

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SUBKLİNİK HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA
TİROKSİN TEDAVİSİNİN SERUM ARİLESTERAZ VE
PARAOKSONAZ 1 AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ömer Faruk DAĞ

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. Suzan TABUR

ŞANLIURFA

2010

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SUBKLİNİK HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA
TİROKSİN TEDAVİSİNİN SERUM ARİLESTERAZ VE
PARAOKSONAZ 1 AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ömer Faruk DAĞ

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. Suzan TABUR

Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurumu tarafından 904 proje numarası
ile desteklenmiştir

ŞANLIURFA

2010

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Tevfik SABUNCU, Doç. Dr. Mehmet HOROZ, Yrd. Doç. Dr. Hakan BÜYÜKHATİPOĞLU, Yrd. Doç. Dr. İbrahim ERTUĞRUL'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez danışmanım, değerli hocam **Yrd. Doç. Dr. Suzan TABUR**'a ve ayrıca eğitimimin bir döneminde bizimle olan ve bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Doç. Dr. Füsun BÖLÜKBAŞ, Doç. Dr. Cengiz BÖLÜKBAŞ, Doç. Dr. Yaşar NAZLIGÜL, Yrd. Doç. Dr. Elmas UZER ve Yrd. Doç. Dr. Ayşenur İZOL TORUN'a teşekkür ederim. Uzm. Dr. M.Ali EREN'e, İç Hastalıkları Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline de teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Biyokimya Anabilimdalı'ndaki kıymetli hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY'a, laboratuvar çalışmaları esnasındaki yardımlarından dolayı Biyolog Abdullah TAŞKIN'a istatistiksel analiz konusunda yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Hakim ÇELİK 'e ve tüm Biyokimya A.D. çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca bana destek olan anneme, babama ve aileme ayrıca teşekkür ederim.

Dr. Ömer Faruk DAĞ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLO LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ÖZET	X
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Subklinik Hipotiroidi (SKH).....	3
2.1.1. Giriş.....	3
2.1.2. SKH Etiyolojisi	4
2.1.3. SKH Ayırıcı Tanısı.....	4
2.1.4. SKH' nın Semptomları.....	4
2.1.5. SKH' nın Seyri ve Önemi	5
2.1.6. SKH' nın Kardiyovasküler Hastalıkla İlişkisi.....	6
2.1.7. SKH' nın Oksidatif Durumla İlişkisi.....	7
2.1.8. SKH Tedavisi.....	8
2.2. İnsan Serum Paraoksonazları.....	10
2.2.1 Paraoksonaz /Ariesteraz (PON1).....	10
2.2.1.1. PON1'in Genetiği ve Polimorfizmi.....	10
2.2.1.2. PON1'in Yapısı ve Etkileri.....	11
2.2.1.3. PON1'in Diğer İsimleri.....	13
2.2.1.4. PON1'in Bakteriyel Endotoksinlere Karşı Koruyucu Etkisi.....	14
2.2.1.5. PON1'in Okside LDL ile Etkileşimi.....	14
2.2.1.6. PON1'in Aterosklerozla İlişkisi.....	16

2.2.1.7. PON1 ve Çeşitli Hastalıklar	16
3. MATERYAL VE METOD.....	19
3.1. Çalışma Dizaynı.....	19
3.2. Metod.....	20
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınışı ve Hazırlanışı.....	20
3.2.2. Boy ve Kilo Ölçümleri.....	20
3.2.3. Kullanılan Cihaz ve Aletler.....	20
3.2.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	21
3.2.5. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü.....	22
3.2.6. Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü.....	23
3.2.7. Rutin Biyokimya Tetkikleri.....	23
3.2.8. İstatistiksel Analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. Tedavi ve Kontrol Gruplarının Özellikleri.....	25
4.2. İlaç Verilen Grubun Sonuçları.....	27
4.3. İlaç Verilmeyen Grubun Sonuçları.....	28
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ	35
7. KAYNAKLAR.....	37

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	: Kontrol grubu ve SKH'lı hasta gruplarının karşılaştırılması 26
Tablo 2	: İlaç verilen grupta sonuçların karşılaştırılması 28
Tablo 3	: İlaç verilmeyen grupta sonuçların karşılaştırılması29

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Paraoksonaz'ın HDL ile etkileşimi	12
Şekil 2	: PON1 Enziminin hücrelerden HDL'ye transferi	13

KISALTMALAR DİZİNİ

Apo A	: Apolipoprotein A
Apo B	: Apolipoprotein B
BKİ	: Beden kitle indeksi
DM	: Diabetes Mellitus
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HDL-K	: HDL Kolesterol
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HsCRP	: High sensitif C- reaktif protein
KAH	: Koroner arter hastalığı
KİMK	: Karotis intima media kalınlığı
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LDL-K	: LDL Kolesterol
Lp a	: Lipoprotein a
LT4	: Levotiroksin
MCP	: Makrofaj kemotaktik protein
MDA	: Malondialdehit
mmLDL	: Minimal modifiye LDL

NO	: Nitrik oksit
PON1	: Paraoksonaz/arilesteraz
PTU	: Propiltiourasil
SKH	: Sublinik hipotiroidi
ST3	: Serbest triiyodotironin
ST4	: Serbest tiroksin
TAS	: Total antioksidan durum
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif maddeleri
TG	: Trigliserit
TK	: Total kolesterol
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon

ÖZET

SUBKLİNİK HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA TİROKSİN TEDAVİSİNİN SERUM ARİLESTERAZ VE PARAOKSONAZ 1 AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Amaç: Subklinik hipotiroidi (SKH), serum serbest triiyodotironin (ST3) ve tiroksin (ST4) seviyelerinin normal, serum tiroid uyarıcı hormon (TSH) seviyesinin ise yüksek olduğu en sık görülen tiroid fonksiyon bozukluğudur. Yapılan çalışmalar, SKH'nın ateroskleroz ve koroner arter hastalığı (KAH) ile ilişkili olduğunu ve SKH'lı hastalarda kardiovasküler hastalıklara bağlı mortalitenin arttığını göstermiştir. Hayvan ve insan deneyleri okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'nin ateroskleroz gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ilişkili paraoksonaz/arilesteraz (PON1) lipid peroksit oluşumunu engeller. SKH'lı olgularda PON1 aktivite düzeyinin ateroskleroz ile olan ilişkisinin araştırılmaya ihtiyacı vardır. Çalışmamızın amacı SKH' da, antioksidatif özelliğe sahip PON1 aktivite düzeylerinin belirlenmesi, levotiroksin (LT4) tedavisinin PON1 aktivitesi ve lipid parametreleri üzerine olan etkisinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya TSH seviyesi 4,2-10 μ IU/L arasında olan 40 SKH'li hasta alındı. Hastalar tedavi alan (20), tedavi almayan (20) ve kontrol (20) grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Çalışma başında gruplar arasında total kolesterol (TK), LDL kolesterol (LDL-K), HDL kolesterol (HDL-K), trigliserit (TG), paraoksonaz, arilesteraz ölçümleri yapıldı. Tedavi grubundaki hastalara LT4 tedavisi başlandı (50 mcg/gün) ve TSH kontrollerine göre doz ayarlaması yapıldı. Tedavi alan ve almayan iki grupta da yapılan bütün ölçümler 1 ay sonra tekrarlandı.

Bulgular: Tüm gruplardaki hastalarda demografik özellikler ve çalışma başında elde edilen TK, HDL-K, TG, PON1 değerleri birbirine benzerdi ($p>0.05$). Ancak tedavi grubundaki hastaların TSH seviyeleri ilaç verilmeyen ve kontrol gruplarından anlamlı olarak daha fazlaydı (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$). İlaç verilmeyen gruptaki hastaların TSH değeri de

kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0,001$). Bir ay sonunda tedavi grubundaki hastaların TSH, paraoksonaz, arilesteraz değerleri anlamlı olarak azaldı (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,05$, $p<0,001$) ve tedavi almayan grupta ise sadece paraoksonaz seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($p<0,05$). LT4 tedavisinin lipid profilinde (TG, TK, HDL-K ve LDL-K) anlamlı değişiklik meydana getirmediğini bulduk ($p>0,05$).

Sonuçlar: Bu sonuçlarla, SKH'lı hastalarda TSH'nın şiddetli bir oksidatif strese yol açtığını ve vücudun paraoksonaz ve arilesteraz gibi antioksidanları kullanarak artmış oksidatif stresle baş etmeye çalıştığını söyleyebiliriz. Yüksek TSH'nın yol açtığı oksidatif-antioksidatif denge bozukluğunun düzelebilmesi için bir aylık tedavi sürecinin yeterli olmayabileceği ve daha uzun süreli ileri bir çalışmaya gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Subklinik hipotiroidi, levotiroksin, paraoksonaz, arilesteraz, TG, TK, LDL-K, HDL-K

SUMMARY

THE EFFECT of THYROXINE TREATMENT on ARYLESTERASE and PARAOXONASE 1 ACTIVITY in PATIENTS with SUBCLINICAL HYPOTHYROIDISM

Objective: Subclinical hypothyroidism (SCH) occurs when thyrotropin (TSH) levels are elevated but free thyroxine (fT4) and triiodothyronine (fT3) levels are normal; and this situation is the most common thyroid dysfunction. Relation of SCH with atherosclerosis and coronary artery disease and increased mortality due to coronary artery disease in SCH had been shown previously. Human and animal studies support the hypothesis that oxidative modification of LDL plays a crucial role in the pathogenesis of atherosclerosis. HDL associated paraoxonase/arylesterase (PON1) inhibit formation of lipid peroxide. The relationships between PON1 activity levels and atherosclerosis in subclinical patients need to be investigated. The aim of our study was to determine serum PON1 activity levels in subclinical hypothyroidism which can play a crucial role in oxidative stress and to investigate the effect of levothyroxine (LT4) treatment on PON1 activity levels and lipid parameters.

Methods: A total 40 SCH patients with TSH level between 4,2 and 10 μ IU/L and 20 healthy persons included into the study. Patients were randomized into three groups as LT4-treated (20), untreated (20), and healthy control group (20). At the beginning of the study; total cholesterol (TC), LDL cholesterol (LDL-C), HDL cholesterol (HDL-C), triglyceride (TG), paraoxonase and arylesterase were measured in each group. LT4 treatment was given to patients in treatment group (50 mcg/day) and dosage was titrated according to TSH level. All measurements were repeated in LT4-treated and untreated groups after one month.

Results: Demographic features and baseline TC, HDL-C, TG, PON1 were similar in all groups ($p > 0.05$). However, TSH levels were significantly higher in LT4-treated group than in untreated group and control group ($p < 0,01$, $p < 0,001$ respectively). Also TSH levels were

significantly higher in untreated group than in control group ($p < 0,001$). TSH, paraoxonase, arylesterase levels significantly decreased in treatment group ($p < 0,001$, $p < 0,05$, $p < 0,001$ respectively) and only paraoxonase levels significantly decreased in untreated group after one month ($p < 0,05$). There was no effect of LT4 treatment on lipid profile ($p > 0,05$).

Conclusion: We suggested that increased TSH levels lead to severe oxidative stress in patients with SCH and organism response to increased oxidative stress with using antioxidants such as paraoxonase and arylesterase. One-month treatment period may be insufficient for the improving of imbalance between oxidant and antioxidant status which occurred with increased TSH levels and we thought that a long-term period study is needed.

Key Words: Subclinical hypothyroidism, levothyroxine, paraoxonase, arylesterase, TG, TC, LDL-C, HDL-C

1. GİRİŞ VE AMAÇ

SKH, serum ST3 ve ST4 seviyelerinin normal, serum TSH seviyesinin ise yüksek olduğu en sık görülen tiroid fonksiyon bozukluğudur (1). Teorik olarak asemptomatik olduğu ifade edilen SKH' lı hastaların %30' unda tiroid hormon yetersizliğini düşündürecek bulgular olabilir. Hastalardaki en belirgin şikayetler; cilt kuruması, hafızada zayıflama, düşünce zayıflaması, kas güçsüzlüğü, halsizlik, kas krampları, gözlerde şişlik, soğuk intoleransı, kabızlık ve ses kabalaşması olarak tespit edilmiştir (2). SKH, aşikar hipotiroidiye ilerleyebilir. Bu durum erken ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir. Çalışmalarda SKH'lı hastalarda kardiyovasküler hastalık riskinin arttığı görülmüştür (3).

Yakın zamanda ötiroid aterosklerotik hastalarda yapılan çalışmalarda HDL ilişkili bir enzim olan PON1' in, HDL'nin antioksidan etkisinin ortaya çıkmasından sorumlu olduğu anlaşılmıştır. Peroksidasyona uğramış olan lipidler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden PON1 aktivitesi, lipid peroksitlerin hem HDL'de hem de LDL'de birikimini önler. PON1'in plazmada her zaman HDL ile birlikte bulunmasının HDL'nin antiaterojenik etkilerine önemli katkısı vardır (4-9).

PON1 enzimi Apolipoprotein A1 (Apo A1)'in stabilitesi ve aktivitesi için gereklidir. PON1, LDL'nin oksidasyonuna sebep olan serbest sülfidril gruplarının inaktive edilmesini sağlar, böylece HDL'nin oksidasyonunu da engeller (4, 6, 10).

SKH, sol ventrikül diyastolik fonksiyon bozukluğu, eforla sistolik disfonksiyon, artmış ateroskleroz ve myokard infarktüsü riskiyle beraberdir. SKH ve ateroskleroz ilişkisini araştıran bir çok çalışmada, bu hastaların lipid metabolizmasında ateroskleroza eğilim oluşturan değişikliklerin olduğu ve LT4 tedavisi ile bu değişikliklerin düzeldiği gözlenmiştir (11-19). Bazı çalışmalarda ise LT4 tedavisiyle hastaların lipid profillerinin değişmediği görülmüştür (20,21). Bunun yanında SKH'lı hastaların lipid profillerinin sağlıklı kontrol gruplarından farklı olmadığı yönünde de çalışmalar vardır (22-24).

SKH ile ilgili klavuzlarda tedavi edilmesi önerilen hastalar TSH seviyesi 10 $\mu\text{IU/L}$ 'nin üzerinde olan hastalardır. TSH seviyesi 5-10 $\mu\text{IU/L}$ arasında olan hastalarda ise tedavi kararının kişiselleştirilmesi gerektiğine inanılır (25-27). SKH'lı hastaların tedavisi ile aşikar hipotiroidi gelişiminin engellenebileceği, kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınabileceği ve mevcut semptomların düzeltilebileceği düşünülebilir. Ancak ötiroidili kontrol gruplarında da benzer semptomların görülebilmesi, SKH'lı hasta grubunun tedavisinin olumlu etkilerini gösteren çalışmaların yetersiz olması, artmış kardiyak aritmi ve osteopeni riski, tedavi edilenlerde düzenli takip gereksinimi, tedaviye karşıt görüşler ortaya çıkarmıştır (28).

Biz TSH seviyesi 4.2- 10 $\mu\text{IU/L}$ arasında olan SKH'lı hastaları tedavi alan ve almayan olarak iki gruba ayırmayı ve 1 aylık takip süresi sonunda her iki gruptaki hastalardan da çalışma başı ve sonunda elde edilen paraoksonaz, arilesteraz, TK, LDL-K, HDL-K, TG sonuçlarını karşılaştırmayı planladık. TSH seviyesi 4.2- 10 $\mu\text{IU/L}$ arasında olan SKH'lı hastalarda LT4 tedavisinin paraoksonaz ve arilesteraz enzimleri ile lipid profili üzerine olan etkisini değerlendirerek, tiroid replasman tedavisinin potansiyel antiaterojenik/antioksidan etkisi olup olmadığını ve kardiyovasküler hastalıktan primer korunma amacıyla rutin tedavilerinin gerekip gerekmediği sorusuna yanıt bulmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Subklinik Hipotiroidi (SKH)

2.1.1. Giriş

SKH, serum ST3 ve ST4 seviyelerinin normal, serum TSH seviyesinin ise yüksek olduğu tiroid fonksiyon bozukluğudur (1). SKH' lı olgularda klinik belirti ya hiç yoktur veya çok az vardır. SKH için; kompanse hipotiroidi, hafif tiroid yetmezliği, azalmış tiroid rezervi, latent, erken, minimal semptomatik ve preklinik hipotiroidizm gibi terimler kullanılmıştır (29-32).

SKH, en sık görülen tiroid fonksiyon bozukluğudur (2). SKH' nın erişkin nüfustaki prevalansı %1-10 arasında değişmektedir (2,33-46). Whickam çalışmasında kadınlardaki sıklığı % 7,5 ve erkeklerde ise % 2,8 olarak belirlemiştir (34,42). Yaşla birlikte sıklığının arttığı 65 yaş üzeri kadınlarda ortalama %7,4'e yükseldiği, ancak daha ileri yaşlarda sıklığında azalma olup, 80 yaş üzeri kadınlarda %6.2 'ye indiği görülmüştür. SKH en az 5 şekilde karşımıza çıkabilir:

- 1) Yeterince tedavi edilememiş klinik hipotiroidi
- 2) Hafif, tanımlanmamış tiroid yetmezliği
- 3) Tiroid aksındaki geçici bozukluklar
- 4) Fazla tedavi almış aşikâr hipertiroidi
- 5) Ötiroid varyantlar (37,47).

2.1.2. SKH Etiyolojisi

SKH'nın en sık nedeni iyot eksikliği olup bunun yanında haşimoto tiroiditi, tiroid ablasyon tedavisi, tiroid cerrahisi, ilaçlar (amiodoron, lityum ve interferon alfa), boyun bölgesine eksternal radyoterapi de SKH'ya neden olabilir (48).

2.1.3. SKH Ayırıcı Tanısı

İzole TSH yüksekliğine :

- Aşık hipotiroidinin yetersiz tedavisi,
- TSH salgılayan pitüiter adenom,
- Tiroid dışı hastalıktan iyileşme dönemi,
- Tiroid hormonu rezistans sendromu,
- Rekombinant insan TSH enjeksiyonları,
- TSH heterofilik antikorlarına bağlı TSH yüksekliği,
- Primer adrenal yetmezlik,
- Kronik böbrek yetmezliği,
- Metoklopramid veya domperidon tedavisi
- Postpartum tiroidit ve subakut granülamatoz tiroiditin iyileşme dönemleri de (49,50) neden olabilirler.

2.1.4. SKH' nın Semptomları

Genellikle semptomatik değildir, ancak hastaların %30'unda tiroid hormon yetersizliği bulguları olabilir (1). Yirmibeş bin SKH'lı hastanın katıldığı Colorado çalışmasındaki hastaların % 75'inin TSH seviyesi 5-10 μ IU/L arasında olup bu hastalarda sistemik hipotiroidi ile ilişkili semptomların sıklığı değerlendirilmiş ve hastaların % 28'inde cilt kuruması, %

24'ünde hafızada zayıflama, % 22'sinde düşünce yavaşlaması, % 22'sinde kas güçsüzlüğü, % 18'inde halsizlik, % 17'sinde kas krampları, %15'inde soğuk intoleransı, % 12'sinde gözlerde şişlik, % 8'inde kabızlık ve % 7'sinde ses kabalaşması yakınmalarının olduğu görülmüştür. Tüm bu semptomlar SKH'lı grubun %13.7'sinde, ötiroid grubun ise %12.1'inde, hipotiroidili grubun %16.6'sında görülmüş olup bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durum hipotiroidili grubun %16.6'luk tiroid hormon seviyesi ile semptomlar arasındaki bağlantıyı da ortaya koymuştur (2). Teorik olarak asemptomatik olduğu ifade edilen SKH' lı olgularda değişen derecelerde çeşitli yakınmalar gelişmektedir. Öte yandan benzer yakınmaların ötiroidik grupta da görülmesi ve konuyla ilgili tedavi cevabını gösteren ayrıntılı geniş çalışmaların olmaması tedavi için farklı görüşlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur.

SKH'lı hastalarda depresyon (51,52), hafıza kaybı (2,51,53), kognitif fonksiyonlarda zayıflık ve çeşitli nöromusküler şikayetler (54,55) bildirilmiştir. Periferal sinirlerde iletim genişliğinin azalması ve anormal stapedial refleksi ile ortaya çıkan objektif periferal sinir disfonksiyonu SKH' lı hastalarda gösterilmiştir (56,57). Artmış serum kreatin fosfokinaz seviyeleri (58), egzersiz süresince artmış laktat seviyesi ve elektromiyografi yüzeyinde tekrarlamalı boşalmalar rapor edilmiştir (55).

SKH'lı hastalarda kardiyopulmoner fonksiyonlar açısından yapılan birçok çalışmada miyokardiyal fonksiyonlarda anormallikler rapor edilmiştir. Tanımlanmış fonksiyonel anormallikler istirahatte veya egzersizle mevcut olan miyokardiyal kontraktilitede bozulma ve diastolik disfonksiyondur. Egzersiz kapasitesinin değerlendirildiği kapsamlı bir çalışmada ise egzersizle ilişkili strok volümde, kardiyak indekste ve maksimal aortik akım hızında bozulma tespit edilmiştir. Aynı hastalarda yapılan pulmoner testlerde vital kapasitede, anaerobic eşikte azalma ve anaerobic eşikte oksijen alımında düşme tespit edilmiştir (59-68). Bu veriler açıkça SKH'lı hastalarda kardiyopulmoner fonksiyonların bozulduğunu göstermiştir.

2.1.5. SKH' nın Seyri ve Önemi

Tiroid yetersizliği dört evreye ayrılabilir:

Evre a; Normal ST4 ve Tiroid releasing hormon (TRH)'ya abartılı yüksek TSH cevabı veren, normalin üst sınırında TSH mevcuttur.

Evre b; TSH 5-10 μ IU/L arasındadır.

Evre c; TSH 10 μ IU/L nin üzerindedir.

Evre d; Aşık hipotiroidinin geliştiği dönemdir.

Tespit edilen SKH vakalarının %55-85'i evre b' dedir (28,69). SKH'nın aşık hipotiroidiye ilerleme riskini arttıran bazı faktörler vardır. Bunlar; başlangıç TSH değerinin 10 μ IU/L üzerinde olması, kadın cinsiyet, 60 yaş ve üzerinde olmak ve tiroid antikor titrelerinin yüksek olmasıdır (70-72). Whickham çalışmasında 50 yaşında, otoantikoları pozitif, TSH düzeyi 6 mU/L olan bir kadında 20 yıl içerisinde klinik hipotiroidi gelişimi riski % 57 iken, TSH değeri 9 mU/L olduğunda risk % 71'e çıktığı görülmüştür. SKH' nın hipotiroidiye ilerlemesi yılda ortalama % 5 düzeyindedir (53).

2.1.6. SKH' nın Kardiyovasküler Hastalıkla İlişkisi

Yapılan bazı çalışmalar, SKH ile KAH arasında ilişki olduğunu göstermiştir (73-75). Rotterdam çalışmasında SKH'nın aterosklerotik hastalık ve myokard infarktüsü için bağımsız bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir (33). Aksine 20 yıllık takibin yapıldığı Whickam çalışmasında iskemik kalp hastalığı ve mortalite artışı ile SKH arasında ilişki olmadığı bulunmuştur (76).

SKH'da artmış TSH seviyesi, azalmış tiroid fonksiyonlarına işaret etmektedir. Tiroid fonksiyonlarındaki bu azalmanın, bir yandan kolesterol sentezinde ve yıkımında yavaşlamaya neden olup, diğer yandan reseptör sayısındaki azalma nedeniyle kolesterolün karaciğer tarafından eliminasyonunda yavaşlamayla, serum kolesterol düzeyinde artışa yol açması beklenir. Aynı şekilde lipoprotein lipaz aktivitesinde yavaşlamayla trigliserid yıkımının azalacağı düşünülebilir (77,78).

Bir çalışmada serum TSH düzeylerindeki artış TK artışı ile paralellik göstermiş, TSH' daki her 1 μ U/ml'lik artışın TK'da kadınlarda ortalama 3,5 mg/dl'lik, erkeklerde 6,2 mg/dl'lik bir artışa neden olduğu görülmüştür (79). TSH ve LDL-K arasındaki ilişki insülin rezistansı olan bireylerde çok daha belirgin olarak bulunmuştur (80). Althaus ve ark., 52 SKH'lı hastada, LDL-K düzeyinde artış ile birlikte HDL-K'da az miktarda düşme olduğunu saptamış

ve LDL-K/HDL-K oranında TSH yükselmesine paralel artışın, kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir (81). Fakat SKH'lı hastaların lipid profillerinin ötiroid kontrol gruplarından farklı olmadığını bildiren çalışmalar da vardır (22-24).

SKH'lı hastalarda endotel fonksiyonlarının bozulduğunu, KİMK'nın arttığını, sol ventrikül sistolik ve diastolik fonksiyonlarının bozulduğunu gösteren çalışmalar vardır (82-85). Bu çalışmalarda LT4 tedavisi ile endotel ve sol ventrikül fonksiyonlarının düzeldiği, KİMK'da azalma olduğu gösterilmiştir.

Ateroskleroz gelişiminde bağımsız risk faktörü olarak rol aldıkları bilinen homosistein (86), High sensitif C- reaktif protein (HsCRP) (87) ve fibrinojen (88) seviyelerinin SKH'lı hastalarda arttığı bildirilmektedir. Ancak homosistein, HsCRP ve fibrinojen için bu artışların olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (89-93).

Gusseklou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 85 yaş üstü SKH'lı hastalarda 4 yıllık takiple mortalite oranlarının kontrollere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (94). İmauzimi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 12 yıllık takip sonrasında SKH'lı erkeklerdeki tüm nedenlerden kaynaklanan mortalite oranlarının kontrol grubundaki erkeklerden daha fazla olduğu bulunmuştur (95). Çalışmalarda farklı sonuçların bulunması hastaların TSH düzeylerine ve hasta seçim kriterlerine bağlı olabilir. Ancak sonuçta SKH'da kardiyovasküler hastalık riskinin arttığını savunan görüşler daha fazladır (96).

2.1.7. SKH' nın Oksidatif Durumla İlişkisi

Taddei ve arkadaşları ise SKH' lı hastalarda endotel disfonksiyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında pletismografi yöntemi ile ön kol kan akımını ölçmüşler, bazal olarak ve nitrik oksit (NO) sentez inhibitörü NG-monometil-L-arginin (L-NMMA) infüzyonu sırasında endotel bağımlı vazodilatör asetikolin uygulamasına yanıt incelemiştirler. Ayrıca sodyum nitroprussid uygulamasına yanıt ve minimal ön kol vasküler resistanslarını değerlendirmişler. Sonuçta elde edilen bulgular SKH' lı hastalarda NO ile ilişkili olarak endotel disfonksiyonun oluştuğunu, bu bozukluğun serum lipid düzeylerinden bağımsız olduğunu ve LT4 tedavisi ile endotel disfonksiyon parametrelerinin düzeldiğini bulmuşlardır (97).

Yapılan birçok çalışmada hem hipertiroidizm hem de hipotiroidizmde oksidatif hasarın bir göstergesi olan plazma lipid peroksidasyonu düzeylerinin arttığı görülmüştür (98). Azizi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hipotiroidisi veya hipertiroidisi olan hastalarda serum paraoksonaz aktivitesinin belirgin azaldığı görülmüş ve ilişkili olarak LDL-K oksidasyonunda artış tespit edilmiştir (99). Torun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hipotiroidik hastalarda oksidatif stresin arttığı, antioksidan durumun ise kontrol grubuna göre farklı olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum hipotiroidik hastalardaki lipid metabolizması değişikliğine bağlanmıştır (100). Başkol ve arkadaşları da hipotiroidinin prooksidatif bir çevreye neden olduğunu ve antioksidan defans sisteminin de azaldığını, paraoksonaz aktivitesinin hipotiroidili hastalarda tedavi öncesi daha düşük olduğunu, tedavi sonrasında bir miktar artma olsa da yine de kontrol grubundan daha düşük düzeylerde kaldığını tespit etmişlerdir (101). Erdamar ve arkadaşları ise hipotiroidik hastalarda antioksidan defans sisteminin hasarlanırken, propiltiourasil (PTU) kullanan hipertiroidik hastalarda ise oksidatif parametlerdeki artışın azaldığını belirtmişlerdir (102). Sarandöl ve arkadaşları PTU kullanılarak ratlar üzerinde yapılan deneysel hipotiroidide serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin azaldığını (dolayısıyla oksidatif stresin arttığını), vitamin E desteği yapıldığında ise bu enzimlerde artma olduğunu ve böylece bu desteğin fayda sağladığını bulmuşlardır (103). Adalı ve arkadaşları da hipertiroidide tedavi verilmesinin oksidatif strese karşı koruyucu olduğunu tespit etmişlerdir (6).

2.1.8. SKH Tedavisi

SKH' nın tedavisiyle şunlar amaçlanır:

- 1- Hafif hipotiroidizm semptomlarını azaltmak
- 2- Aşikar hipotiroidi gelişmesini engellemek
- 3- Lipid profili üzerindeki olumlu etkiyle kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklanan mortalite riskini azaltması

Yapılan bir çalışmada 9.2 yıl boyunca izlenen 82 SKH' lı vakanın %28 'inde klinik hipotiroidi gelişmişken, %68 'i subklinik evrede kalmış, %4 'ünün ise normal hale geldiği görülmüştür (104).

SKH'lı hastalarda görülebilen semptomlar üzerine LT4 tedavisinin etkileri konusunda yapılan çalışmalarda genel semptomlarda (60,61), nöromusküler fonksiyonlarda (105) ve kardiyopulmoner fonksiyonlarda (59-68) belirgin iyileşme gözlenmiştir. Ancak SKH'lı hasta grubunun tedavisinin mortalite ve morbiditeye olumlu etkilerinin gösterildiği çalışmaların yeterince olmaması, artmış osteopeni ve kardiyak aritmi riski ve tedavi edilenlerde düzenli takip gereksinimi tedavi karşıtı görüşlere neden olmuştur (28).

SKH'da LT4'ün başlangıç dozu 0,05-0,75 µgr /gün'dür. KAH'ı olanlarda 0,0125 - 0,025 µg/gün olarak başlanmalıdır (60,61,160). Serum TSH değerleri tedaviye başlandıktan sonra 4-6 hafta sonra ölçülmeli ve herhangi bir dozda seviyeler sabit devam ederse yılda bir ölçüm yapılabilir (1).

Kılavuzlarda TSH seviyesi 10 µIU/L'nin üzerinde olan SKH'lı hastalarda rutin tedavi önerilirken, TSH seviyesi 5-10 µIU/L arasında olan hastalarda tedavi kararının hastaya göre belirlenmesi gerektiği savunulur. Bu hastalarda aşikar hipotiroidiye ilerlemesine neden olan:

- 1- 60 yaş ve üzeri olmak
- 2- Gebelik veya gebelik beklentisinin olması
- 3- Kadın cinsiyet
- 4- İnfertilite veya anovulasyon bulunması
- 5- Manik depresyon ve bipolar bozukluğun bulunması
- 6- Hiperlipidemi
- 7- Çocuk ve adolesan olmak
- 8- TSH'nın progresif olarak artması gibi risk faktörleri bulunması halinde tedavi önerilir.

Yukarıdaki özelliklere sahip olmayan ve TSH seviyesi 5-10µIU/L arasında olan hastaların ise rutin tedavisi önerilmemektedir (25-27).

2.2. İnsan Serum Paraoksonazları

İnsan serum paraoksonazları, karaciğerde sentezlenen ve plazmadaki HDL ile ilişkili olan, A-esterazlar sınıfına ait bir üyedir. Daha önceki çalışmalar paraoksonazların, P450 sistemindeki paration, chlorpyrifos ve diazinon gibi organofosfat insektisidlerin detoksifikasyonunu içerdiğini göstermiştir (106). Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi bulunur. PON2 ve PON3 için yapılan araştırmaların azlığı nedeniyle bunlar PON1 kadar iyi anlaşılammışlardır. Biz burada PON1'den bahsedeceğiz.

2.2.1 Paraoksonaz /Ariesteraz (PON1)

2.2.1.1. PON1'in Genetiği ve Polimorfizmi

İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda q-21.3 ve q-22.1 arasında tanımlanan paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi vardır. Bunlar yapısal benzerlik gösterip gen duplikasyonu sonucu oluşan genlerdir. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; nükleotid seviyesinde benzerlikleri %81-90 iken, aminoasit seviyesindeki benzerlikleri %79-90' dır. PON1'de 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır. PON1 ile yapılan çalışmalarda, aterosklerozisle arasındaki ilişki, serum kapasitesi, ksenobiotikleri hidrolize etmesi konuları araştırılmıştır. PON1 ve PON3 genlerinin ürünü plazmada yer alırken, PON2'nin hücre içi yerleşimli olduğu belirtilmiştir (107,108). Paraoksonaz ve ariesteraz iki ayrı enzim olarak algılansa da, yapılan araştırmalarda insan serumunda tek gen ürünü olan enzimin hem ariesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Hatta bu enzimin laktonaz aktivitesine sahip olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur (109).

PON1 ile aslında PON1'in paraoksonaz ve ariesteraz aktivitesinden bahsedeceğiz. PON1 de 2 aminoasit polimorfizmi bulunur. Bunlardan biri 55. pozisyonda metionin ile lösin aminoasitlerinin, diğeri 192. pozisyondaki arginin ve glutamin aminoasitlerinin yer değiştirmesinden meydana gelir. PON1' in promotor bölgesinde bu polimorfizmlerden başka bilinen beş tane daha polimorfizm bulunur. Populasyonlardaki polimorfik dağılım bireyler arasında farklılığa sebep olur. Polimorfizm ariesteraz aktivitesini etkilemez, ariesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız şekilde protein konsantrasyonunun

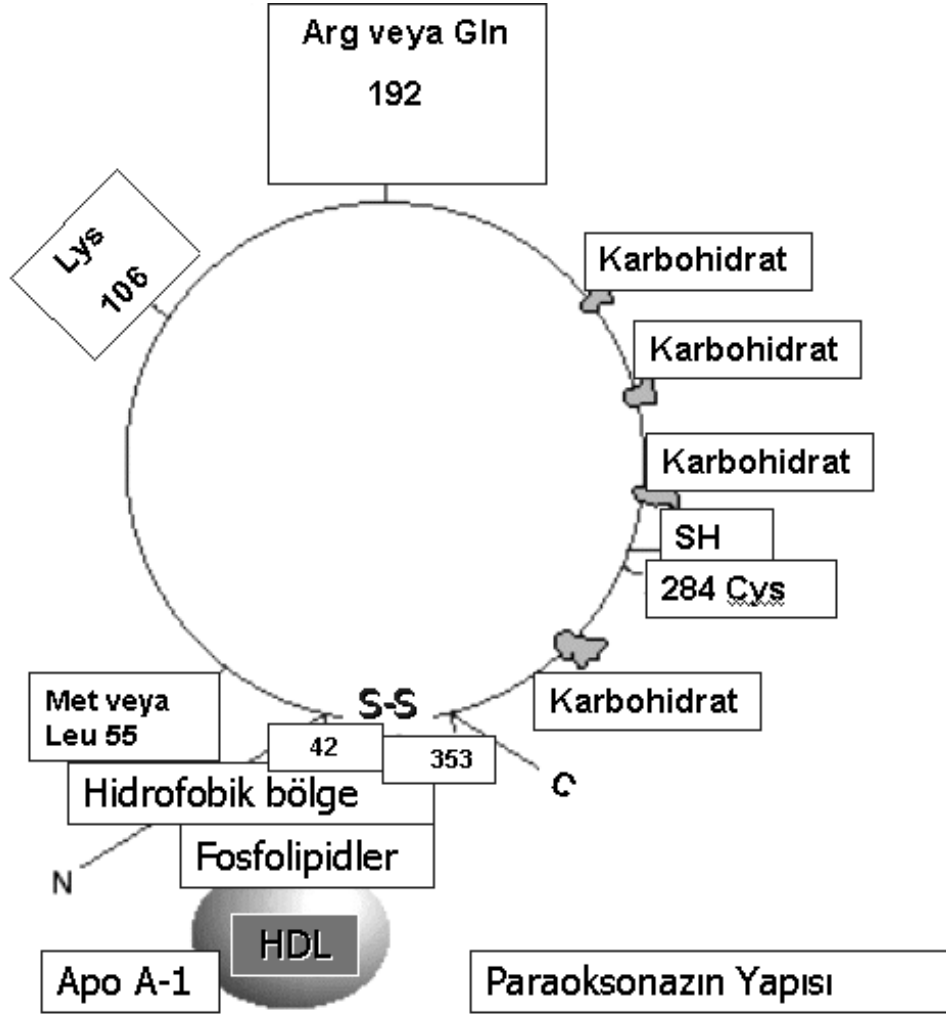
göstergesi olarak kabul edilebilir. Yani paraoksonaz; aktivite polimorfizmi göstermeyen arilesteraz aktivitesine de sahiptir (110).

Paraoksonaz aktivitesinin hiperkolesterolemi ve diyabetlilerin de içinde bulunduğu KAH'lı hastalarda düşük olduğu görülür. Çünkü bu gruplarda lipid peroksidasyon ürünleri, aterosklerozisin gelişimini hızlandırır ve insan şilomikronlarında lipid oksidasyon ürünlerini artırır. Ayrıca PON1 aktivitesinin diyetle yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir. Diyetle bulunan çay, tereyağı ve meyvenin PON1 aktivitesini arttırdığını ve diyet içeriğindeki protein, karbonhidrat, tek karbonlu/çok karbonlu doymamış yağ asitleri, flavonoidler, E Vitamini ve Qercetin ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır (111).

2.2.1.2. PON1'in Yapısı ve Etkileri

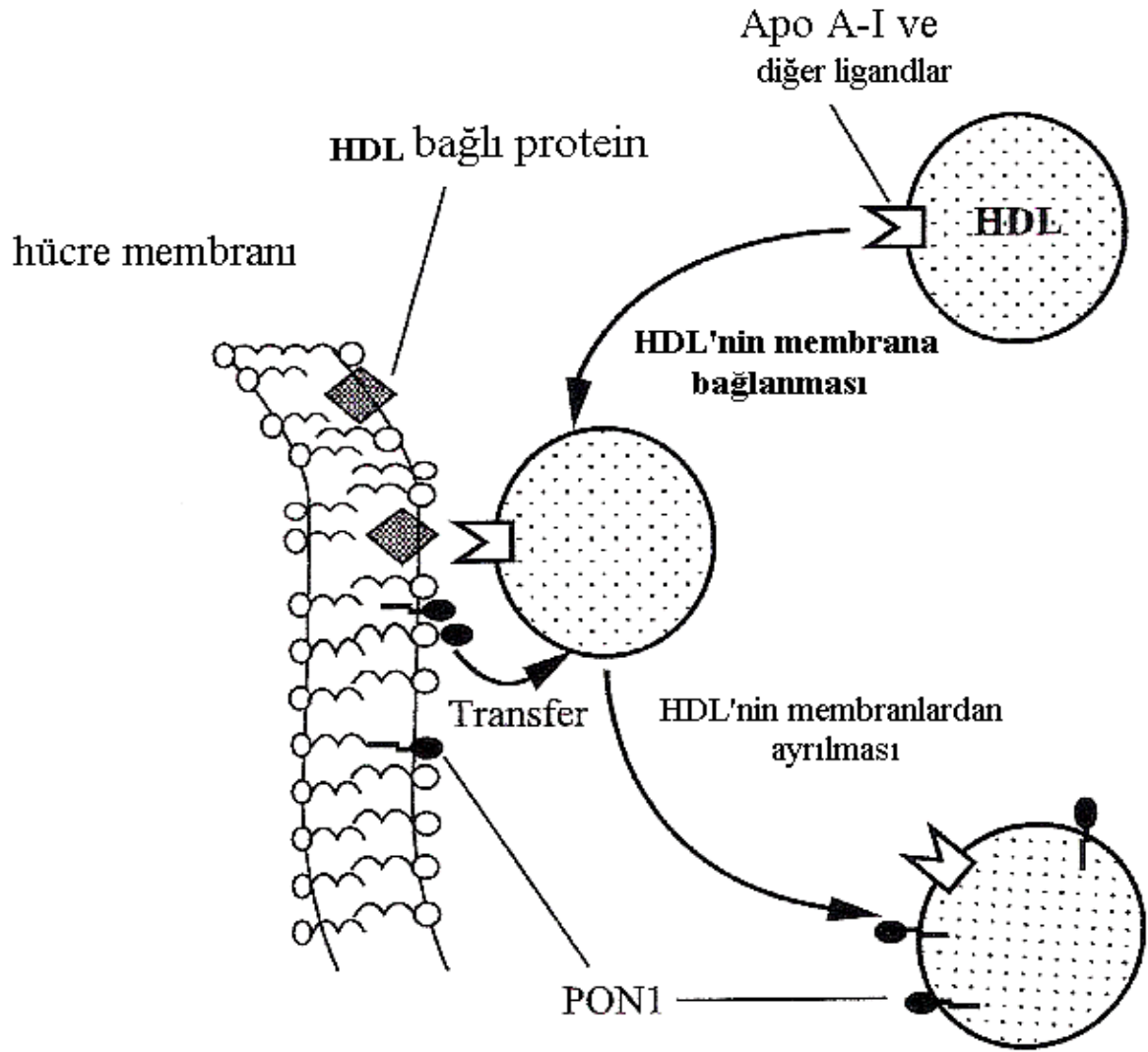
PON1, 354 amino asit içeren, glikoprotein yapısında, 43-45 kDa ağırlığında, kalsiyum bağımlı bir esterazdır. İzoelektrik noktası 5.1'dir. Her molekül toplam ağırlığın % 15.8'ini oluşturan üç karbohidrat zinciri içerir. İnsan serum PON1'i, HDL'nin içerdiği apo A-1 ile yakın ilişkileri olan, lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini azaltan diğer bir deyişle LDL'deki okside olmuş lipidleri hidroliz eden, antioksidan etki gösterdiği çeşitli kaynaklarda belirtilen, enzim aktivitesi kalsiyuma bağımlı karaciğerden sentezlenen bir esterazdır. Organofosfatların hidrolizini katalizler. Karaciğer, böbrek, bağırsak ve serumda HDL' ye bağlı olarak, yaygın bir şekilde bulunur (112,113).

İnsan serum PON1'i, yaş ile birlikte azalma gösterir (114). Enzimatik aktivite bireyler arasında 10-40 kat değişkenlik gösterip serum düzeyleri birçok nedene bağlı olarak değişebilir (115). Fetüsün karaciğer ve dalağında enzim aktivitesi gösterilmiştir. Serum enzim aktivitesi yenidoğan ve prematür infantlarda erişkin düzeylerinkinden daha düşüktür ve erişkin düzeylerine doğumdan bir yıl sonra ulaşılır. (116,117). Ayrıca akciğer, beyin, pankreas ve plasentada bulunduğu yolunda kanıtlar vardır. Hayvanlarda birçok dokuda özellikle karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve plazmada bulunur. Serum PON1 düzeyleri akut faz reaktantları, gebelik, diyet ve apo A-1 metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir (161). Aşağıda şekil 1'de Paraoksonazın HDL ile etkileşim bölgeleri gösterilmektedir. Pozisyon 55 ve 192' de iki polimorfik bölge belirtilmiştir. Rezidü 42 ve 353 arasında sisteinlerin oluşturduğu disülfid bağı ve 284. pozisyonunda sistein vardır. Potansiyel karbohidrat zincirleri ve amino terminal ucunda hidrofobik baş gösterilmiştir (162).



Şekil 1 : Paraoksonazın HDL ile etkileşimi

PON1 enzim aktivitelerini ölçmede, serum ya da EDTA'sız plazma gereklidir. Çünkü yapısında kalsiyumun direk olarak katalitik reaksiyonda yer aldığı veya aktif alanın uygun konformasyonunu sağlayarak korunmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Enzim aktivitesi Ca^{+2} 'a bağımlı olma özelliğiyle Mg^{+2} , Co^{+2} , Mn^{+2} , kullanan diğer A esteraz tipi enzimlerden ayrılır (163,164).



Şekil 2 : PON1 enziminin hücrelerden HDL'ye transferi (165)

2.2.1.3. PON1'in Diğer İsimleri

Biyokimya ve Moleküler Biyolojinin Uluslararası İsimlendirme Komitesi'nin [(IUBMB); Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB)] enzim isimlendirmesinde paraoksanaza iki numara (EC 3.1.1.2 ve EC 3.1.8.1.) verilmiştir. 1990'lı yıllardan sonra, paraoksanazın arilesterazdan farklı olarak yalnız fenolik esterleri değil, fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz ettiği anlaşılmış ve EC 3.1.8.1 ile tanımlanmıştır. Bu numaralandırmaya göre;

EC 3 Hidrolazları,

EC 3.1. Ester bağları üzerine etki eden hidrolazları,

EC 3.1.1. Karboksilik ester hidrolazları,

EC 3.1.1.2 Arilesterazı,

EC 3.1.8. Fosforik triester hidrolazları,

EC 3.1.8.1 Arildialkilfosfatazı göstermektedir.

PON1'in diğer isimleri; organofosfat hidrolaz, organofosfat esteraz, esteraz B1, paraokson esteraz, pirimifos-metilokson esteraz, OPA anhidraz, A-esteraz, fosfotriesteraz, paraokson hidrolaz, organofosforöz asid anhidraz, esteraz E4' dür.

2.2.1.4. PON1'in Bakteriyel Endotoksinlere Karşı Koruyucu Etkisi

Yaklaşık yirmi yıl önce HDL'de bulunan bir proteinin bakteriyel lipopolisakkariti inaktive ederek endotoksemik semptomları önlediği gösterilmiş ancak sorumlu enzimin PON1 olduğu ve lipopolisakkarit inaktivasyonunun immunolojik olmaktan çok enzimatik bir reaksiyon olduğu yeni saptanmıştır (162). PON1, bakteriyel lipopolisakkariti 'Lipid A' molekülündeki 4' fosfat üzerine fosfataz etkisi ile hidroliz eder. HDL'nin gram (-) bakteriyel enfeksiyon sırasında endotoksemi gelişimine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Bazı bilinmeyen yollarla makrofaj hücre yüzeyindeki spesifik bağlayıcı protein (Cd14) ile lipoprotein polisakkaridin etkileşimini önler. Bu şekilde tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi sitokin salınım kaskadının başlaması önlenir. PON1 düzeyleri ve tiplerinin bireylerin endotoksinlere karşı duyarlılığında ve direncinde fark oluşturup oluşturmadığı sorusunun yanıtı henüz bilinmemektedir (118).

2.2.1.5. PON1'in Okside LDL ile Etkileşimi

HDL bağımlı PON1, LDL'yi ve ayrıca makrofajları oksidatif strese korur (119). PON1 inhibitörleri HDL ile birlikte eklendiğinde, LDL oksidasyonunun artması, PON1 inaktivasyonuna ve HDL lipitlerinin total lipit peroksit oluşumuna katılmasına bağlıdır (120). PON1'in lipoprotein kaynaklı peroksitleri hidroliz edebilme özelliği vardır. İn vivo serum

PON1, HDL'ye bağılı olduğu için başlıca görevi HDL'yi oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaktır. Böylece, bir çok çalışmada HDL bağımlı PON1'in yalnız LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da (geçiş metal iyonları ve serbest radikalleri aracılığıyla oksidasyon indüklendiğinde) engellediğini göstermektedir. Okside olmuş HDL'ler üzerine PON1 etki ettikten sonra, yağ asiti hidroperoksitlerinin birikimi azalmıştır. Nitekim bu ürünler hızla metabolize edilirken, PON1 esterase aktivitesi azalmamıştır. Okside olmuş HDL'de bulunan peroksitlerin PON1 aracılığıyla hidrolizi, PON1'in daha önce oluşturulmuş okside lipoproteinler üzerine etkili olup buna bağılı olarak aterojenik etkileri geri çeviren mekanizmalarda rol oynadığını düşündürür (113).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), arteriyel duvar hücreleri tarafından aterogenez esnasında üretilen başlıca reaktif oksijen türüdür ve oksidatif stres altında LDL oksidasyonuna neden olan daha potent reaktif oksijen türüne dönüşür. Paraoksonaz ve arilesteraz yalnızca lipoprotein kaynaklı peroksitleri hidroliz etmekle kalmaz, bunun yanısıra H_2O_2 'yi de hidroliz eder. PON1, spesifik lipid peroksitleri hidroliz eder veya peroksitler için hedef görevi görür (121). HDL kaynaklı PON1'in H_2O_2 (peroksitlerle beraber)'yi hidroliz etmesi, aterosklerozda rol alan potent oksidanların eliminasyonunda önemlidir. Bu etki PON1'in peroksidaz benzeri aktivitesiyle ve HDL'nin antiaterojenik özelliklerine katılmasıyla izah edilebilir (162).

LDL, poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan aldehit yapıdaki bileşikler, apolipoprotein B üzerindeki lizin rezidülerini modifiye edebilir. Buna bağılı olarak okside olmuş LDL, makrofaj yakalayıcı reseptör tarafından kontrolsüz uptake'ye uğrar. Sonuç olarak, aterosklerotik lezyonların ilk basamakları olan köpük hücreleri ve yağ kalıntıları oluşur (121). Aterojenik LDL oksidasyonunun inhibisyonu veya azaltılmasıyla HDL'nin kardiyoprotektif etkisi açıklanmaktadır (113,120,122). Bu inhibisyonu, özellikle makrofaj kemotaktik proteini-1 (MCP-1)'in endotel hücrelerinden stimüle edilmesiyle yaptığı ileri sürülmektedir (123). PON1, doymamış yağ asitlerinin hidroperoksit türevlerini elimine ederek, kısmen okside olmuş fosfolipidleri metabolize eder (113). Bu nedenle, PON1 ile KAH arasındaki ilişki, biyoaktif lipid moleküllerinin metabolizması ve okside olmuş LDL'ye bağılı hasara karşı koruyucu olmasından ileri gelir (124).

2.2.1.6. PON1'in Aterosklerozla İlişkisi

PON1' in oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu belirtilmektedir (125-127). HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine olan inhibitör etkisinin, metal iyon şelasyonu veya peroksidaz benzeri aktiviteden kaynaklandığı ve PON1'in LDL oksidasyonuna karşı antioksidan HDL savunmasına katkıda bulunduğu, belirtilmiştir. HDL yapısında bulunan PON1 enzimi, minimal modifiye LDL (mmLDL)'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir (128,129). Ayrıca HDL-PON1, okside olmuş LDL'den ayrılan uzun zincirli okside olmuş fosfolipidleri hidroliz edebilir (127-130). Serum paraoksonaz aktivitesinin, diyabetli (121), miyokard enfaktüslü (130) ve ailesel hiperkolesterolemili (121) hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğu bulunmuştur.

Paraoksonaz ile Apo A-1 arasında, bu iki proteinin doğrudan bağlandığını düşündüren bir ilişki vardır. İnsan ve tavşan serumlarından elde edilen PON1'in cinsiyet analizleri PON1'in farklı bir özelliğini ortaya koymuştur. Her iki türde de dolaşımda bulunan formu N-terminal hidrofobik sinyal sekansına sahiptir (131-133). Araştırmalar sonunda PON1 ile HDL birleşmesi için N-terminal hidrofobik sinyal peptidin yapıda gerekli olduğu belirlenmiştir. PON1 ve HDL, HDL üzerindeki fosfolipidlerle birbirlerine bağlanarak dolaşımda bulunabilirler (121). HDL'ye bağlı bir enzim olan PON1'in okside olmuş lipidlerin metabolizmasında yer aldığı ve aterosklerozdan korunmada önemli bir yerinin olduğu belirtilmektedir (113,134). Kerkeni ve arkadaşları, PON1'in yalnızca paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesine sahip olmayıp aynı zamanda KAH için başka önemli risk faktörü olan homosisteinden oluşan homosistein tiolaktonu hidroliz ederek hücrelerde neden olduğu protein modifikasyonundan özellikle endotel hücrelerini koruduğunu rapor etmişlerdir (135).

2.2.1.7. PON1 ve Çeşitli Hastalıklar

Diyabetik retinopati ve hipertansiyon (HT) gelişen olgularda izlenen düşük serum PON1 aktivitesi, lipid peroksidasyonuna artmış yatkınlıktan kaynaklanmaktadır. Hipergliseminin oksidatif stres ve ateroskleroza zemin hazırladığı düşünülürse, diabetes mellitus (DM)'li olgularda serum PON1'in rolü ortaya çıkar. PON1192RR ve PON155LL genotipleri insülin dependent diabetes mellitus (IDDM)'li olgularda daha sık görülmüştür. Ancak yapılan bir çalışmada DM, böbrek yetmezliği, hiperkolesterolemi gibi KAH ile ilişkisi

olduğu bilinen hastalıklarda düşük serum PON1 aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu belirtilmiştir.(136).

Lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar etkisi ile gelişen ve nöronal dejenerasyon izlenen alzheimer hastalığının aterosklerozla ilişkisi bilindiğinden, PON1 polimorfizmi ile ilişkisi incelenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır (137). Hepatit C enfeksiyonlu hasta grubunda yapılan bir çalışmada paraoksonaz aktivitesi düşük bulunmuş ve bu olgularda PON1192RR polimorfizminin daha yüksek olduğu görülmüştür (138). Sporadik idiyopatik parkinson olgularında PON1 ile metabolize olan çevresel nörotoksinlerin yaşla birlikte nörodejenerasyondan sorumlu tutulabileceği ve B allelin parkinson hastalığına genetik yatkınlık oluşturabileceği ileri sürülmüştür. Ateroskleroz riski bulunan üremik renal transplantlı olgularda düşük PON1/HDL ve PON1/apoAI oranları izlenerek bu olgularda HDL'nin antioksidan kapasitesinin azaldığı düşünülmüştür. (139).

Hiperhomosisteinemili autismi olan çocuklarda paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri düşük bulunmuştur. Metilasyon reaksiyonlarındaki bozukluğa bağlı olarak bunlarda nörotransmitterlerin yapısının bozulabileceği sonucuna varılmıştır (97). Antikardiolipin antikorları pozitif bulunan bir grup hastada mmLDL'ye karşı otoantikorların arttığı, PON1 aktivitesinin belirgin düştüğü ve arteriyel tromboz geliştirme riski yüksek R genotipinin de artma eğiliminde olduğu görülmüştür (140). Paroksonaz aktivitesi, lipid oksidasyonuna predispozan bir hastalık olduğu öne sürülen hipertiroidili hastalarda düşük bulunmuştur (141).

Sistemik amiloidozda düşük PON1 aktivitesi bildirilmiştir. Bir lipoprotein metabolizma hastalığı olan tangier hastalığında PON1 enzim aktivitesi tayin edilememiştir. Plazma lipoprotein düzeylerinin anormal olduğu balık gözü sendromunda ise PON1 aktivitesinin %89 oranında HDL kolesterolün plazma konsantrasyonunun ise %90 oranında azaldığı gözlenmiştir (142,143). Pilon stenozlu infantların yüksek PON1 aktivitesine sahip oldukları ve stenozun operasyonla düzeltildikten bir hafta sonrasına enteral beslenmenin başladığı zamana kadar yüksekliğin devam ettiği görülmüştür (144).

Sigara gibi çevresel faktörler PON1 aktivitesini ve konsantrasyonunu baskılayarak enzimin etkinliğini değiştirebilir. PON1'in paraoksonaz aktivitesinin hormon replasman tedavileri ile arttığı gösterilmiştir (161).

Van Lenten ve arkadaşları enflamasyonlu tavşan modellerinde akut faz olarak amiloid A, seruloplazmin ve HDL' nin arttığını diğer taraftan PON1 ve apo A-1'in ise dramatik olarak azaldığını bulmuşlardır (145). Bazı deneysel çalışmalarda serum PON1 aktivitesinde değişikliklere rastlanmıştır. PON1 inflamatuvar cevabın bir parçası olarak düşünülmekte ve bir çalışmada ilginç olarak PON1 aktivitesinin kronik olarak azalmasının, sadece ateroskleroza arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda akut inflamatuvar şartlara göre daha fazla güç kaybına neden olduğu görülmüştür (146).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Dizaynı

Bu çalışma prospektif olarak tasarlandı. Çalışma protokolü Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na sunuldu ve onay alındı. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniği'ne aralık 2008-aralık 2009 tarihleri arasında başvuran TSH seviyesi 4.2- 10 μ IU/L arasında olan 40 SKH' lı hasta çalışmaya alındı. SKH'li olgular TSH'nın 4.2 μ IU/ml'den büyük iken ST4 ve ST3 değerlerinin normal sınırlar arasında olmasıyla belirlendi. Eşlik eden renal ve hepatik yetmezlik, KAH, kronik inflamatuvar hastalık, son 3 ay içerisinde LT4 tedavisi öyküsü, statin kullanımı, hormon replasman tedavisi, pitüiter ve hipotalamik bozukluk, gebelik, DM, kontrolsüz HT, alkol ve sigara kullanımı, romatolojik hastalık ve malignitesi olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Tüm hastalardan 12 saatlik açlık sonrası sabah 08:00-08:30 arasında biyokimyasal tetkikler için brakial venden venöz kan örnekleri alındı. Alınan örneklerden hastane biyokimya laboratuvarında TSH, ST3, ST4, TK, HDL-K, LDL-K, TG ölçümleri yapıldı. Aynı örneklerden elde edilen serumlar paroksonaz ve arilesteraz çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı. İlk değerlendirmeden sonra, hastalar randomize edilerek tedavi verilenler ve verilmeyenler olmak üzere iki gruba ayrıldı. Tedavi edilen gruba LT4 tedavisi başlandı (50 mcg/gün). Tedavi edilen grupta ötiroidinin sağlanması amaçlandığından, tedaviye başladıktan bir ay sonra TSH kontrolü yapılarak, TSH seviyesi 4.2 μ IU/L'nin altında olacak şekilde doz ayarlaması yapıldı. Her iki gruptaki hastalar 1 ay sonra çağrılarak, ilk değerlendirmedeki ölçümler tekrarlandı. Aynı örneklerden elde edilen serumlar ile çalışma başında alınarak -80 °C'de saklanan serumlardan paroksonaz ve arilesteraz çalışıldı.

3.2. Metod

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınışı ve Hazırlanışı

Çalışmaya alınan tüm olgulardan çalışma başı ve sonunda 12 saatlik açlığı takiben sabah 08:00 – 08:30 arasında brakiyal venden 12 ml kan alındı. Alınan kanın 7 ml'si TSH, ST3, ST4, TG, TK, HDL-K, LDL-K çalışılmak üzere hastane biyokimya laboratuvarına gönderildi. Kanın geri kalan 5 ml'si düz polisten tüplere alınarak santrifüj edildi. Elde edilen serum 1,5 ml'lik 3 adet kapaklı ependorf tüpüne konularak -80 °C'lik derin dondurucuya yerleştirildi. Saklanan örneklerden paroksonaz ve arilesteraz çalışıldı.

3.2.2. Boy ve Kilo Ölçümleri

Vücut ağırlığı hastaların üzerinde hafif giyecekler varken, ayakkabısız olarak, kalibrasyonu yapılmış hastane tartısında ölçüldü. Boy ölçümleri hasta ayakta durmaktayken, ayakkabısız olarak yapıldı.

3.2.3. Kullanılan Cihaz ve Aletler

<u>Cihaz</u>	<u>Firma</u>
Otoanalizör	Abbott Aeroset®
Santrifüj	Universal 30 RF®
Vorteks	DCA-VF-2®
Otomatik pipetler	Gilson®
Visible spektrofotometre	Jasco V-530 UV/VIS®
Hassas terazi	Sartorius®
Su banyosu	Nüve BM 402®

Derin dondurucu (-80 °C) Uğur®

pH metre Hanna®

3.2.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Madde</u>	<u>Firma</u>
Paraokson (O, O-dietil-o-p-nitrofenil fosfat)	Sigma®
Fenilasetat	Sigma®
Tizma HCl	Sigma®
CaCl ₂	Sigma®
NaCl	Sigma®
Trizma base	Sigma®
EDTA (Triplex III)	Merck®
CuSO ₄ .5H ₂ O	Merck®
NaOH	Merck®
HCl	Merck®
Glasiyel asetik asit	Merck®
Ortofosforik asit	Merck®
Triklorasetik asit	Fluka®
Disodyum hidrojen fosfat	Fluka®
Monosodyum hidrojen fosfat	Fluka®

Tiyobarbitürük asit

Fluka®

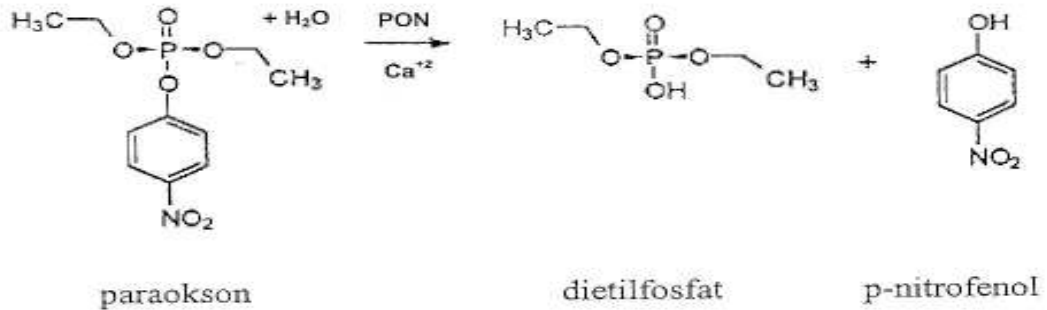
Trisodyum sitrat

Fluka®

3.2.5. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi, Furlong (118,133) ve Mackness' in (147) metodları kullanılarak ölçüldü. Paraoksonaz'ın katalizlediği reaksiyon aşağıda görüldüğü gibidir.

Aril dialkil fosfat + H₂O → Dialkil fosfat + aril alkol



Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson (0,0- diethy -0-pnitropheny phosphate), arilesteraz ölçümünde ise substrat olarak fenil asetat kullanılmıştır. Paraoksonaz aktivite ölçümünde 5 mM CaCl₂ ve 7 mM paraokson ihtiva eden pH=8 olan 100 mM Tris-HCl tamponu kullanıldı ve Reaktif 1 (R₁) olarak kabul edildi. Numune hacminden 10µL reaktif 1'den 220µL alınarak abbott aeroset otoanalizör cihazına tatbik edilerek çalışıldı. Paraoksonaz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün 412 nm' deki dakikalık absorbans oluşumu kaydedildi. Molar absorpsiyon katsayısı 18290 (ε) alınarak (61,62) aktivite için 1 ünite, 1 mikromol p-nitrofenol/ml serum/dk olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{IU / lt } (\mu\text{mol / dk/L}) = \frac{\Delta A/\text{dk} \times \text{T.V (ml)} \times 10^6}{\epsilon \times \text{Işık yolu} \times \text{N.V (ml)}} = \frac{\Delta A/\text{dk} \times (\text{T.V} \times 10^6)}{\epsilon \times \text{Işık yolu} \times \text{N.V}}$$

A: Absorbans

$\Delta A/dk$: Dakikalık absorbans artışı

T.V: Deney tüpündeki toplam sıvı miktarı

106: Sonuçları $\mu\text{mol} /dk/L = U/L$ 'ye çevirme katsayısı

ϵ : Ekstinsiyon katsayısı: Reaksiyon sonunda okunan maddenin molar absorbtivite katsayısı, sabit değer

$\epsilon = A/l \times C$ 'dir. A= çözeltinin gerçek absorbansı, l= ışık yolu (cm), C= çözeltinin konsantrasyonu (mol/L)

Işık yolu: Okuma küvetinin çapı (cm cinsinden)

N.V: Reaksiyona katılan numune hacmi

3.2.6. Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü

Arilesteraz aktivitesi ölçümleri için ise 2 mM CaCl_2 ihtiva eden 100 mM Tris-HCl; pH=8 tamponu kullanılarak; substrat olarak paraokson yerine son konsantrasyonu 13 mM olacak şekilde fenilasetat ilave edildi ve arilesteraz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenol 270 nm de Jasco V-530 UV/VİS spektrofotometresinde dakikalık fenol oluşum absorbansı ölçüldü. Molar absorpsiyon katsayısı 1310 (ϵ) alınarak (118,133,147) arilesteraz aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol fenol/ml serum/dk. olarak tanımlandı. Bu çalışmada numune volümü 400 kat dilüe edilerek çalışıldı. Sonuçlar yine paroksanzdaki enzim aktivitesi formülüne göre hesaplandı ve U/L olarak değerlendirildi. Reaktif 1 tekrar hazırlanıp fenotipik ayırım için içerisine 1M NaCl ilave edilerek paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi için tekrar çalışıldı. Sonuçlar yine yukarıdaki gibi hesaplandı.

3.2.7. Rutin Biyokimya Tetkikleri

HDL-K ve LDL-K ölçümleri Abbott marka ticari kit kullanılarak Japon malı toshiba firmasının abbott aeroset otoanalizör cihazında rutin biyokimya kitleri kullanılarak yapıldı.

3.2.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler; Windows ile uyumlu SPSS 11.5 (SPSS for Windows 11.5, Chicago, IL) programı kullanılarak değerlendirildi. Veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde alındı. Verilerin dağılımı Kolmogorov–Smirnov testi kullanılarak değerlendirildi. Üçlü karşılaştırmalar için Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ve gruplar arası karşılaştırmalarda Bonferroni testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda bağımlı gruplar için Paired Sample t-Test ve bağımsız gruplar için Student t-Testi kullanıldı. Gruplardaki bireysel dağılımlarda ise Chi-square testi kullanıldı. Kullanılan testlerin hepsi çift yönlü ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Tedavi ve Kontrol Gruplarının Özellikleri

Çalışmaya SKH'lı 40 hasta alındı. 20 olgu tedavi grubuna alınırken, 20 olgu tedavisiz ve 20 sağlıklı birey kontrol grubu olarak izlendi. SKH'lı hasta grupları ve kontrol grubu, olgu sayısı, yaş, BKİ (beden kitle indeksi), cinsiyet oranı (K/E) gibi demografik özellikler açısından birbirine benzerdi. TSH değeri, ilaç verilen grupta ilaç verilmeyen ve kontrol gruplarından (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,001$); ilaç verilmeyen grupta ise kontrol grubundan anlamlı olarak ($p<0,001$) daha fazlaydı. Paraoksonaz, arilesteraz enzim değerleri ve lipid profili açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Tablo 1'de kontrol ve tedavi gruplarının demografik özelliklerine ve biyokimyasal parametrelerine ait veriler mevcuttur.

Tablo 1: Çalışma başında kontrol grubu ve SKH'lı hasta gruplarının demografik ve diğer biyokimyasal parametreler açısından karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol (n=20) grubu	İlaç verilen grup (n=20)	İlaç verilmeyen grup (n=20)	P değeri
Yaş (yıl)	37,1 ± 9,3	33,8 ± 10,4	34,9 ± 10,5	0,595
BKİ (kg/m ²)	24,7 ± 2,7	27,3 ± 5,2	27,3 ± 4,2	0,086
Cinsiyet (K/E)	18/2	18/2	18/2	1,00
TSH (uIU/mL)	2,1 ± 1,0	6,4 ± 1,9 ^{1***}	5,0 ± 0,7 ^{2***'3**}	<0,001
FT3 (pg/ml)	2,9 ± 0,4	3,0 ± 0,5	3,2 ± 0,4	0,203
FT4 (ng/dl)	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,2 ^{1**}	1,1 ± 0,1 ^{2*}	0,002
TG (mg/dL)	130 ± 56	128 ± 60	140 ± 64	0,802
TK (mg/dL)	114 ± 24	196 ± 44	177 ± 31	0,100
HDL-K (mg/dL)	46,8 ± 8,8	47,8 ± 15,3	45,8 ± 11,1	0,878
LDL-K (mg/dL)	103 ± 26	126 ± 37	104 ± 28	0,052
Ariesteraz (kU/L)	217 ± 53	235 ± 32	215 ± 42	0,276
Paraoksonaz (U/L)	201 ± 93	176 ± 67	184 ± 64	0,581

(¹) : Kontrol ile ilaç verilen grup arasında anlamlı fark var

(²) : Kontrol ile ilaç verilmeyen grup arasında anlamlı fark var

(³) : İlaç verilen ile ilaç verilmeyen grup arasında anlamlı fark var

(*) : p < 0,05

(**): $p < 0,01$

(***): $p < 0,001$

4.2. İlaç Verilen Grubun Sonuçları

1 aylık takip sonrasında ilaç verilen SKH'lı hasta grubunda TSH seviyelerinin anlamlı azaldığını ($p < 0,001$), lipid profilinde (TG, TK, HDL-K ve LDL-K) anlamlı değişiklik meydana gelmediğini ($p > 0,05$), LT4 tedavisi ile paraoksonaz ve arilesteraz değerlerinde anlamlı düşüş meydana geldiğini (sırasıyla $p = 0,008$, $p < 0,001$) bulduk. Tablo 2' de İlaç verilen grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası tiroid fonksiyonları, lipid profili ve paraoksonaz, arilesteraz enzim düzeylerine ait veriler mevcuttur.

Tablo 2: İlaç verilen grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası tiroid fonksiyonları, lipid profili ve paraoksonaz, arilesteraz enzim düzeylerinin karşılaştırılması

Parametreler	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P değeri
TSH (uIU/mL)	6,4 ± 1,8	3,3 ± 2,9	<0,001
FT3 (pg/ml)	3,0 ± 0,5	2,9 ± 0,5	0,308
FT4 (ng/dl)	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	<0,001
TG (mg/dL)	128 ± 60	129 ± 67	0,898
TK (mg/dL)	197 ± 44	186 ± 38	0,249
HDL-K (mg/dL)	48 ± 15	44 ± 12	0,082
LDL-K (mg/dL)	126 ± 37	116 ± 29	0,154
Arilesteraz (kU/L)	235 ± 33	197 ± 37	<0,001
Paraoksonaz(U/L)	176 ± 67	151 ± 52	0,008

4.3. İlaç Verilmeyen Grubun Sonuçları

1 aylık takip sonrasında ilaç verilmeyen SKH'lı hasta grubunda TSH seviyeleri ve lipid profilinde (TG, TK, HDL-K ve LDL-K) anlamlı değişiklik meydana gelmediğini ($p > 0,05$), paraoksonaz' da anlamlı ($p = 0,009$), arilesterazda ise anlamlı olmayan düşme meydana geldiğini ($p = 0,383$) bulduk. Tablo 3 'de ilaç verilmeyen grupta çalışmanın başında ve sonunda tiroid fonksiyonları, lipid profili ve paraoksonaz, arilesteraz enzim düzeylerine ait veriler mevcuttur.

Tablo 3: İlaç verilmeyen grupta çalışmanın başında ve sonunda tiroid fonksiyonları, lipid profili ve paraoksonaz, arilesteraz enzim düzeylerinin karşılaştırılması

Parametreler	Çalışma başı	Çalışma sonu	P değeri
TSH (uIU/mL)	5,0 ± 0,7	4,6 ± 1,6	0,226
FT3 (pg/ml)	3,2 ± 0,4	3,2 ± 0,4	0,888
FT4 (ng/dl)	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,024
TG (mg/dL)	140 ± 64	150 ± 82	0,565
TK (mg/dL)	178 ± 31	183 ± 29	0,190
HDL-K (mg/dL)	46 ± 11	45 ± 12	0,532
LDL-K (mg/dL)	104 ± 28	108 ± 23	0,387
Arilesteraz (kU/L)	215 ± 42	206 ± 51	0,383
Paraoksonaz(U/L)	185 ± 64	140 ± 62	0,009

5. TARTIŞMA

SKH, kardiyovasküler risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Bu durumun SKH'lı hastalarda serum TK ile LDL-K seviyelerinin artması ve HDL-K seviyesinin azalması ile bağlantılı olduğu ileri sürülmektedir (148). Rotterdam çalışmasında yaşlı kadınlarda SKH'nın ateroskleroz ve miyokard infarktüsünün gelişmesinde kuvvetli bir faktör olduğu gösterilmiştir (33). Bu nedenle SKH'nın mümkün olduğu kadar erken ortaya çıkarılmasının özellikle ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların erken tanısı ve belki önlenebilmeleri açısından büyük önemi vardır.

Biz bu çalışmamızda, TSH seviyesi 4.2- 10 μ IU/L arasında olan SKH'lı hastaları LT4 tedavisi alan ve almayan olarak iki gruba ayırıp, bir aylık takiple paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri, TK, HDL-K, LDL-K, TG değerleri üzerine olan etkilerini araştırdık. TSH değeri, ilaç verilen grupta ilaç verilmeyen ve kontrol gruplarından (sırasıyla $p < 0,01$ ve $p < 0,001$); ilaç verilmeyen grupta ise kontrol grubundan anlamlı olarak ($p < 0,001$) daha fazlaydı. Paraoksonaz, arilesteraz enzim değerleri ve lipid profili açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). SKH' nın aterosklerozla ilişkisi konusunda yapılan birçok çalışmada, bu hastaların lipid profilinde ateroskleroz gelişimi yönünde (çoğu çalışmada TK ve LDL-K' da artma, bazı çalışmalarda HDL-K'da azalma) değişikliklerin olduğu ve LT4 tedavisi ile bu değişikliklerin düzeldiği gözlenmiştir (11-19). Bazı çalışmalarda ise LT4 tedavisine rağmen, hastaların lipid profillerinin değişmediği gösterilmiştir (20,21).

Biz çalışmamızda, bir aylık takip sonrasında LT4 tedavisi alan ve almayan SKH'lı hasta gruplarında lipid profili parametrelerinden hiçbirinde (TG, TK, HDL-K ve LDL-K) anlamlı değişiklik meydana gelmediğini tespit ettik. Bizim çalışmamız Aflaro ve arkadaşlarının 79 kadın ve 10 erkek SKH'lı hastada LT4 tedavisi ile 40 haftalık takip sonrası TK ve LDL-K' da anlamlı bir değişiklik bulmadıkları çalışmaları ile Tzotzas'ın 23 SKH'lı bayan hasta üzerinde ötiroidizm elde edilinceye kadar LT4 tedavisi vererek takip ettikleri SKH'lı hastalarda lipid profilinde anlamlı bir değişiklik bulmadıkları çalışmalarına benzerdir. HDL'ye bağlı bir enzim olan PON1'in okside olmuş lipidlerin metabolizmasında yer aldığı ve

aterosklerozdan korunmada önemli bir yerinin olduğu belirtilmektedir (113,134). Paraoksonaz ve arilesteraz enzimlerine bakılan tiroid dışı bazı hastalıklarda kimi zaman aynı yönde (artma, azalma veya değişmeme) kimi zaman ise zıt yönlerde enzim düzeyleri elde edilmiştir. Çakmak ve arkadaşlarının β -talasemi majörlü hastalarda yaptığı bir çalışmada Paraoksonaz aktivitesinin oksidatif stres ve aneminin derecesi ile ilişkili olarak belirgin düşük olduğu bulunmuş ve bu hastaların düşük enzim düzeylerinden dolayı aterogenezise daha yatkın olacakları sonucuna varılmıştır (151). Barim ve arkadaşlarının depresyonu olan hastalarda sitalopram tedavisinin paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri üzerine etkilerine baktıkları çalışmada, tedavi ile arilesterazda artış, paraoksonazda ise azalma tespit etmişlerdir (152).

Literatür gözden geçirildiğinde, hem hipertiroidizm hem de hipotiroidizmde oksidatif hasarın bir göstergesi olan plazma lipid peroksidasyonu düzeylerinin arttığını (98) gösteren çalışmalar mevcuttur. Azizi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hipotiroidisi veya hipertiroidisi olan hastalarda serum paraoksonaz aktivitesinin belirgin azaldığı görülmüştür. Ancak hastaların ateroskleroz varlığı durumları ve LT4 tedavisiyle PON1 aktivite düzeylerininin değişiminin olup olmadığı incelenmemiştir (99).

Başkol ve arkadaşları da hipotiroidinin prooksidatif bir çevreye neden olduğunu ve antioksidan defans sisteminin azaldığını tespit etmişler. Paraoksonaz aktivitesinin hipotiroidili hastalarda tedavi öncesi düşük olup, tedavi ile belirgin olarak artmasına rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yine de düşük olduğunu bulmuşlardır (101). Erdamar ve arkadaşları ise hipotiroidik hastalarda antioksidan defans sisteminin hasarlanırken, PTU tedavisi alan hipertiroidik hastalarda ise oksidatif parametrelerdeki artışın azaldığını belirtmişlerdir (102).

Coria ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SKH'lı ve aşikar hipotiroidizimli kadınlarda serumda oksidatif stres parametrelerinden paraoksonaz, NO, tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS)'ne bakılmış. Çalışmada kadınlar aşikar hipotiroidili hasta grubu, SKH' lı hasta grubu ve ötiroid kontrol grubu olarak 3 gruba ayrılmış ve 3 grup arasında TBARS konsantrasyonu ve PON1 (arilesteraz aktivitesi olarak) farklılık görülmemiş. SKH ve kontrol grubunda NO değerleri arasında belirgin fark yokken, aşikar hipotiroid grupta SKH' lı hasta grubu ile karşılaştırıldığında NO seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (155). Bizim çalışmamızdaki kontrol grubu ile hasta grupları enzim aktiviteleri dikkate alındığında,

paraoksonaz aktivitesi anlamlı derecede olmasa bile kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunmuş, arilesteraz aktivitesi ise homojen bir değişim göstermemiştir.

Torun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SKH'lı ve aşikar hipotiroidili hastalarda organizmada antioksidanların tümü hakkında bilgi veren serum total antioksidan durum (TAS) ve artmış oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunu değerlendirmede kullanılan bir marker olan malondialdehid (MDA) seviyelerinin nasıl etkilendiği araştırılmış. Sonuçta MDA'nın hem aşikar hipotiroidili hem de SKH'lı hastalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığı bulunmuşken, TAS'ın gruplar arasında belirgin bir farklılık göstermediği bulunmuştur. Toplam antioksidan durumun anlamlı değişiklik göstermemesi bakımından iki antioksidan enzim olan paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin anlamlı değişmediğini gösteren bizim çalışmamızla bu çalışma uyumlu gözükmektedir. Yine aynı çalışmada LDL-K seviyeleri aşikar hipotiroidili ve SKH'lı hastalarda belirgin olarak yüksek bulunmuşken, TG seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yalnızca aşikar hipotiroidili hastalarda yüksek bulunmuş, MDA seviyeleri LDL-K, TK ve TG ile korelasyon göstermiştir (100).

Taddei ve arkadaşları ise SKH'lı hastalarda endotel disfonksiyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında bu hastalarda NO ile ilişkili olarak endotelyal disfonksiyonun oluştuğunu, bu bozukluğun serum lipid düzeylerinden bağımsız olduğunu ve LT4 tedavisi ile endotelyal disfonksiyon parametrelerinin düzeldiğini bulmuşlardır (97).

Razvi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SKH'da LT4 tedavisinin kardiyovasküler risk faktörleri, endotel fonksiyonu ve yaşam kalitesi üzerine yararlı etkileri olduğu görülmüştür (156). Meek ve arkadaşları SKH'da LT4 tedavisinin açlık ve metioninle stimülasyon sonrası homosistein seviyelerini değiştirmede bulunduğunu bulmuşlardır (157).

Milionis ve arkadaşları SKH'lı hastalarda LT4 tedavisinin paraoksonaz aktivitesini etkilemediğini ancak HDL ile ilişkili platelet aktive edici faktör asetilhidrolazı belirgin olarak arttırmak suretiyle potansiyel bir antiaterojenik etki gösterebileceğini bulmuşlardır. Bu çalışmada, TSH düzeyi 10 IU/L'nin üstünde 28 SKH hastası ile 30 kontrol vakası paraoksonaz aktivitesi, lipid düzeyleri ve platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz düzeyi açısından değerlendirilmiştir. Paraoksonaz aktivite düzeyi ve TK, LDL-K ve HDL-K gibi lipid parametreleri LT4 tedavisi öncesi ve sonrasında kontrol grubundan farklı bulunmamıştır.

Bunun nedeni tedavi ile HDL-K'da artış olmaması ile ilişkilendirilmiştir (158). Paraoksonaz aktivite düzeyinin HDL düzeyleri ile korele olduğu ve HDL düzeyindeki artışla paraoksonaz aktivite düzeyinde artış olacağı bilinmektedir (8).

Biz, çalışmamızda SKH' lı ilaç verilen grupta, Milionis ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde, paraoksonaz aktivite düzeylerinde LT4 tedavisi sonrasında artışın olmayıp, aksine azalma olmasının; ilaç verilmeyen grupta da benzer şekilde azalma olmasının HDL-K düzeylerinde anlamlı olmasa da düşme olmasına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kebapçılar ve arkadaşları 25 SKH'lı hastada 4 ay süren LT4 tedavisinin paraoksonaz ve KİMK üzerine etkisine baktıkları çalışmalarında tedavinin TSH'ın 10 IU/L'nin üzerinde olduğu hastalarda, paraoksonaz aktivitelerini etkilemediğini ancak KİMK' de azalmaya yol açtığını bulmuşlardır (159). Biz çalışmamızda 1 ay süren takip sonunda LT4 tedavisi alan ve almayan SKH' lı hastalarda, TSH düzeyleriyle birlikte paraoksonaz aktivitesinde de anlamlı düşme gördük. Pekçok metabolik fonksiyon üzerinde etkili bir hormon olan TSH'nın SKH'lı hastalarda yükselmesi vucutta şiddetli bir oksidatif süreci başlatmakta ve bununla mücadele edebilmek için antioksidan bir enzim olan paraoksonaz tüketilmekte, dolayısıyla bu hastalarda aktivite düzeyi düşük bulunmaktadır. Bunun yanısıra, TSH düzeylerinin tedavi ile düşürülmesi de organizmada başlamış olan oksidatif stresi bizim çalışmamızda bir ay süreli bir takiple edindiğimiz bulgulara göre önleyememekte ve hala antioksidan paraoksonaz düzeyleri düşmektedir. Tedavi sürecimiz sonunda anlamlı olmasa da HDL-K düzeylerinde de düşüş tespit ettik ve bu da paraoksonaz seviyesindeki düşüşü destekler mahiyettedir. Fakat paraoksonaz aktivite düzeylerindeki düşüşün TSH'nın düşmesine rağmen oksidatif stresin devam etmesi sonucu bu stresle mücadelede aşırı tüketilmesinden mi, yoksa bizim tedavi sürecimizin TSH'nın yol açtığı oksidatif stresin kontrol altına alınabilmesi için yeterli olmamasından mı kaynaklandığını net olarak ifade edebilmek için daha kapsamlı ve uzun süreli ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Buna göre LT4 tedavisinin paraoksonaz aktivitesine etkisi olmadığını bu sonuçlarımızdan çıkarma ihtimalimizin çok düşük olduğu sonucuna vardık.

Aristesteraz aktivitesinde ilaç verilen grupta anlamlı ($p<0,001$), ilaç verilmeyen grupta ise anlamlı olmayan azalma ($p>0,05$) tespit ettik. Bu da yine paraoksonaz aktivitesindeki düşüşün işaret ettiği gibi vucutta artan TSH hormonunun yol açtığı oksidatif stresin tedavi

başlanmasına rağmen devam ettiğini ve/veya TSH' nin düşüşünün de oksidatif stresi arttırma yönünde etki edebileceğini veya bir aylık tedavinin bu hastalarda antioksidanlar aleyhine bozulmuş olan oksidatif/antioksidatif dengenin tekrar sağlanması için yeterli olmadığını göstermektedir. İlaç verilen grupta ayrıca, ilaç verilmeyen gruptan farklı olarak TSH'da anlamlı düşme olduğunu, HDL-K'da ise her iki grupta da anlamlı değişiklik olmadığını tespit ettik.

6. SONUÇ

TSH seviyesi 4,2-10 µIU/L arasında olan SKH'lı hastalarda LT4 tedavisinin paraoksonaz, arilesteraz enzim düzeyleri ve lipid profili üzerine etkisini araştırdığımız çalışmamızda; bir aylık LT4 tedavisinin lipid profilinde (TG, TK, HDL-K ve LDL-K) anlamlı değişiklik meydana getirmediğini; TSH düzeylerini anlamlı ölçüde düşürmesine rağmen bu hastalarda düşük bulduğumuz paraoksonaz enzim aktivitesi üzerine etkisinin anlamlı olmadığını hatta düşürücü yönde etkilerinin anlamlı olmasa bile devam ettiğini, arilesteraz üzerine etkisinin ise yine düşüş yönünde ve istatistiksel olarak anlamlı ölçüde olduğunu gördük. Bulgularımız ışığında, SKH'lı hastalarda TSH'nın organizmada şiddetli bir oksidatif strese yol açtığını ve bununla vücudun paraoksonaz, arilesteraz gibi antioksidanları kullanarak baş etmeye çalıştığını söyleyebiliriz. Bunun yanısıra bu hastalara verdiğimiz bir aylık LT4 tedavisi sonucu elde ettiğimiz bulgularımızı ise ancak birkaç ihtimal öne sürerek açıklayabiliriz:

1- Metabolik yönden oldukça aktif bir hormon olan TSH'nın yükselmesi gibi düşmesi de organizmada oksidatif strese yol açmakta ve bundan dolayı da paraoksonaz ve arilesteraz enzimleri tedaviye rağmen tüketim nedeniyle düşmeye devam etmektedir.

2- Yüksek TSH'nın yol açtığı oksidatif/antioksidatif denge bozukluğunun düzelebilmesi için bir aylık tedavi süreci yeterli değildir ve daha uzun süreli ileri bir çalışmaya gereksinim vardır.

3- TSH hormonunun yükselmesi oksidatif stres oluşturmakta ve antioksidanlar tüketilmekte, fakat oluşan oksidatif stres çok aşırı şiddette olduğundan, bir aylık tedavi süresi antioksidanlardaki düşüşü vücudun telafi edebilmesi için yeterli gözükmemektedir.

Buna göre, çalışmamız özellikle günümüzde ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar açısından bir risk faktörü olarak kabul edilen SKH'lı olgularda paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin SKH'sı olmayan sağlıklı kontrollere göre değerlendirilmesi ve ayrıca bir ay süreli LT4 tedavisinin bu enzimlerin aktiviteleri üzerine etkilerini göstermesi

açısından değer taşımaktadır. Fakat elde edilen sonuçların teyid edilebilmesi açısından daha geniş kapsamlı ve uzun süreli ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Cooper DS. Clinical practice subclinical hypothyroidism. *N Eng J Med.* 2001 Jul 26; 345(4): 260- 5.
2. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, et al. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med.* 2000 Feb 28;160(4):526-34.
3. Vinzio S, Trinb A, Schlienger JC, et al. Cardiac consequences of subclinical dysthyroidism. *Presse Med.* 2005; 34:1161-4.
4. Graham Annette HDG, Rafique S,Owen J.S 1997 Evidence for paraoxonase independent inhibition of low-density lipoprotein oxidation by hig lipoprotein. *Atherosclerosis* 135:193-204.
5. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL 1998 Paraoxonase inhibits High-density Lipoprotein Oxidation and Preserves its Functions. *J Clin Invest* 101:1581-1590
6. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI 2001 Paraoxonase and Atherosclerosis. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 21:473-480
7. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B 2004 The role of paraoksonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs* 4:211-7
8. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA 1996 Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 7:69-76
9. Rousselot DB, Therond P, Beaudeau JL, Peynet J, Legrand A, Delatre J 1999 High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 37:939-49
10. Libby P 2001 Managing the Risk of Atherosclerosis:The role of High-Density Lipoprotein. *Am J Cardiol* 88:3-8
11. Yildırım kaya M, Ozata M, Yılmaz K, et al. Lipoprotein a concentration in subclinical hypothyroidism before and after levothyroxine therapy. *Endocr J.* 1996 Dec; 43(6): 731-6.
12. Efstathiadou Z, Bitsis S, Milionis HJ, et al. Lipid profile in subclinical hypothyroidism: Is L-Thyroxine substitution beneficial? *Eur J Endocrinol.* 2001 Dec; 145(6): 705-10.
13. Meier C, Staub JJ, Roth JB, et al. TSH controlled L-Thyroxine therapy reduces cholesterol levels and clinical symptoms in subclinical hypothyroidism: A double blind, placebo-controlled trial (Basel Thyroid Study). *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct; 86(10): 4860-60.

14. Caraccio N, Ferrannini E, Monzani F. Lipoprotein profile in subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine replacement, a randomized placebocontrolled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr; 87(4): 1533-8.
15. Ganotakis ES, Mandalaki K, Tampalaki M, et al. Subclinical hypothyroidism and lipid abnormalities in older women attending a vascular disease prevention clinic: Effect of thyroid replacement therapy. *Angiology.* 2003 Sep-Oct; 54(5): 569-76.
16. Caparevic Z, Bojkovic G, Stojanovic D, et al. Dislipidemia and subclinical hypothyroidism. *Med Pregl.* 2003 May-Jun;56(5-6): 276-80.
17. Ineck BA. Effects of subclinical hypothyroidism and its treatment on serum lipids. *Ann Pharmacother.* 2003 May; 37(5): 725-30..
18. Serter R, Demirbaş B, Korukluoğlu B, et al. The effect of L thyroxine replacement therapy on lipid based cardiovascular risk in subclinical hypothyroidism. *Endocrinol Invest.* 2004 Nov;27(10):897-903.
19. Cantürk Z, Çetinarslan B, Tarkun I, et al. Lipid profile and lipoprotein (a) as a risk factor for cardiovascular disease in women with subclinical hypothyroidism. *Endocr Res.* 2003 Aug;29(3):307-16.
20. Tzotzas T, Krassas GE, Kostantinidis T, et al. Changes in lipoprotein(a) levels in overt and subclinical hypothyroidism before and during treatment. *Thyroid.* 2000 Sep; 10(9): 803-8.
21. Merchante-Alfaro AA, Civera-Andres M, Atienzar-Herraez N, et al. Effect of levothyroxine replacement on lipid profile in patients with mild subclinical hypothyroidism. *Med. Clin (Barc).* 2006 Feb 25; 126(7): 246-9.
22. Tunbridge WMG, Evered DC, Hall R, et al. The spectrum of thyroid disease in a community: The Whickam Survey. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1977 Dec; 7(6): 481-93.
23. Geul KW, Van Sluisveld IL, Grobbee DE, et al. The importance of thyroid microsomal antibodies in the development of elevated serum TSH in middle-aged women: Association with serum lipids. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993 Sep; 39(3):275-80.
24. Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, et al. Circulating lipids and minor abnormalities of thyroid function. *Clin. Endocrinol (Oxf).* 1992 Nov; 37(5): 411-4.
25. Haddow JE, Palomaki GE, Alan WC, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med.* 1999 Aug 19; 341(8): 549-55.
26. Fatourechi V. Subclinical hypothyroidism: How should it be managed? *Treat Endocrinol.* 2002; 1(4): 211-6.
27. Lerch M, Meier C, Staub JJ. Is there a need for treatment in subclinical hypo and hyperthyroidism. *Ther Umsch.* 1999 Jul; 56(7): 369-73.
28. Chu JW, Crapo LM. Clinical perspective: The treatment of subclinical hypothyroidism is seldom necessary. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct; 86(10): 4591-9.
29. Arem R, Escalante D. 1996 Subclinical hypothyroidism: epidemiology, diagnosis and significance. *Adv Intern Med* 41: 213 – 250.

30. Cooper DS 1998 Subclinical thyroid disease: a clinician's perspective. *An Intern Med* 129: 135 – 138.
31. Ayala AR, Danese MD, Ladenson PW. 2000 When to treat mild hypothyroidism. *Endocrinol Metab. Clin North Am* 29 : 399 – 415.
32. Ladenson PW, Singer PA, Ain KD. 2000 American thyroid association guidelines for detection of thyroid dysfunction *Arch Intern Med* 160: 1573 – 1575.
33. Hak AE, Pols HA, Visser TJ, et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk faktör for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: The Rotterdam Study. *Ann intern Med.* 2000; 132: 270-8.
34. Tunbridge WMG, Evered DC, Hall R, et al. 1977 The spectrum of thyroid disease in a community: the Wickham survey. *Clin Endocrinol* 7: 481 – 493.
35. Nystrom E, Bengissson C, Lindquist O, et al . 1981 Thyroid disease and high concentration of serum thyrotropin in a population sample of women. *Acta Med Scand* 210: 39 – 46.
36. Falkenberg M, Kagedal B, Non A. 1983 Screening of elderly female population for hypoand hyperthyroidism by use of thyroid hormone panel . *Acta Med Scand* 214: 361-365.
37. Sawin CT, Castelli WP, Hersman JM, et al. 1985 The aging thyroid .Thyroid deficiency in the Framingham Study. *Arch Intern Med* 145: 1386 – 1388.
38. Okamura K, Nakashima T, Ueda K, et al. 1987 Thyroid disorders in the general population of Hisayama Japan, with special reference to prevalance and sex differences . *Int J epidemiol* 16: 545-549.
39. Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, et al.1991 Prevalence and follow-up of abnormal thyrotropin (TSH) concentrations in the elderly in the United Kingdom. *Clin Endocrinol* 34: 77-83.
40. Konno N, Yuri K, Taguchi H, et al. 1993 Screening for thyroid diseas in an iodine sufficient area with sensitive thyrotropin assays, and serum thyroid autoantibody and urinary iodide determinations. *Clin Endocrinol* 38: 273- 281.
41. Konno N, Makita H, Yuri K, et al. 1994 Association between dietary iodine intake and prevalance of subclinical hypothyroidism in the central regions of Japan. *J Clin Endocrinol Metab* 78: 393 –397.
42. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM, et al. 1995 The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty –year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol* 43:55 – 68.
43. Danese D, Arduino G, Andreoli M, et al. 1997 Screening for sunclinical hypothyroidism in a flight personnel population. *Thyroid* 7:60 – 61.
44. Knudsen N, Jorgensen T, Rasmussen S, et al. 1999 The prevalence of thyroid dysfunction in a population with borderline iodine deficiency. *Clin Endocrinol* 51:361 –367.
45. Pirich C, Mullner M, Sinzinger H. 2000 Prevalence and relevance of thyroid dysfunction in 1922 cholesterol screening participants. *J Clin Epidemiol* 53: 623-629.

46. Holowell J, Braverman LE, Spencer CA, et al. Serum TSH, T4 and thyroid antibodies in the United States population; NHANES III. 72 nd Annual Meeting of the American Thyroid Association, Palm Beach, FL, 1999, Abstract 213.
47. Sawin CT, Chopia D, Azizi F, Mannix JE, et al. 1979 The aging thyroid. Increased prevalence of elevated serum thyrotropin levels in the elderly. *JAMA*. 242: 247 – 250.
48. Vanderpump MP, Tunbridge WM. Epidemiology and prevention of clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 2002 Oct; 12(10): 839-47.
49. Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, et al. Subclinical thyroid disease; Scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA* 2004 Jan 14; 291(2): 228-38.
50. Koloğlu Endokrinoloji (MN Medikal ve Nobel 2005 2. baskı). Subklinik hipotiroidi. Sayfa: 217.
51. Monzani F, Del Guerra P, Caraccio N, Pruneti CA, Pucci E, Luisi M, et al. 1993 Subclinical hypothyroidism: neurobehavioral features and beneficial effect of L-thyroxine treatment. *Clin Invest* 71:367–371
52. Tappy L, Randin JP, Schwed P, Wertheimer J, Lemarchand-Beraud T 1987 Prevalence of thyroid disorders in psychogeriatric inpatients. A possible relationship of hypothyroidism with neurotic depression but not dementia. *J Am Geriatr Soc* 35:526–531
53. Joffe RT, Levitt AJ 1992 Major depression and subclinical (grade 2) hypothyroidism. *Psychoneuroendocrinology* 17:215–221
54. Monzani F, Caraccio N, Siciliano G, Manca L, Murri L, Ferrannini E 1997 Clinical and biochemical features of muscle dysfunction in subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3315–3318
55. Monzani F, Caraccio N, Del Guerra P, Casolaro A, Ferrannini E 1999 Neuromuscular symptoms and dysfunction in subclinical hypothyroid patients: beneficial effect of L-T4 replacement therapy. *Clin Endocrinol* 51:237–242
56. Misiunas A, Ravera HN, Faraj G, Faure E 1995 Peripheral neuropathy in subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 5:283–286
57. Goulis DG, Tsimpiris N, Delaroudis S, et al. 1998 Stapedial reflex: A biological index found to be abnormal in clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 8:583–587
58. Beyer IW, Karmali R, DeMeester-Mirkine N, Cogan E, Fuss MJ 1998 Serum creatine kinase levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 8:1029–1031
59. Ridgway EC, Cooper DS, Walker H, Rodbard D, Maloof F 1981 Peripheral responses to thyroid hormone before and after L-thyroxine therapy in patients with subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 53:1238–1242
60. Cooper DS, Halpern R, Wood LC, Levin AA, Ridgway EC 1984 L-thyroxine therapy in subclinical hypothyroidism. *Ann Intern Med* 101:18–24
61. Nystrom E, Caidahl K, Fager G, Wikkelso C, Lundberg P-A, Lindstedt G 1988 A double-blind cross-over 12-month study of L-thyroxine treatment of women with 'subclinical' hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 29:63–76

62. Bell GM, Todd WT, Forfar JC, et al. 1985 End-organ responses to thyroxine therapy in subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 22:83–89
63. Forfar JC, Wathen CG, Todd WT, et al. 1985 Left ventricular performance in subclinical hypothyroidism. *QJ Med* 57:857–865
64. Foldes J, Istvanfy M, Halmagyi M, Varadi A, Gara A, Partos O 1987 Hypothyroidism and the heart. Examination of left ventricular function in subclinical hypothyroidism. *Acta Med Hung* 44:337–347
65. Kahaly GJ 2000 Cardiovascular and atherogenic aspects of subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 10:665–679
66. Arem R, Rokey R, Kiefe C, Escalante DA, Rodriquez A 1996 Cardiac systolic and diastolic function at rest and exercise in subclinical hypothyroidism: Effect of thyroid hormone therapy. *Thyroid* 6:397–402
67. Monzani F, Di Bello V, Caraccio N, et al. 2001 Effect of levothyroxine on cardiac function and structure in subclinical hypothyroidism: a double blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1110–1115
68. Biondi B, Fazio S, Palmieri EA, et al. 1999 Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2064–2067
69. Geul KW, Van Sluisveld ILL, Grobbee DE, et al. The importance of thyroid microsomal antibodies in the development of elevated serum TSH in middle-aged women: *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993 Sep; 39(3): 275-80.
70. Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, et al. Prevalence and follow-up abnormal TSH concentrations in the elderly in the United Kingdom. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1991 Jan; 34(1):77-83.
71. Rosenthal MJ, Hunt WC, Garry PJ, et al. Thyroid failure in the elderly: Microsomal antibodies as discriminant for therapy. *JAMA* 1987 Jul 10; 2 58(2): 209-13.
72. Kabadi UM. “Subclinical hypothyroidism” natural course of the syndrome during a prolonged follow-up study. *Arch Intern Med* 1993 Apr 26; 153(8): 957-61.
73. Bastenie PA, Vanhaelst L, Neve P. Coronary artery disease in hypothyroidism: observation in preclinical myxoedema. *Lancet* 1967 Dec 9; 2(7528): 1221-2.
74. Bastenie PA, Vanhaelst L, Bonnyns M, et al. Preclinical hypothyroidism: a risk factor for coronary heart disease. *Lancet* 1971 Jan 30; 1(7692): 203-4.
75. Fowler PBS, Swale J, Andrews H. Hypercholesterolemia in borderline hypothyroidism: stage of premyxoedema. *Lancet* 1970 Sep 5; 2(7671): 488-91.
76. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, et al. The development of iskemic heart disease in relation to autoimmune thyroid disease in a 20 year folow-up study of an English community. *Thyroid* 1996; 6: 155-60.
77. Pucci E, Chiovato L, Pinchera A. Thyroid and lipid metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24 (Suppl2):S109-12.
78. Duntas LH. Thyroid disease and lipids. *Thyroid* 2002;12:287-93.
79. Bindels AJ, Westendorp RG, Frolich M, Seidell JC, Blokstra A, Smelt AH. The prevalence of subclinical hypothyroidism at different total plasma cholesterol levels in

- middle aged men and women: A need for case-finding? *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:217-20
80. Bakker SJL, Ter Matten JC, Popp-Snijders C, Slaets JPJ, Heine RJ, Gans ROB 2001 The relationship between thyrotropin and low density lipoprotein cholesterol is modified by insulin sensitivity in healthy euthyroid subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1206–1211
 81. Althaus BU, Staub JJ, Ryff-De Leche A, Oberhansli A, Stahelin HB. LDL/HDL-changes in subclinical hypothyroidism: Possible risk factors for coronary heart disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988;28:157-63.
 82. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, et al. Impaired endothelium dependent vasodilation in subclinical hypothyroidism: beneficial effect of levothyroxine therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Aug; 88(8): 3731-7.
 83. Monzani F, Caraccio N, Kozakowa M, et al. Effect of levothyroxine replacement on lipid profile and intima media thickness in hypothyroidism: a double blind, placebo controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 May; 89(5): 2099-1063.
 84. Brenta G, Mutti LA, Shinitman M, et al. Assessment of left ventricular diastolic by radionuclventriculography at rest and exercise in subclinical hypothyroidism, and its response to L Thyroxine therapy. *Am J Cardiol.* 2003 Jun 1; 91(11):1327-30.
 85. Biondi B, Palmieri EA, Lombardi G, et al. Subclinical hypothyroidism and cardiac function. *Thyroid.* 2002 Jun; 12(6): 505-10.
 86. Şengül E, Çetinarslan B, Tarkun I, et al. Homocysteine concentrations in subclinical hypothyroidism. *Endocr Res.* 2004 Aug; 30(3): 351-9.
 87. Tuzcu A, Bahçeci M, Gökalp D, et al. Subclinical hypothyroidism may be associated with elevated high sensitive c-reactive protein (low grade inflammation) and fasting hyperinsulinemia. *Endocr J.* 2005 Feb; 52(1): 89-94.
 88. Cantürk Z, Çetinarslan B, Tarkun I, et al. Hemostatic system as a risk factor for cardiovascular disease in women with subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 2003 Oct; 13(10): 971-7.
 89. Lee WY, Suh JY, Rhee EJ, et al. Plasma CRP, apolipoprotein A-1, apolipoprotein B and Lp a levels according to thyroid function status. *Arch Med Res.* 2004 Nov-Dec; 35(6): 540-5.
 90. Aldasouqi S, Nkansa-dwamena D, Bokhari S, et al. Is subclinical hypothyroidism associated with hyperhomocysteinemia? *Endocr Pract.* 2004 Sep-Oct; 10(5): 399- 403.
 91. DeicherR, Vierhapper H. Homocysteine: a risk factor for cardiovascular disease in subclinical hypothyroidism? *Thyroid.* 2002 Aug.12(8): 733-6.
 92. Lindeman RD, Romero LJ, Schade DS, et al. Impact of subclinical hypothyroidism on serum total homocysteine concentrations, the prevalence of coronary heart disease (CHD), and CHD risk factors in the New Mexico Elder Health Survey. *Thyroid.* 2003 Jun: 13(6): 595-600.
 93. Erem C. Blood coagulation, fibrinolytic activity and lipid profile in subclinical thyroid disease: Subclinical hyperthyroidism increases plasma factor 10 activity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006 Mar; 64(3):323-9.

94. Gussekloo J, Van Exel E, De Craen AJ, et al. Thyroid status, disability and cognitive function and survival in old age . JAMA 2004; 292: 2591-9.
95. İmauzimi M, Akahoshi M, Ishimaru S, et al. Risk for İskemik heart disease and all cause mortality in subclinical hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89:3365-70.
96. Palmieri EA, Fazio S, Lombardi G, et al. Subclinical hypothyroidism and cardiovascular risk: a reason to treat. Treat Endocrinol. 2004; 3(4): 233-44.
97. Paşca S.P, Nemeş B, Vlase L, Gaygi C.E, Dronca E, Miu A.C, Dronca M,. High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism. Life sciences 2006; 78:2244-2248
98. Dumitriu L, Bartoc R, Ursu H, Purice M, Ionescu V. Significance of high levels of serum malonyl dialdehyde (MDA) and ceruloplasmin (CP) in hyper- and hypothyroidism. Endocrinologie. 1988; 26: 35-38.
99. Azizi F, Raiszadeh F, Solati M, Etemadi A, Rahmani M, Arabi M. J Endocrinol Invest. 2003 Aug;26(8):703-9. Serum paraoxonase 1 activity is decreased in thyroid dysfunction
100. Torun AN, Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism Clin Endocrinol (Oxf). 2009 Mar;70(3):469-74 (Abstr.)
101. Baskol G , Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2007 Sep;115(8):522-6 (Abstr.)
102. Erdamar H, The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. Clin Chem Lab Med. 2008;46(7):1004-10 (Abstr.)
103. Sarandöl E, Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. 2005 Jan-Feb;23(1):1-8 (Abstr.)
104. Gerold H, Jean-Jacques S, Christian M, et al. 2002 Prospective Study of the Spontaneous Course of Subclinical hypothyroidism: Prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. J Clin Endocrinol Metab, 87(7): 3221-3226.
105. Jaeschke R, Guyatt G, Gerstein H, et al. 1996 Does treatment with L-thyroxine influence health status in middle-aged and older adults with subclinical hypothyroidism? J Gen Intern Med 11:744–749
106. Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE: The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. Nat Genet 1996;14:334-336.
107. Lipincott W. Paraoxonase a cardioprotective enzyme: continuing issues, Curr Opin Lipidol 2004; 15:261-267
108. Shamir R, Hartman C, Karry R, Pavlotzky E, Eliakim R, Lachter J, Suissa A, Aviram M; Paraoxonases 1, 2 and 3 are expressed in human and Mouse gastrointestinal tract and in Caco-2 cell line: selective secretion of PON1 and PON2; Free Radical biology 2005; 39:336-344

109. Suchocka Z, swatowska J, pachecka J, suchocka P; RP-HPLC determination of Paraoxonase activity in human blood serum; *J of pharmaceutical and biomedical analysis* 2006; 42:113-119
110. Gülcü F, Gürsu F; The standardization of paraoxonase and arylesterase Activity Measurements; *Turkish J Biochem* 2003; 28:45-49
111. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Altfhan G, Mutanen M; Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002; 160:425-432
112. Gan K N, Smolen A, Eckerson H W, La Du B N. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos.* 1991; 19:100-106
113. Watson AD, Berliner J A, Rama S Y, La Du B N, Faull K F, Fogelman AM, Navab M: Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96:2882-2891
114. Seres I, Paragy G, Deschene E, Fulop Jr T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Experimental gerontoloji* 2004; 39:59-66
115. Fere N, Camps J, Fernandez-Balart J, Arija V, Murphy M.M, Ceruello 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 Chemistry* 2003; 49:1491-1497
116. Ozols J. Isolation and complete covalent structure of liver microsomal paraoxonase. *Biochem J* 1999; 338:265-272
117. Vlachos G D, Bartzeliotou A, Schulpis K H, Partsinevelos G A, Lazaropoulou C, Papadima C, Papastamataki M, Antsaklis A, Papassotiriou I. Maternal- neonatal serum paraoxonase-1 activity in relation to the mode of delivery. *Clin Biochemistry* 2006
118. Furlong CE, Richter RJ., Seidel S L, Motulsky AG. Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet* 1998; 43:230-238
119. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih D.M, Aviram M. *Free radical biology* 2003; 34:774-784
120. Mackness M I, Arrol S, Abbott C, Durrington P N. Protection of low density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104:129-135
121. Aviram M., Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Nelton R, Rosenblat M., Erogul J, Hsu C, Dunlop C, La Du B. 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: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 13: 1617-1624
122. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B.* 1985; 82:675-677

123. Nguyen S D, Sok D E. Preferable stimulation of PON1 arylesterase activity by phosphatidylcholines with unsaturated acyl chains or oxidised acyl chains at sn-2 position. *Biochimica et Biophysica acta* 2006; 1758:499-508
124. Brophy V H., Jampsa RL, Clendenning J B., McKinstry L A, Jarvik G P, Furlong CE. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet.* 2001; 68:1428-1436
125. Hegele R A, Connelly P W, Scherer S W, Hanley A J, Harris S R, Tsui L C, Zinman B. Paraoxonase 2 gene (PON2) G148 variant associated with elevated fasting plasma glucose in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3373-3377
126. Serrato M, Marian AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96:3005-3008
127. Zama T, Murata M, Matsubara Y, Kawano K, Aoki N, Yoshino H, Watanabe G, Ishikawa K, Ikeda YA. 192Arg 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; 17:3565-3569
128. Nelson DL, Cox MM. Lipid Biosynthesis. ch 21. In: *Lehninger principles of Biochemistry* 3. edn. Worth Publishers. New York 2000; 770-817.
129. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272: 20963-66.
130. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paromo S L, La Du B N. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101:1581-1590
131. Adkins S, Gan KN, Mody M, 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* 1993; 52:598-608
132. Hassett C, Richter R J, Humbert R, Chapline C, Crabb L W., Omiecinski C L, Furlong CE. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry* 1991; 30:10141-10149
133. Furlong C E, Li W F, Brophy VH, Jarvik G P, Richter R J, Shih D M, Lusa A L, Costa L G: The PON1 gene and detoxication. *Neurotoxicology* 2000; 21:581-587
134. Jialal I, Devaraj S. Low density lipoprotein oxidation antioxidants and atherosclerosis. A clinical biochemistry perspective. *Clin Chem* 1996; 42:498-506
135. Kerkeni M, Addad F, Chaufert M, Chuinad L, Miled A, Trivin F, Maroufi K. Hyperhomocysteinemia paraoxonase activity and risk of coronary artery disease. *Clin Biochem* 2006; 39:821-825
136. James R, Leviev I, Ruiz J, Passa P, Fuegel P, Gavin MCB. Promoter polymorphism T(- 107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 29:390-39
137. Paragh G, Balla P, Katona E, Seres I, Egerhazi A, Degrell I, Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002; 252:63-67

138. Ferre N, Marsilach J, Camps J, Rull A, Coll B, Tous M, Joven J. Genetic association of paraoxonase-1 polymorphisms and chronic hepatitis C virus infection. *Clinica chimica acta*. 2005; 18:112-118
139. Clarimon J, Eerola J, Hellstrom O, Tienari PJ, Singleton A, Paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and Parkinson's disease in a Finnish population.. *Neurosci Lett* 2004; 367:168-170
140. Delgado Alves J, Ames PR, Donohue S, Stanyer L, Nourooz-Zadeh J, Ravirajan C, Isenberg DA, Noorouz-Zadeh J. Antibodies to high density lipoprotein and β -2 glycoprotein-I are inversely correlated with paraoxonase activity in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2003; 48:284
141. Raiszadeh F, Solati M, Etemadi A, Azizi F. Serum paraoxonase activity before and after treatment of thyrotoxicosis. *Clin Endocr* 2004; 60:75–80
142. Mackness MI, Mackness B, Arrol S, Wood G, Bhatnagar D, Durrington PN. Presence of paraoxonase in human interstitial fluid. *FEBS Letters* 1997; 416:377-380.
143. Griffith MK, Virella GT, Stevenson HC, Lopes-Virella MF. Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes. A possible mechanism of foam cell formation. *J Exp Med* 1988; 168:1041-1059
144. Szafran Z, Nowak J, Szafran H, Janik A. Esterolytic activity of blood serum in infants with hypertrophic pyloric stenosis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 17:321-324
145. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Staffonini DM, McIntyre TM, Prescott SM, La Du BN, Fogelman AM, Navab M. Anti-inflammatory HDL becomes proinflammatory during the acute phase response. *J Clin Invest* 1995; 96:2758-2767
146. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; 91:2488–2496
147. Mackness M I, Arrol S, Durrington P N, Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett*. 1991; 286: 152-154
148. Michael T, McDermott and E. Chester Ridgway. 2001 Subclinical hypothyroidism is mild thyroid failure and should be treated. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86 (10) : 4585 – 4590.
149. Arinzon Z, Zuta A, Eisakh A, et al. Evaluation response and effectiveness of thyroid hormone replacement treatment on lipid profile and function in elderly patients with subclinical hypothyroidism. *Arch Gerontol Geriatr*. 2006 Apr 16.
150. Perez A, Cubero JM, Sucunza N, et al. Emerging cardiovascular risk factors in subclinical hypothyroidism: lack of change after restoration of euthyroidism. *Metabolism*. 2005 Apr; 54(4): 559.
151. Cakmak A, Soker M, Koc A, Erel O, Paraoxonase and Arylesterase Activity With Oxidative Status in Children With Thalassemia Major *J Pediatr Hematol Oncol* 2009;31:583–587
152. Barim AO, Aydin S, Colak R, Dag E, Deniz O, Sahin İ. Ghrelin, paraoxonase and arylesterase levels in depressive patients before and after citalopram treatment *Clinical Biochemistry* 42 (2009) 1076–1081

153. Ayub A., Mackness M.I, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infardion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:330-335
154. 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
155. Mariela Janet Coria, Adriana Inés Pastrán, Maria Sofia Gimenez Universidad Nacional de San Luis, IMIBIO-SL CONICET, San Luis, Argentina; Complejo Sanitario San Luis, Argentina *ACTA BIOMED* 2009; 80: 135-139
156. Salman Razvi, Lorna Ingoe, Gill Keeka, Crispian Oates, Carolyn McMillan, and Jolanta U. Weaver. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92(5):1715–1723.2007 by The Endocrine Society doi: 10.1210/jc.2006-1869
157. Meek S, Smallridge RC.Division of Endocrinology, Mayo Clinic College of Medicine, Jacksonville, Florida 32224-1865, USA.*Endokr Pract.*2006 Sep-Oct;12(5):529-34.
158. Haralampos J, Milionis AP, Tambaki C, Kanioglu MSE, Alexandros D. Tselepis, and Agathocles Tsatsoulis 2005 Thyroid Substitution Therapy Induces High-Density lipoprotein-associated platelet-activating factor-acetylhydrolase in patients with subclinical hypothyroidism: a potential antiatherogenic effect.*Thyroid* 15
159. Kebapcilar L, Effect of levothyroxine replacement therapy on paraoxonase-1 and carotid intima-media thickness in subclinical hypothyroidism. *Med Sci Monit.* 2010 Jan;16(1):CR41-7. (Abstr.)
160. Jaeskhke R, Guyatt G, Gerstein H, et al. Does treatment with L-Thyroxine influence health status in middle-aged and older adults with subclinical hypothyroidism? *J Gen Intern Med* 1996;11.744-9.
161. Costa L, Vitalone A, Cole T B, Furlong C E. Modulation paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology* 2004
162. La Du B N, Aviram M., Billecke S, Navab M., Primo-Parmo S., Sorenson RC, Standiford TJ, On the physiological roles of the paraoxonases. *Chem Biol Interact.* 1999; 120:379-388
163. Rosenblat M, Karry R, Aviram M. PON1 is a more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: Relavance to diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 187:174-79
164. Thomas-Moya E, Gianotti M, Liadino I, Proenza A.M Effects of caloric restriction and gender on rat Paraoxonase 1 activity. *J N Biochemistry* 2006; 17:197-203
165. James R W, Deakin S P. The importance of HDLs for paraoxonase-1 secretion stability and activity. *Free radical biology* 2004; 37:1986-1994