

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ABDOMİNAL AORT ANEVİZMALI HASTALARDA SERUM
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS

MİRAY REYHAN

BALIKESİR, MAYIS - 2016

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ABDOMİNAL AORT ANEVİZMALI HASTALARDA SERUM
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS

MİRAY REYHAN

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Oktay ARSLAN(Tez Danışmanı)

Doç. Dr. Abdulkadir ERCAN (Eş Danışmanı)

Doç. Dr. Nahit GENCER

Yrd. Doç.Dr. Dudu DEMİR

Yrd. Doç.Dr. Semra IŞIK

BALIKESİR, MAYIS - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

MİRAY REYHAN tarafından hazırlanan "ABDOMİNAL AORT ANEVİZMALI HASTALARDA SERUM PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 30.05.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

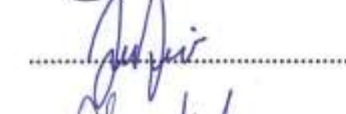
Danışman
Prof. Dr. Oktay ARSLAN



Eş Danışman
Doç .Dr. Abdulkadir ERCAN



Üye
Doç. Dr. Nahit GENCER



Üye
Yrd. Doç.Dr. Dudu DEMİR



Üye
Yrd. Doç.Dr. Semra IŞIK

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma
Projeler Birimi tarafından 2014/120 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

**ABDOMİNAL AORT ANEVİZMALI HASTALARDA SERUM
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİRAY REYHAN
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. OKTAY ARSLAN)
(EŞ DANIŞMAN: DOÇ. DR. ABDULKADİR ERCAN)
BALIKESİR, MAYIS - 2016**

İnsan serum paraoksonaz (PON1) enzimi vücutta antioksidan özelliği gösteren en önemli enzimlerden biridir. Bu enzim sayesinde vücutta oluşan serbest radikaller etkisiz hale gelmektedir.

Abdominal aort anevrizması, karın aortunun serbest radikaller ve diğer etkenler sonucu damarın kollajen ve elastik yapısını kaybedip kan basıncına dayanamayarak yırtılması sebebi ile sonu ölümlle sonuçlanan bir hastalıktır. Bu hastalığa sahip insanların serbest radikal seviyesinin yüksek olduğu daha önceden bilinmektedir. Buna karşılık yaptığımız araştırmada bu hastalığa sahip insanların kanlarında PON1 enzim seviyesinin ise düşük olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada hastaların kan serumundaki PON1 seviyesi polimorfizm türlemesi yapılarak belirlenmiş ve hastalığın enzim ile ilişkisi yakından incelenmiştir.

Araştırmalarımız sonucu 56 hasta olgunun 23'ünün (%41,1) QQ, 23'ünün (%41,1) QR, 10'unun (%17,9) RR fenotipi gösterdiği bulunmuştur. Kontrol grubun ise 6'sının (%23,1) QQ, 8'inin (%30,8) QR, 12'sinin ise (%46,12) RR grubu olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Abdominal aort anevrizması, PON1, polimorfizm.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SERUM PARAOXONASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH ABDOMINAL AORTIC ANEURYSMS

MSC THESIS

MİRAY REYHAN

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. OKTAY ARSLAN)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ABDULKADİR ERCAN)

BALIKESİR, MAY 2016

Human serum paraoxonase enzyme (PON1) is one of the most important enzymes in the body with an antioxidant feature. Free radicals form in the body are defused by paraoxonase.

Abdominal aortic aneurysm is a fatal illness because of the free radicals and other factors, blood vessels can lose its collagen and elastic structure on abdominal aorta thus the blood vessel cannot stand to blood pressure. It is previously known that human who had this illness, have high free radical level. According to our study, people who have this illness also have low level PON1 enzyme in their blood.

In this research, patients' serum PON1 level was determined by making polymorphizm diversification, and illness-enzyme connection is examined closely.

Our research indicated that 23 of 56 adult patients (%41,1) QQ, 23 of them (%41,1) QR, and 10 of them (%17,9) are RR phenotype. Moreover, it is determined that in our control group, 6 of them are (%23,1) QQ, 8 of them are on (%30,8) QR, and 12 of them are (%46,12) RR group.

KEYWORDS: Abdominal aortic aneurysm, PON1, polymorphism.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	v
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Paraoksonaz Enzimi (PON).....	2
1.1.1 Adlandırılması	3
1.1.2 Paraoksonaz Gen Ailesi	4
1.1.3 Paraoksonazın Biyokimyasal Yapısı	4
1.1.4 PON 1' in HDL ile İlişkisi	6
1.1.5 PON1' in Sentezlenmesi ve Salgılanması	7
1.1.6 PON1' in Katalitik Mekanizması	8
1.1.7 Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları	9
1.1.8 Enzimin Hastalıklarla İlişkisi.....	12
1.1.9 Paraoksonazın Aktivitesini Etkileyen Faktörler	14
1.1.10 PON1 Polimorfizmi	14
1.2 Serbest Oksijen Radikalleri	17
1.2.1 Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻)	19
1.2.2 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	20
1.2.3 Singlet Oksijen.....	21
1.3 PON1 ve Oksidatif Stres	21
1.4 Abdominal Aort Anevrizması	21
2. MATERYAL VE YÖNTEM	24
2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
2.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar	24
2.3 Kullanılan Çözeltiler	25
2.4 Yöntemler	25
2.4.1 Kan Serumunun Ayrılması	25
2.4.2 Enzim aktivite Tayini.....	25
2.4.3 Q ve R Türünün Belirlenmesi	26
3. BULGULAR	28
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	35
5. KAYNAKLAR.....	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: PON1 Enziminin 3D yapısı a)b-kırmalı yapılar b)hidrofobik bölgelerin (H1,H2 ve H3) B kırmalı tabakalara göre konumu.....	5
Şekil 1.2: PON1 Enziminin HDL üzerine bağlanma modeli.....	7
Şekil 1.3: Paraoksonaz Enziminin katalitik mekanizması.....	8
Şekil 1.4: Lakton hidrolizi	9
Şekil 1.5: Paraoksonaz Enziminin parationu parçalama mekanizması	10
Şekil 1.6: Okson metabolitlerinin hidrolizi	10
Şekil 1.7: Öldürücü sinir gazlarının hidrolizi	11
Şekil 1.8: Aromatik halkaya sahip esterlerin hidrolizi	11
Şekil 1.9: PON1 gen polimorfizmleri.....	15
Şekil 1.10: PON1 Enziminin promoter bölgesi	16
Şekil 1.11: Serbest radikal oluşumu	18

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri	28
Tablo 3.2: Demografik özelliklere göre PON1 aktivitesinin ortalama değerleri	29
Tablo 3.3: Abdominal aort anevrizmalı hasta bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.....	31
Tablo 3.4: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri ...	33
Tablo 3.5: Hasta ve kontrol grubunun fenotipi, görülme yüzdeleri ve p değerleri..	34
Tablo 3.6: PON1 192 Q/R (A/B) fenotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları	34



KISALTMALAR LİSTESİ

PON 1	İnsan serum paraoksonaz enzimi
HDL	High density lipoprotein
LDL	Low density lipoprotein
U	Enzim Ünitesi
KKH	Kırmızı Kan Hücreleri
AAA	Abdominal Aort Anevrizması
DM	Diyabetis Mellitus
BTM	Beta Talasemi Majör
LOOH	Lipit Hidroksilaz
SH	Sülfidril
BMI	Vücut Kitle Endeksi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri



ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmamın her safhasında her türlü desteğini gördüğüm, insanlara yaklaşımını ve bilimsel yönlerini kendime örnek aldığım çok kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Oktay ARSLAN'a öncelikle en derin minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her türlü desteklerini gördüğüm Doç. Dr. Abdülkadir ERCAN, Yrd. Doç.Dr. Orçun GÜRBÜZ ve Doç.Dr. Nahit GENCER'e

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Çiğdem BİLEN, Zübeyde SAÇKES, Adem ERGÜN, Beste ŞİPAL, Nurcan DEDEOĞLU, Berker KOCATÜRK, Barış ATALAY, Büşra ELMAS ve Mehmet ARSLAN'a,

Tez çalışmam boyunca bana olan güvenini hiçbir zaman yitirmeyen ve manevi desteğini her zaman hissettiğim Aytaç YUMAK'a,

Beni bugünlere getiren, her türlü maddi ve manevi desteğini gördüğüm aileme,

En içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım...

Miray REYHAN

Mayıs, 2016

1. GİRİŞ

Paraoksonaz (PON1), organik fosforlu bir insektisit olarak bilinen parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz edebilme yeteneğine sahip, Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu Arildialkilfosfotaz sınıfı olan bir enzimdir [1]. PON1, HDL'ye bağlı bir karaciğer enzimidir. Organofosfat ajanları ve sinir gazlarını hidroliz eder, LDL' nin oksidasyonu sebebiyle lipit peroksitlerin oluşumuna ve bakteri endotoksinlerine karşı koruyucu rol üstlenir [2]. Önceki yıllarda, enzimin organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilme yeteneği sebebiyle toksikoloji alanında çalışılmış olduğu çalışmalarca gösterilmişken sonraki yıllarda antioksidan etkisinden dolayı güncellik kazanmıştır [1].

Paraoksonaz gen ailesi, PON1, PON2 ve PON3 olarak bilinen forma sahiptir ve insanlarda kromozom 7'nin uzun koluna yerleşmişlerdir. Kendi aralarında yapısal bakımdan büyük benzerlikler göstermektedirler. Fakat PON1'e yönelik yapılan çalışmalar daha fazladır. PON1'in fizyolojik substratlarının belirlenmesi ve arterosklerozis ile ilişkisi sebebiyle PON2 ve PON3'e göre daha fazla aydınlatılmış gendir [3]. PON1 geni iki önemli polimorfizm gösterir. Bunlar Q/R 192 ve M/L 55 dir. En yaygın görülen polimorfizm ise Q/R 192 polimorfizmidir. Çünkü yapılan çalışmalara göre bu polimorfizm substrat bağımlı olup, farklı etnik kökenli popülasyonlara göre değişkenlik göstermektedir [4].

PON1 sadece serumda değil, karaciğer, ince bağırsak ve böbrekler gibi farklı dokularda bulunmaktadır. Serumda serbest olmayıp HDL'ye bağlı olarak bulunmaktadır. HDL vücuttaki lipitlerin taşınmasında rol oynayan 5 çeşit lipoproteinden (Şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL, HDL) birisidir. Bunlardan LDL, kolesterol taşınması nedeniyle çok önemlidir. Ancak LDL çabuk yükseltgenmektedir, bunun sonucunda ise serbest radikallerin oluşumuna ve kolesterolün düzensiz dağılımına sebep olmaktadır. Diğer yandan LDL'nin oksitlenmesi sonucu denetimsiz kalan kolesterol, damarlarda arterosklerotik plak oluşumuna sebep olmaktadır. Bu sebeple damar sertliği hastalığının birinci sebebi olarak LDL'nin oksitlenmesi gösterilmektedir [5].

Ancak HDL'ye bağlı bazı enzimlerin (Paraoksonaz, LCAT), koruyuculuk rolü üstlendiği gösterilmektedir ve özellikle korumada birinci derece etkili olan paraoksonaz, LDL'nin oksidasyonunu engeller ve ters-kolesterol taşınmasında etkili olmaktadır [6].

PON1,'in detoksifikasyon aktivite, antioksidant aktivite ve antibakteriyel aktivite gibi üç farklı fizyolojik aktiviteye sahip olması sebebiyle birçok hastalığın tedavisinde rol aldığı düşünölmektedir. PON1'in aktivitesindeki azalma ve polimorfizme uğraması sebebiyle birçok hastalık ilişkilendirilmiştir [7]. Fakat aort anevrizmalı hastalarla literatürlerde yapılmış olan çalışmalar sınırlıdır.

Bu çalışmada abdominal aort anevrizması ile daha önce anevrizma onarımı uygulanmış en az 80 olguda PON1 polimorfizmi belirlenerek hastalığın enzim ile ilişkisi araştırılmıştır.

1.1 Paraoksonaz Enzimi (PON)

PON1 enzimi, karaciğerde sentezi gerçekleşen, yapısında kalsiyum bulunduran, yüksek yoğunluklu lipoprotein olarak isimlendirilen HDL ile ilişkili ve 43-45 kDa ağırlığında bir ester hidrolaz enzimidir [8, 9, 10, 11].

Paraoksonaz ilk kez 1953'te Aldridge tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidrolize eden A-esteraz olarak belirlenmiştir. İnsan serumunda ise ilk olarak 1961'de Uriel tarafından belirlenmiştir [12]. Mackness ve arkadaşları, santrifüj metodunu geliştirdikten sonra koyunlarda söz konusu enzim aktivitesinin genellikle apo AI içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu ve insan serumunun ultra santrifüjlenmesi sonucunda kanda beraber taşındığını ortaya koymuşlardır [13]. Saflaştırılmış sığır paraoksonazını incelediklerinde ise söz konusu enzimin lipitlerle ilişkili olup yüksek yoğunluklu lipoprotein ile aynı moleküler ağırlığa sahip oldukları belirlemişlerdir. Saflaştırma yaparken, apo A-I'in paraoksonazdan zor ayrılması, bu ikilinin sıkı ilişkili olduğunu göstermiş ve HDL kolesterol tayini sırasında lipoprotein fraksiyonunda aril-esteraz aktivitesine rastlanmıştır [12].

Söz konusu enzim, paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksone yüksek seçicilik göstermektedir ve böylelikle paraoksonaz olarak isimlendirilmektedir. Mackness ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, PON'un HDL ile birlikte bulunduğunu, Apo-AI'e bağlı bir şekilde aktivite gösterdiğini ve LDL üzerinde biriken lipoperoksit miktarını azalttığı sonucuna varmışlardır. Mackness ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda aynı zamanda, farklı populasyondakilerin (Sudanlı, Fransız vs) polimorfizlerini incelemiş, allelik formlarını tespit etmiş ve enzim aktivitesiyle HDL, Apo-AI, Apo-AII arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermiştir [13]. İmmunoafinite kromatografi çalışmaları, PON1'in gerçekte apolipoprotein A-I (Apo-AI) ve klusterin bulunduran HDL tipleri ile ilişkili olduğunu ve PON'un HDL'nin çok küçük bir kısmını oluşturduğunu göstermiştir [1, 13].

Sonraki yıllarda, çeşitli kardiyovasküler hastalıklardaki enzim aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipit peroksidasyonu arasındaki ilişki araştırılmış, enzimin aminoasit dizisi saptanmıştır [14].

Paraoksonaz enzimi insan serumunun dışında hayvanlarda da farklı miktar ve dokularda tespit edilmiştir. Özellikle organofosfatlı pestisitlerden çok kolay etkilenebilen hayvanlarda yüksek miktarlarda bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda tavşan, sığan, koyun, fare ve balık gibi hayvanlardan saflaştırılma yapılmış, enzimin yapısal ve kinetik özellikleri araştırılmıştır [15, 16, 17, 18].

1.1.1 Adlandırılması

Paraoksonaz enzimi, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliğinin (IUBMB) enzim isimlendirmesine göre iki numaraya (EC 3.1.1.2 ve EC 3.1.8.1) sahiptir. Önceki yıllarda yapılan çalışmaların sonucunda paraoksonaz, arilesteraz aktivitesi gösteren, karboksilik asit esterlerini hidrolizleyen, A-esterazlar grubunda yer alan bir enzim olarak tanımlanmış ve EC 3.1.1.2 olarak isimlendirilmiştir [19]. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise paraoksonazın arilesterazdan farklı olarak fosfirik ve fosfirik asit esterlerini de hidrolize ettiği tespit edilmiş, EC 3.1.8.1 enzim kodu olarak isimlendirilmiştir [14]. A grubu Arildialkilfosfataz sınıfı bir enzim olması sebebiyle sistematik adı Arildialkilfosfatazdır. Aktivitesinin ilk ölçümünde paraokson substratı kullanıldığı için paraoksonaz adını almıştır [8].

1.1.2 Paraoksonaz Gen Ailesi

Paraoksonaz enzimi yapısında 354 aminoasit bulunduran glikoprotein yapılı bir enzimdir. PON ve PON ile ilişkili genler ilk olarak memelilerde daha sonra kümes hayvanları, zebra balığı ve omurgasızlardan *Caenorhabditis elegans*'ta bulunmuştur [20].

İnsanlarda paraoksonazı kodlayan gen, 7. kromozomun uzun kolunda q21-q22 arasına lokalize olmuştur ve gen ailesi PON1, PON2 ve PON3 diye adlandırılan üç üyeden oluşmuştur. Genler yapısal olarak birbirine benzemektedir ve bir evrimsel öncülden gen duplikasyonları ile oluşmuşlardır. Bu genler, bazı memeli türleri içerisinde aminoasit ve nükleotit dizilimi bakımından benzerlik göstermektedir. Bu benzerlikler aminoasit düzeyi bakımından %65, nükleotit düzeyi bakımından %70'dir [8]. PON2 ve PON3, PON1 kadar aydınlatılamamıştır [3,21]. 105.pozisyonunda lizin rezidüsü bulundurmadıkları için paraoksonu hidroliz edemezler ayrıca plazmada bulunmazlar [22]. PON3 formu, tavşan HDL'si üzerinde lokalize olan laktonaz olarak tanımlanmıştır [23] . PON2 formu; beyin, böbrek, karaciğer ve testis gibi birçok yapıda özellikle endotel tabakasında ve aortik düz kas hücrelerinde bulunurken, PON1 ve PON3 karaciğerde sentezlenir ve HDL 'ye bağlı olarak bulunur [21,24].

1.1.3 Paraoksonazın Biyokimyasal Yapısı

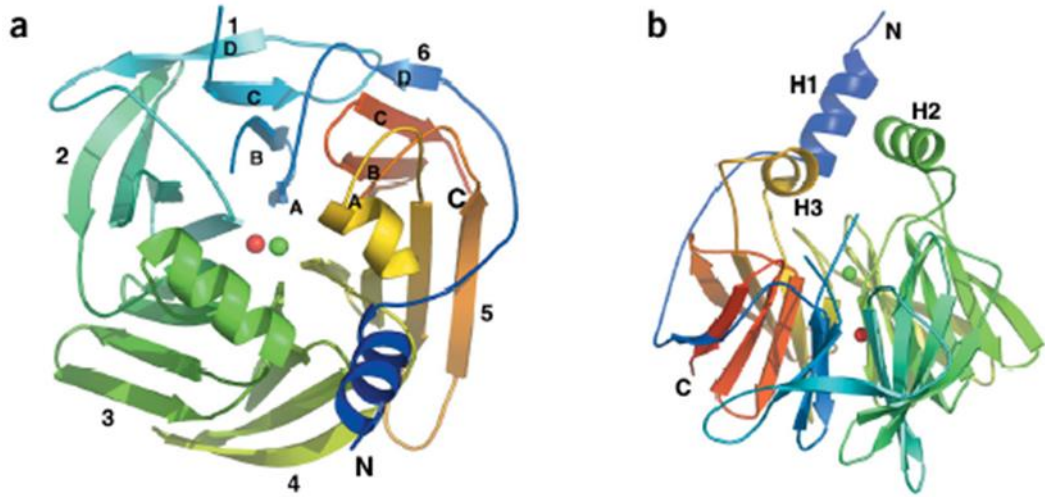
PON1 43-45 kDa ağırlığında molekül ağırlığına sahip, yapısında 354 aminoasit bulunduran bir proteindir [21,25]. Her molekül toplam ağırlığının %15,8'ini oluşturan, üç adet karbohidrat zinciri içermektedir [26,27]. İzoelektronik noktası 5.1 olan bu enzimin aminoasit bileşimi yüksek lösin özelliği dışında bir özellik göstermez [28]. Yapısındaki 284.sistein rezidüsü (Cys) serbest olarak bulunmaktadır. Diğerleri arasında tek di-sülfür bağları bulunmaktadır [13,29,30].

284.sistein rezidüsü enzimin aktif bölgesine yakındır. Substrata bağlanma için bu bölgenin gerekli olduğu düşünülmektedir [9,31].

Enzimin yapısı incelendiğinde, 4 adet zincirden, 6 adet β kırmalı yapılardan oluşmuştur. 3 boyutlu yapısını, 42.ve 353. Sistein rezidüleri arasında disülfür köprüsü ile sonlanarak kazanmıştır [23] .

PON1 yapısında iki adet kalsiyum iyonu bulundurmaktadır. Kalsiyumlardan bir tanesi direk katalitik reaksiyona katılır diğeri ise aktif alanın uygun konformasyonda tutulmasını sağlamaktadır. Bu kalsiyum iyonları β -kırmalı tabakaların merkezinde 7,4 Å aralıklarla bulunmaktadır. Yapısal kalsiyumu uzaklaştırmak dönüşümsüz denatürasyona sebep olmaktadır [32] . Katalitik etkinlikte görev alan kalsiyum iyonu ise, beş adet aminoasit rezidüsüyle (Asn224, Asn270, Asn168, Asp269 ve Glu53) etkileşim halindedir [33] .

PON 1 enziminin aktif bölgesinde diğeri β kırmalı yapılardan farklı olarak hidrofobik heliks (H1, H2 ve H3) yapıları bulundurmaktadır. Bu yapılar sonlanma noktalarıdır ve aynı zamanda aktif bölgenin korunması ve enzimin HDL ye bağlanması gibi rollere sahiptir [34].



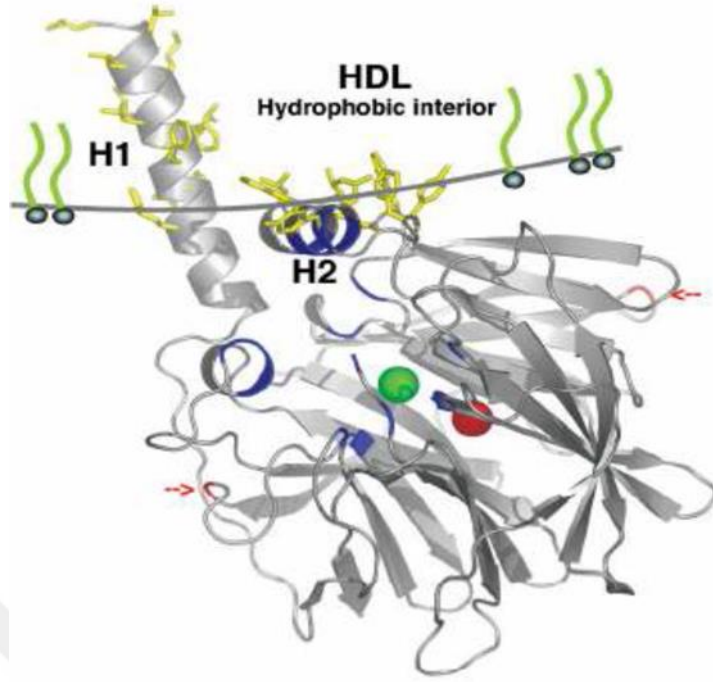
Şekil 1.1:PON1 Enziminin 3D yapısı a)b-kırmalı yapılar b)hidrofobik bölgelerin (H1,H2 ve H3) B kırmalı tabakalara göre konumu [35].

1.1.4 PON 1' in HDL ile İlişkisi

HDL karaciğerde sentezlenmektedir. Yapısında fosfolipitler, kolesterol ve kolesterol esterleri gibi membran bileşiklerini, apolipoprotein (Apo-AI ve Apo-AII) ve aromatik heliksler bulunmaktadır. Ortalama olarak 10 nm çapındadır ve kompleks yapılu bir lipoproteindir [35].

PON1'in substratları, genelde lipit faz içerisinde çözünen hidrofobik bileşiklerdir. Bu sebeple PON1'in enzimatik fonksiyonu için HDL ve fosfolipitler çok önemlidir [36]. Lipoproteinlerin bulunmadığı bir ortamda PON1'in kana salınımının az olduğu gözlemlenirken, HDL ve misel eklenmesiyle kana salınımının arttığı gözlemlenmektedir. Bulgular, PON1'in kana salınımının gerçekleşmesi için fizyolojik bir akseptöre ihtiyaç duyduğunu ve bu akseptöründe HDL olduğunu göstermektedir [36, 37, 38]. Buna ek olarak, enzimin kana salınımı için fosfolipitlerin de önem taşıdığını fakat Apo-AI ve Apo-AII'nin gerekli olmadığını göstermektedir [38,39].

PON1, protein yapısında olmasına rağmen saflaştırılması zor olmaktadır. Bunun sebebi ise sözkonusu enzimin HDL ile sıkı bağlanmasıdır [40]. PON1, hidrofobik N terminal ucuyla sonlanır, H2 ve H1 hidrofobik heliksler bir araya gelip, potansiyel membrana bağlanma yüzeyi oluşturmaktadır. Heliks yapılar lizin, triptofan ve tirozin yan zincirleri ile oluşturdukları yapı karakteristiği ile HDL ara yüzeyine girebilmektedir [41].



Şekil 1.2: PON1 Enziminin HDL üzerine bağlanma modeli [23].

1.1.5 PON1' in Sentezlenmesi ve Salgılanması

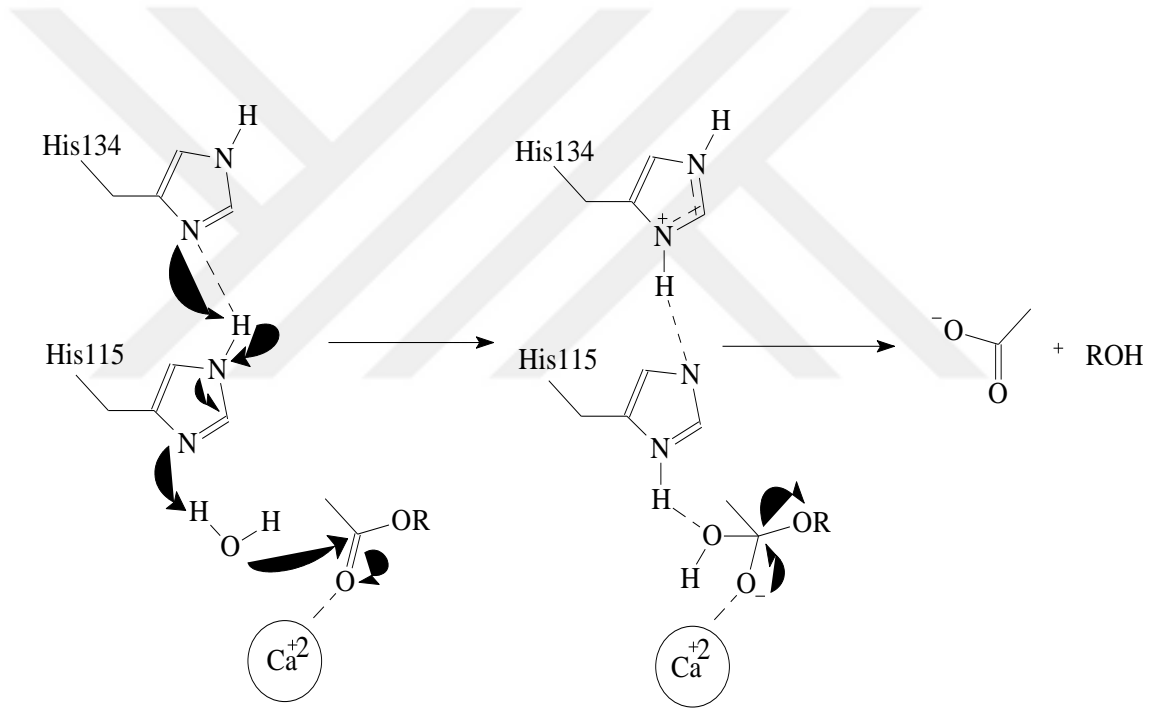
PON1, insanlarda karaciğerde sentezlenmektedir. Enzim aktivitesi; fetüs karaciğeri, dalağı ve erişkin karaciğerinde belirlenmişken, sıçanlarda ise karaciğer, akciğer, kalp, böbrek, ince bağırsak ve plazmada belirlenmiştir [13,42]. Serum paraoksonaz aktivitesi, prematüre bebeklerde ve normal bebeklerde yetişkin düzeyinin yarısıdır. Yetişkin düzeyine bir yılda ulaşır ve o düzeyde seyretmektedir [8]. PON1 aktivitesi ve seviyesi bireyler arasında değişim göstermektedir [43]. Değişiklik yaşa ve cinsiyete bağlı değildir [1].

Bu değişimin sebebi enzim aktivitesini ve peptit konsantrasyonunu etkileyen PON1 geninin kontrol ve promoter bölgesinde fazla şekilde polimorfizm göstermesidir. Söz konusu enzimin serumdaki konsantrasyon ve aktivitesini belirleyen promoter aktivitesi üzerindeki en önemli polimorfizm 107.pozisyondadır [44,45]. Aynı zamanda PON1 sentezi için önemli olan bir diğer faktör karaciğer hücrelerindeki kolesterol dengeleridir [46]. PON1, karaciğerde sentezlendikten sonra

serumda HDL'ye veya karaciğerde mikrozomlara bağlanmaktadır ve bu bağlanmanın gerçekleşmesi için N-hidroforik terminal bölgelerine sahip olmalıdır [47]. PON1'in karaciğerde sentezi tamamlandıktan sonra önce mikrozomlara sonrada hücre zarının dış yüzeyine bağlanıldığı düşünölmektedir [48].

1.1.6 PON1'in Katalitik Mekanizması

Enzimin aktif bölgesinde esteraz aktivitesi için fazla önem taşıyan His-His çifti, kalsiyum iyonu ve su molekülü bulunmaktadır.



Şekil 1.3: Paraoksonaz Enziminin katalitik mekanizması [23].

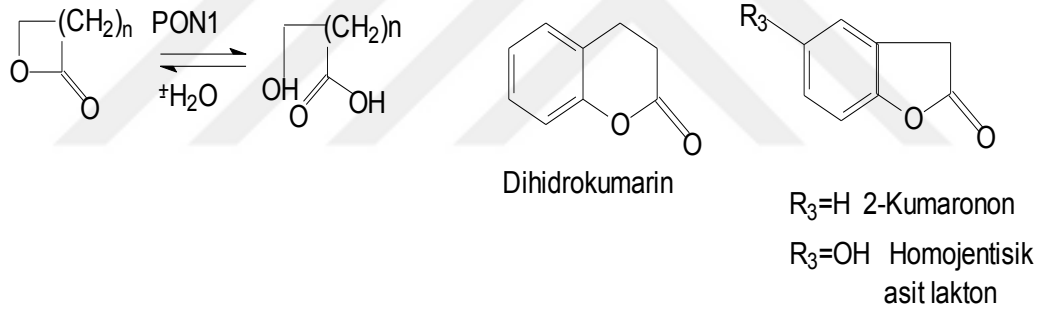
Aktif bölgede bulunan His-His çifti, su molekülünden bir proton almaktadır ve böylelikle molekülün nükleofilik gücünü arttırmaktadır. Hidroksil iyonu oluşmaktadır. Oluşan bu iyon, karbonil veya fosfat esterine atak yapmaktadır. Bu sayede meydana gelen kompleks tetrahedral düzlem sonucunda kalsiyum iyonu ile kararlı hale gelmektedir. Komplesteki kalsiyum iyonu, negatif yüklü oksijenden

uzaklaşmaktadır ve bağ tekrardan karbonil ve fosfatın üzerine yıkılmaktadır, böylece ester bağı kopmaktadır [49].

1.1.7 Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları

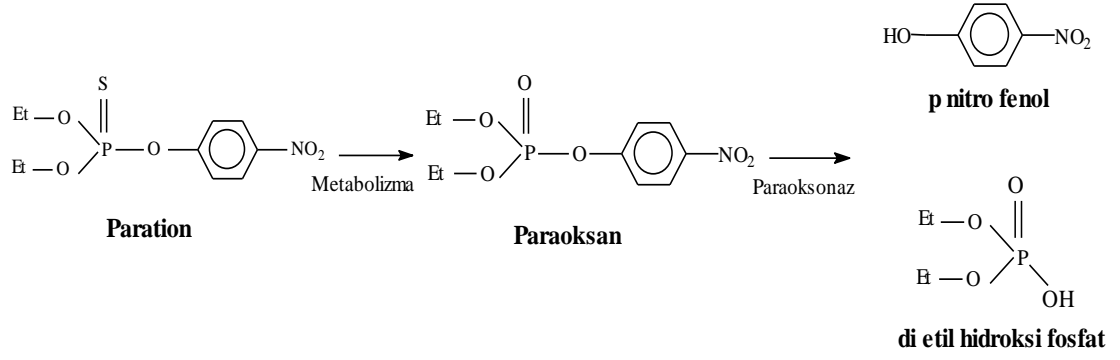
Paraoksonaz enzimi geniş bir substrat özelliği göstermektedir, fizyolojik substratı henüz aydınlatılamamıştır. Fakat arilesteraz, organofosfataz ve laktonaz aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir.

PON1'in ateroskleroza karşı koruyuculuğu ve ilaç metabolizması için çok önemli olduğu belirlenmiştir [16, 50, 51]. Ateroskleroza karşı koruyuculuğunu laktonaz aktivitesiyle göstermektedir. Bu enzim ayrıca, homosistein, tiyolakton, glikokortikoit gama-lakton gibi 30 çeşit laktonu hidrolize edebilmektedir [52].



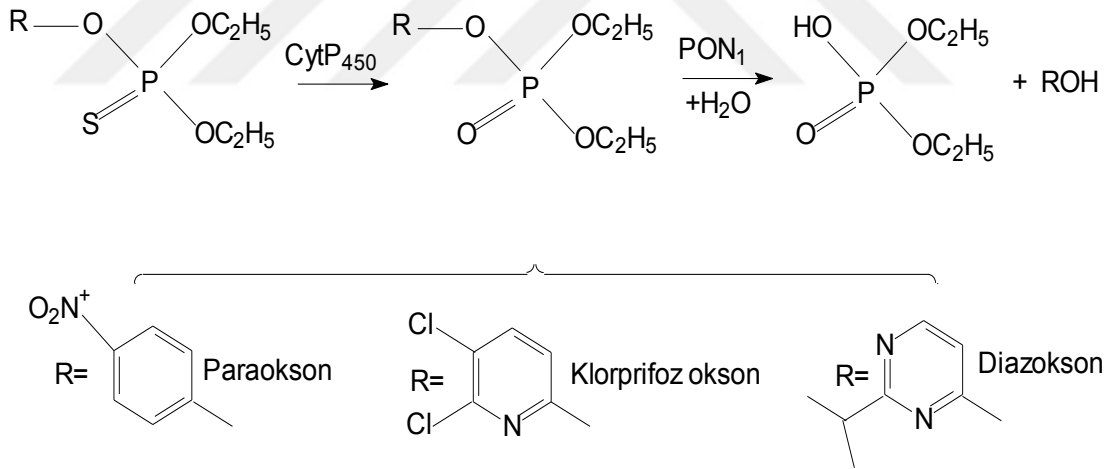
Şekil 1.4: Lakton hidrolizi [20].

PON1 enzimi, parationun metabolik ürünü olan paraoksonu kataliz etme yeteneğine sahiptir. Paraokson organizmaya zararlıdır ve pestisit olarak kullanılmaktadır. Paraoksonun, paraoksonaz enzimi ile yıkımı sonucu paraoksonaz göre daha az zararlı olan p-nitro fenol ve dietil hidroksi fosfat bileşikleri oluşur [54].

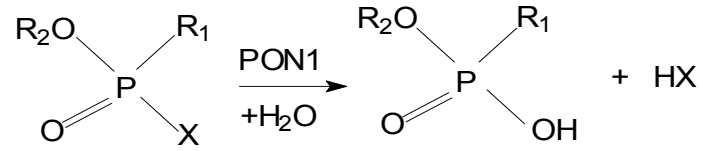


Şekil 1.5: Paraoksonaz Enziminin parationu parçalama mekanizması [1].

PON 1 aynı zamanda paration, diazinon ve klorpirifos gibi insektisitlerin toksik okson metabolitleri olan soman, sarin ve tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidrolize etmektedir [55,56].



Şekil 1.6: Okson metabolitlerinin hidrolizi [20].



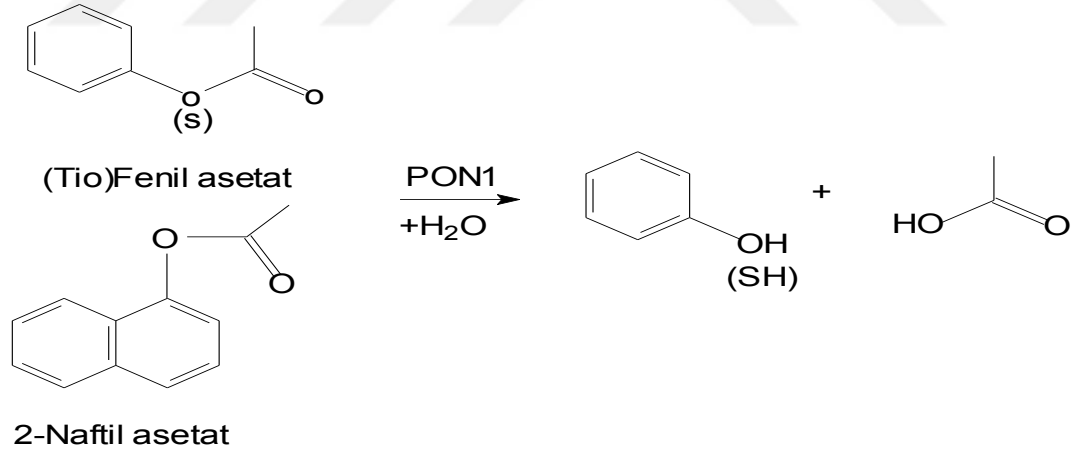
$\text{R}_1=\text{N}(\text{CH}_3)_2$ $\text{R}_2=\text{CH}_2\text{CH}_3$ $\text{X}=\text{CN}$ Etil N-dimetilfosforoamidosiyanid (Tabun)

$\text{R}_1=\text{CH}_3$ $\text{R}_2=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ $\text{X}=\text{F}$ Izopropil metilfosfonofluoridat (Sarin)

$\text{R}_1=\text{CH}_3$ $\text{R}_2=\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ $\text{X}=\text{F}$ Pinakolil metilfosfonofluoridat (Soman)

Şekil 1.7: Öldürücü sinir gazlarının hidrolizi [20].

PON 1 aynı zamanda A-esterazlar grubunda bulunması sebebiyle fenil asetat gibi ester substratlarını hidrolizleyebilme kapasitesine sahiptir [57].



Şekil 1.8: Aromatik halkaya sahip esterlerin hidrolizi [20].

1.1.8 Enzimin Hastalıklarla İlişkisi

Paraoksonaz HDL'ye bağılı olup, kalp damar hastalıkları ile ilişkisinin yanında, enzimin aktivitesinin diğerk hastalıklarlada ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir. PON1-192RR ve PON1-55LL genotipleri non-independent Diyabetis mellitus olgularda daha sık izlenmiş olup DM, hiperkolestrolemi, böbrek yetmezliği gibi KKH ile ilişkili hastalıklarda düşük serum paraoksonaz aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu çeşitli çalışmalarla raporlanmıştır [58].

Lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar etkisi ile ilerleyen nöronal dejenerasyon izlenen Alzheimer hastalığının ateroskleroz ile ilişkisi bilinmesi nedeniyle PON polimorfizmi ile ilişkisi incelenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır [59].

Yavuz ve arkadaşlarının hipertiroidli bireylerde yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre hipertiroidli bireylerde paraoksonaz enzim aktivitesinin düşük olduğu gözlemlenmiştir [60].

Tip1 diyabetik grupta yapılan başka bir çalışmada ise endotel fonksiyonu ve PON aktivitesi arasında pozitif korelasyon ($r=0.40$, $p<0.05$) olduğu belirlenmiştir [61].

Alzheimer hastalarında yapılan diğerk bir çalışmada, PON1 geninin 192. polimorfizmi R alleli kontrol grubuna göre fazla miktarda düşük seviyede bulunmuştur [62].

Marchesani ve arkadaşlarının Finlandiya popülasyonu üzerinde prostat kanseri olan hastalarla ilgili yaptıkları çalışmada, PON1 I-102-V polimorfizminin kanser riskini arttırdığı saptanmıştır [63].

Slavonski Broad çevresinde yapılan bir çalışmada, PON1'in paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi hemodiyaliz hastalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) düzeyde bir azalma olduğu gözlenmiştir [64].

Paraoksonaz aktivitesinin romatizmal kireçlenme ile bir ilişkisi olduğu saptanmıştır. Kireçlenme görülen romatizma hastalarında kontrol grubu ile

karşılaştırıldığı zaman serum paraoksonaz aktivitesinde önemli miktarda bir azalma olduğu saptanmıştır [65].

Birçok kanser hastası üzerinde yapılan çalışmada ise paraoksonaz aktivitesinin azalmasının kanser riskini artırdığı gözlemlenmiştir [61, 63, 66, 67, 68, 69].

Packard ve arkadaşları koroner arter hastalıklı olgularda PON1 seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir [70].

Selek ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada beta-talasemi minor olan erişkin hasta gruplarında oksidatif stresin artarak PON1 enzim aktivitesini azalttığını ve bununla birlikte LOOH seviyelerinin ise arttığını belirtmişlerdir [71].

Altındağ ve arkadaşlarının erişkin yaş grubunda Romatoid Artrit (RA)'li hastalarda yaptığı ve LOOH, SH, seruloplazmin seviyesi, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada RA'li hasta grubunda kontrol grubuna göre LOOH seviyesi yüksek; SH, seruloplamin seviyesi, paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri düşük olarak bulunmuştur. Hasta grubunda paraoksonaz aktivitesi ile LOOH seviyesi arasında negatif korelasyon belirtmiştir [72].

Çakmak ve arkadaşlarının beta talasemi majörlü (BTM) çocukların üzerinde yaptığı çalışmada, hasta grubunun kontrol grubuna göre serum paraoksonaz aktivitesi azalırken, oksidatif stresin arttığı tespit edilmiştir. Paraoksonaz aktivitesinde olan azalmanın hem oksidatif stres ile, hem de anemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. BTM'li hastaların düşük serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri sebebiyle aterogenez gelişimine yatkın olabileceği belirtilmiştir [73].

Yapılan bir başka çalışmada ise demir eksikliği anemisi ve B12 vitamini eksikliği anemisi olan çocuklarda serum paraoksonaz ve arilesteraz düzeyi araştırılmış, hasta olgularda paraoksonaz aktivitesinin düşük olduğu gözlenmiştir [74].

1.1.9 Paraoksonazın Aktivitesini Etkileyen Faktörler

PON 1'in aktivitesi yaşa ve cinsiyete göre değişim göstermemektedir [75]. Diyet, sigara, akut faz proteinleri ve hamilelik, PON1 düzeyini ve aktivitesini etkilemektedir [5,76]. Yapılan bazı çalışmalarda ise bazı hastalıkların da PON 1 aktivitesini etkilediği yukarıda belirtilmiştir.

1.1.10 PON1 Polimorfizmi

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda PON1 geninin kodlanma bölgesinde, intronlarda ve promoter bölgede bulunan 160' dan fazla polimorfizm belirlenmiştir [77]. Enzimin aktivitesindeki polimorfizm substrat bağımlıdır ve etnik kökeni farklı olan popülasyonlara göre değişkenlik gösterir [1]. İlk olarak 1973'de Von Mallinckrodt ve arkadaşları PON 1'in genetik polimorfizminin bulunduğunu ve enzim aktivitelerinin trimodal dağılıma sahip olduğunu göstermiştir [78].

Ardından 1976 yılında Playfer ve arkadaşları enzimin insanlarda düşük, orta ve yüksek aktiviteye sahip polimorfik dağılım gösterdiğini belirtmişlerdir [79].

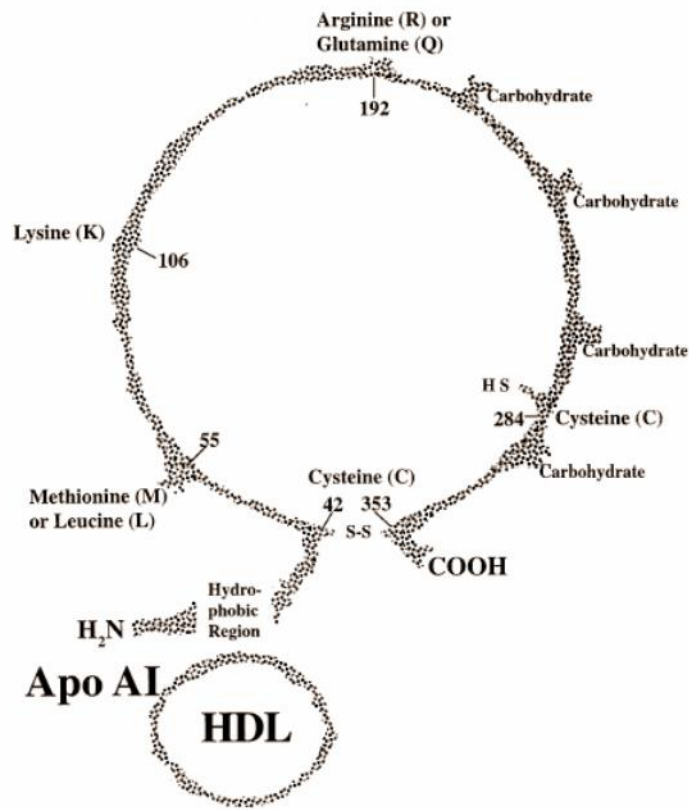
Paraoksonaz enziminin polimorfizmi, kendiliğinden gerçekleşen mutasyonlar sonucunda iki aminoasitin yer değiştirmesiyle meydana gelmektedir. Enzim iki farklı yaygın kodon polimorfizmi göstermektedir. Bu polimorfizmler 55.kodonda metionin(M) ile lösinin(L) yer değiştirdiği (M/L55) ve 192.pozisyonda glutamin ile arginin yer değiştirdiği (Q/R192) polimorfizmleridir [80,81].

Üzerinde en çok çalışılan polimorfizm olmasının nedeni, çeşitli substratlara karşı afinitelerinin ve katalitik aktivitelerinin farklılık göstermesiyle ilgilidir [81].

PON1'in R allelinin kodlandığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi, Q alleleline göre sekiz kat daha fazladır [1]. PON 1'in Q formu sarin, soman ve diazoksonu daha hızlı hidrolize etmektedir. Tek bir aminoasitteki değişimin enzimin aktivitesini bu derece etkilemesi enzimin yapısıyla ilişkilendirilmiştir [80,81]. Bu polimorfizm serum konsantrasyonunu da etkilemektedir. Homozigot R alleli olan bireyler homozigot Q alleli bireylere nazaran göre daha yüksek enzim konsantrasyonuna sahiptir [3].

M/L55 polimorfizmi ise enzimin düşük serum aktivitesi ve konsantrasyonuyla ilişkilidir. M alleli taşıyanlarda düşük PON 1 mRNA seviyeleri bulunmuşken, L alleli daha stabil ve proteolize karşı daha dayanıklıdır ve bu durum yüksek serum aktivitesine sahip olduğunu kanıtlar [82].

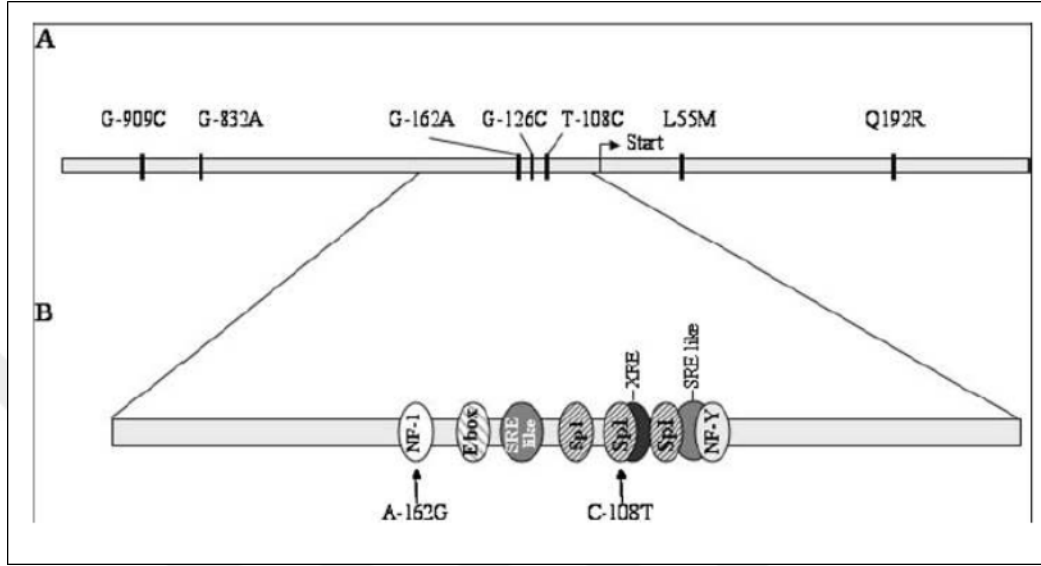
PON 1 allozimlerinin kalitatif ve kantitatif farklılıkları sebebiyle fenotipleme yöntemleri geliştirilmiştir. 1983'de ilk olarak Eckerson iki izoenzimin tuz ve pH'a göre değişimlerini temel alarak üç fenotip tanımlamıştır [30].



Şekil 1.9: PON1 gen polimorfizmleri [1].

PON1'in kodlanma bölgesindeki diğer bir polimorfizim ise 102.kodonda izolösinden valine olan değişimdir [83]. Bu polimorfizmlerin dışında promoter bölgesinde de en az 5 polimorfizim daha belirlenmiştir. Söz konusu polimorfizmler -107/-108 (C/T), -126 (C/G), -160/-162 (A/G), -824/-832 (A/G) ve -907/-909 (C/G)'dir [49,85]. PON1 genindeki promoter polimorfizminin ise gen expesyonu

ve enzimlerin serum düzeyleri üzerinde güçlü etki gösterdiği belirlenmiştir [85,86]. Promoter bölgede plazma PON1 seviyesini etkileyen en önemli polimorfizm C108T'dir [83].



Şekil 1.10: PON1 Enziminin promoter bölgesi [84].

Paraoksonazın polimorfik dağılımı çeşitli ırklar arasında farklılık göstermektedir [1]. Türk popülasyonunda RR alelli çok düşük oranlarda bulunmuşken, trimodal dağılımda QQ, QR ve RR allelerin frekansları sırasıyla %48.6,%41.0 ve %10.4 olarak bulunmuştur [87]. Düşük aktivite gösteren Q alleli Amerika, Avrupa ve Kanada'da yüksek ama Avusturalya Zambiya'da düşük olarak bulunmuştur [1].

Paraoksonaz enziminin polimorfizmiyle birçok hastalık arasındaki ilişki tespit edilmiştir [88, 89, 90, 91, 92]

İlk olarak yapılan pek çok çalışmada kalp damar hastalıkları ile PON1 R/Q192 polimorfizmi arasında önemli bir ilişki olduğu belirtilmiştir [88].

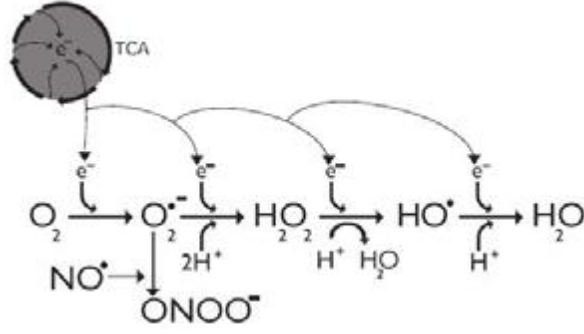
Aynı şekilde bir kısım çalışma grubunda PON1'in M/L 55 polimorfizmi ile kalp damar hastalıkları oluşma riski arasında bir bağlantı olduğu belirlenmişken [89], diğer bir kısım çalışma grubunda ise aralarında hiçbir ilişki olmadığı belirlenmiştir [90]. Böylelikle PON1'in 192.ve 55. polimorfizm genotipleri enzim aktivitesini etkilemektedir. Söz konusu enzimin aktivitesi geleneksel risk faktörleri dışında kalp damar hastalıkları oluşma riskini bize önceden haber vermektedir.

Yapılan bir çalışmada, Japon toplumunda tip 2 şeker hastalarında PON1 enziminin Q192R polimorfizmi ile hastalık arasında önemli bir bağlantı olmadığı bulunmuştur [91]. Paraoksonaz enziminin 192. kodonda Q alleli içeren kişilerde Parkinson hastalığı olma riskinin istatistiksel olarak ($p<0.005$) yüksek olduğu belirlenmiştir [92].

1.2 Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, dış orbitallerinde tek sayıda elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olan atom veya moleküllerdir. Bu tanecikler, kısa ömürlü ve kararsız yapıda olması sebebiyle etrafında bulunan moleküllerle etkileşerek kararlı yapıya ulaşmak istemektedirler.

Oksijen aerobik canlılar için yaşam kaynağıdır. Oksijenin büyük bir kısmı, mitokondride, elektron transport reaksiyonları sonucu suya dönüşmekteyken, çok az bir kısmı oksijen radikallerin oluşumuna sebep olmaktadır. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle süperoksit radikalleri (O_2^-), iki elektron alıp indirgenmesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2), üç elektron alıp indirgenmesiyle reaktifliği yüksek olan OH^- ve dördüncü elektron almasıyla su molekülü oluşmaktadır [93].



Şekil 1.11: Serbest radikal oluşumu [93].

Oluşan oksidatif türler, metabolizmanın artan yan ürünleridir. Fakat, plazmadaki zar sistemleri, endoplazmik retikulum, lizozom, peroksizom ve sitozolik enzimlerle de reaktif oksijen türlerinin oluşumu gözlemlenmektedir [93].

Bunların dışında, bazen kontrollü enflamatuar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksitler, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de reaktif oksijen türleri oluşmaktadır [94,95,96].

En önemli reaktif oksijenler, O₂^{•-} (süperoksit) radikali, H₂O₂, OH⁻ ve singlet oksijendir. Bunların dışında HOCl, ROO, RCOO, HO₂⁻, RO' dir [94].

Serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın etyopatogenezinden sorumlu tutulmuştur [97-99].

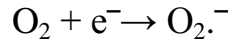
Serbest oksijen radikallerinin oluşumu enflamasyon, radyasyona maruz kalma ve yaşlanma gibi durumlarda artmaktadır. Normalden yüksek, parsiyel oksijen basıncı (PO₂) ve ozon, azot dioksit gibi kimyasal maddeler ya da bazı ilaçların etkisiyle de artar. Yüksek konsantrasyonlardaki ROS'nin proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücre yapıları üzerine zararlı etkileri bulunmaktadır [100,101].

Artmış reaktif oksijen türleri vücut içerisinde, hücre organelleri ve membranlarında bulunan lipit ve proteinlerin yapısını bozmaktadır. Hücre içinde bulunan yararlı enzimleri etkisiz ve zararlı hale getirmektedir. DNA molekülünü tahrip etmektedir, mitokondride aerobik solunumu bozmaktadır, hücrenin potasyum kaybını artırmaktadır, dokularda makrofajların toplanmasını kolaylaştırmaktadır ve trombosit agregasyonunu artırmaktadır [101].

Organizmada prooksidan/antioksidan dengesindeki bozukluk sebebiyle artan reaktif oksijen türlerinin kontrolü çok önemlidir. Bunun için serbest oksijen radikallerinin toksisitesini azaltmak amacıyla antioksidan sistemler devreye girmektedir [102]. Enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz(SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, katalaz, tiyoredoksin redüktaz, peroksi redoksinler (Prx) ve NAD(P)H: ubikinonoksidoredüktaz (NQO1) gibi antioksidan enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, E, C, A vitaminleri, glutatyon, ürik asit, albümin, bilirubin gibi yapılardır [93].

1.2.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen bir elektron alarak indirgenip kararsız bir yapı olan süperoksit radikaline dönüşmektedir.

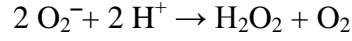


H_2O_2 kaynağıdır ve canlılarda ilk oluşan serbest radikal türevidir. Hücre dışı ortamlarda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan zayıf bir oksidan olan $O_2^{\cdot-}$ 'nin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açmasının mümkün olmadığı düşünülmektedir. Fakat süperoksit, radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir [103].

Aktifleşmiş fagositik lökositlerden fazla miktarda süperoksit üretilmektedir. Fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha fazla ROS oluşumunu da başlatabilmektedir [94,99, 104, 105].

1.2.2 Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Oksijenin dismutasyonu ya da oksijenin doğrudan indirgenmesiyle oluşmaktadır.

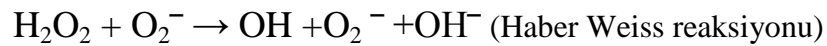
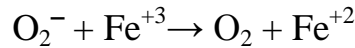


Yağda çözünür, böylelikle membranlardan kolayca geçebilmektedir. En güçlü yükseltgeyicilerdendir. Su ortamında birçok inorganik iyonu yükseltgeyebilmektedir ya da indirgeyebilmektedir [106]. Radikal özelliği taşımamaktadır, reaktif bir tür değildir. Fakat geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin ana kaynağı olması sebebiyle önem taşımaktadır [107].

1.2.2.1.1 Hidroksil Radikali (OH[·])

En tehlikeli reaktif oksijen radikalidir. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir [94, 104, 108].

H₂O₂'nin UV'ye maruz kalması ile OH[·] radikali oluşmaktadır. OH[·] radikali en reaktif radikaldir. Tüm moleküllere hücum ederek zarar vermektedir. Pürin ve pirimidin bazları ile etkileşime girmektedir [109]. Araşidonik asitler, doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta H₂O oluşumunu sağlamaktadır. OH[·] ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "lipit peroksidasyonu" olarak adlandırılan radikalik zincir reaksiyonudur [94,104].



1.2.3 Singlet Oksijen

Reaktivitesi yüksek bir O₂ türüdür. Doymamış yağ asitleri ile tepkime vererek peroksil radikalini oluşturmaktadır ve lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır [94]. Özellikle karbon-karbon sigma ve pi bağlarına sahip bağlar singlet oksijenin tepkimeye girdiği noktalardır. Bu bileşiklerden bazıları bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidindir. Bu bileşikler singlet oksijenini ortamdaki uzaklaştırıp ona bağlı gerçekleşen tepkimeleri sonlandırmaktadır [94, 95, 110, 111].

1.3 PON1 ve Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri oksidatif strese sebep olmaktadır. Oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması durumudur [112].

İnsan serum paraoksonazın, düşük yoğunluklu lipoprotein'nin oksidasyonuna karşı önlem aldığı tespit edilmiştir [113]. Aviram ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 284.sistein rezidüsünde mutasyon bulunan insan serum paraoksonaz enziminin LDL'yi oksidasyona karşı koruyamadığını belirtmişlerdir [114].

İnsan serum paraoksonazın sadece LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da engellediği belirtilmiştir. Bu durum söz konusu enzimin peroksitleri hidroliz etmesiyle ilgilidir [115].

Daha önceki araştırmalarda paraoksonaz düzeyiyle oksidatif stres arasında ilişki olduğu kanıtlanmıştır [6].

1.4 Abdominal Aort Anevrizması

Anevrizma, atardamar duvarlarının zayıflamasıyla oluşan, damar çapının %50 sinden daha fazla genişlemesine yol açan bir çeşit balonlaşmadır. Patogeneizde en önemli faktör elastin ve kollojen yapısındaki dejenerasyondur. Anevrizmaların boyutu zamanla büyüebilmektedir. Bir anevrizma çok fazla büyüdüğünde hayati

tehlikelere yol açabilen kanamalara neden olabilmektedir hatta bu durum direkt ölüme kadar gidebilmektedir. Anevrizma içinde küçük bir kan pıhtısı da oluşabilmektedir. Kan pıhtısının küçük parçaları koparak vücut içinde dolaşabilmektedir. Eğer bu kan pıhtısı dolaşıp beyin veya kalp damarında sıkışırsa kalp krizine yol açabilmektedir. Böbrek ve karaciğer gibi diğer hayati organlarda ise normal fonksiyonu bozabilmektedir [116].

Karın bölgesinde şişmeye başlayan aortta belli bir çaptan sonra içindeki kan basıncına maruz kalarak yırtılmaktadır. Bu durum sonucu hastanın ölüm riski % 60'ın üzerine çıkar. Abdominal aort anevrizması 65 yaş üstündeki yetişkinlerin %9'unda görülür ve anevrizma vakaları yılda yaklaşık olarak 15.000 kişinin ölümüne neden olmaktadır [117]. Abdominal aort anevrizmalı hastalara hipertansiyon ve hiperlipideminin agresif tedavisi önerilir. Bu konuda Satah tarafından yapılan çalışma önemlidir çünkü Abdominal Aort anevrizması'nın korunmasıyla ilgili olan terapiye yeniden dikkat çekmektedir [118]. Son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda ise aort anevrizmalarının endovasküler stent greft ile tedavisinin gerçekleştirilebileceği belirtilmiştir [119].

Abdominal Aort Anevrizması çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşmaktadır. Bunlardan en önemlileri sigara kullanımınıdır. Söz konusu hastalık, epidemolojik ve patolojik araştırmalarda sıklıkla aterosklerozlu hastalarda meydana gelmektedir ve iki hastalık aşaması birçok risk faktörü taşımaktadır. Bunun yanında diyabet, yüksek kolesterol, yüksek tansiyon, biküspit aort kapağı ve genetik faktörler hastalığa sebep olan etkenlerdir [120].

Abdominal Aort anevrizmalı hastaların %40'ında şiddetli karın ağrısı şeklinde septom göstermekte iken, %60'ında hiçbir septom gözlenmemektedir. Kardiyovasküler mortalite ve morbidite önemli bir nedeni olan aort anevrizmaları 60 yaş üstü erkeklerin bir kısmını etkilemektedir [121]. Anevrizmaların patofizyolojisinde artmış vasküler enflamasyon, mekanik stres ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile damar duvar yapısını bozması ilişkilendirilmişken son dönemde yapılan çalışmalar oksidatif stresin bu mekanizmaların tümüne etki ettiğini göstermiş, ROS un kontrolsüz artışı ile damar yapısındaki kollajen yapısının bozulması ve düz kas hücre apoptozinin indüklenmesi doğrudan ilişkilendirilmiştir [122].

Söz konusu hastalığa karşı yapılan diğer bir çalışmada ise, eser elementlerin hastalığa karşı etkisi incelenmiş, damar duvarındaki eser element düzeyindeki değişikliklerin lipit peroksidasyonunu artırıp, antioksidan kapasiteyi azaltarak damar yapısının bozulmasıyla birlikte hastalığa yol açabileceğini göstermişlerdir [119].

Antioksidan etkisi ve anti-aterojenit etkisi iyi bilinen insan serum Paraoksonaz enzimi (PON1)'ın, birçok hastalığa ışık tutabileceği gözlenmiştir ve bu yüzden poplarite kazanmıştır [123,124].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan trihidroksimetil aminometan (Tris-Base), paraokson, Sigma'dan, sodyum klorür Merck'den karşılanmıştır.

Paraoksonaz enzimini saflaştırma amaçlı kullanılan insan kanı Balıkesir Üniversitesi Sağlık ve Uygulama Araştırma Hastanesinden temin edilmiştir.

2.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Bu çalışmada aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır:

Soğutmalı santrifüj (Sigma, EBA-12R)

UV-spektrofotometre (Biotek Power Wax XS)

Buz makinası (Scotsman DA)

pH metre (Orion model 920A)

Manyetik Karıştırıcı (Combimag RCO)

Hassas Terazı (Libror, AEG-220)

Derin Dondurucu (-80 °C) (Indesit)

Ependorf Tüpler (Iso-Lab)

Küvet (Bio-Cell)

2.3 Kullanılan Çözeltiler

Tuzsuz Bazal Aktivite Tamponu;

0.1 M Tris Base Aktivite Tamponu (pH 10.5) ; 3.0275 g (0.02mol) Tris Base, 200 ml saf suda çözüldü. 1N NaOH ile pH' sı 10.5 a getirildi ve son hacim saf suyla 250 ml'ye tamamlandı.

Tuzlu Aktivite Tamponu;

0.1 M Tris Base -1 M NaCl Tamponu (pH 10.5) ; 1.211 g (0.001mol) Tris Base ve 5,844 g (0.1 mol) NaCl saf suda çözüldü. pH'sı 10,5'e getirildi ve son hacim saf suyla 100 ml ye tamamlandı.

Substrat Çözeltisi; 10,8 µl paraokson, 4 µl tuzsuz bazal aktivite tamponu ile soğuk ortamda iyice karıştırıldıktan sonra kullanıldı.

2.4 Yöntemler

2.4.1 Kan Serumunun Ayrılması

Kan numuneleri kuru santrifüj tüplerine alınarak 5000 rpm de, +4°C sıcaklığında 10 dakika süresince santrifüj edilerek serumdan ayrılması sağlanmıştır. Ayrılan serumlar -70° C de muhafaza edilmiştir. Analiz sırasında enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

2.4.2 Enzim aktivite Tayini

Paraoksonun PON1 tarafından oluşan sarı renkli paranitrofenolün sebep olduğu absorbans artışı spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Kan serumlarındaki

enzim (PON1), reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz etmektedir. Açığa çıkan ürünün absorbans artışı 412 nm’de kinetik olarak izlenmektedir.

Aktivite ölçümü için öncelikle 850 µl tampon (0,1M Tris-Base Aktivite Tamponu pH:10.5) ve 100 µl substrat (paraokson) çözeltisi alındı. Ardından 100 µl serum (enzim çözeltisi) örneği hızlı bir şekilde eklendi ve 412 nm’de 37 °C sıcaklıkta 1 dakikadaki absorbansı belirlendi. Böylelikle paraoksonun p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı tespit edildi. Aynı işlem enzim olmadan tekrarlanarak aradaki fark enzim aktivitesi olarak belirlendi. 1 Unite paraoksonaz dakikada meydana gelen p-nitrofenolün µmol’ü olarak tayin edildi.

2.4.3 Q ve R Türünün Belirlenmesi

Aktivite ölçümü için öncelikle 850 µl tuzsuz aktivite tamponu (0,1M Tris-Base Aktivite Tamponu pH:10.5) ve 100 µl substrat (paraokson) çözeltisi alındı. Ardından 100 µl serum (enzim çözeltisi) örneği hızlı bir şekilde eklendi ve 412 nm’de 37 °C sıcaklıkta 1 dakikadaki absorbansı belirlendi. Aynı solüsyonlara 850 µl tuzlu aktivite tamponu (0.1 M Tris Base -1 M NaCl Tamponu (pH 10.5)) eklendi tuzla uyarılma (salt stimulate) aktivite değeri ölçüldü. Böylelikle paraoksanın p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı tespit edildi.

Aynı işlem enzim olmadan tekrarlandı ve aradaki fark enzim aktivitesi olarak belirlendi. 1 Unite paraoksonaz, dakikada meydana gelen p-nitrofenolün µmol’u olarak belirlendi.

Paraoksonaz enzimi bazal ve tuz aktiviteleri ölçümünden sonra aşağıda verilen formül kullanılarak fenotip belirlemesi yapıldı.

$$\frac{1M NaCl varlığında paraoksonaz aktivitesi - Bazal paraoksonaz aktivitesi}{Bazal Paraoksonaz aktivitesi} \times 100$$

Bu formüle göre, %60'a kadar olan bireyler düşük aktiviteli homozigot (QQ) veya (AA), %60 ile %200 arası bireyler orta aktivite heterozigot (QR) veya (AB), %200 ve üzerindeki bireyler ise yüksek aktiviteli homozigottur (RR) veya (BB).



3. BULGULAR

Bu çalışmada 26 sağlıklı ve 56 Abdominal aort anevrizma tanısı konmuş bireylerde PON1 polimorfizmi incelendi. Araştırmamızda kullanılan hasta ve sağlıklı bireylerin demografik özellikleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Tablo 3.1’de görüldüğü gibi 56 Abdominal aort anevrizmalı hasta serumları kullanılmıştır. Bu hastalardan 44’ü erkek 12’si kadındır. Yaşları $66,35\pm 9,32$ ’dir. Vücut kitle endeksleri ortalaması, $27,73\pm 3,04$ ’dir. Hasta bireyler arasındaki sigara kullanan kişiler ise 39 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubumuz ise 26 kişiden oluşmaktadır. Bu grubun 21’i erkek, 5 ise kadındır. Yaşları, $27,73\pm 3,04$ ’dür. Vücut kitle endeksleri $25,83\pm 4,19$ şeklindedir. Sigara kullanan kişilerin sayısı 8’dir.

Tablo 3.1: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

	HASTA	KONTROL
Toplam örnek Sayısı (n)	56	26
Cinsiyet		
Kadın	12	5
Erkek	44	21
Yaş \pm SDI	$66,35\pm 9,32$	$37,15\pm 11,48$
BMI \pm SDI	$27,73\pm 3,04$	$25,83\pm 4,19$
Sigara kullanımı	39	8
PON1 aktivitesi (U/ μ l dak)	$90,26\pm 7,23$	$136,31\pm 10,4$

Kan serumlarındaki enzim (PON1), reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz etmektedir. Reaksiyon sonucundan oluşan p-nitrofenol bileşiğinin

absorbansı 412 nm’de ölçülmesi ile elde edilen değerler formülize edilerek, belirlenen PON 1 aktiviteleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Demografik özelliklere göre PON1 aktivitesinin ortalama değerleri.

PON1 Aktivitesi (U/ µl dak)		
	Hasta	Kontrol
Cinsiyet		
Kadın	110,57	573,46
Erkek	31,68	192,47
Sigara Kullanan	110,57	110,48
Sigara Kullanmayan	124,57	159,71
BMI		
0-18,4(zayıf)	-	348,77
18,5-24,9(normal)	110,56	119,69
25,0-29,9(fazla kilolu)	85,56	174,98
30,0-34,9(şişman)	115,07	83,81
Toplam aktivite	90,26	136,31

Tabloda görüldüğü üzere, kontrol grubundaki kadınların enzim aktivite ortalaması, hasta grubundaki kadınlara nazaran daha yüksek bulunmuştur. Erkeklerin ise aynı şekilde kontrol grubundaki enzim aktivite ortalaması hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Sigara kullanımına bakıldığı zaman, sağlıklı grubundaki sigara kullanan bireylerin aktivite ortalaması kullanmayanlara göre daha düşük çıkmıştır. Hasta grubu içinde aynı durum söz konusudur.

Vücut kitle endeksi için ise kontrol grubundaki bireylerin en düşük aktivite ortalaması zayıf bireyde gözlemlenmişken, en yüksek aktivite ortalaması normal bireylerde gözlemlenmiştir. Hasta grubu içinse söz konusu enzim aktivite ortalaması, normal kilolu bireylerde az iken, şişman bireylerde fazla çıkmıştır. Toplam PON1 enzimi aktivite ortalamasına bakıldığında ise, kontrol grubunun enzim aktivite ortalaması, hasta bireylere göre yüksek çıkmıştır.

Çalışmamızdaki 56 hasta,26 kontrol olgunun kan serumları alınarak enzim fenotipi belirlenmiştir. Toplam 82 olgudan alınan bu kanlar, alındıktan hemen sonra santrifüjlenip serum kısmından ayrılarak analiz edilmiştir.

Eckerson ve arkadaşlarının metodu kullanılarak PON1 polimorfizim belirlenmiştir. Materyal ve yöntemler bölümünde detaylıca açıklandığı gibi söz konusu izoenzimlerin tuz ve pH'a farklı cevaplarını temel alarak farklı fenotipi belirlenmiştir [27].

$$\frac{1\text{M NaCl varlığında paraoksonaz aktivitesi} - \text{Bazal paraoksonaz aktivitesi}}{\text{Bazal paraoksonaz aktivitesi}} \times 100$$

Bu formüle göre, %60'a kadar olan bireyler düşük aktiviteli homozigot (QQ) veya (AA), %60 ile %200 arası bireyler orta aktivite heterozigot (QR) veya (AB), %200 ve üzerindeki bireyler ise yüksek aktiviteli homozigottur (RR) veya (BB).

Tablo 3.3: Abdominal aort anevrizmalı hasta bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.

	Cinsiyet	Yaş	Bazal aktivite (U)	Tuzla uyarılmış Aktivite (U)	Fenotip
1	E	71	76,14	117,89	QQ
2	E	62	82,89	127,41	QQ
3	E	63	38,07	81,97	QR
4	K	75	147,06	282,14	QR
5	E	58	72,14	351,53	RR
6	E	64	192,80	896,79	RR
7	E	73	59,56	92,10	QR
8	E	65	52,19	254,21	RR
9	E	85	49,12	86,57	QR
10	E	71	47,58	81,97	QR
11	E	83	45,74	91,18	QR
12	K	78	135,70	401,57	QR
13	E	63	49,42	69,38	QQ
14	E	76	86,27	241,08	QR
15	E	76	77,06	98,85	QQ
16	E	70	62,01	81,66	QQ
17	E	54	84,42	98,55	QQ
18	K	68	112,06	286,75	QR
19	E	75	140,32	368,72	QR
20	K	63	172,23	321,14	QR
21	E	53	141,84	286,14	QR
22	E	72	150,13	363,50	QR
23	E	67	102,23	206,08	QR
24	E	67	72,45	244,07	RR
25	K	79	189,12	618,94	RR
26	E	45	85,96	96,71	QQ
27	K	56	51,57	69,07	QQ
28	K	74	108,07	240,07	QR
29	E	78	215,52	476,18	QR
30	E	75	144,91	691,40	RR
31	E	65	100,08	317,45	RR
32	K	67	67,23	142,76	QR
33	K	68	71,84	99,47	QQ
34	E	70	25,78	63,24	QR
35	E	68	66,62	76,44	QQ
36	K	75	53,42	214,29	RR
37	E	52	38,07	93,64	QR
38	E	65	63,85	92,71	QQ
39	E	63	60,17	76,14	QQ
40	E	58	53,42	73,07	QQ
41	E	56	132,32	611,88	QR
42	E	43	63,24	77,36	QQ
43	E	73	91,49	266,18	QR

Tablo 3.3 (devamı): Abdominal aort anevrizmalı hasta bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.

44	E	76	50,96	68,15	QQ
45	E	70	74,29	118,50	QQ
46	K	65	60,17	89,64	QQ
47	E	63	58,64	70,30	QQ
48	E	84	53,11	74,91	QQ
49	E	76	146,44	217,67	QQ
50	E	54	68,77	367,50	RR
51	K	58	158,42	202,01	QQ
52	E	64	51,57	60,17	QQ
53	E	46	73,68	162,10	QR
54	E	45	162,71	423,68	QR
55	E	70	42,36	67,85	QR
56	E	63	121,57	157,80	QQ

Tablo 3.4: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.

	Cinsiyet	Yaş	Bazal Aktivite (U)	Tuzla Uyarılmış Aktivite(U)	Fenotip
1	K	31	276,62	917,06	RR
2	K	46	59,86	314,69	RR
3	E	32	71,84	115,74	QR
4	E	38	82,28	122,50	QQ
5	E	40	48,81	124,64	QR
6	E	44	49,12	77,98	QQ
7	E	38	74,91	112,36	QQ
8	E	47	158,72	486,31	RR
9	E	47	111,14	153,20	QQ
10	E	33	60,17	66,92	QQ
11	K	52	47,28	95,17	QR
12	E	49	245,36	756,79	RR
13	K	27	348,77	1100,67	RR
14	K	38	96,71	439,64	RR
15	E	67	74,60	120,04	QR
16	E	44	62,68	278,77	RR
17	E	66	157,80	509,03	RR
18	E	49	163,33	527,14	RR
19	E	35	345,36	1123,44	RR
20	E	31	225,35	815,13	RR
21	E	35	180,52	362,58	QR
22	E	39	163,68	436,27	QR
23	E	46	157,80	341,40	QR
24	E	47	199,25	369,95	QR
25	E	22	15,96	75,52	RR
26	E	32	66,31	76,75	QQ

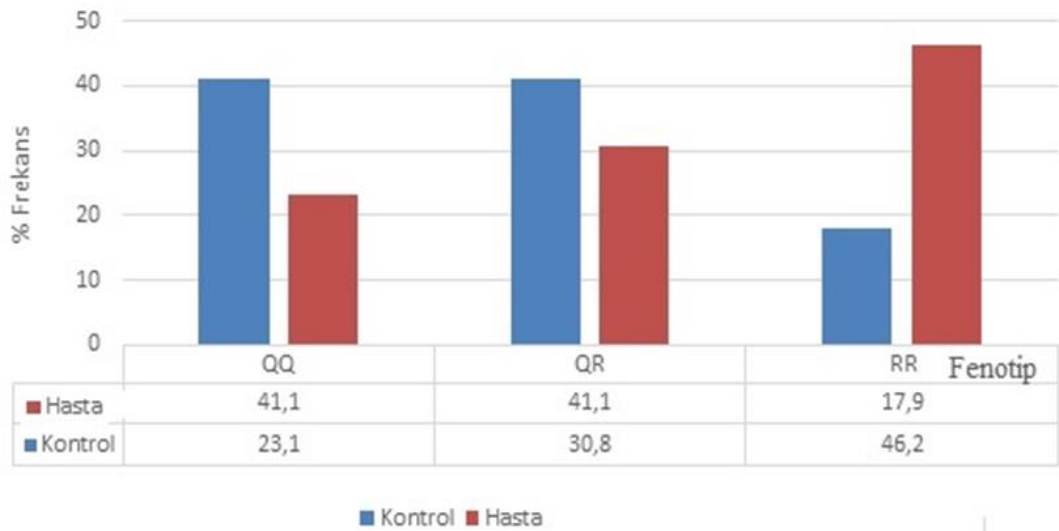
Araştırmamızda 56 hasta olgunun 23'ünün (%41,1)QQ, 23'ünün (%41,1) QR, 10'unun (%17,9) RR fenotipi gösterdiği bulunmuştur. Kontrol grubun ise 6'sının (%23,1) QQ, 8'inin (%30,8) QR, 12'sinin ise (%46,12) RR grubu olduğu bulunmuştur. Bu bilgilerin p değerleri Tablo 3.5' te verilmiştir.

Tablo 3.5: Hasta ve kontrol grubunun fenotipi, görülme yüzdeleri ve p değerleri.

Fenotip	Kontrol	Hasta	p
QQ	6 (%23,1)	23(%41,1)	0,11
QR	8(%30,8)	23(%41,1)	0,37
RR	12(%46,12)	10(%17,9)	0,007*

Tablo 3.5'te görüldüğü gibi $p < 0,05$ olduğundan RR grubu ($p = 007$) diğer gruplara göre istatistiksel olarak oldukça anlamlıdır. Hasta ve kontrol grubunda bireylerin fenotipleri ve yüzdeleri Tablo 3.6' da gösterilmiştir.

Tablo 3.6:PON1 192 Q/R (A/B) fenotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları



4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada, paraoksonaz enziminin polimorfizmi ile Abdominal Aort Anevrizma hastalığı arasındaki ilişki incelenmiştir.

Paraoksonaz enzimi karaciğerde sentezlenen bir metaloenzimdir. Söz konusu enzim yüksek yoğunluklu lipoproteine (HDL) bağlı olarak serumda bulunur. Bu enzim, giriş kısmında ayrıntılı olarak da belirtildiği gibi üç farklı fizyolojik fonksiyona sahiptir. Bu fonksiyonlar; detoksifikasyon, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri sayılabilir. Bu nedenle söz konusu enzim üzerinde çok yoğun çalışmalar yapılmakta, kongreler düzenlenmekte ve bu ilgi gün geçtikçe artmaktadır [125].

Araştırmamızda çalıştığımız PON1 enziminin, aynı zamanda birçok organofosfatların hidroliz reaksiyonunu katalizlediği bilinmektedir. Detoksifikasyon aktivitesi ile birçok bileşiğin nörotoksitesinden sinir sistemini koruduğu gibi aynı zamanda toksik bileşiklerin diğer olası zararlarından da organizmayı korumaktadır [125].

Abdominal aort anevrizması, karın aortasının normal yapısını kaybetmesi sonucu oluşan ölümcül bir damar hastalığıdır. Damar duvarında zayıflık meydana gelir ve beklenen çapın 1,5-2 katından daha fazla genişleyerek kendini gösterir. Söz konusu hastalığın nedenleri ise, yüksek tansiyona bağlı olarak oluşan dejenerasyon, damar yapısı içerisinde gerçekleşen reaksiyonlar, damar duvarının doğuştan bozuk olmasına bağlı genetik bozukluklar, reaktif oksijen türlerinin damar yapısında meydana getirdiği hasarlar, yaş ve en önemlisi sigara kullanımınıdır. Özellikle Reaktif oksijen türlerin artması birçok hastalığa neden olduğu gibi Abdominal aort anevrizma hastalığının da nedenlerinden birisi sayılmaktadır [120].

Normal şartlar altında süperoksit, nitrikoksit radikalleri ve hidrojen peroksit gibi ROS'lar, organizmada oluşmaktadır ve önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Ancak son derece reaktif bu bileşiklerin miktarlarının artması ilgili organizmanın oksidatif stresle karşı karşıya kalmasına sebep olmaktadır [112].

PON 1, aynı zamanda antioksidan etkisi ile de öne çıkmaktadır. Bu enzimin antioksidant aktivitesi ile düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önlediği bilinmektedir [37, 40, 126]. Çünkü söz konusu enzim, peroksidasyona uğramış lipidleri ve aynı zamanda hidrojen peroksidi hidroliz etmektedir. Böylelikle oksidasyonu önlenen LDL-kolesterolün hücre içine girişinde önemli katkılar sağlamaktadır. Lipit peroksidasyonunda R ve Q formlarının aktiviteleri farklı olmasına rağmen toplam PON1 aktivitesinin çok daha önemli olduğu bilinmektedir [42].

Paraoksonaz enziminde farklı polimorfizmlere rastlanmasına rağmen en önemlisi, 192.pozisyondaki arginin/glutamin (R/Q) polimorfizmidir. Enzimin 192.pozisyonda arginin rezidüsünün bulunması, aktivitesinin daha yüksek, glutamin rezidüsünün bulunması ise söz konusu aktivitenin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Q ve R polimorfizminin birçok hastalıkla ilgili ilişkisi incelenmiştir [10].

Araştırmamızda, hasta grubunun PON1 aktivitesi, kontrol grubuna göre dramatik bir şekilde düşük olduğu saptanmıştır. Literatürde PON1 aktivitesi ile farklı hastalıklar arasındaki ilişki incelenmiş ve genel olarak hasta bireylerdeki PON1 aktivitesinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Örnek olarak, akciğer kanser tanısı konulan hastalardaki PON 1 aktivitesi, kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir [127]. Başka bir çalışmada ise B12 vitamin eksikliği anemisi olan çocuklarda serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi incelenmiş, paraoksonaz ve arilesteraz düzeyleri hem kontrol hem de demir eksikliği anemisi grubundaki çocukların ortalama değerinden düşük bulunmuştur [74]. Akut böbrek yetmezliği tanısı alan çocuklarda paraoksonaz ve arilesteraz düzeyleri incelenmiş, kontrol grubuna göre bu enzim düzeyleri düşük bulunmuştur [128]. Travmalı hastalarda serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri incelenmiş, kontrol grubuna göre enzim düzeyleri daha düşük saptanmıştır [129]. Diğer bir çalışmada ise söz konusu enzimin aort ve mitral kapak hastalıklarındaki aktivitesi araştırılmış ve hastalıklı olan kişilerde enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur [130]. Diabetes Mellitus'da paraoksonaz aktivitesi ve aopp düzeyleri araştırılmış, enzim aktivitesi hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur [131]. Meme kanserli olgularda yapılan başka bir çalışmada ise PON1 aktivitesinin hasta grubunda azaldığı gözlemlenmiştir [132].

Tez kapsamındaki araştırma sonucunda Abdominal aort anevrizması olan hastalardaki serum PON1 düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük bulunmasının birçok nedeni olabilir. PON1 enziminin şu ana kadar tespit edilmiş aktiviteleri göz önüne alındığı zaman, bu enzim aktivitesi düşük olan bireylerin, lipit peroksidasyonu arttığı gibi, reaktif oksijen düzeylerinin de arttığı bilinmektedir. Bu durum söz konusu hastalığın en önemli nedenlerinden birisi olan reaktif oksijen türlerinin damar yapısında meydana getirdiği hasarları düşündürmektedir.

Araştırmamızın bu bölümünde Abdominal aort anevrizması olan hastalarda PON1 polimorfizmi belirlenmiştir. Çalışmamızda 56 hasta olgunun 23'ünün (%41,1)QQ, 23'ünün (%41,1) QR, 10'unun (%17,9) RR fenotipi gösterdiği bulunmuştur. Kontrol grubun ise 6'sının (%23,1) QQ, 8'inin (%30,8) QR, 12'sinin ise (%46,12) RR grubu olduğu bulunmuştur. Literatürde farklı hastalıklar ile PON polimorfizmi araştırılmış ve farklı değerler bulunmuştur. Örneğin PON1 192 QR polimorfizmiyle koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki incelendiğinde, RR fenotipinin koroner arter hastalığında daha yüksek sıklıkta izlendiği görülmüştür [134]. Bir başka çalışmada ise Alzheimer hastalarında R alleli taşıyan hastalar, Q alleli taşıyanlara göre daha yüksek serum PON1 aktivitesi göstermişlerdir [134].

Paraoksonaz, pestisit ve diğer organofosfat bileşiklerini hidroliz ederek detoksifikasyonda önemli rol oynar. PON 1 enziminin söz konusu aktivitesi RR fenotipinin, QQ fenotipine göre çok daha yüksek olduğu bilinmektedir. Pestisitler ürün verimini artırmak için oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla beraber, yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımının sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Bu maddeler besin zinciri ile insanlara ulaşabildiği belirlenmiştir. Çoğu pestisit kalıntılarının, kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturucu etkiler saptanmıştır. Söz konusu bu ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu için moleküler oksijen kullanılması sonucu oksidatif stres oluşumunu indüklediği bulunmuştur. Bu nedenle pestisitlerin, ROS oluşumunun bir sebebi olduğu söylenebilir [135].

Ancak damar duvarının içindeki kan basıncına dayanmasını sağlayan kolajen ve elastin proteinlerin ROS ile tahrip olması anevrizmanın en belirgin özelliklerindedir. Araştırmamızda seçilen AAA hasta bireylerde QQ fenotipi daha

yüksek bulunmuştur. Bu kişilerin pestisitlerin detoksifikasyon kabiliyetinin biraz daha düşük olduğunu söylemek mümkündür. Bunun sonucu olarak söz konusu bireylerde artan oksidatif stresin, AAA'ya daha yatkın olacaktır. Nitekim literatürde rastladığımız bir çalışmada meme kanserli olgularda QQ fenotipi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır [132].



5. KAYNAKLAR

- [1] Azarsız, E. ve Sözman, E.Y., "Paraoksonaz ve Klinik Önemi", *Türk Biyokimya Dergisi*, 25 (3) ,109-119, (2000).
- [2] Durrington, P.N., Mackness B.and Mackness M.I., "Paraoksonase and Atherosclerosis", *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 473-480, (2001).
- [3] Carey, J. N., Sihih,D.M ., Hama,S.Y., Natividad V., Navab,M. and Reddy, S.T., "The Paraoksonase Gene Family and Atherosclerosis", *Free Radical Biology & Medicine*, 38, 153– 163, (2005).
- [4] Gürsu, M.F., Önderci, M. ve Gülcü, F., "Koroner Kalp Hastaları ile Etiyolojik Risk Faktörlerini Tasıyan Bireylerde Paraoksonaz Aktiviteleri ve Fenotiplerinin Arastırılması" , *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 17(4) , 237-244, (2003).
- [5] Klimov, A.N., Gurevich, V.S., Nikiforova, A.A., Shatilina, L.V., Kuzmin, A.A., Plavinsky, S.L. and Teryukova, N.P. "Antioxidative activity of high-density lipoproteins in vivo", *Atherosclerosis*, 100, 13-19,(1993).
- [6] Bayrak,T.,Bayrak,A.,Demirpençe,E.ve Kılınç,K., "Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: Paraoksonaz", *Hacettepe Tıp Dergisi*, 36, 147-151, (2005).
- [7] Uysal,S.,Akyol,S.,Hasgöl,R.,Armutçu,F.ve Yiğitoğlu.,R. "Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz", *Yeni Tıp Dergisi*, 28(3), 136-141, (2011).
- [8] Durrington, P.N., Mackness B.and Mackness M.I.,"Human serum Paraoksonase", *Gen Pharmacol*, 31, 329-36, (1998).
- [9] Aviram, M., Rosenblat,M., Scott, B., Eroglu, J., Sorenson R., Bisgaier C.I., Newton R.S. and La Du B.,"Human serum paraoksonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants", *Free Rad Biol & Med*, 26,892-904, (1999).
- [10] Mackness M.I., Mackness B., Arrol S., Wood G., Bhatnagar D. and Durrington P.N.," Presence of paraoksonase in human interstitial fluid", *FEBS Letters*, 416, 377-80, (1997).
- [11] Griffith M.K., Virella G.T., Stevenson H.C. and Lopes-Virella M.F., " Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes. A possible mechanism of foam cell formation", *J Exp Med*, 168,1041-59, (1988).

- [12] Uriel, A., "Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese et immunoelectrophorese en gelose, I ; applications a l'etude des esterases du serum humain normal", *Am Insit Pasteur*, 101-104, (1961).
- [13] Mackness, M.I., Mackness, B., Durrington, P.N., Connelly, P.N. and Hegele, R.A., "Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins", *Current Opinion in Lipidology*, 7, 69-76, (1996).
- [14] Erden, İ., "ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü (Stemi) Hastalarda İnsan Paraoxonase Geni Met-Leu/55 Polimorfizmi", Uzmanlık tezi, Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul, (2004).
- [15] Furlong, C.E., Richter, C., Chapline, C. and Crabb, J.W., "Purification of rabbit and human serum paraoxonase", *Biochemistry*, 30, 10133-10141, (1991).
- [16] Rodrigo, L., Gil, F., Hernandez, A.F. and Pla, A., "Identification of two rat liver proteins with paraoxonase activity: biochemical evidence for the identity of paraoxonase and arylesterase", *Chem. Biol. Interact*, 119-120, 263-275, (1999).
- [17] Bastos, C., Rossini, A., Alves, M.V., Ceccarelli, P.S., Lima, J.A.F. and Bastos, J.C., "Paraoxonase activity in sera from *Piaractus mesopotamicus holmbergi* (Characidae) and *Hypostomus punctatus valenciennesi* (Siluridae)", *Revta bras. Zool*, 15(3), 665-675, (1998).
- [18] Keizer, J., D'Agostina, G. and Vittozi, L., "The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*)", *Aquatic toxic*, 21, 239-254, (1991).
- [19] Aldridge, W.N. and Reiner, E., "Enzyme inhibitors as substrates: interaction of esterases with esters of organophosphorus and carbamic acid", *American Elsevier*, Newyork, 176-189, (1975).
- [20] Dragonov, I. and La Du, B.N., "Pharmacogenetics of Paraoxonases: A Brief Review", *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 369, 78-88, (2004).
- [21] La Du, B.N., Billecke, S., Navab M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R.C., and Standiford, T.J., "On The Physiological Role(s) of The Paraoxonases", *Chemico-Biological Interactions*, 379-388, (1999).
- [22] Suchocka, Z., Swatowska, J. and Pachecka, J. et al. "RP-HPLC determination of Paraoxonase activity in human blood serum", *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42, 113-9, (2006).

- [23] Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L., Brumshtein, B., Khersonsky, O., Megeed R., Dvir, H., Ravelli, R.B., McCarthy, A., Toker, L., Silman, I., Sussman, J.L. and Tawfik, D.S., "Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes", *Nature Structural & Molecular Biology*, 11, 412-419, (2004).
- [24] Mazur A., "An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates", *J Biol Chem*, 164, 271-89, 38, (1946).
- [25] Mackness, B., Durrington, P.N. and Mackness, M.I., "The Paraoxonase Gene Family and Coronary Heart Disease", *Current Opinion in Lipidology*, 13, 357-362, (2002).
- [26] Adkins, S., Gan, K.N., Mody, M. and La Du, B.N., "Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes", *Am J Hum Genet*, 52, 598-60, (1993).
- [27] Eckerson, H.W., Wyte, C.M. and La Du, B.N., "The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism", *Am J Hum Genet*, 35, 1126-1138, (1983).
- [28] Gan, K.N., Smolen A., Eckerson H.W. and La Du BN., "Purification of Human Serum Paraoksonase/Arylesterase, Evidence for One Esterase Catalyzing Both Activities", *Drug Metab. Dispos*, 19 (1), 100-6, (1991).
- [29] Mackness, M.I., Arroll, S.I., Mackness, B. and Durrington, P.N., "Alloenzymes of paraoxonase and effectiveness of high density lipoproteins in protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation", *Lancet*, 349, 851-852, (1997).
- [30] Eckerson, H.W., Romson, J., Wyte, C.M. and La Du, B.N., "Human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their responses to salts", *Am J Hum Genet*, 35, 214-27, (1983).
- [31] Aviram, M., Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., Billicke, S., Draganov, D. and Rosenblat, M., "Human Serum Paraoxonases (PON1) Q and R Selectively Decrease Lipid Peroxides in Human Coronary and Carotid Atherosclerotic Lesions", *Circulation*, 101, 2510-2517, (2000).
- [32] Mackness, M.I., "Commentary. 'A' esterases, Enzymes looking for a role?", *Biochem Pharmacol*, 38, 385, (1989).
- [33] Mackness, M.I., "Possible medical significance of human serum 'A' esterases", In: Reiner, E., Aldridge, W.N., Hoskin, F.C.G., "Enzymes hydrolyzing organophosphorus compounds", *Ellis Horwood, Chichester*, 202-213, (1989).
- [34] Josse, D., e.a., "Oligometric States of The Detergent-Solubilized Human Serum Paraoxonase (PON1)", *J. Biol. Chem*, 277, 33386-97, (2002).

- [35] Arslan, O. ve Sinan, S., "İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yeni Bir Yöntemle Safalaştırılması ve Bazı Antibiyotiklerin Enzim Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması", Doktora tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2005).
- [36] Lusis, A.J., "Atherosclerosis", *Nature*, 407, 233, (2000).
- [37] Mackness, B., Davies, G.K., Turkei, W., Lee, E., Roberts, D.H., Hill, E., Roberts, C., Durrington, P.N. and Mackness, M.I., "Paraoxonase Status in Coronary Heart Disease", *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol*, 21, 1451, (2001).
- [38] Biggadike, K., Angell, R.M., Burgess, C.M., Farrell, R.M., Hancock, A.P., Harker, A.J., Irving, W.R., Ioannou, C., Panayiotis, A., Procopiou, P.A., Shaw, R.E., Solanke, Y.E., Singh, O.M.P., Snowden, M.A., Stubbs, R.J., Walton, S. and Weston, H.E., "Selective plasma hydrolysis of glucocorticoid -lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: An ideal plasma inactivation mechanism", *J. Med. Chem*, 43, (2000).
- [39] Teiber, J.F., Draganov, D.I, La Du Bert. "Lactonase and lactonizing activities human serum paraoxonase(PON1) and rabbit serum PON3", *Biochemical Pharmacology* , 66 , 887–896, (2003).
- [40] Billecke, S., Draganov, D., Councell, R., Stetson, P., Watson, C., Hsu, C. and La Du, B.N., "Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyse lactones and cyclic carbonate esters", *Drug Metab. Dispos*, 28(11), 1335, (2000).
- [41] Tomás, M., Latorre, G., Sentí, M. and Marrugata, J., "The Antioxidant Function of High Density Lipoproteins: A New Paradigm in Atherosclerosis", *Rev. Esp. Cardiol*, 57(6), 557-69, (2004).
- [42] La Du, B.N., "Human serum paraoxonase/arylesterase, In Pharmacogenetics of Drug Metabolism",. Kalow, W., Pergamon Pres, *New York*, 51, (1992).
- [43] Costa, L.G., Li, W.F. and Richter, R.J., "PON1 and organophosphate toxicity", *pp*, 165–83, (2002).
- [44] Broomfield, C.A. and Ford, K.W., "Hydrolysis of nerve gasses by plasma enzymes", Proceedings of the 3rd International Meeting on Cholinesterases, *La Grande-Motte*, France, 167, (1991).
- [45] Baillie, T.A., Moldeus, P., Mason, R.P. and Younes, M., "Enzymes Interacting with Organophosphorus Compounds", *Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd*, Shannon, (1993).

- [46] Sorenson, R.C., Primo-Parmo, S.L., Kuo, C.L., Adkins, S., Lockridge, O. and La Du, B.N., "Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase", *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*,92, 7187, (1995).
- [47] Borhani, D.W., Rogers, "Crystal Structure Of truncated Human Apolipoprotein A-I Suggests A Lipid Bound Conformation". *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, 94, 12291-96, (1997).
- [48] Deakin, S.P. and James, R.W., "Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase" ,*Clinical Science*, 107 , 435-447, (2004).
- [49] James, R.W. and Deakin, S.P., "The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion ,stability, and activity", *Free Radic Biol Med* ,37(12),(1986-1994), (2004).
- [50] Deakin, S., Leview, I., Gomaraschi, M., Calabresi, L., Franceschini, G. and James, R.W., "Enzymatically active paraoxonase-1 is located at external membrane of producing cells and released by high affinity, *J.Biol.Chem*, 277,4301-4308, (2002).
- [51] Gealy, R., Zhang, L., Siegfried, J.M., Luketich, J.D. and Keohavong, P., "Comparison of mutation in the p53 and K-ras genes in lung carcinomas from smoking and nonsmoking women", *Cancer Epidemiology ,Biomarkers &Prevention*, 8, 297-302, (1999).
- [52] Marie-Claude Garn, B., Abbott, C., Messmer, T. S., Mackness, M., Durrington, P., Pometta, T.D. and James, R. W., "Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations", *Biochem. J*, 304, 549-554, (1994).
- [53] Humbert, R., Adler, D.A., Distech, C.M., Hassett, C., Omiecinski, C.J. and Furlong, C.E., " The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism", *Nat Genet*, 3,73-76, (1993).
- [54] Josse, D.E.A., "Identification of Residues Essential For Human Paraoxonases(PON1) Arylesterase/Organophosphatase Activities". *Biochemistry*, 38, 2816-25, (1999).
- [55] Feingold, K-R., Memon, R-A., Moser, A-H. and Grunfeld, C., "Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response", *Atherosclerosis*, 139, 307, (1998).
- [56] Hassett, C., Richter, R.J., Humbert, R., Chapline, C., Crabb, J.W., Omiecinski, C.J. and Furlong, C.E., "Characterization of cDNA clones encoding rabbit and

- human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence", *Biochemistry*, 30, 10141, (1991).
- [57] Oda, M.N., Bielicki, J.K., Berger, T. and Forte, T.M., "Cysteine substitutions in apolipoprotein a-I primary structure modulate paraoxonase activity", *Biochem*, 40, 1710, (2001).
- [58] James R, L.I., Ruiz, J., Passa, P., Fuegel, P. and Gavin, M.C.B., "Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients", *Diabetes*, 29, (2000).
- [59] Paragh G, B.P., Katona, E., Seres, I., Egerhazi, A. and Degrell, I., "Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia", *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 252(2)(63-67), (2002).
- [60] Aviram M., "Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases", *Free Radic Res*, 85-97, (2000).
- [61] Yavuz, D., Deyneli, O., Yüksel, M., Toprak, A., Aydın, H ve Akalın, S., "P022-TiP 1 Diyabetik Hastalarda Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Endotel Fonksiyonu 75 ile İlişkisi", *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, (2003).
- [62] Scacchi, R, G.G., Martini M.C., Broggio, E., Vilaro, T. and Corbo, R.M., "Different pattern of association of paraoxonase Gln192-Arg polymorphism with sporadic late-onset Alzheimer's disease and coronary artery disease", *Neurosci Lett*, 339, 17-20, (1998).
- [63] Marchesani, M., Tuomainen, T.P., Kaikkonen, J., Pukkala, E., Uimari, P., Seppälä, E., Matikainen, M., Kallioniemi, O.P., Schleutker, J., Lehtimäki, T. and Salonen, J.T., "New Paraoxonase 1 Polymorphism I102V and the Risk of Prostate Cancer in Finnish Men", *Journal of the National Cancer Institute*, 95(11), 812-818, (2003).
- [64] Juretic, D., "Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study", *Croat Med J*, 42(2), (146-50), (2001).
- [65] Hermiston, M.L. and Mentzer, W.C., "A practical approach to the evaluation of the anemic child", In: Vichinsky E, Walters M, Feusner J, editors. *The Pediatric Clinics of North America*, Philadelphia :WB Saunders, 877-891, (2002).
- [66] Ko, YL, K.Y., Wang S.M., Hsu, L.A., Chang, C.J., Chu, P.H., Cheng, N.J., Chen, W.J., Chiang, C.W. and Lee, Y.S., "The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene is not associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan", *Atherosclerosis*, 141(2), 259-64, (1998).
- [67] Suehiro T, I.Y., Ohsaki, F., Arai, K., Kumon, Y. and Hashimoto, K., "Relationships between polymorphism of the human serum paraoxonase gene

and insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes", *Diabetes Res Clin Pract*, 60(2), 79-85, (2003).

- [68] Sanghera, D.K, Saha.N and Kamboh M.I., "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*, 136(2), 217-23, (1998).
- [69] Yavuz, D., Yüksel,M., Aydın,H., Deyneli,O. ve Akalın,S., "S002- Hipertiroidide Serum Paraoksonaz aktivitesi azalmaktadır." *Turkish Journal of Endocrinology and metabolism*, 7, (2003).
- [70] Packard Cj, Shepherd J: "Trigliseridler ile koroner kalp hastalığı arasındaki bağlantının metabolik temeli". Born GVR, Schwartz CJ (Eds.) Koroner Kalp Hastalığında Yeni Ufuklar'da. İstanbul: Turgut Yayıncılık Tic. A.S., 1-2 (1995).
- [71] Selek, S., Aslan, M.and Horoz, M., et al. "Oxidative status and serum PON1 activity in betathalassemia minör", *Clinical Biochemistry*, 287-91, (2007).
- [72] Altındag, O., Karakoc, M.and Kocyigit, A.,. "Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis", *Clin Biochem*, 40, 167-71, (2007).
- [73] Cakmak, A., Soker, M., Koc, A.and Erel, O.," Paraoxonase and arylesterase activity with oxidative status in children with thalassemia majör", *J Pediatr Hematol Oncol*, 583, (2009).
- [74] Koç, A. ve Cengiz M., "Demir Eksikliği Anemisi ve B12 Vitamini Eksikliği Anemisi Olan Çocuklarda Serum Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitesinin Değerlendirilmesi" , Şanlıurfa, (2009).
- [75] Geldmacher-von Mallinckrodt, M., Diepgen, T.L., Duhme, C.and Hommel, G." A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase", *Am J Phys Anthropol*, 235-241, (1983).
- [76] Mackness, M.I., Mackness, B.and Durrington, P.N.," Paraoxonase and coronary heart disease", *Atheroscler Suppl* 3,49-55, (2002).
- [77] Costa, L.G., Cole,T.B., Jarvik, G.P. and Furlong,C.E., "Functional Genomics of the paraoxonase (PON1) Polymorphisms: Effects on Pesticide Sensitivity, Cardiovascular Disease, and Drug Metabolism", *Annu. Rev. Med*, 54, 371-92, (2003).
- [78] Geldmacher, M., Hommel, G.and Dumbach, J., "On The Genetics of The Human Paraoxonase", *Hum. Genet*, 50, 313-326, (1979).
- [79] Playfer, J., Eze, L.C., Bullen, M.F.and Evans, A.P, "Genetic Polimorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity", *J. Med. Genet*, 13, 337-342, (1976).

- [80] Heinecke, J.W. and Lusis, A.J., "Paraoxonase-Gene Polymorphisms Associated with Coronary Heart Disease: Support for the Oxidative Damage Hypothesis?", *Am. J. Hum. Genet.*, 62,20–24, (1998).
- [81] Schmidt, H. and Schmidt, R., "PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study", *Stroke*, 29,2043–2048, (1998).
- [82] Serrato M. and Marian A.J., "A variant of the human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease", *J. Clin Invest*, 96,3005-3008, (1995).
- [83] Sorenson, R.C., Primo-Parmo, S.L., Camper, S.A. and La Du B.N., "The genetic mapping and gene structure of mouse paraoxonase/arylesterase", *Genomics*, 30, 431-38, (1995).
- [84] Brophy, V.H., Clendenning, J.B., Jampsa, R.L., McKinstry, L.A., Jarvik, G.P. and Furlong C.E., "Effects of 5' Regulatory-Region Polymorphisms on Paraoxonase-Gene (PON1) Expression", *Am J Hum. Genet.*, 68,1428–1436, (2001).
- [85] Li, H.L., Liu, D.P. and Liang, C.C., "Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases", *J Mol Med*, 81, 766–779, (2003).
- [86] Leviev, I. and James, R. W., "Promoter Polymorphisms of the Human Paraoxonase PON1 Gene and Serum Paraoxonase Activities and Concentrations", *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 516-521, (2000).
- [87] Aynacioglu, A., Cascorbi, Mrozikiewicz, P.M., Nacak, M., Tapanyigit, E.E. and Roots, I., "Paraoxonase 1 Mutations in A Turkish Population", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157, 174-177, (1999).
- [88] Osei-Hyiaman D, H.L., Mengbai, F., Zhiyin, R., Zhiming, Z. and Kano K., "Coronary artery disease risk in Chinese type 2 diabetics: is there a role for paraoxonase 1 gene (Q192R) polymorphism?" *Eur J Endocrinol*, 144, 639-644, (2001).
- [89] Hegele, R.A., "Paraoxonase Genes and Disease". *Ann. Med.*, 31, 217-224, (1999).
- [90] Voetsch B, B.K., Damasceno B.P, Siqueira L.H. and Loscalzo, J., "Paraoxonase 192 Gln!Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults", *Stroke*, 33, 1459-1464, (2002).
- [91] Ikeda T, O.H., Hasegawa, G., Nakamura, N., Yoshikawa, T., Imamura, Y., Koizumi, K. and Kinoshita, S., "Paraoxonase Gene Polymorphisms And Plasma oxidized Low-Density Lipoprotein Level As Possible Risk Factors For

- Exudative Age-Related Macular Degeneration", *Am J Ophthalmol*, 132, 191–195, (2001).
- [92] Konda I, Y.M., "Genetic Polymorphism of Paraoxonase 1 (PON1) and Susceptibility to Parkinson's Disease", *Brain Res*, 806, 271-273, (1998).
- [93] Büyüksulu, N. and Yiğitbaşı, T., "Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres", *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3,5, (2015).
- [94] Akkus I., "Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri", *Mimoza yayınları*, (1995).
- [95] Dore, S., M. Takahashi, C.D. Ferris, et al. "Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury", *Proc Natl Acad Sci USA*, 2445-50, (1999).
- [96] Kremer, T. and M.R. "Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase", *Respiratory Research*, 5, 16, (2004).
- [97] Minnet, C., "Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi", *Uzmanlık tezi*, (2006).
- [98] Bayir H,K ve Tyurina, Y.Y "Assesment of antioxidant reserves and oxidative stress in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children", *Pediatric Research*, 51, 571-8, (2002).
- [99] Cirak, B., Dnci, S. ve Palaoğlu, S. "Lipit peroxidation in cerebral tumors", *Clinica Chimica Acta*, 327, 103-7, (2003).
- [100] Valko, M., Rhodes, C.J. and Moncol, J., "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer", *Chem Biol Interact*, 160, 1-40, (2006).
- [101] Valenzuela, A., "The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress", *Life Sci*, 48, 301-9, (1991).
- [102] Droge W., "Free radicals in the physiological control of cell function". *Physiol Rev*, 47-95, (2002).
- [103] Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T., "Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma", *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi*, 3,92-5, (1997).
- [104] Kılınç, K. ve Kılınç, A., "Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri", *Hacettepe Tıp dergisi*, 33, 110-8, (2002).
- [105] Yamamoto, Y., "Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging", *Journal of Dermatological Science*, 27, 1-4, (2000).
- [106] Genestra M., "Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants", *Cell Signal*, 1807-19, (2007).

- [107] Cheeseman, K.H., Slater, T.F., " An introduction to free radical biochemistry", *Br. Med. Bull*, 49, 479–480, (1993).
- [108] Yiğit, A., ve Yurdakök, M., "Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar", *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 749-65, (1997).
- [109] Baykal, Y., Gök, F., ve Erikçi, S., "Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar", *Sendrom*, 94-100, (2002).
- [110] Asad, S.F., Singh, S., Ahmad, A., Khan, N.U. and Hadi, S.M. "Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study", *Chem Biol Interact*, 137, 59-74 , (2001).
- [111] Hegyi, T., Goldie, E. and Hiatt, M., "The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant", *J. Perinatol*, 296-300, (1994).
- [112] Atay, E., Öğüt S. " Yaşlılık ve Oksidatif Stres", *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg*, 19(2), 68-74, (2012).
- [113] Mackness, M.I., Arrol, S. and Durrington, P.N., "Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein", *FEBS Lett*, 152-4, (1991).
- [114] Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., Bisgaier, C., Newton, R., Rosenblat, M., Erogul, J., Hsu, C. And Dunlop, C., "Paraoxonase Active Site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities", *Arterioscler Thromb Vasc. Biol*, 18,1617-1624, (1998).
- [115] Navab, M., Hama-Levy, S., Van Lenten, B.J. "Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio", *J Clin Invest*, 99,2005– 2019, (1997).
- [116] Weintraub, N.L., "Understanding abdominal aortic aneurysm", *N Engl J Med* ,361,1114–6, (2009).
- [117] Baxter, B.T., Terrin, M.C and Dalman, R.L. "Medical management of small abdominal aortic aneurysms", *Circulation*, 117,1883–9, (2008).
- [118] Satoh, K., Nigro, P., and Matoba, T., et al. "Cyclophilin A enhances vascular oxidative stress and the development of angiotensin II-induced aortic aneurysms", *Nat Med*, 15,649–56 , (2009).
- [119] Numan, F., Gülşen, F., Arbatlı, H., Cantaşdemir, M. ve Solak S. "Aort Anevrizmaların Endovasküler Tedavisinde Yeni Umutlar", *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* , 2, 27-32, (2011).
- [120] Miller, F.J., Sharp, W.J., Fang, X., Oberley L.W., Oberley T.D. and Weintraub N.L., " Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential

- mediator of aneurysmal remodeling", *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22,560–5, (2002).
- [121] Bergqvist,D., Björck,M. and Wanhainen,A."AbdominalAorticAneurysm - ToScreenor Not toScreen", *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 35, 13-18, (2008).
- [122] Schramm, A., Matusik, P., Osmenda, G., and Guzik, T.J., "Targeting NADPH oxidases in vascularpharmacology", *VasculPharmacol* , 56,216–31, (2012).
- [123] Aviram, M., and Rosenblat, M., "Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidativestress, and macrophage cell formation during atherosclerosis development", *FreeRadicBiolMed* , 1304–16, (2004).
- [124]Khersonsky, O. and Tawfik, D., "Structure–reactivitystudies of serum paraoxonase PON1 suggestt hatitsnative activity is lactonase", *Biochemistry* ,44(16), 6371–82, (2005).
- [125] Başkol,G. ve Köse,K.,”Paraoksonaz: Biyokimyasal Özellikleri, Fonksiyonları ve Klinik Önemi” *Erciyes Tıp Dergisi* , 75 (2) 75-80, (2004).
- [126] Michael I. Mackness, B.M., Paul N. Durrington, "Paraoxonase and coronary heart disease", *Atherosclerosis Supplements*, 3, 49-55, (2000).
- [127] Berkkan, H.ve 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).
- [128] Akbıyık, Ş.,Soran, M.ve Zeyrek D., "Akut Böbrek Yetmezliği Tanısı Alan Çocuklarda Oksidan ve Antioksidan Kapasite, Paraoksonaz, Arilesteraz ve Prolidaz Düzeylerinin Değerlendirilmesi,” Uzmanlık tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı, Şanlıurfa, (2010).
- [129] Yıldırım,A., Arslan.Ş.,Ocak, T.,Yıldırım,S.,Kara, F.ve Şahin,Y.," Travmalı Hastalarda Serum Paraoksonaz/Arilesteraz Aktiviteleri ve Malondialdehit Düzeyleri” *The Eurasian Journal of Medicine*, 85-88, (2007).
- [130] Büyükbaş, S. ve Yardan E., "Aort ve Mitral Kapak Hastalıklarında Serum Paraoksonaz, Arilesteraz, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite ve PON 1 - Q192R Fenotip İlişkisi,” Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, (2011).
- [131] Öztürk,H. ve Eren, N., “Diabetes Mellitus’da Paraoksonaz Akvitesi ve AOPP Düzeyleri” Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü,İstanbul, (2008).

- [132] Arslan,O. ve Kaya, O.,"Meme Kanserli Olgularda Paraoksonaz(PON1) Polimorfizminin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2009).
- [133] Ayaoğlu, Ö.B.,Ekmekçi, Ö.B., Ekmekçi, H., Belce, A.,Ayaoğlu,R.U ve Belce A., "Koroner Arter Hastalarında Kardiyovasküler Risk Faktörü Olarak Paraoksonaz Aktivitesi ve Okside LDL Düzeyleri", *İstanbul Med J*, 69-75, (2013).
- [134] Dantoine, T.F., Drouet, M., Debord, J., Merle, L., Cogne, M., Charmes, J.P., "Paraoxonase 1 192/55 gene polymorphisms in Alzheimer's disease. Alzheimer's disease: vascular etiology and pathology", *Ann NY Acad Sci*, 239-44, (2006).
- [135] Arslan,O ve Gencer,N., "Paraoksonaz Q ve R İzoenzimlerinin Saflaştırılması ve Bazı Çevre Kirleticilerine Karşı Afinitesinin Araştırılması", Doktora Tezi.Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir,(2008).