cloutier M, Koumbadinga GA, Khalil A.** Effect of PON1 polymorphism on HDL antioxidant potential is blunted with aging. *Exp Gerontol*, **2007**;42(8):815-824.

232. **Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE** Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene(*PON1*) expression. *Am J Hum Genet*, **2001**;68(6):1428-1436.
233. **Aynacioglu AS, Kepekci Y** The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in Turkish patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*, **2000**;74(1):33-37.
234. **El-Sohehy A, Cornelis MC, Park YW, Bae SC**. Catalase and PPARgamma2 genotype and risk of rheumatoid arthritis in Koreans. *Rheumatol Int*, **2006**;26(5):388-392.
235. **Eny KM, El-Sohehy A, Cornelis MC, Sung YK, Bae SC**. Catalase and PPARg2 genotype and risk of systemic lupus erythematosus in Koreans. *Lupus*, **2005**;14(5):351-355.
236. **Goulas A, Fidani L, Kotsis A, Mirtsou V, Petersen RC, Tangalos E, Hardy J**. An association study of a functional catalase gene polymorphism, -262C->T, and patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, **2002**;330(2):210-213.
237. **Capurso C, Solfrizzi V, D'Introno A, Colacicco AM, Capurso SA, Bifaro L, Menga R, Santamato A, Seripa D, Pilotto A, Capurso A, Panza F**. Short arm of chromosome 11 and sporadic Alzheimer's disease: Catalase and cathepsin D gene polymorphisms. *Neurosci Lett*, **2008**;432(3):237-242.
238. **Franko A, Dolzan V, Arnerić N, Dodic-Fikfak M** Asbestosis and catalase genetic polymorphism. *Arh Hig Rada Toksikol*, **2008**;59(4):233-240.
239. **Lightfoot TJ, Skibola CF, Smith AG, Forrest MS, Adamson PJ, Morgan GJ, Bracci PM, Roman E, Smith MT, Holly EA**. Polymorphisms in the oxidative stress genes, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*, **2006**;91(9):1222-1227.
240. **Mak JC, Ho SP, Yu WC, Choo KL, Chu CM, Yew WW, Lam WK, Chan-Yeung M** Polymorphisms and functional activity in superoxide dismutase and catalase genes in smokers with COPD. *Eur Respir J*, **2007**;30(4):684-690.
241. **Dutkiewicz G, Domanski L, Pawlik A, Binczak-Kuleta A, Safranow K, Ciechanowicz A, Dziedziejko V, Pietrzak-Nowacka M, Ciechanowski K** Polymorphisms of Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase and Catalase Genes in Patients with Post-transplant Diabetes Mellitus. *Arch Med Res*, **2010**;41(5):350-355.

242. **Chistiakov DA, Zotova EV, Savost'yanov KV, Bursa TR, Galeev IV, Stokov IA, Nosikov VV.** The 262T>C promoter polymorphism of the catalase gene is associated with diabetic neuropathy in type 1 diabetic Russian patients. *Diabetes Metab*, **2006**;32(1):63-68.
243. **Hovnik T, Dolzan V, Bratina NU, Podkrajsek KT, Battelino T.** Genetic polymorphisms in genes encoding antioxidant enzymes are associated with diabetic retinopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, **2009**;32(12):2258-2262.
244. **Quick SK, Shields PG, Nie J, Platek ME, McCann SE, Hutson AD, Trevisan M, Vito D, Modali R, Lehman TA, Seddon M, Edge SB, Marian C, Muti P, Freudenheim JL.** Effect modification by catalase genotype suggests a role for oxidative stress in the association of hormone replacement therapy with postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2008**;17(5):1082-1087.
245. **Ahn J, Nowell S, McCann SE, Yu J, Carter L, Lang NP, Kadlubar FF, Ratnasinghe LD, Ambrosone CB.** Associations between catalase phenotype and genotype: modification by epidemiologic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2006**;15(6):1217-1222.
246. **Abdin AA, Hassanien MA, Ibrahim EA, El-Noeman Sel-D.** Modulating effect of atorvastatin on paraoxonase 1 activity in type 2 diabetic Egyptian patients with or without nephropathy. *J Diabetes Complications*, **2010**;24(5):325-333.
247. **Coria MJ, Pastran AI, Gimenez MS.** Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. *Acta Biomed*, **2009**;80(2):135-139.
248. **Chen X, Wu Y, Liu L, Su Y, Peng Y, Jiang L, Liu X, Huang D.** Relationship Between High Density Lipoprotein Antioxidant Activity and Carotid Arterial Intima-Media Thickness in Patients with Essential Hypertension. *Clin Exp Hypertens*, **2010**;32(1):13-20.
249. **Nowak M, Wielkoszyński T, Marek B, Kos-Kudła B, Swietochowska E, Siemińska L, Karpe J, Kajdaniuk D, Głogowska-Szeląg J, Nowak K.** Antioxidant potential, paraoxonase 1, ceruloplasmin activity and C-reactive protein concentration in diabetic retinopathy. *Clin Exp Med*, **2010**;10(3):185-192.
250. **Eom SY, Kim YS, Lee CJ, Lee CH, Kim YD, Kim H.** Effects of Intronic and Exonic Polymorphisms of Paraoxonase 1 (*PON1*) Gene on Serum PON1 Activity in a Korean Population. *J Korean Med Sci*, **2011**;26(6):720-725.
251. **Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN.** Serum Paraoxonase After Myocardial Infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1999**;19(2):330-335.

252. **Chia SE, Mohamed Ali S, Yap PH, Gan L, Ong YB, Chia KS.** Distribution of PON1 polymorphisms PON1Q192R and PON1L55M among Chinese, Malay and Indian males in Singapore and possible susceptibility to organophosphate exposure. *Neurotoxicology*, **2009**;30(2):214-219.
253. **López-Flores I, Lacasaña M, Blanco-Muñoz J, Aguilar-Garduño C, Sanchez-Villegas P, Pérez-Méndez OA, Gamboa-Avila R.** Relationship between human paraoxonase-1 activity and PON1 polymorphisms in Mexican workers exposed to organophosphate pesticides. *Toxicol Lett*, **2009**;188(2):84-90.
254. **Kilic SS, Aydin S, Kilic N, Erman F, Aydin S, Celik I.** Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. *World J Gastroenterol*, **2005**;11(46):7351-7354.
255. **Barim AO, Aydin S, Colak R, Dag E, Deniz O, Sahin I.** Ghrelin, paraoxonase and arylesterase levels in depressive patients before and after citalopram treatment. *Clin Biochem*, **2009**;42(10-11):1076-1081.
256. **Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N, Atamer Y.** The Importance of Paraoxonase 1 Activity, Nitric Oxide and Lipid Peroxidation in Hepatosteatosis. *J Int Med Res*, **2008**;36(4):771-776.
257. **Ates O, Azizi S, Alp HH, Kiziltunc A, Beydemir S, Cinici E, Kocer I, Baykal O.** Decreased serum paraoxonase 1 activity and increased serum homocysteine and malondialdehyde levels in age-related macular degeneration. *Tohoku J Exp Med*, **2009**;217(1):17-22.
258. **Varoglu AO, Yildirim A, Aygul R, Gundogdu OL, Sahin YN.** Effects of Valproate, Carbamazepine, and Levetiracetam on the Antioxidant and Oxidant Systems in Epileptic Patients and Their Clinical Importance. *Clin Neuropharmacol*, **2010**;33(3):155-157.
259. **Selek S, Aslan M, Horoz M, Gur M, Erel O.** Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clin Biochem*, **2007**;40(5-6):287-291.
260. **Ciftci H, Yeni E, Savas M, Verit A, Celik H.** Paraoxonase activity in patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, **2007**;19(5):517-520.
261. **Göçmen AY, Sahin E, Semiz E, Gümuşlü S.** Is elevated serum ceruloplasmin level associated with increased risk of coronary artery disease? *Can J Cardiol*, **2008**;24(3):209-212.
262. **Uzun H, Yanardag H, Gelisgen R, Genc H, Uygun S, Vehid S, Karter Y, Demirci S.** Levels of paraoxonase, an index of antioxidant defense, in patients with active sarcoidosis. *Curr Med Res Opin*, **2008**;24(6):1651-1657.

263. **Sözmen EY, Sözmen B, Delen Y, Onat T.** Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res*, **2001**;32(4):283-287.
264. **Lu C, Gao Y, Zhou H, Tian H.** The relationships between PON1 activity as well as oxLDL levels and coronary artery lesions in CHD patients with diabetes mellitus or impaired fasting glucose. *Coron Artery Dis*, **2008**;19(8):565-573.
265. **Samy W, Hassanian MA.** Paraoxonase-1 activity, malondialdehyde and glutathione peroxidase in non-alcoholic fatty liver disease and the effect of atorvastatin. *Arab J Gastroenterol*, **2011**;12(2):80-85.
266. **Ali EM, Shehata HH, Ali-Labib R, Esmail Zahra LM.** Oxidant and antioxidant of arylesterase and paraoxonase as biomarkers in patients with hepatitis C virus. *Clin Biochem*, **2009**;42(13-14):1394-1400.
267. **Harangi M, Mirdamadi HZ, Seres I, Sztanek F, Molnár M, Kassai A, Derdák Z, Illyés L, Paragh G.** Atorvastatin effect on the distribution of high-density lipoprotein subfractions and human paraoxonase activity. *Transl Res*, **2009**;153(4):190-198.
268. **Maffei F, Angeloni C, Malaguti M, Moraga JM, Pasqui F, Poli C, Colecchia A, Festi D, Hrelia P, Hrelia S.** Plasma antioxidant enzymes and clastogenic factors as possible biomarkers of colorectal cancer risk. *Mutat Res*, **2011**;714(1-2):88-92.
269. **Yıldırım A, Aslan Ş, Ocak T, Yıldırım S, Kara F, Şahin YN.** Travmalı Hastalarda Serum Paraoksonaz/Arilesteraz Aktiviteleri ve Malondialdehit Düzeyleri. *Eurasian J Med*, **2007**;39:85-88.
270. **Akçay MN, Polat MF, Yılmaz I, Akçay G.** Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*, 2003;50 Suppl 2:ccxxv-ccxxvii.
271. **Mansour RB, Lassoued S, Gargouri B, El Gaïd A, Attia H, Fakhfakh F.** Increased levels of autoantibodies against catalase and superoxide dismutase associated with oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol*, **2008**;37(2):103-108.
272. **Lin CC, Yin MC.** B vitamins deficiency and decreased anti-oxidative state in patients with liver cancer. *Eur J Nutr*, **2007**;46(5):293-299.

273. **Shah D, Wanchu A, Bhatnagar A.** Interaction between oxidative stress and chemokines: Possible pathogenic role in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Immunobiology*, **2011**;216(9):1010-1017.
274. **Al-Gayyar MM, Eissa LA, Rabie AM, El-Gayar AM.** Measurements of oxidative stress status and antioxidant activity in chronic leukaemia patients. *J Pharm Pharmacol*, **2007**;59(3):409-417.
275. **Negahdar M, Djalali M, Abtahi H, Sadeghi MR, Aghvami T, Javadi E, Layegh H.** Blood Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Women Affected with Breast Cancer. *Iranian J Publ Health*, **2005**;34(3):39-43.
276. **Turgut M, Başaran O, Cekmen M, Karataş F, Kurt A, Aygün AD.** Oxidant and antioxidant levels in preterm newborns with idiopathic hyperbilirubinaemia. *J Paediatr Child Health*, **2004**;40(11):633-637.
277. **Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F.** Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*, **2005**;227(2):133-139.
278. **İşçi N.** Romatoid artritli hastaların eritrosit ve plazmalarında süperoksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri. Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, **1997**.
279. **Köse M.** Tip II diabetes mellituslu hastalarda eritrosit içi süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeyleri. Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, **1997**.
280. **Demir C, Demir H, Esen R, Atmaca M, Tagdemir E.** Erythrocyte catalase and carbonic anhydrase activities in acute leukemias. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2010**;11(1):247-250.
281. **Ece A, Kelekçi S, Kocamaz H, Hekimoğlu A, Balik H, Yolbaş I, Erel O.** Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch–Schönlein purpura. *Clin Rheumatol*, **2008**;27(2):163-169.
282. **Altındag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M.** Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int*, **2007**;27(4):339-344.
283. **Cemek M, Caksen H, Cemek F, Bayiroğlu F, Dede S, Dülger H, Ustün R.** Investigation of antioxidant status in children with acute otitis media and tonsillitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, **2004**;68(11):1381-1385.

284. **Berköz M, Yalın S, Güler VG, Yalçın A.** Akut Lösemilerde Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesi. *Erciyes Tıp Dergisi*, **2008**;30(3):157-162.
285. **Ulker O, Yucesoy B, Demir O, Tekin I, Karakaya A.** Serum and BAL cytokine and antioxidant enzyme levels at different stages of pneumoconiosis in coal workers. *Hum Exp Toxicol*, **2008**;27(12):871-877.
286. **Karlıdağ T, İlhan N, Kaygusuz I, Keleş E, Yalçın S.** Comparison of free radicals and antioxidant enzymes in chronic otitis media with and without tympanosclerosis. *Laryngoscope*, **2004**;114(1):85-89.
287. **Esme H, Cemek M, Sezer M, Sağlam H, Demir A, Melek H, Unlu M.** High levels of oxidative stress in patients with advanced lung cancer. *Respirology*, **2008**;13(1):112-116.
288. **Battisti V, Maders LD, Bagatini MD, Santos KF, Spanevello RM, Maldonado PA, Brulé AO, Araújo Mdo C, Schetinger MR, Morsch VM.** Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukemia patients. *Clin Biochem*, **2008**;41(7-8):511-518.
289. **Fleischhack G, Kambeck I, Cipic D, Hasan C, Bode U.** Procalcitonin in paediatric cancer patients: Its diagnostic relevance is superior to that of C-reactive protein, interleukin 6, interleukin 8, soluble interleukin 2 receptor soluble tumour necrosis factor receptor II. *Br J Haematol*, **2000**;111:1093-1102.
290. **Pepys MB, Hirschfield GM.** C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*, **2003**;111(12):1805-1812.
291. **Aslan V, Akay OM, Gülbaş Z.** C-Reactive Protein in the Follow-up and Estimation of Infections in Acute Leukemic Patients. *Turk J Haematol*, **2003**;20(2):75-80.
292. **Santolaya ME, Cofre J, Beresi V.** C-reactive protein: A valuable aid for the management of febrile children with cancer and neutropenia. *Clin Infect Dis*, **1994**;18:589-595.
293. **Rasic-Milutinovic Z, Popovic T, Perunicic-Pekovic G, Arsic A, Borozan S, Glibetic M.** Lower Serum Paraoxonase-1 Activity Is Related to Linoleic and Docosahexanoic Fatty Acids in Patients with Type 2 Diabetes. *Arch Med Res*. **2012** Jan 2. [Epub ahead of print]
294. **Ece A, Gürkan F, Kervancıoğlu M, Kocamaz H, Güneş A, Atamer Y, Selek S.** Oxidative stress, inflammation and early cardiovascular damage in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol*, **2006**;21(4):545-552.

295. **Taysi S, Demircan B, Akdeniz N, Atasoy M, Sari RA.** Oxidant/antioxidant status in men with Behçet's disease. *Clin Rheumatol*, 2007;26(3):418-422.
296. **Marchesani M, Hakkarainen A, Tuomainen TP, Kaikkonen J, Pukkala E, Uimari P, Seppälä E, Matikainen M, Kallioniemi OP, Schleutker J, Lehtimäki T, Salonen JT.** New Paraoxonase 1 Polymorphism I102V and the Risk of Prostate Cancer in Finnish Men. *J Natl Cancer Inst*, 2003;95(11):812-818.
297. **Van Himbergen TM, Roest M, de Graaf J, Jansen EH, Hattori H, Kastelein JJ, Voorbij HA, Stalenhoef AF, Van Tits LJ.** Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res*, 2005;46(3):445-451.
298. **Hasselwander O, Savage DA, McMaster D, Loughrey CM, McNamee PT, Middleton D, Nicholls DP, Maxwell AP, Young IS.** Paraoxonase polymorphisms are not associated with cardiovascular risk in renal transplant recipients. *Kidney Int*, 1999;56(1):289-298
299. **Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH, Hatsukami TS, Richter RJ, Schellenberg GD, Furlong CE.** Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1(192) or PON1(55) genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000;20(11):2441-2447.
300. **Abdel-Azeez HA, Sharaf SM, Emerah AA, Shoeib SA.** Paraoxonase 1 activity and genotyping in systemic lupus erythematosus and their relationships with cardiovascular complications. *Egypt J Med Hum Genet*, 2008;9(2):201-214.
301. **Aksoy P.** Akciğer kanserinde paraoksonaz 192 ve 55 gen polimorfizmleri ve serum paraoksonaz aktivitesinin incelenmesi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, 2005.
302. **Nadif R, Mintz M, Jedlicka A, Bertrand JP, Kleeberger SR, Kauffmann F.** Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli. *Free Radic Res*, 2005;39(12):1345-1350.
303. **Ahsan H, Chen Y, Kibriya MG, Islam MN, Slavkovich VN, Graziano JH, Santella RM.** Susceptibility to arsenic-induced hyperkeratosis and oxidative stress genes myeloperoxidase and catalase. *Cancer Lett*, 2003;201(1):57-65.
304. **Ho JC, Mak JC, Ho SP, Ip MS, Tsang KW, Lam WK, Chan-Yeung M.** Manganese Superoxide Dismutase and Catalase Genetic Polymorphisms, Activity Levels, and Lung Cancer Risk in Chinese in Hong Kong. *J Thorac Oncol*, 2006;1(7):648-653.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Malatya'da doğdu. İlk ve orta eğitimini Malatya'da, lise eğitimini Mersin'de tamamladı. 1987 yılında Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve iki yıl okudu. 1989 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesinde eğitim görmeye başladı ve 1995 yılında mezun oldu. 1996-1999 yılları arasında Erzurum Narman Sağlık Ocağı, Malatya Erkenek Sağlık Ocağı, Mersin Karaduvar Sağlık Ocağında doktor olarak görev yaptı. 2000 tarihinden itibaren Mersin İl Ambulans Servisi Komuta Kontrol Merkezinde çalışmakta.

2003 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve 2006'da tamamladı. 2007 yılında aynı bölümde doktora eğitimine başladı. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında doktora eğitimine devam etmekte.