Derleme

Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz

Sema UYSAL, Sümeyya AKYOL, Rukiye HASGÜL, Ferah ARMUTCU, M. Ramazan YİĞİTOĞLU

Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Paraoksonaz enzimi ilk olarak organofosfor zehirlenmesine karşı koruyucu bir bariyer olarak tanımlanmıştır. Bu enzim hakkında son yıllarda oldukça fazla sayıda araştırma yapılmış olup, sahip olduğu fonksiyonlar ve hastalıklardaki rolü hakkında büyük ilerleme kaydedilmiştir. Bu derleme makalesinde, paraoksonaz enziminin normal fizyolojik fonksiyonlarının yanıbaşında hastalıkların etyopatogenezinde sahip olduğu rolü de gözden geçirmeyi amaçladık. Paraoksonaz 1 (PON1) enzimi, esteraz ve laktonaz aktivitesi gösteren yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ilişkili bir enzimdir. Herhangi bir kritere göre belirlenmiş bir insan populasyonunda serum PON1 aktivitesi en az 40 kat değişebilir. Bu değişkenliğin çoğu PON1 geninin kodlama (Q192R, L55M) bölgesinde ve promotor (T-108C) bölgedeki genetik polimorfizm ile izah edilebilir. Oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olarak görev yapan bu enzim, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın patogeneziyle ilişkilendirilmektedir. Enzimin transkripsiyon ve translasyon başta olmak üzere düzenleyici mekanizmaları ile birlikte moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılması, enzimin antioksidan etkilerini potansiyalize etmek için agonistlerden yararlanmada bize yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: PON1 proteini; insan; HDL

ABSTRACT

Paraoxonase: A multifaceted enzyme

Paraoxonase enzyme has initially been identified as a protective barrier against organophosphorus poisoning. In the recent years, a wide range of investigations were conducted on this enzyme and the knowledge about its functions and the etiopathogenetic role in some diseases has been clarified in depth. In this review article, we aimed to evaluate the normal physiological functions of PON enzyme as well as the etiopathogenetic role of this enzyme in several diseases. PON1 is a high density lipoprotein-associated enzyme that have esterase and lactonase activities. In a human population selected by any of the criteria, serum PON1 activity can be changed by at least 40-fold. Genetic polymorphisms in the coding region (Q192R, L55M) and in the promoter region (T-108C) may account for most of these variations. PON, as an important anti-oxidant enzyme against oxidative stress, has been implicated in the pathogenesis of a number of disorders including cancer, cardiovascular and several other diseases. A better understanding of molecular mechanisms of the enzyme along with regulatory circuits including transcription and translational mechanisms will help us to utilize agonists to potentiate the antioxidant actions of the enzyme.

Key Words: PON1 protein; human; HDL

Enzimin tanımı ve yapısı

Glikoprotein yapıda, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir enzimdir[1]. İlk olarak 1946 yılında Abraham Mazur tarafından keşfedilen enzim[2], sonraki yıllarda insan serum paraoksonazı (PON1) olarak tanımlanmış olup[3,4] son derece zehirli organofosfat tarım ilacı parationun toksik metaboliti paraoksonu (organofosfat substratı) hidroliz edebilmesinden dolayı bu ismi almıştır[5]. Paraoksonaz gen ailesi, insanlarda 7q 21.3-22.1 kromozomunun uzun kolunda, birbiriyle bağlantılı PON1, PON2 ve PON3 şeklinde üç üyeden oluşmaktadır. İnsanda karaciğerde sentezlenip kana salınan PON1, 43 kDa moleküler ağırlığa sahip, 354 aminoasitten oluşan bir protein olup, serumda genellikle HDL üzerine lokalizedir[1,6,7]. PON1 gibi çoğunlukla karaciğerde eksprese olan PON3, düşük miktarda böbreklerde de bulunur ve HDL ile ilişkilidir[8,9].

Serumda tespit edilemeyen ancak; beyin, karaciğer, böbrek ve testis gibi birçok dokuda eksprese olan PON2'nin pek çok mRNA formu vardır[10,11].

Yazışma adresi:

Dr. Ferah ARMUTCU
Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara
E-posta: drferah@yahoo.com
Yazının geldiği tarih : 17.02.2011
Yayına kabul tarihi : 20.02.2011

Etkileri

PON1, hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlanır. PON1, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksisitesinden sinir sistemini koruyucu bir ajandır[12]. *İn vitro* çalışmalar, PON1 ve PON3'ün LDL'nin lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini, böylece aterosklerozu başlatan ve ilerleten okside lipid seviyelerini azalttığını göstermiştir[13]. PON'lar için bildirilen fizyolojik roller arasında; platelet-aktive edici faktör hidrolizi[14], lipid oksidasyonu[15], aterosklerotik vasküler hastalık için risk faktörü olarak bilinen homosistein tiyolakton hidroliz ve inaktivasyonu[16] yer almaktadır. PON1, makrofaj kolesterol biyosentezini inhibe eder ve makrofajlara kolesterol akışını stimüle eder[17-18].

PON1 aynı zamanda kolesterol esterlerinin peroksitlerini metabolize eder[19]. PON'ların antiaterosklerotik aktivitesi HDL partikülleri üzerindeki

lokalizasyonları ile yakından ilişkili olup; kolesterol (aterosklerotik lezyonlarda köpük hücrelerinden) akışına aracılık eder ve LDL'nin lipid oksidasyonunda sınırlama rolüne sahiptir. PON1, HDL'nin glikasyon ve homosisteinilasyon yatkınlığında modülatör etkiye sahiptir[20]. PON1'in LDL oksidasyonunun engellemesinde, Lesitin Kolesterol Açiltransferaz (LCAT) ve Apo A1 üzerinden etkili olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır[1].

Polimorfizmi

PON1 geninin kodlama bölgesi iki polimorfik bölge içerir; pozisyon 55'de lösin (L) ve metiyonin (M) (55 L>M) transizyonu ve pozisyon 192'de glutamin (Q) ve arginin (R) (192 Q>R) transizyonu. Kodlama bölgesindeki bu polimorfizme ilaveten, özellikle pozisyon 107/108'de olduğu gibi promotor bölgede önemli değişiklikler olduğu da rapor edilmiştir[21]. PON1 promotor bölgesindeki polimorfizm bağlantısı yüzünden, 55 L>M polimorfizmi enzim konsantrasyonunu etkiler. 55 L>M polimorfizmi, PON1'in HDL ile bağlanmasında rol oynayan N-terminal bölgesinde lokalizedir[7,22]. 192 Q>R polimorfizmi, enzimin hidrolitik aktivitesinde substrat farklılığından sorumludur. 192 Q/R polimorfizminde, Q aleline sahip kişilerde, R alelini taşıyanlara göre daha düşük PON1 enzim aktivitesi gözlenirken, 55 L/M polimorfizminde ise; MM homozigot bireylerde, LL homozigotlara kıyasla paraoksona karşı daha düşük PON1 aktivitesi bulunmaktadır[21-23].

192 R izoformu paraoksonu, 192 Q izoformu ise diazokson, soman ve sarin gibi kimyasal zehirleri hidrolize eder[24]. Kandaki paraokson hidroliz kapasitesi (PON aktivitesi) sıklıkla PON1 enzim aktivitesinin bir belirteci olarak kullanılır. Bu enzim aktivitesi 192 Q>R polimorfizmi ile PON1 enzim konsantrasyonundaki değişimi yansıtır. 192 (QR) pozisyonundaki aminoasit yerleşimleri iki alloenzime neden olur. Q alloenzimi, R alloenzimine göre LDL üzerindeki lipid peroksitlerin birikimini daha çok engeller[25]. PON1 geninin ikinci ekzonik polimorfizmi 55 (L/M) pozisyonunda meydana gelir. Bu polimorfizm 192 polimorfizme göre PON1 aktivitesini daha az etkiler. PON1 gen polimorfizmleri, enzimin koruyucu fonksiyonunu engelleyerek koroner arter hastalığı riskini artırır[26,27].

Paraoksonaz ve Koroner Arter Hastalığı

Son yıllarda yapılan çalışmalar genellikle, HDL'nin üzerinde bulunan kalsiyuma bağlı paraoksonazın, okside olmuş lipidlerin metabolizması ve aterosklerozdan korumada önemli fizyolojik rolü olduğu yönündedir. PON1 ile ateroskleroz arasındaki ilişki HDL'nin anti-aterojenik özelliklerine bağlanmaktadır. Biyolojik olarak aktif olan LDL'yi hidrolizleyen PON1, lipid peroksit oluşumunu anlamlı olarak azaltarak yağlı çizgi (fatty streak) oluşumunu önlemede koruyucu rol üstlenir. HDL üzerinde amino ucundaki hidrofobik bölgede apo A-I ile ilişkili PON1, LDL oksidasyonu ile oluşan proinflamatuar molekülleri parçalayıp vasküler hastalık riskini azaltabilir[7,28]. İn vitro olarak histidin ve glutamin bakiyelerinin, pozisyon 20 ve 21'de alanin ile yer değiştirmesi PON ekspresyonuna yol açar. Bu PON'un lipoproteinlerle etkileşmesi için N-terminal hidrofobik sinyal sekansının gerekli olup olmadığı araştırılmış; PON ile HDL birleşmesi için yapıda N-terminal hidrofobik sinyal peptidin gerekli olduğu saptanmıştır. Apoli-poprotein eksikliğinde N-terminal hidrofobik peptit doğrudan fosfolipidlere bağlandığından, PON'un dolaşımda HDL üzerindeki fosfolipidlere bağlı halde bulunduğu gözlenmiştir[29]. Serum PON1 aktivitesi, myokard infarktüsü, ailesel hiperkolesterolemi ve diyabet hastalarında, sağlıklılara göre daha düşük bulunmuştur[30].

Saflaştırılmış PON'un HDL oksidasyonu üzerine, konsantrasyon bağımlı inhibitör etkisi gözlenmiş, serumda PON miktarının artması HDL'nin oksidasyona karşı direncini artırmıştır. PON inhibitörlerinin serum PON aktivitesini azalttığı ve HDL'nin oksidasyonunu artırdığı gözlenmiştir. HDL-aracılı PON veya saflaştırılmış PON'un LDL oksidasyonu işleminde, başlangıç, yayılma ve ayrışma fazlarındaki etkisi araştırılmış ve HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine olan inhibitör etkisinin, metal iyon şelasyonu veya peroksidaz benzeri aktiviteden kaynaklandığı belirtilmiştir[31]. Knockout ve transgenik fare çalışmalarında PON1'in vasküler hastalıklarda güçlü bir rolü olduğu ileri sürülmüş; serum PON1 seviyesi düşük olan farelerde ateroskleroza yatkınlığın ve stenoz oranının arttığı gösterilmiştir[32].

PON1 Q192R polimorfizmiyle koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda PON1 192 RR genotipinin koroner arter hastalığında daha yüksek bir sıklıkta mevcut olduğu gösterilmiş, PON1 Q192R gen polimorfizminin aterosklerozda bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür[33,34]. Türk toplumunda yapılan ve bunu destekleyen bazı çalışmalar varsa da[35], bazı araştırmalarda böyle bir ilişki bulunamamıştır[36,37].

Paraoksonaz; Obezite, Metabolik Sendrom ve Tip 2 Diyabetes Mellitus

Hipergliseminin oksidatif stres ve ateroskleroza zemin hazırladığı düşünülürse, diyabetli olgularda paraoksonazın rolü ortaya çıkar. Diyabetik hastalarda görülen hiperglisemi, hiperinsülinemi, yüksek serbest yağ asitleri ve dislipidemi; reaktif oksijen türlerinin fazla üretimine bağlı olabileceği gibi, diyabetik retinopati ve hipertansiyon gelişen olgularda izlenen düşük serum PON1 aktivitesi de

muhtemelen lipid peroksidasyonuna yatkınlığın artmış olmasından kaynaklanmaktadır[38]. Serum PON1 düzeylerini etkileyen çevresel ve genetik faktörler, HDL'nin LDL'yi oksidasyondan (dolayısıyla ateroskle-rozdan) koruma kapasitesini etkiler[39].

PON1-192RR ve PON1-55LL genotipleri tip 2 diyabetli olgularda daha sık izlenmiş olup; DM, hiperkolestrolemi, böbrek yetmezliği gibi, koroner kalp hastalığı ile ilişkisi olduğu bilinen hastalıklarda, düşük serum PON1 aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir[40,41]. PON1'in HDL'ye bağlanması diyabetik hastalarda sağlıklı insanlarla kıyaslandığında daha düşük olup, değişik çalışmalarda PON1 aktivitesinin azalmış olduğu tespit edilmiştir[42].

Düşük enzim aktivitesi PON1'in azalmış sentezinden daha çok glikasyonuna bağlı olup[43], nöropati, nefropati ve retinopati gibi komplikasyonları olan diyabetik hastalarda da paraoksonaz seviyelerinin düşük olduğu sonucuna varılmıştır[44].

Kardiyovasküler hastalıklar için risk oluşturan Metabolik sendromda; oksidatif stresin insülin direncinden sorumlu olduğu ve bu durumun antioksidan kapasitenin aşılması sonucu PON1 aktivitesinde azalmaya neden olduğu ileri sürülmektedir[45]. Senti ve ark., metabolik sendromda azalmış PON1 aktivitesini göstermiş[46], bir diğer çalışmada LL PON genotipi varlığının insülin direncinin şiddetiyle ilişkili olduğu bulunmuştur[47].

Obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörüdür. Ferreti ve ark., sağlıklı ve obez kişilerde lipoprotein, oksidatif stres ve HDL-PON aktivitesini araştırdıkları çalışmada; obezlerde HDL-PON aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiş, HDL içeriğindeki değişimlerin HDL yüzeyine paraoksonaz bağlanmasını etkileyerek enzim aktivitesini azalttığını öne sürmüşlerdir[20]. Üreme çağındaki kadınların %5-10'unu etkileyen polikistik over sendromu (PKOS), en sık görülen reprodüktif endokrinopati olup[48], diyabet, hipertansiyon ve aterosklerotik kalp hastalığı gelişim riskinde artış ile de ilişkili bir hastalıktır[49]. Azalmış PON1 aktivitesinin PKOS'lu kadınlarda karbonhidrat metabolizma bozukluğuna, insülin direnci ve aterosklerotik kalp hastalığına katkıda bulunduğunu öne süren çalışmalar vardır[50,51]. Fortunato ve ark., orta yaşlı PKOS'lu kadınlarda paraoksonaz gen polimorfizminin karotid intima-media kalınlığını arttıran bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir[52].

Fenkci ve ark., PKOS hasta grubunda total antioksidan düzeylerinin, kontrol grubundan anlamlı olarak düşük olduğunu bulmuşlardır[53]. Yine PKOS'lu hasta grubunda artmış oksidatif durumun kardiyovasküler risk artışına katkıda bulunduğu öne sürülmekte; HDL'nin antioksidan etkisinin kısmen HDL ile ilişkili enzimlere bağlı olabileceği düşünülmekte ve özellikle PON1 ve platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH) enzimleri üzerinde durulmaktadır[54,55]. Bizim de içinde yer aldığımız bir çalışma sonuçları da bu durumu desteklemekte olup; PKOS'lu hasta grubunda PON1 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunurken, okside-LDL düzeyleri ile PAF-AH aktivitesi yüksek bulundu (yayınlanmamış veri).

Paraoksonaz ve Karaciğer Hastalıkları

Kronik HBV enfeksiyonu; karaciğer yetmezliği, karaciğer sirozu ve karaciğer kanseri gelişim riski nedeniyle yüksek morbidite ve mortaliteye sahip önemli bir hastalıktır[56]. Süleyman ve ark., sağlıklı kontrol grubuna göre kronik hepatitli hastalarda PON1 aktivitesinin düşük olduğunu gözlemlemişler ve kronik hepatitte PON düşüklüğüne sebep olarak hepatositlerin hasara bağlı PON ekspresyonunu kaybetmeleri ve HDL dinamiklerinin değişimi şeklinde iki olası hipotez ileri sürmüşlerdir[57]. NASH, önemli miktarda alkol almayan kişilerde alkolik karaciğer hastalığının histolojik özelliklerini gösteren kronik hepatit formudur[58]. NASH patogenezi tam olarak açık olmamakla birlikte, iki mekanizmaya işaret edilmektedir: Birincisi artmış oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun karaciğerde artmış yağ birikimi ile ilişkisi olması, diğeri ise tümör nekrozis faktör aracılı hasardır[59]. Bafikol ve ark. NASH hastalarında PON1 seviyesini düşük bulmuşlar; serum PON1 aktivitesindeki azalmanın inflamasyon süreciyle ilişkili olabileceğini ve HDL'nin anti-inflamatuar/antioksidan kompleksten proinflamatuar/prooksidan komplekse dönüşmesinin yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir[60]. Kronik karaciğer hastalığında, HDL'nin yapısı ve seviyesindeki değişimler hepatik LCAT aktivitesi ile ilişkilidir[61]. 49 hepatosteatozlu ve 25 sağlıklı kişide PON1 aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, hastaların PON1 aktivitesi ve NO seviyeleri anlamlı derecede düşük, MDA seviyeleri ise yüksek bulunmuş ve hepatosteatozlu hastalarda oksidatif stresin PON1'i anlamlı derecede baskıladığı sonucuna varılmıştır[62]. Sirozlu hastalarda PON1 aktivitesinin diğer hepatitlere göre daha düşük olduğu; albumin ve bilirubin düzeyleriyle korele olduğu gösterilmiş[63], PON1 aktivitesinin alkolik karaciğer hastalığının şiddetiyle ilişkili olduğu bulunmuştur[64].

Paraoksonaz ve Nörolojik Hastalıklar

Etyopatogenezleri kompleks olan nörolojik hastalıklarda çevresel ve genetik faktörler de rol oynamaktadır. Alzheimer hastalığı, 65 yaş ve üzerinde demansa en sık neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır. Ateroskleroz, diyabet ve Alzheimer

hastalığı gibi pek çok dejeneratif hastalıkta oksidatif stres (LDL oksidasyonu gibi) önemli bir mekanizma olarak düşünülmektedir[65].

Alzheimer hastalarında PON1 aktivitesi anlamlı derecede düşük olup, R alleli taşıyan hastalar Q alleli taşıyanlara göre yüksek serum PON1 aktivitesi gösterirler. Dantoine ve ark., Alzheimer hastalarını vasküler demans ve sağlıklı kişilerden ayırt etmek için 192 PON1 polimorfizminin güvenilir bir belirteç olduğu sonucuna varmışlardır[66].

Epidemiyolojik çalışmalarda, Parkinson hastalığının pestiside maruz kalma ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür[67]. Sporadik idiopatik olgularda PON1 ile metabolize olan çevresel nörotoksinlerin yaşla birlikte nörodejenerasyondan sorumlu tutulabileceği ve B allelin parkinson hastalığına genetik yatkınlık oluşturabileceği ileri sürülmüştür[68]. İnsan PON1'i, organofosfatların, aromatik karboksilik asit esterlerinin ve karbomatların hidrolizini katalize eder. PON1 aktivitesindeki farklılıklar, maruziyet riski olanlarda organofosfat metabolizmasını etkileyerek organofosfat intoksikasyon riskini arttırmaktadır[21]. Yine son zamanlarda yapılan çalışmalarda, şizofreni ve inme durumlarında da sağlıklı kişilere göre PON1 aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir[69,70]. Başta miks konnektif doku hastalığı olmak üzere, behçet, SLE, romatoid artrit, osteoartrit ve fibromiyalji gibi daha birçok hastalıkta da PON1 aktivitelerinde azalma olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [71].

Paraoksonaz ve Kanser

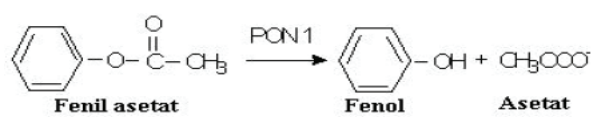
Oksidatif stres karsinogenezde önemli etyolojik faktörlerden birisidir. Buna karşın PON1, endojen serbest radikal temizleyici sistemler arasında yer aldığından farklı kanserlerin etyoloji ve önlenmesindeki rolüne ilgi duyulmuştur. Elkıran ve ark.'nın çalışmasında, serum PON1 aktivitesinin akciğer kanserli hastalarda sağlıklı kişilerden anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur[72]. Benzer bir vaka-kontrol çalışmasında Lee ve ark.; PON1 gen Q/Q genotipini taşıyan 177 hastada akciğer kanseri gelişme riskinin anlamlı olarak artmış olduğunu göstermiştir[73]. Sağlıklı kontrol gruplarına göre gastrik veya pankreas kanseri olan hastalarda serum paraoksonaz seviyeleri düşük çıkmıştır[74,75].

PON1 geninin 3. ekzonundaki bir aminoasit değişikliği sonucunda oluşan L55M SNP, kandaki enzim miktarını azaltarak PON aktivitesini düşürmektedir[76]. Gastroözofageal kanserde ve benzer şekilde önemli inflamasyon ve kanser ilişkili anemide PON1 aktivitesinin düştüğü bulunmuş, PON1 düşüşünün lenf nodu metastazına işaret ettiği gösterilmiştir[77]. Yüksek dereceli 42 gliomlu ve 42 menenjiomlu hasta ile 50 sağlıklı kontrol grubunda PON 192 polimorfizm dağılımının araştırıldığı bir diğer çalışmada, serum PON1 aktivitesi her iki tümör grubunda da, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Beyin tümörleri oluşumunda, antioksidanların serum PON1 ile ilişkisi üzerinde durulmaktadır[78]. Birbirini izleyen ovulasyonlar sırasında oksidatif stres, overin epitelyal hücrelerinde DNA hasarını ve malign transformasyon potansiyelini artırdığından, PON1 SNP'lerinin over kanser riski ile anlamlı derecede ilişkili olduğu ileri sürülmüştür[79]. Epitelyal over kanserli hasta grubunda serum PON ve arilesteraz aktiviteleri ölçülmüş; PON ve arilesteraz aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük bulunduğu çalışmada, hastalığın derecesi ve CA-125 düzeyi ile PON aktivitesi arasında ters korelasyon tespit edilmiştir[80].

Stevens ve ark., MM genotipli kadınlarda L55M polimorfizmi için %57 artmış meme kanseri, %85 artmış invaziv meme kanseri insidansı varlığını göstermişlerdir[81]. Bu çalışmalar ve sayıca çokluğundan dolayı burada bahis konusu yapamadığımız diğer çalışmalar, paraoksonazın karsiogenezdeki rolünü göstermekte olup, malign transformasyonun moleküler mekanizmalarına farklı bir bakış açısı kazandırmaktadır.

Serum PON 1 Aktivitesinin Ölçümü

Aromatik karboksilik asit esterlerinden fenil asetat, enziminin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır[82] (Şekil 1). Eckerson[83] tarafından geliştirilen yöntemde Paraokson'un, PON1 tarafından hidrolizi ile oluşan sarı renkli paranitrofenolün neden olduğu absorbans artışı spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Örnekteki enzim (PON1) reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder ve açığa çıkan ürünün absorbans artışı 412 nm'de kinetik olarak izlenir. Son yıllarda PON1 ölçüm yöntemi otoanalizörlere de uyarlanmış olup, ölçümler serum veya heparinli plazmada yapılmakta, kalsiyum bağlayan EDTA'lı örnek kullanılmamalıdır[84,85]. Temelde genetik faktörler nedeniyle paraoksonazın bireylerarası varyasyonu yüksek ise de, lipit metabolizması ile ilgili etkenler, sigara kullanımı, yaş ve diyet de bu farklılıkta etkendir[28]. Özellikle bazı ilaçlar (statinler, hipolipemik ve antidiyabetik ajanlar), diyet (antioksidanlar, polifenoller) ve yaşam tarzı, PON1 aktivitesini etkileyen faktörler arasında gösterilmektedir[86].



Şekil: PON1 kataliziyle gerçekleşen Arilesteraz tepkimesi

Sonuç olarak; son yirmi yılda, paraoksonaz ve enzimolojisinin anlaşılmasında çok yol katedilmiş-

tir. Kolesterolü periferal dokulardan karaciğere taşıyan HDL'nin aynı zamanda PON1 vasıtası ile antioksidan gücü olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar paraoksonazın HDL'nin bu özelliğine destek olduğunu göstermesi, kardiyovasküler hastalıklarda etyopatogenezi aydınlatmak için paraoksonaz konusundaki çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır. Gerçekten de belirli bazı kişilerde görülen polimorfizmlerin koruyucu bir fenotip oluşturdukları görülmüş; kanser, diyabet, konnektif doku hastalıkları, hepatik ve renal patolojiler gibi diğer hastalıklarda da enzimin rolü araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar oldukça ilgi çekici bulunmuş ve paraoksonazın, metabolik sendromdan otizme uzanan spektrumda birçok hastalıkta rolü olduğu gösterilmiştir. Bu da paraoksonazı, bu hastalıklarla ilgilenen araştırmacılar için ideal bir biyomolekül ve belirteç yapmıştır. Bununla beraber, bu çalışmalarda yapılacak yorumlarda oldukça dikkatli olmak gereklidir; zira farklı etnik kökenli katılımcıları kapsayan birçok çalışmada değişen polimorfizm paternleri ve risk profilleri nedeniyle paraoksonazın rolü inandırıcı bir şekilde değerlendirilmeli, yanlış hasta seçimine bağlı çarpık sonuçlardan sakınmak için yol gösterici olmalıdır. Hastalık patogenezi, kalıtım (genetik predispozisyon) ve beslenme (çevresel etkiler) etkileşimini içeren kompleks bir olaydır. Oksidatif stres makul mekanizmalardan birisi ise de, bu girift patojenik mekanizmaların daha iyi anlaşılması için her biri hakkında daha ileri bilgilere ihtiyaç olduğu kesindir.

REFERANSLAR

1. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and Atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001;21(4):473-80.
2. Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophospates. J Biol Chem 1946;164: 271-89.
3. Aldridge WN. Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. Biochem J 1953;53(1):110-7.
4. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. Biochem J 1953;53(1):117-24.
5. Van Himbergen TM, Van Tits LJH, Roest M, Stalenhoef AFH. The story of PON1: how an organophosphate hydrolyzing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine. Neth J Med 2006;64(2):34-8.
6. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. Chem Biol Interact 1999;119-120;379-88.
7. Humbert R, Adler DA, Disteche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human paraoxonase activity polymorphism. Nat Genet 1993;3(1):73-6.
8. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay, A et al. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001;21(4):542-7.
9. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. J Biol Chem 2000;275(43):33435-42.
10. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M et al. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. J Biol Chem 2001;276(48):44444-9.
11. Mochizuki H, Scherer SW, Xi T, Nickle DC, Majer M, Huizenga JJ, et al. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence. Gene 1998;213(1-2): 149-57.
12. La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W. Genetic Factors Influencing the Metabolism of Foreign Compounds: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Pergamon Press, New York 1992; p.51-91.
13. Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, Mccarthy A, et al. 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, sability, solubility and crystallizability. Arh Hig Rada Toksikol 2007;58(3):347-53.
14. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. Biochem J 2001;354(1):1-7.
15. Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, Emili A, Draganov D, La Du BN, et al. Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor. J Biol Chem 2001;276 (27):24473-81.
16. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. J Biol Chem 2000;275(6):3957-62.
17. Rozenberg O, Shih DM, Aviram M. Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003;23(3):461-7.
18. Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 tansporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. Atherosclerosis 2005;179(1):69-77.
19. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein and preserves its functions. J Clin Invest. 1998;101(8):1581-90.
20. Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, et al. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. J Clin Endocrinol Metabol 2005;90(3):1728-33.
21. Gupta N, Gill K, Singh S. Paraoxonases: Structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease. Indian J Med Res 2009; 130(4):361-8.
22. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. 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(3):598-608.
23. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. J Lipid Res 2001;42(4):528-35.
24. 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(3):334-6.
25. Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Durrington PN. The alloenzymes of paraoxonase determine the effectiveness of high-density lipoprotein in protecting low density lipoprotein against lipid-peroxidation. Lancet 1997;349(9055):851-2.
26. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. J Clin Invest 1997;99(1):62-6.
27. Mackness M, Mackness B, Durrington PN, Fogelman AM, Berliner J, Lusis AJ, et al. Paraoxonase and coronary heart disease. Curr Opin Lipidol 1998;9(4):319-4.
28. Tuncel P, Örmen M, Şişman AR. Paraoksonazın biyolojik varyasyonu ve HDL-Kolesterol ile ilişkisi. Türk Klinik Biyokimya Derg 2009;7(1):17-22.
29. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of high density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein associated protein, k-45. Eur J Biochem 1993;211(3):871-9.
30. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. Atherosclerosis 1991;86(2):193-9.
31. Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW. A polymorphism of the paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15(1):89-95.
32. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. Free Radic Biol Med 2003;34(6):774-84.
33. Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (Gln192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1997;82 (7):2257-60.
34. Imai Y, Marita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, et al. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. Atherosclerosis 2000;149(2):435-42.
35. Taşkiran P, Cam SF, Sekuri C, Tüzün N, Alioğlu E, Altintaş N, et al. The relation between paraoxonose gene Leu-Met (55) and Gln-Arg (192) polymorphisms and coronary artery disease. Turk Kardiyol Dern Ars. 2009;37(7):473-8.
36. Ombres D, Pannitteri G, Moutali A, Candelero A, Seccareccia F, Campagna F, et al. The Gln-Arg 192 polymorphism of the human

paraoxonase gene is not associated with coronary artery disease in Italian patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18(10):1611-6.

37. Ko YL, Ko YS, Wang SM, Hsu LA, Chang CJ, Chu PH, et al. The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene is not associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. Atherosclerosis 1998;141(2):259-64.

38. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. J Biochem Mol Toxicol 2003;17(1):24–38.

39. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I. Clin Sci 2004;107(5):435-47.

40. Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. Curr Opin Lipidol 2004;15(4):399-404.

41. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, et al. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. Atherosclerosis 1998;139(2):341-9.

42. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arii K, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism 1998;47 (5):598-602.

43. Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. Diabetologia 2000;43 (3):312-20.

44. Flekac M, Skrha J, Zidkova K, Lacinova Z, Hilgertova J. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. Physiol Res 2008;57: 717-26.

45. Paolisso G, Tagliamonta MR, Rizzo MR, Giugliano D. Advancing age and insulin resistance: new facts for an ancient history. Eur J Clin Invest 1999;29(9):758-69.

46. Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2003;88(11):5422-6.

47. Barbieri M, Bonafe M, Marfella R, Ragno E, Giugliano D, Franceschi C, et al. LL-paraoxonase genotype is associated with a more severe degree of homeostasis model assessment IR in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(1):222-5.

48. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. J Clin Endocrinol Metab 1998;83(9):3078-82.

49. ACOG Practice Bulletin No. 108: Polycystic ovary syndrome. Obstet Gynecol 2009;114(4):936-49.

50. Dursun P, Demirta E, Bayrak A, Yarali H. Decreased serum PON1 activity: an additional risk factor for atherosclerotic heart disease in patients with PCOS? Hum Reprod 2006;21(1):104-8.

51. Lenarcik A, Bidzińska-Speichert B, Tworowska-Bardzińska U. The role of chronic inflammation and Leu55Met PON1 polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol 2010;26(9):673-83.

52. Fortunato G, Rubba P, Panico S, Trono D, Tinto N, Mazzaccara C, et al. A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. Atherosclerosis 2003;167(1):141-8.

53. Fenkci V, Fenkci S, Yilmazer M, Serteser M. Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. Fertil Steril 2003;80(1):123-7.

54. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. Am J Cardiovasc Drugs 2004;4(4):211-7.

55. Chait A, Han CY, Oram JF, Heinecke JW. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Lipoprotein-associated inflammatory proteins: markers or mediators of cardiovascular disease? J Lipid Res 2005;46(3):389-403.

56. Wang FS. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection. World J Gastroenterol 2003;9(4):641-4.

57. Kilic SS, Aydin S, Kilic N, Erman F, Aydin S, Celik I. Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. World J Gastroenterol 2005;11(4&):7351–4.

58. Alba LM, Lindor K. Non-alcoholic fatty liver disease. Aliment Pharmacol Ther 2003;17(8):977-86.

59. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med 2002; 346(16):1221-31.

60. Bafikol M, Bafikol G, Deniz K, Ozbakir O, Yucesoy M. A new marker for lipid peroxidation: serum paraoxonase activity in non-alcoholic steatohepatitis. Turk J Gastroenterol 2005;16(3):119-23.

61. Sabesin SM, Hawkins HL, Kuiken L, Ragland JB. Abnormal plasma lipoproteins and lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency in alcoholic liver disease. Gastroenterology 1977;72(3):510-8.

62. Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N, Atamer Y. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. J Int Med Res 2008;36(4):771-6.

63. Ferre N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, et al. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. Clin Chem 2002;48(2):261-8.

64. Marsillach J, Ferré N, Vila MC, Lligoña A, Mackness B, Mackness M, et al. Serum paraoxonase-1 in chronic alcoholics: relationship with liver disease. Clin Biochem 2007;40(91-10):645-50.

65. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, et al. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. Am J Hum Genet 1999;65(3):664-70.

66. Dantoine TF, Drouet M, Debord J, Merle L, Cogne M, Charmes JP. Paraoxonase 1 192/55 gene polymorphisms in Alzheimer's disease. Alzheimer's disease: vascular etiology and pathology. Ann NY Acad Sci 2006;977:239-44.

67. Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, Woodham BL, Board PG. Pesticides and Parkinson's disease. Biomed Pharmacother 1999;53(3):122-30.

68. 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(2):168-70.

69. Sarandol A, Kirli S, Akkaya C, Ocak N, Eroz E, Sarandol E. Coronary artery disease risk factors in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. J Psychopharmacol 2007;21(8):857-63.

70. Kim NS, Kang K, Cha MH, Kang BJ, Moon J, Kang BK, et al. Decreased paraoxonase-1 activity is a risk factor for ischemic stroke in Koreans. Biochem Biophys Res Commun 2007;364(1):157-62.

71. Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. Clinica Chimica Acta 2009;410(1-2):1-12.

72. Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. BMC Cancer 2007;7:48.

73. Lee CH, Lee KY, Choe KH, Hong YC, Kim YD, Kang JW, et al. Effects of oxidative DNA damage induced by polycyclic aromatic hydrocarbons and genetic polymorphism of the paraoxonase-1 (PON1) gene on lung cancer. J Prev Med Pub Health 2005;38(3):345-50.

74. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. Hepatogastroenterology 2003;50 cclxxiii-v.

75. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in pancreatic cancer. Hepatogastroenterology 2003;50 ccxxv–vii.

76. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributary factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. J Lipid Res 2001;42(4):528-35.

77. Krzystek-Korpacka M, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamian A. Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes–connection with inflammation. Clin Biochem 2008;41(10-11):804-11.

78. Kafadar AM, Ergen A, Zeybek U, Agachan B, Kuday C, Isbir T. Paraoxonase 192 gene polymorphism and serum paraoxonase activity in high grade gliomas and meningiomas. Cell Biochem Funct 2005;24(5):455-60.

79. Lurie G, Wilkens LR, Thompson PJ, McDuffie KE, Carney ME, Terada KY, et al. Genetic polymorphisms in the paraoxonase 1 gene and risk of ovarian epithelial carcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008;17(8):2070-7.

80. Camuzcuoglu H, Arioz DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol 2009;112(3):481-5.

81. Stevens VL, Rodriguez C, Pavluck AL, Thun MJ, Calle EE. Association of polymorphisms in the paraoxonase 1 gene with breast cancer incidence in the CPS-II nutrition cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006;15(6):1226-8.

82. Köse K, Başkol G. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. Erciyes Tıp Dergisi 2004;26(2):75-80.

83. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet 1983;35(2):214-27.

84. Gülcü F, Gürsu MF. Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. Türk Biyokimya Dergisi 2003;28(2);45-9.

85. Selek S, Cosar N, Kocyiğit A, Erel O, Aksoy N, Gencer M, et al. PON1 activity and total oxidant status in patients with active pulmonary tuberculosis. Clin Biochem 2008;41(3):140-4.

86. Costa LG, Giordano G, Furlong CE. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: The hunt goes on. Biochemical Pharmacology 2011;81(3):337-44.