

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



**OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMU OLAN
BİREYLERDE PARAOKSONAZ (PON1) AKTİVİTESİ VE
FENOTİPİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜBRA ÇIKRIKCI

BALIKESİR, MAYIS - 2018

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



**OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMU OLAN
BİREYLERDE PARAOKSONAZ (PON1) AKTİVİTESİ VE
FENOTİPİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜBRA ÇIKRIKCI

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Nahit Gençer (Tez Danışmanı)

Doç. Dr. Nurhan Sarıoğlu (Eş Danışmanı)

Prof. Dr. Oktay Arslan

Doç. Dr. Hatice Ardağ Akdoğan

Doç. Dr. Semra Işık

BALIKESİR, MAYIS - 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

KÜBRA ÇIKRIKCI tarafından hazırlanan "OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMU OLAN BİREYLERDE PARAOKSONAZ (PON1) AKTİVİTESİ VE FENOTİPİNİN BELİRLENMESİ" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 14.05.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

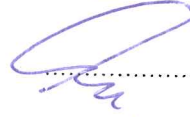
Danışman

Doç. Dr. Nahit Gençer




Eş Danışman

Doç. Dr. Nurhan Sarıoğlu



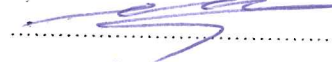
Üye

Prof. Dr. Oktay Arslan



Üye

Doç. Dr. Hatice Ardağ Akdoğan



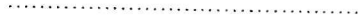
Üye

Doç. Dr. Semra Işık



Üye

Doç. Dr. Scrap Uzunoğlu



Üye

Dr. Öğr. Üyesi. Başak Gökçe



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

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Necati ÖZDEMİR



Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017/082 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

**OBSTRÜKTİF APNE SENDROMU OLAN BİREYLERDE
PARAOKSONAZ (PON1) AKTİVİTESİ VE PON1 FENOTİPİNİN
BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KÜBRA ÇIKRIKCI
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR. NAHİT GENÇER)
(EŞ DANIŞMAN: DOÇ.DR. NURHAN SARIOĞLU)
BALIKESİR, MAYIS - 2018**

PON1, karaciğer tarafından sentezlenen, kalsiyum içeren bir serum esterazdır. Serumda, yüksek yoğunluklu lipoproteinlerle (HDL) yakından ilişkilidir. PON1, böcek öldürücü ve sinir gazı olarak yaygın kullanılan organofosfat bileşiklerini hidroliz eder. Bu nedenle, bu bileşiklerin ve yapay substratların detoksifikasyonunda önemli rol oynar, böylece bir kişinin bu kimyasalların toksitesine duyarlılığını önemli derecede değiştirebilir. PON1, 192 kodonunda Q (glutamin) veya R (arginin) olmak üzere 2 polimorfik formda bulunur. Q izoformu, diazaokson, sarin ve soman gazlarının hidrolizi için daha yüksek aktiviteye sahiptir. PON1 polimorfizmi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir.

Obstrüktif uyku apnesi sendromu (OUAS) uykuya bağlı bir rahatsızlıktır ve solunum çabası gösterirken tekrarlayan hava yolu daralması ile karakterizedir. Bu hastalığın yüksek serbest radikal seviyesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada, OUAS olan 88 hasta ve 41 sağlıklı bireyden alınan serumlarda PON1 aktivitesi ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, hasta bireylerde PON1 aktivitesinin anlamlı ($p=0,022$) olarak yüksek olduğu bulundu. Ayrıca, hasta ve kontrol gruplarının Q ve R fenotip polimorfizmi belirlendi. Daha sonra OUAS'lı Q fenotipine sahip bireylerin serumları birleştirildi ve hidrofobik etkileşim kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldı. Aynı işlem R fenotipli bireyler için de uygulandı. Saf Q ve R izoenzimleri üzerine bazı antihistaminik ilaçların inhibisyon etkileri belirlendi. Söz konusu ilaçların Q fenotipini daha fazla inhibe ettiği saptandı.

ANAHTAR KELİMELELER: Paraoksonaz, polimorfizm, uyku apnesi, antihistaminik.

ABSTRACT

DETERMINATION OF PARAOXONASE (PON1) ACTIVITY AND PON1 PHENOTYPIC IN INDIVIDUAL OBSTRUCTIVE SLEEP APNEAS

MSC THESIS

KÜBRA ÇIKRIKCI

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. NAHİT GENÇER)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. NURHAN SARIOĞLU)

BALIKESİR, MAY 2018

PON1 is a calcium-containing serum esterase synthesized by the liver. In serum, it is closely related to with high-density lipoproteins (HDL). PON1 hydrolyzes organophosphate compounds which are widely used as insecticides and nerve gases. Therefore, it plays a major role in the detoxification of these compounds and other artificial substrates, so that it may alter significantly an individuals susceptibility to the toxicity of these chemicals. PON1 is found in two polymorphic forms, Q (glutamine) or R (arginine), at codon 192. Q isoform has higher activity for hydrolysis of diazoxone, sarin and soman. PON1 polymorphism has been associated with many diseases.

Obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) is a sleep-related disorder and it is characterized by recurrent airway constriction when showing breathing effort. It is known that this disease is associated with a high level of free radicals.

In this study, PON1 activity was measured in the serum received from 41 healthy individual and 88 patients who have OSAS. Compared to the control group, PON1 activity in the patient individuals was found to be significantly higher ($p=0.022$). Furthermore, Q and R phenotype polymorphism of patients and control groups were determined. Serums of individuals with the OSAS Q phenotype were then pooled and purified by the hydrophobic interaction chromatographic method. The same procedure was also applied to the R phenotype individuals. The inhibitory effects of some antihistamine drugs on pure Q and R isoenzymes have been determined. It has been identified that these drugs inhibit the Q phenotype even more.

KEYWORDS: Paraoxonase, polymorphism, sleep apnea, antihistaminic.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Paraoksonaz Enzimi (PON)	2
1.1.1 Paraoksonaz Enziminin Adlandırılması.....	3
1.1.2 Paraoksonaz Gen Ailesi	3
1.1.3 PON1'in Biyokimyasal Yapısı ve Özellikleri	4
1.1.4 PON1' in HDL ile İlişkisi	4
1.1.5 PON1'in Sentezlenmesi ve Salgılanması	5
1.1.6 PON1 Katalitik Mekanizması.....	5
1.1.7 PON1'in Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları	6
1.1.8 PON1 Polimorfizmi	9
1.2 Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS).....	11
1.3 Enzimin Hastalıklar ile İlişkisi.....	12
1.4 Çalışmamızda Kullanılan İlaçlar.....	13
2. MATERYAL VE YÖNTEM	18
2.1 Materyaller	18
2.1.1 Kullanılan Kimyasallar	18
2.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar	18
2.1.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması.....	19
2.1.4 SDS-PAGE Elektrofrezinde Kullanılan Tamponlar	20
2.2 Yöntemler	21
2.2.1 Kan Serumunun Ayrılması	21
2.2.2 Enzimin Aktivite Tayini	21
2.2.3 Q ve R Türlerinin Belirlenmesi	22
2.2.4 Coomassie Brilliant Blue ile Kantitatif Protein Tayini.....	22
2.2.5 Enzimin Saflaştırılması.....	23
2.2.5.1 Amonyum Sülfat Çöktürmesi	23
2.2.5.2 HEK ile Enziminin Saflaştırılması.....	23
2.2.5.3 PON1' in Saflığının Kontrolü	25
2.2.6 Antihistaminik İlaçların IC ₅₀ Değerlerinin Bulunması.....	25
3. BULGULAR	26
3.1 OUAS ve Kontrol Grubunda PON1 Aktivitesinin Belirlenmesi	26
3.2 OUAS'lı Bireylerde Q ve R Fenotipinin Belirlenmesi	30
3.3 Bradford Yöntemi ile Protein Tayini	34
3.4 Q ve R İzoenzimlerinin SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrezinde	36
3.5 Bazı Antihistaminlerin Q ve R İzoenzimler Üzerine İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	36
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
5. KAYNAKLAR.....	58

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Paraokson'un kimyasal yapısı (O,O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat).	3
Şekil 1.2: Paraoksonaz enziminin katalitik mekanizması [21].	6
Şekil 1.3: Lakton hidrolizi [32].	7
Şekil 1.4: Paraoksonaz enziminin paratiyonu parçalama mekanizması [1].	7
Şekil 1.5: Okson metabolitlerinin hidrolizi [32].	8
Şekil 1.6: Öldürücü sinir gazlarının hidrolizi [32].	8
Şekil 1.7: Aromatik halkaya sahip esterlerin hidrolizi [32].	8
Şekil 1.8: PON1 gen polimorfizmleri [1].	10
Şekil 1.9: Hidroksizin HCl [107].	14
Şekil 1.10: Setirizin [108].	15
Şekil 1.11: Feksofenadin [109].	15
Şekil 1.12: Rupaladin fumarat [110].	16
Şekil 1.13: Desloratadin [111].	16
Şekil 1.14: Ebastin [112].	16
Şekil 1.15: Feniramin [113].	17
Şekil 2.1: HEK jel sentezi.	24
Şekil 3.1: Coomassie Brilliant Blue ile protein miktarının tayin edilmesinde kullanılan grafik.	34
Şekil 3.2: Saf Q ve R izoenzimlerin elektroforez görüntüsü.	36
Şekil 3.3: PON1 Q izoenzimi üzerine Hidroksizin HCl inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	38
Şekil 3.4: PON1 Q izoenzimi üzerine Setirizin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	38
Şekil 3.5: PON1 Q izoenzimi üzerine Feksofenadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	40
Şekil 3.6: PON1 Q izoenzimi üzerine Rupaladin fumarat inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	40
Şekil 3.7: PON1 Q izoenzim üzerine Desloratadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	42
Şekil 3.8: PON1 Q izoenzim üzerine Ebastin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	42
Şekil 3.9: PON1 Q izoenzim üzerine Feniramin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	44
Şekil 3.10: PON1 R izoenzim üzerine Hidroksizin HCl inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	46
Şekil 3.11: PON1 R izoenzim üzerine Setirizin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	46
Şekil 3.12: PON1 R izoenzimi üzerine Feksofenadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	48
Şekil 3.13: PON1 R izoenzimi üzerine Rupaladin fumarat inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	48
Şekil 3.14: PON1 R izoenzimi üzerine Desloratadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	50
Şekil 3.15: PON1 R izoenzimi üzerine Ebastin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.	50

Şekil 3.16: PON1 R izoenzimleri üzerine Feniramin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.....	52
--	----

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar.	18
Tablo 2.2: Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.	19
Tablo 2.3: Elektroforezde kullanılan çözetiler ve miktarları.	20
Tablo 2.4: Elektroforezde kullanılan yürütme tamponu.	20
Tablo 2.5: Elektroforezde kullanılan renklendirme çözeltisi.	20
Tablo 2.6: Elektroforezde yığıma ve ayırma jelleri.	21
Tablo 3.1: Obstrüktif uyku apnesi olan hasta bireylerin enzim aktivitesi.....	26
Tablo 3.2: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi.	28
Tablo 3.3: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.	29
Tablo 3.4: Hasta, kontrol grubunun fenotipi ve görülme yüzdeleri.	29
Tablo 3.5: Obstrüktif uyku apnesi olan hasta bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.....	30
Tablo 3.6: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.	33
Tablo 3.7: Q ve R türünün saflaştırma tablosu.	35
Tablo 3.8: PON1Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Hidroksizin HCl-Setirizin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	37
Tablo 3.9: PON1Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Feksofenadin-Rupatadin fumarat IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	39
Tablo 3.10: PON1 Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Desloratadin-Ebastin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	41
Tablo 3.11: PON1 Q izoenzimi üzerinde imhibisyon etkisi gösteren Feniramin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları ,buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	43
Tablo 3.12: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Hidroksizin HCl-Setirizin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	45
Tablo 3.13: PON1 R izoenzim üzerine Feksofenadin-Rupatadin fumarat IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.	47
Tablo 3.14: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Desloratadin-Ebastin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin mikatarları, buna karşılık gelen sustrat ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	49
Tablo 3.15: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Feniramin IC ₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan	

çözeltilerin miktarları ,buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.....	51
Tablo 3.16: PON1 Q ve R izoenzimlerinin ilaçlar için % aktivite-[I] grafiği sonucunda elde edilen IC ₅₀ değerleri.	52

SEMBOL LİSTESİ

- PON1** : İnsan serum paraoksonaz enzimi
OP : Orgonofosfat ajanları
HDL : Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL : Düşük yoğunluklu lipoprotein
OSA : Obstrüktif uyku apnesi
OUAS : Obstrüktif uyku apne sendromu
AHI : Apne-Hipoapne indeksi
RDI : Solunum bozukluk indeksi
KVH : Kardiyovasküler hastalık
KKH : Koroner kalp hastalığı
KAH : Koroner arter hastalığı
HEK : Hidrofobik etkileşim kromatografisi
ROS : Reaktif oksijen türleri
T2DM : Tip 2 diabetes mellitus
AMD : Moleküler dejenerasyon
AMI : Miyokard enfarktüsü
RERA : Solunum çabasında artma ile ilgili aurosal
SDS : Sodyum dodesil sülfat
U : Enzim ünitesi
ΔA : Absorbans farkı

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini her zaman gördüğüm değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Nahit GENÇER' e saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmam boyunca ilgi ve desteğini benden esirgemeyen değerli eş danışman hocam sayın Doç. Dr. Nurhan SARIOĞLU' na saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, çalışmalarım da yardımlarını esirgeyemeyen ilgi, anlayış ve hoş görüsü ile her konuda yol gösteren, bilimsel yönlerini örnek aldığım kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Oktay ARSLAN' a en derin saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım.

İlgi ve desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Semra IŞIK, Doç. Dr. Serap UZUNOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Başak GÖKÇE' ye saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitimim süresince bana Biyokimya'yı sevdiren, ilgi ve desteğini her zaman gördüğüm değerli hocam Doç. Dr. Hatice Ardağ Akdoğan'a saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca beraber çalışmalar yaptığım, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Adem ERGÜN' e, yüksek lisans eğitimimin bana kazandırdığı değerli arkadaşım Tuğba TAK' a, beraber güzel anılar biriktirdiğim, her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Kübra SİLAY' a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımda maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen beni bugünlere getiren ve her zaman yanımda olup beni cesaretlendiren canım annem Emine ÇIKRIKCI' ya, bana güvenini hiçbir zaman yitirmeyen sevgili babam Mehmet ÇIKRIKCI' ya ve manevi desteğini her zaman hissettiğim canım abim Enes ÇIKRIKCI' ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Kübra ÇIKRIKCI

MAYIS, 2018

1. GİRİŞ

Paraoksonaz (PON1), organik fosforlu bir insektisit olarak bilinen parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu Arildialkilfosfataz sınıfındandır [1]. PON1, karaciğer enzimidir ve HDL' ye bağlıdır. PON1, organofosfat ajanları (OP) ile sinir gazlarının hidrolizini, LDL oksidasyonu ve lipit peroksit oluşumunu sağlar. Bunun yanı sıra bakteri endoksinlerine karşı koruyucu rol oynar [2]. Ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL oksidasyonu, PON1 aktivitesi ile korunur. PON1, lipit peroksidasyonunu ve oksidatif modifikasyonları önleyen lipit metabolizması için oldukça önemli antioksidan enzimdir [3, 4].

Paraoksonaz gen ailesi, insanlarda PON1, PON2 ve PON3 olarak adlandırılan kromozom 7'nin uzun kolunda yer alan üç üyeye sahiptir. PON1'in fizyolojik substratlarının belirlenmesi ve aterosklerozis ilişkisinden dolayı PON2 ve PON3' e göre daha fazla aydınlatılmış gendir [5]. PON1 geni iki önemli polimorfizm göstermektedir. Bunlar Q/R 192 ve M/L 55'dir. En yaygın görülen en önemli polimorfizm Q/R 192 polimorfizmidir. Bu polimorfizmler substrata bağımlı olup, farklı etnik kökenli popülasyonlara göre değişkenlik göstermektedir [6]. PON1 enziminin R alellinin kodlandığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi Q allele göre sekiz kat daha yüksektir [7]. PON1 allozimlerinin kalitatif ve kantitatif farklılıklarından dolayı fenotip metotları doğmuştur [8].

Obstrüktif uyku apnesi (OSA), solunum yolunun tam (apne) veya kısmi (hipoapne) obstrüksiyonunun tekrarlanan atakların uyku esnasında meydana geldiği, solunum çabalarının sürdüğü bir uyku ile ilişkili solunum bozukluğudur [9].

PON1 üç farklı fizyolojik aktiviteye sahiptir. Bunlar detoksifikasyon aktivite, antioksidan aktivite ve anti-bakteriyel aktivitedir. Bu yüzden birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir [10]. Literatürde PON1 aktivitesinin OUAS ile ilişkisi incelenmesine rağmen fenotip çalışması yapılmamıştır.

Bu çalışmada, OUAS hastalarından alınan kan serumlarında PON1 aktivitesi ölçülerek kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Ayrıca 88 hastanın PON1 Q ve R fenotip polimorfizmi belirlenmiştir. Daha sonra Q kan serumları birleştirilerek bir araya getirilmiştir. R kan serumları da kendi aralarında birleştirilmiştir. Sonuç olarak Q ve R

olan serumlar iki ayrı şekilde saflaştırılmıştır. Daha sonra saf Q ve R izoenzimleri üzerine 7 farklı antihistaminik ilacın inhibisyon etkileri belirlenmiştir.

1.1 Paraoksonaz Enzimi (PON)

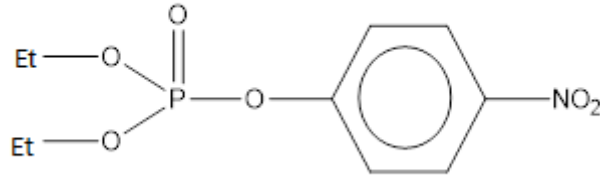
Paraoksonaz, 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak belirlenmiş ve 1961 yılında ise Uriel tarafından insan kan serumunda ilk kez keşfedilmiştir [11]. Mackness ve arkadaşları, ilk kez HDL-ayırımı için satrifüj yöntemini geliştirerek koyunlarda paraoksonaz aktivitesinin çoğunlukla apo-AI içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu ve insan serumunun ultra santrifüjlenmesi ile enziminin kanda HDL yapısında taşındığını ortaya koymuşlardır [12]. Saflaştırılmış sığır serum paraoksonazın lipitlerle ilişkili ve HDL ile aynı moleküler kütleyle sahip olduğunu göstermişlerdir. Saflaştırma sırasında apo-AI' in paraoksonozdan ayırımının zor olması, ikisinin sıkı ilişkili olduğunu düşündürmüştür. HDL kolestrol tayini sırasında ise lipoprotein fraksiyonunda aril-esteraz aktivitesine rastlamışlardır [11]. 1991 yılında Mackness ve ark. PON'un HDL üzerinde apo-AI' e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve LDL üzerindeki lipoperoksit birikimini azalttığını keşfetmişlerdir. Aynı zamanda farklı popülasyonlarda (Fransız, Sudanlı vs.) polimorfizm çalışmaları yaparak allelik formlarını belirlemişlerdir. Populasyon çalışmaları sonucunda enzim aktivitesiyle HDL, apo-AI, apo-AII arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermişlerdir [12]. PON1'in apolipoprotein AI (Apo-I) ve klusterin (apolipoprotein J) bulunduran HDL tipleri ile ilişkili olduğu immunoafinite kromotografi çalışmaları ile ortaya çıkmış ve PON' un küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir. Enzim, paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksonaz yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır [1, 12].

Sonraki yıllarda, çeşitli kardiyovasküler hastalıklardaki enzim aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipit peroksidasyonu ilişkisi araştırılarak enzimin aminoasit dizisi belirlenmiştir [13].

Paraoksonaz enzimi insan serumu dışında hayvan dokularında farklı miktarlarda tespit edilmiştir. Orgonafosfatlı pestisitlerden kolay etkilenen hayvanlarda ise yüksek miktarda belirlenmiştir. Tavşan, sığır, koyun, fare ve balık gibi hayvanlardan saflaştırma yapılarak enzimin yapısal ve kinetik özellikleri analiz edilmiştir [14, 15, 16, 17].

1.1.1 Paraoksonaz Enziminin Adlandırılması

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliğinin (IUBMB) isimlendirilmesine göre iki numaraya (E.C 3.1.1.2 ve 3.1.8.1) sahiptir. Paraoksonaz, yapılan çalışmalar sonucunda arilesteraz aktivitesi gösteren, karboksilik asit esterlerini hidrolizleyen, A-esterazlar grubunda bulunan enzim olarak tanımlanması ile EC 3.1.1.2 olarak adlandırılmıştır [18]. Arilesterazdan farklı olarak fosforik asit esterlerini de hidroliz ettiği belirlenmesi ile EC 3.1.8.1 olarak tanımlanmıştır [13]. Paraoksonaz enziminin A grubu Arildialkilfosfataz sınıfı bir enzimi olması nedeni ile sistematik adı arildialkilfosfatazdır. Paraoksonaz enzimi, aktivite ölçümünde ilk paraokson substratının kullanılması ile paraoksonaz adını almıştır [19].



Şekil 1.1: Paraokson'un kimyasal yapısı (O,O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat).

1.1.2 Paraoksonaz Gen Ailesi

İnsanda 7. kromozomun q21-22 bölgesinde lokalize paraoksonaz (PON) multigen ailesi, PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyeye sahiptir. Bu genler yapısal açıdan memeli türler içerisinde %60 aminoasit düzeyinde, %70 nükleotit düzeyinde benzerlik göstermektedir [5, 20].

PON2 ve PON3, PON1 kadar aydınlatılamamıştır [4,18]. PON2 diğer üyelerden farklı olarak plazmada bulunmamasına rağmen beyin, karaciğer, böbrek ve testis gibi dokularda sentezlenmektedir. Tavşan HDL' si üzerinde lokalize olan PON3, laktonaz aktivitesi ile tanımlanmıştır [5, 21]. PON3 enzimi çoğunlukla karaciğerde sentezlenirken serumda HDL' ye bağlıdır ve düşük seviyede böbrekte sentezlenmektedir [18, 21].

1.1.3 PON1'in Biyokimyasal Yapısı ve Özellikleri

PON1, 43-45 kDa molekül ağırlığında bir glikoproteindir. 354 aminoasit içerir [20, 21]. İzoelektrik noktası 5,1' dir. Molekül ağırlığının %15,8' ini oluşturan üç karbohidrat zinciri içerir. Bu enzimin aminoasit bileşimi yüksek lösin özelliği haricinde bir özellik göstermez [22].

Yapısında üç sistein rezidüsü bulundurur. Bunlardan 284' teki serbest halde iken, 42. ve 352. sistein rezidüleri arasında disülfid bağı bulunur [1, 12]. Söz konusu rezidüleri, 3 boyutlu yapısını disülfid köprüsü ile sonlanarak kazanır. Enzim yapısı incelendiğinde 3 boyutlu yapıda, 4 adet zincir ve 6 adet β -kırmalı yapıdan oluşmaktadır [23].

PON1 yapısında iki adet Ca^{+2} iyonu, β -kırmalı tabakların merkezinde bulunmaktadır. İki Ca^{+2} arasındaki mesafe 7,4 Å' dur. Ca^{+2} iyonlarından bir tanesi yapısal özelliكتedir ve yapıdan uzaklaştırılması dönüşümsüz denatürasyona sebep olmaktadır [24]. Diğer Ca^{+2} iyonu ise katalitik reaksiyonda görev almaktadır. Bu iyon 2,2-2,5 Å uzaklıkta ve 5 aminoasit rezidüsü ile etkileşim halindedir. Bunlar, Asn224, Asn270, Asn168, Asp269 ve Glu53' tür [25].

PON1 enziminin aktif bölgesinde diğer β -kırmalı yapılardan farklı olarak hidrofobik heliks (H_1 , H_2 , H_3) yapılar bulunur. Bu yapılar sonlanma noktalarıdır ve aktif bölgenin korunması, enziminin HDL' ye bağlanması gibi önemli rollere sahiptir [26].

1.1.4 PON1' in HDL ile İlişkisi

HDL karaciğerde sentezlenen, ortalama 10 nm çapında ve kompleks yapılı bir lipoproteindir. Yapısı, fosfolipitler, kolesterol esterleri, apolipoprotein (Apo-AI ve Apo-AII) ve aromatik helikslerden oluşmaktadır [27].

PON1' in enzimatik fonksiyonu için HDL ve fosfolipitler önemlidir çünkü substratları lipit fazları içerisinde çözünen hidrofobik bileşiklerdir [28]. PON1, lipoprotein bulunmadığı ortamda kana salınımı azdır. Kan salınımının gerçekleşmesi için fizyolojik reseptörlere ihtiyaç duyulur. Söz konusu reseptör ise HDL' dir. Salınım için fosfolipitler önem taşımakta fakat apolipoprotein (Apo-AI ve Apo-AII) gerekli değildir [28, 29, 30, 31].

PON1, protein yapısında olmasına rağmen HDL' ye sıkı bağlı olmasından dolayı saflaştırmak zordur. PON1, hidrofobik N terminal ucuyla sonlanarak H₂ ve H₁ hidrofobik heliksler bir araya gelip, potansiyel membrana bağlanma yüzeyi oluşturmaktadır. Heliks yapılar lizin, triptofan ve tirozin yan zincirlerinin oluşturdukları yapı karakteristiği ile HDL ara yüzeyine girebilmektedir [32].

1.1.5 PON1'in Sentezlenmesi ve Salgılanması

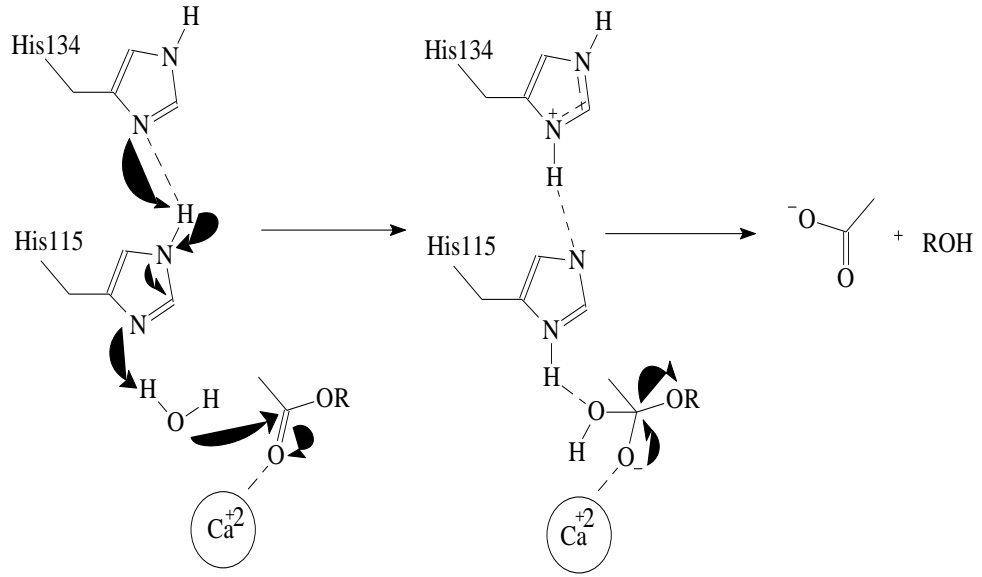
PON1 karaciğer tarafından sentezlenir ve kana salınır. Enzim aktivitesi, insanlarda fetüs karaciğeri, dalağı ve erişkin karaciğerinde belirlenmiştir. Hayvanlarda ise özellikle karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve plazmada bulunmaktadır [12, 32]. Bunun yanı sıra serum paraoksonaz aktivitesi ise yeni doğan prematür bebeklerde erişkinlere göre yaklaşık olarak yarı seviyede bulunur. Serum paraoksonaz aktivitesi, yetişkin düzeyde ise doğumdan sonra bir yılda yaşam boyu sabit kalır [19].

PON1 aktivitesi ve serum düzeyi zaman içinde sabit iken bireyler arasında değişkenlik gösterir [33]. PON1 geninin enzim aktivitesini, peptid konsantrasyonunu etkileyerek kontrol eder ve promoter bölgede çok fazla polimorfizm göstermesi değişkenliğe neden olmaktadır [34, 35]. Bu değişiklik ise yaşa ve cinsiyete bağlı değildir [1].

PON1 sentezinde karaciğer hücrelerindeki kolestrol dengesi önemli olan diğer faktörlerden biridir [36]. N-hidrofobik bölgelere sahip PON1 karaciğerde sentezlendikten sonra serumda HDL' ye veya karaciğerde mikrozoamlara bağlanmaktadır [37]. Sentez tamamlandıktan sonra önce mikrozoamlara sonrada hücre zarının dış yüzeyine bağlandığı düşünülmektedir [38].

1.1.6 PON1 Katalitik Mekanizması

Enzimin aktif bölgesinde esteraz aktivitesi için His-His çifti, Ca⁺² ve H₂O molekülü yer almaktadır.



Şekil 1.2: Paraoksonaz enziminin katalitik mekanizması [21].

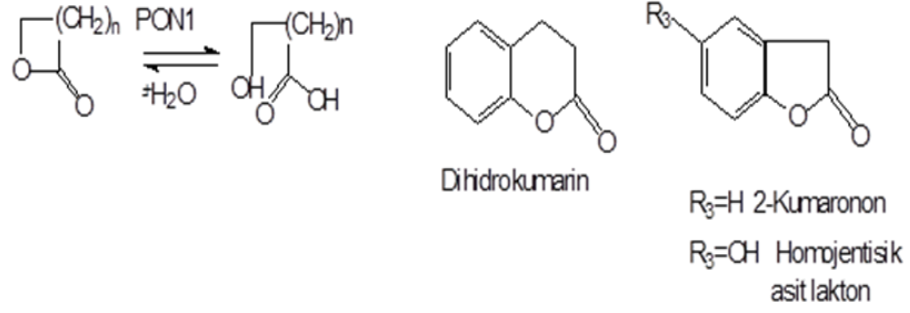
PON1' in katalitik mekanizması aşağıda belirtilen sıra ile gerçekleşir;

- ✓ Aktif bölgede bulunan His-His çifti, su molekülünden bir proton alarak, molekülün nükleofilik gücünü artırır ve hidroksil iyonu oluşur.
- ✓ Hidroksil iyonu, karbonil veya fosfat esterine atak yapar.
- ✓ Meydana gelen kompleks, tetrahedral düzlem sonucunda Ca⁺² ile kararlı hale gelir.
- ✓ Kompleksteki Ca⁺², negatif yüklü oksijenden uzaklaşır ve bağ tekrardan karbonil ve fosfatın üzerine yıkılmaktadır. Sonuç olarak ester bağı kopmaktadır [39].

1.1.7 PON1'in Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları

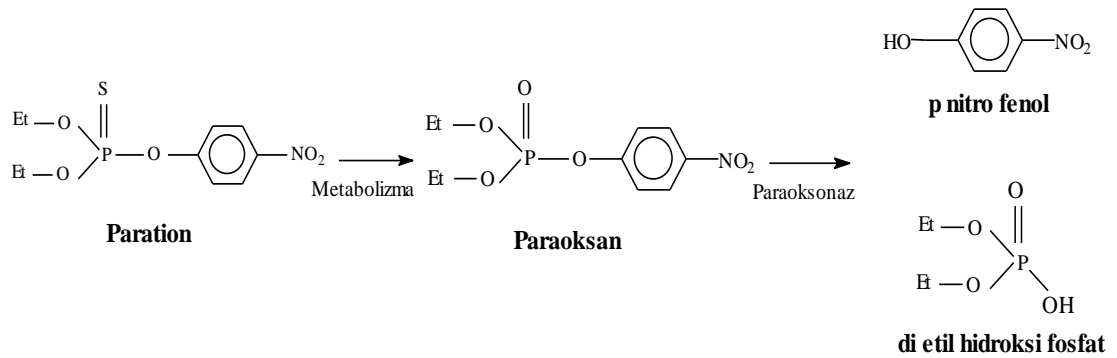
Paraoksonaz enzimi geniş bir substrat özelliği gösterirken, fizyolojik substratın henüz belirlenmemiştir. Ancak, arilesteraz, organofosfat ve laktonaz olmak üzere üç aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

PON1'in ateroskleroza karşı koruyuculuğu ve ilaç metabolizması için önemli rol oynadığı tespit edilmiştir [15, 40, 41]. Ateroskleroza karşı koruyuculuğunu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir [42]. HDL ve LDL' nin yükseltgenmesini önleyerek ve lipit peroksidleri metabolize ederek yapmaktadır [27,43]. Ayrıca PON1 homosistein, tiyolakton, glikokortikoit gama-lakton gibi 30 çeşit laktonu hidroliz etme yeteneğine sahiptir [44].



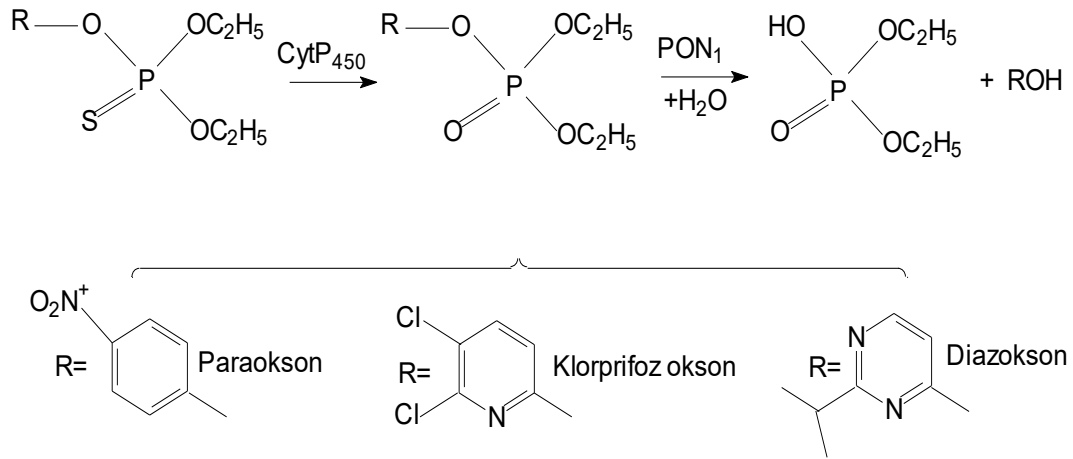
Şekil 1.3: Lakton hidrolizi [32].

PON1 enzimi, parationun metabolik ürünü olan paraoksonu kataliz etme özelliğine sahiptir. Paraokson, organizmaya zararlıdır ve pestisit olarak kullanılmaktadır. Paraoksonun, paraoksonaz enzimi ile yıkımı sonucu paraoksonaza göre kıyasla daha az zararlı olan p-nitro fenol ve dietil hidroksi fosfat bileşikleri oluşur [45].

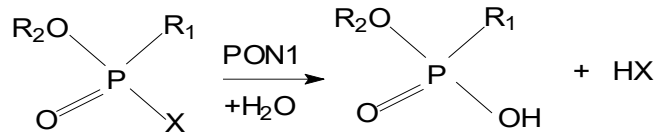


Şekil 1.4: Paraoksonaz enziminin paratiouunu parçalama mekanizması [1].

PON1 aynı zamanda paration, diazinon ve klorprifos gibi insektisitlerin toksik okson metabolitleri olan [46, 47] somon, sarin ve tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidroliz etmektedir [48, 49].



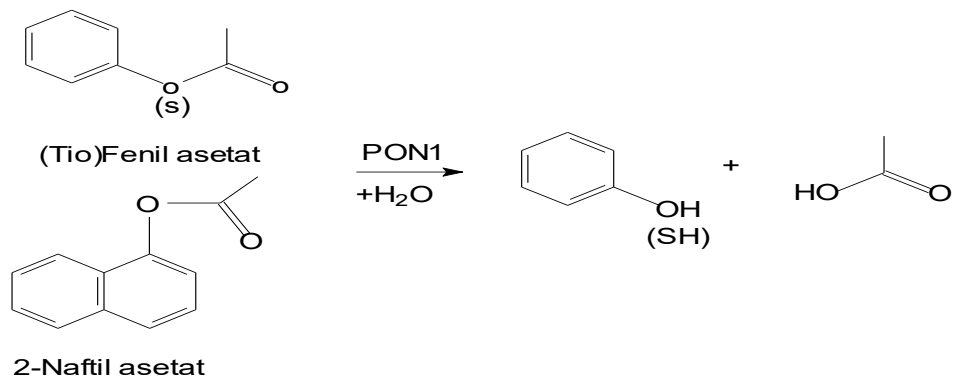
Şekil 1.5: Okson metabolitlerinin hidrolizi [32].



- $R_1 = N(CH_3)_2$ $R_2 = CH_2CH_3$ $X = CN$ Etil N-dimetilfosforoamidosiyanid (Tabun)
 $R_1 = CH_3$ $R_2 = CH(CH_3)_2$ $X = F$ Izopropil metilfosfonofluoridat (Sarin)
 $R_1 = CH_3$ $R_2 = CH(CH_3)C(CH_3)_3$ $X = F$ Pinakolil metilfosfonofluoridat (Soman)

Şekil 1.6: Öldürücü sinir gazlarının hidrolizi [32].

PON1, A-esterazlar grubunda bulunması nedeniyle fenil asetat gibi esterler substratlarını hidrolizleyebilme kapasitesine sahiptir [50].



Şekil 1.7: Aromatik halkaya sahip esterlerin hidrolizi [32].

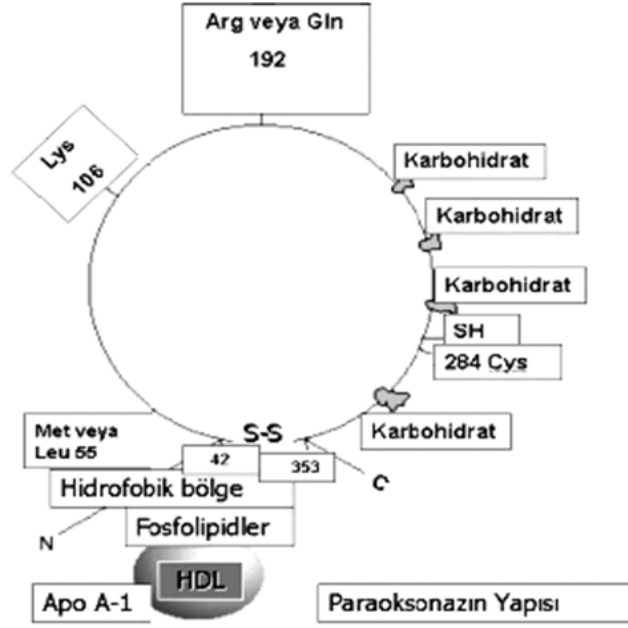
1.1.8 PON1 Polimorfizmi

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, PON1 geninin kodlanma bölgesinde, intronlarda ve promoter bölgede 160'dan fazla polimorfizm belirlenmiştir [51]. PON1 enzim aktivitesindeki polimorfizm substrata bağımlı olmakla beraber farklı etnik kökenli popülasyonlara göre değişkenlik göstermektedir [6].

İlk kez 1973 yılında Van Mallinckrodt ve arkadaşları PON1'in genetik polimorfizminin bulunduğunu ve enzim aktivitelerinin trimodal dağılım gösterdiğini keşfetmişlerdir [52]. 1976 yılında Playfer ve arkadaşları, enzimin insanlarda düşük, orta ve yüksek aktiviteye sahip polimorfik dağılım olduğunu bulgularla detaylı olarak açıklamışlardır [53].

PON1 polimorfizmi, kendiliğinden gerçekleşen mutasyonlar sonucunda iki aminoasitin yer değiştirmesi ile bağlantılıdır. PON1 yaygın görülen iki polimorfizme sahiptir. Bu polimorfizimlerden birisi 3.ekzonda 55. pozisyonda metionin (M) ile lösinin yer değiştirdiği (M/L55), bir diğeri ise 6.ekzonda 192. pozisyonda glutamin ile arginin yer değiştirdiği (Q/R192) polimorfizmleridir [54, 55]. Söz konusu polimorfizmler çeşitli substratlara karşı afinitelerinin ve katalitik aktivitelerinin farklılık göstermesi üzerinde en çok çalışma yapılan polimorfizm olmasına neden olmuştur [7].

PON1 geni tek otozomal lokus üzerinde allel Q ve R olarak ifade edilir. Q allel 192.pozisyonda glutamin içeren paraoksonaz enzimini kodlarken, R alleli 192.pozisyonda arginin bulunan bir proteini kodlar. PON1'in Q formu sarin, somon ve diazoksonu daha hızlı hidroliz etmektedir. Tek aminoasitteki değişimin enzimin aktivitesini bu derece etkilemesi enzimin yapısıyla ilişkilendirilmiştir. Söz konusu polimorfizm serum konsantrasyonunu etkilemektedir. Homozigot R alleli olan bireyler homozigot Q alleli bireylere kıyasla daha yüksek enzim aktivitesine sahiptirler [54,55]. M/L55 polimorfizmi ise enzimin düşük serum aktivitesi ve konsantrasyonu ile ilişkilidir [56].



Şekil 1.8: PON1 gen polimorfizmleri [1].

PON1 allozimlerinin kalitatif ve kantitatif olarak farklılıklarının bulunması fenotipleme yöntemlerinin gelişmesine öncü olmuştur. İlk kez 1983 yılında Eckerson ve arkadaşları iki izoenzimin tuz ve pH' a göre değişimlerini temel alarak üç fenotip birleşmiş ve tuza yanıt veren R alloziminin paraoksona karşı daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [57].

PON1'in kodlanma bölgesindeki bir diğer polimorfizm 102.kodonda izolösinden valine olan değişimdir [58]. Bunun yanı sıra promoter bölgede 5 polimorfizm tespit edilmiştir. Bu polimorfizmler -107/-108 (C/T), -126(C/G), -160/-162 (A/G) ve -90/-909 (C/G) bölgelerde bulunmaktadır [41, 59]. PON1 genindeki promoter polimorfizmlerinin gen ekspresyonu ve enzimlerin serum düzeyleri üzerinde güçlü etkisi bulunmuştur [60, 61]. C108T polimorfizmi plazma PON1 seviyesini etkileyen en önemli polimorfizmlerinden biridir [58].

Paraoksonazın polimorfik dağılımı çeşitli ırklar arasında farklılıklar göstermektedir [1]. Türk popülasyonunda trimodal dağılımda QQ, QR ve RR allellerinin frekansları sırasıyla %48,6, %41,0 ve %10,4' tür. Türk popülasyonunda RR alleli çok düşük oranlarda bulunmuştur [62]. Amerika, Avrupa ve Kanada' da düşük aktivite gösteren Q alleli yüksek iken Avusturalya ve Zambiya' da düşüktür [1].

PON1 enziminin aktivitesi polimorfizme bağlı olarak değişim göstermektedir. PON enzim aktivitesi, çeşitli hastalıklar ile ilişkisinin yanı sıra söz konusu enzimin polimorfizmiyle de birçok hastalıkla ilişkisi belirlenmiştir [63, 64, 65, 66, 67].

1.2 Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS)

Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS); uyku sırasında tekrarlanan tam veya kısmi üst solunum yolu tıkanması ve bu nedenle sıklıkla kan oksijen doyunluğunda azalma ile karakterize sendrom olmakla birlikte en yaygın uyku bozukluklarından biri olarak kabul edilmektedir [68].

OUAS' lı hastalar zayıf uyku kalitesi, gündüz yorgunluğu, sabah baş ağrısı, horlama, konsantrasyon sorunları, unutkanlık ve aşırı gündüz uyku hali gibi belirtiler görülmektedir [69]. Sonuç olarak motorlu araç kazaları, iş ile ilgili yaralanmalar ve sakatlık riskinde önemli artışa sebep olmaktadır [70, 71]. Diğer uzun vadeli sonuçları ise kardiyovasküler, metabolik, depresyon, kanser ve nörodejenaratif gibi çeşitli hastalıkların ilerlemesine sebep olmaktadır [72, 73, 74, 75, 76].

OUAS' a eğilimi arttıran en önemli risk faktörleri erkek cinsiyet ve obezitedir. Bunun yanı sıra yaş, ırk, genetik özellik, sigara, alkol ve ilaç kullanımı bu sendrom için diğer risk faktörlerindedir [77].

OUAS' lı olgularda öncelikle fiziki muayene yapılır. Bunun amacı gelişiminde etkili olan faktörleri tespit etmek ve en doğru tedaviyi belirlemeye çalışmaktır. Bu muayenede dilin ağız içindeki boyutu, sert ve yumuşak damakla olan ilişkisi değerlendirilerek tedavi süreci başlatılır [78,79]. OUAS teşhisi için "altın standart" tanı yöntemi polisomnografidir. Hastalardan elde edilen uyku sinyallerinden, solunum çabasının, kas hareketleri ve kardiyovasküler sinyalleri gece boyu eş zamanlı olarak kaydedilmektedir [80]. OUAS şiddetini sınıflandırmak için yaygın olarak kullanılan anahtar faktörler arasında Apne-Hipoapne indeksi (AHI), uyku saati başına düşen apne ve hipoapnelerin toplam sayısını ifade eden ve solunum çabasında artma ile ilişkili arousal (RERA)' nın bir özetini içeren solunum bozukluk indeksi (RDI) bulunmaktadır. Buna göre, OUAS' lı erişkin bir hasta hafif ($5 \leq \text{AHI/RDI} < 15$), orta ($15 \leq \text{AHI/RDI} < 30$) veya şiddetli ($\text{AHI/RDI} \geq 30$) olarak sınıflandırılmaktadır [68].

Obstrüktif uyku apnesi, kardiyovasküler hastalığın (KVH), özellikle hipertansiyonun gelişimi için bağımsız risk faktörüdür [81]. Aynı zamanda isemik

kalp hastalığı, kalp yetmezliği, inme, diyabet ve metabolik sendrom gelişimi ile yakından ilişkili olduğu da bilinmektedir [82].

Düşük PON1 aktivitesinin KVH için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir [5]. OUAS ve PON1 arasındaki ilişki hakkında bilgi sınırlıdır. Ancak, KVH olan OUAS hastalarında KVH olmayan ya da OUAS olmayan kontrollere kıyasla daha düşük PON1 seviyeleri tespit edilmiştir. PON1 aktivitesi, sadece KVH ile değil aynı zamanda OUAS' da gözlemlendiği gibi beyin-damar hastalıkları ve metabolik hastalıklar gibi çeşitli bozuklukların gelişimi ile de ilişkilidir. PON1, OUAS' a bağlı hastalıkların gelişimine sebep olabilir [83].

1.3 Enzimin Hastalıklar ile İlişkisi

PON1; dolaşımda bir esterazdır ve HDL üzerinde taşınan bir laktonazdır [84]. Obezite, şeker hastalığı, hipertansiyon, alkol ve genetik faktörler kalp hastalıklarına neden olmaktadır. Koroner kalp hastalığı (KKH), koroner arter hastalığı (KAH) ve miyokard enfarktüsü (MI) gibi kalp hastalıkları dünyada önde gelen hastalıklardır [85, 86]. HDL konsantrasyonu, kalp hastalığı için en güçlü risk faktörlerinden biridir. HDL' nin antioksidan aktivitesi büyük ölçüde lipit peroksidleri metabolize edebilen paraoksonazdan kaynaklanmaktadır [87,88]. HDL' ye bağlı olan paraoksonaz, kalp damar hastalıkları ile ilişkisi tespit edilmiş olup bunun yanında, enzim aktivitesinin diğer hastalıklarla da ilişkili olduğu belirlenmiştir [89].

Packard ve arkadaşları koroner arter hastalıklı olgularda PON1 seviyesinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğunu belirlemişlerdir [90].

Kanserli olgularla yapılan birçok çalışmada, paraoksonaz aktivitesinin azalmasının kanser riskini arttırdığı gözlemlenmiştir [88, 91, 92, 93, 94, 95].

Marchesani ve arkadaşları, Finlandiya'lı erkeklerde prostat kanseri olgusunu artış riskiyle güçlü bir şekilde ilişkili olan I102V olarak adlandırılan PON1 geninin kodlanma bölgesinde bir mutasyon bulunduğunu ve PON1 102V alleli taşıyan erkeklerin prostat kanserinin ilk klinik bulgusu için altı katından daha fazla bir risk oluşturduğunu rapor etmişlerdir [92].

Elkıran ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada, serum PON1 aktivitesinin, sağlıklı bireylere kıyasla akciğer kanseri hastalarında anlamlı olarak düşük olduğu ancak kişilerin sigara içimi ve metastaz durumlarından etkilendiği saptanmıştır [96].

Lee ve arkadaşları ise akciğer kanseri olan 177 hastadan oluşan benzer bir hasta-kontrol çalışmasında, PON1 gen QQ genotipini taşıyan bireylerde akciğer kanseri gelişme riskini belirgin şekilde arttırdığını göstermiştir [97].

Camuzcuoğlu ve arkadaşları yaptığı başka bir çalışmada, serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi epitelyal over kanseri olan hastalarda kontrollerden daha düşük bulmuşlardır [98].

Pasca ve arkadaşları otistik hastalarda hem PON1 arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitelerinin azaldığını gözlemlemişlerdir [99].

Paraoksonaz aktivitesinin Alzheimer hastalarında anlamlı olarak daha düşük olduğu öne sürülmüş olup, PON1 R alleli taşıyan bireylerin Q allel taşıyanlara kıyasla daha yüksek PON serum aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir [100].

Sarandol ve arkadaşları şizofreni hastalarının serum paraoksonaz aktivitesinde azalmaya ve apolipoprotein B içeren lipoprotein oksidasyon oranına bağlı koroner arter hastalığının riskini arttırabileceğini göstermiştir [101].

Bodolay ve arkadaşları karışık bağ dokusu hastalarında lipit profilleri ve PON aktivitesini değerlendirmiştir. Sonuç olarak, karışık bağ dokusu hastalarında azalmış PON konsantrasyonlarının ve PON aktivitesinin, ateroskleroz riskinin artmasına yol açabileceği kanısına varmışlardır [102].

PON1 ve behçet hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen bir grup, PON1 aktivitesinin behçet hastalığı vakalarında sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında azaldığı bildirilmiş ve başka bir çalışmada ise PON1 ve arilesteraz enzimlerinin Behçet hastalığındaki aktivitelerinin daha düşük olduğu bulunmuştur [103,104].

1.4 Çalışmamızda Kullanılan İlaçlar

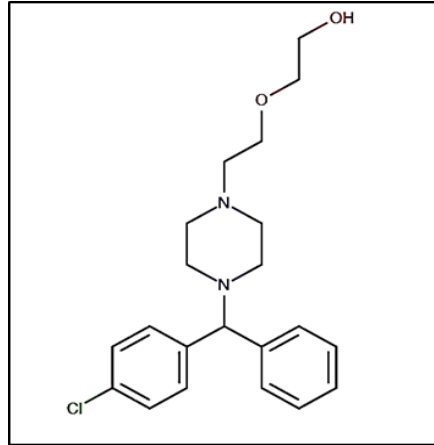
DeneySEL çalışmamızda, ortak özellikleri antihistaminik olan birbirinden farklı 7 farklı ilaç inhibisyon çalışması yapıldı. Kullanılan ilaçların etken maddeleri; hidrosizin HCl, setirizin, feksofenadin, ruptadin fumarat, desloratadin, ebastin ve feniramin' dir.

Histamin, vücuttaki dokuların çoğunda mastosit adı verilen hücrelerin içinde bulunan ve salgılandığında bazı etkileri olan kimyasal maddedir. Antihistaminik ise, histaminin etkisini önleyen maddelerdir. Histamin; alerjik enflamasyonda önemli bir

rol oynamaktadır. Alerjik reaksiyonlar sırasında insan bağışıklık sistemi tarafından salınır ve kaşıntı, şişme ve tıkanıklığa neden olur. Enerji ve endokrin hemostaz, biliş-hafıza ve uyku-uyanma döngüsü gibi temel vücut fonksiyonlarının düzenlenmesinde de yer alır [105].

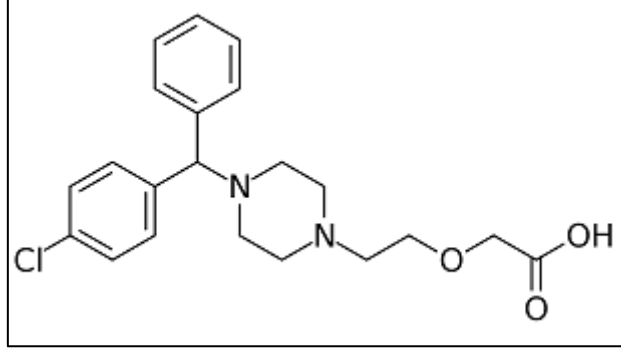
Histamin reseptörleri H_1 , H_2 , H_3 , H_4 olmak üzere dört ana tipte bulunmaktadır. H_1 , antihistaminleri alerjik hastalıklar, ürtikeryal tedavisinde kullanılan ilaçlardır. H_2 , histamin ilaçları ise asit salınımı uyaran histamin hareketini önleyen ve asit salgılama uyarıcılarını bloke eder ve peptik ülser hastalığı vb. tedavisinde kullanılır. H_3 , histaminler Alzheimer hastalığı, hiperaktivite bozukluğu, şizofreni, epilepsi gibi ruhsal durumların tedavisinde kullanılır. H_4 reseptörleri ise iltihaplanma, alerji, astım ve olası tedaviler için kullanılmaktadır [106].

Hidroksizin HCl, kronik ürtiker, kaşıntı tedavisinde etkili olan bir histamin H_1 reseptörü antagonistidir. Ayrıca endişe ve gerginliğinin azaltılması için bir antiemetik, bir sakinleştirici olarak da etkilidir [107].



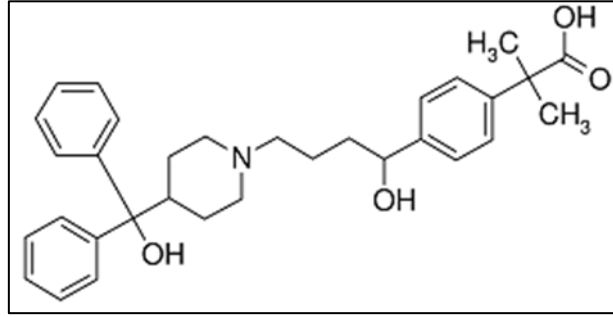
Şekil 1.9: Hidroksizin HCl [107].

Setirizin, alerjik rinit, kronik ürtiker ve polen kaynaklı astım tedavisinde etkili olan güçlü ikinci nesil histamin H_1 antagonistidir. Birçok geleneksel antihistaminin aksine, uyku hali veya antikolienerjik yan etkilere neden olmayan etken maddedir [108].



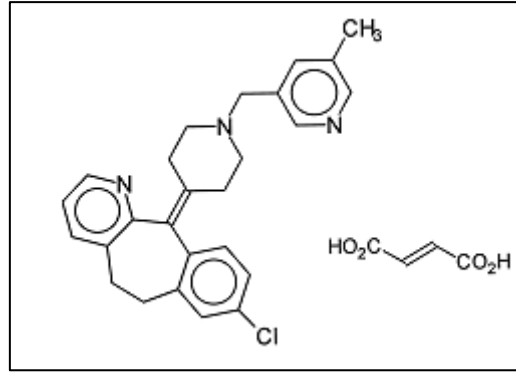
Şekil 1.10: Setirizin [108].

Feksofenadin, saman nezlesi ve benzer alerjik belirtilerin tedavisinde kullanılan antihistaminik ilaçtır. Feksofenadin, diğer ikinci ve üçüncü nesil histamin reseptör antagonistlerine göre daha az uyuşukluğa sebep olan etken maddedir [109].



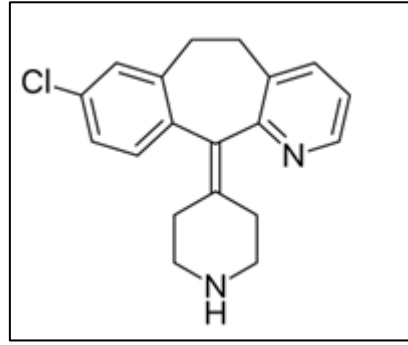
Şekil 1.11: Feksofenadin [109].

Rupatadin fumarat, mevsimsel ve periyal rinitte semptomatik rahatlama ve kronik ürtiker için kullanılan çift histmain H₁ reseptörü ve trombosit aktivite edici faktör reseptör antigonistidir [110].



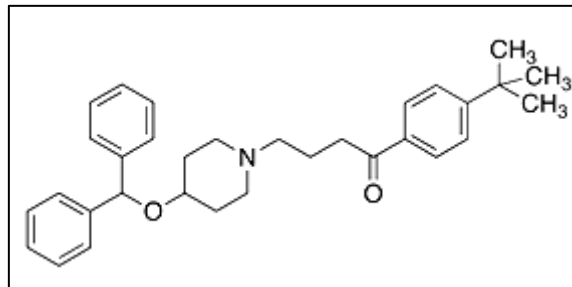
Şekil 1.12: Rupatadain fumarat [110].

Desloratadin, seçici ve perifenal bir H_1 antagonist eylemi olan ikinci nesil trisiklik bir antihistamindir. Desloratadin uzun süre bir etkiye sahiptir ve uyuşukluğa neden olmaz, çünkü merkezi sinir sistemine kolayca giremeyen etken maddedir [111].



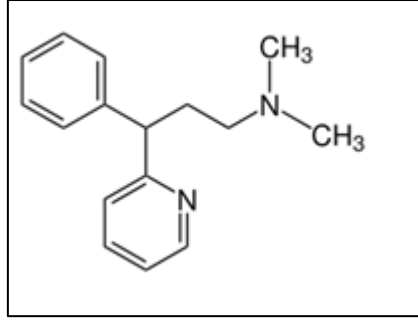
Şekil 1.13: Desloratadin [111].

Ebastin, sedatif olmayan bir H_1 antihistamindir. Gözlerde kaşıntı ve sulanma, saman nezlesi, kronik ürtiker, alerjik egzema tedavilerinde kullanılan etken maddedir [112].



Şekil 1.14: Ebastin [112].

Feniramin, sakinleştirici etki gösteren histamin H₁ antiganistlerindendir. Saman nezlesi, rinit, alerjik tedavilerinde kullanılan etken maddedir [113].



şekil 1.15: Feniramin [113].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyaller

2.1.1 Kullanılan Kimyasallar

Deneysel çalışmalarda kullanılan, Sepharose-4B, N,N,N,N'-tetrametilendiamin (TEMED), trihidroksimetilaminometan (Tris-Base), paraokson, Tris HCl, Sigma Chemical'dan sağlanmıştır.

NaOH, amonyum sülfat, etanol, HCl, sodyumdihidrojen fosfat, β -merkaptol etanol, SDS, akrilamid, amonyum persülfat, N,N-metilen bis akrilamid, brom fenol mavisi, C.B.B G-250, sodyum bikarbonat, sodyum fosfat, CaCl₂ Merk'den sağlanmıştır.

Paraoksonaz enzimini saflaştırmak için kullanılan insan kan serumları Balıkesir Üniversitesi Sağlık ve Uygulama Araştırma Hastanesi Göğüs hastalıkları polikliniğinden Doç. Dr. Nurhan Sarioğlu tarafından temin edilmiştir.

2.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar.

Kullanılan Cihaz	Model
Soğutmalı Santrifüj	Sigma 3-18K
UV-Spektrofotometre	Biotek Power Wax XS
pH metre	Orion model 920A
Manyetik Karıştırıcı	ARE magnetic
Hassas terazi	Libror, AEG 220
Elektroforez sistemi	Hoefer, HSI
Vorteks	Fisons Whirli Mixer
Kromatografi Kolonu	Sigma (1,5×10)

2.1.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Tablo 2.2: Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.

Çözelti veya Tampon	Hazırlanması
<i>Hidrofobik Kolonun dengeleme tamponu</i>	14,2 g (0,1 mol) 0,1 M Na ₂ HPO ₄ + 1 M 132,14 g (1 mol) + (NH ₄) ₂ SO ₄ 950 mL saf suda çözüldü. 1 M HCl ile pH' sı 8,0' a ayarlandı. Son hacim saf su ile 1L'ye tamamlandı.
<i>Elüsyonda kullanılan tampon</i>	14,2 g (0,1 mol) Na ₂ HPO ₄ 950 mL saf suda çözülerek, 1 M HCl ile pH'sı 8,0' e ayarlandı. Son hacim saf su 1L'ye tamamlandı.
<i>Salting-out sonucunda oluşan çökeleğin alındığı tampon</i>	1,211 g (0,01 mol) tris-Base 95 mL distile suda çözülerek, 1N HCl ile pH:8,0'a getirildi. Son hacim saf su ile 100 mL tamamlandı.
<i>Bazal aktivite tamponu</i>	3,0285 g (25 mmol) Tris-base, 200 mL distile suda çözüldü. 1N HCl ile pH:8,0' a getirildi. 0,0555 g (0,5 mmol) CaCl ₂ katılarak son hacim 250 mL' ye tamamlandı.
<i>PON1 aktivitesi için Substrat çözeltisi</i>	10,8 µl paraokson, 1 mL asetonda çözüldükten sonra üzerine 1 mL bazal aktivite tamponu eklendi ve karıştırılarak kullanıldı. (2 mM)
<i>Tuzla uyarılmış aktivite tamponu</i>	1,211 g (0,1 M) Tris-Base + 5,844 g (1 M) NaCl 50 mL suda çözülerek pH:10,5' a getirilir. Son hacim 100 mL' ye tamamlanır.
<i>Tuzsuz aktivite tamponu</i>	3,0275 g Tris-base (0,1 M) 200 mL distile suda çözülerek pH:10,5' a getirilir. Son hacim 250 mL tamamlanır.
<i>Fenotip belirlenmede kullanılan substrat çözeltisi</i>	10,8 µl paraokson, 4 mL tuzsuz aktivite tamponunda çözülerek hazırlandı ve karıştırılarak kullanıldı. (1 mM)

2.1.4 SDS-PAGE Elektrofrezinde Kullanılan Tamponlar

Tablo 2.3: Elektrofrezde kullanılan çözetiler ve miktarları.

Madde	Miktar
○ Distile su	1,0 mL
○ %10'luk SDS	8,0 mL
○ Gliserol	4,0 mL
○ B-merkapt etanol	2,0 mL
○ Bromfenol mavisi	0,01 g
○ 0,5 M Tris-HCl (pH:6,8)	5,0 mL

Tablo 2.4: Elektrofrezde kullanılan yürütme tamponu.

Madde	Miktar
○ Tris-HCl	6,0 g
○ SDS	28,8 g
○ Glisin	14,4 g
○ Distile su ile hacim 2 L' ye tamamlandı.	

Tablo 2.5: Elektrofrezde kullanılan renklendirme çözeltisi.

Madde	Miktar
○ Distile su	240 mL
○ Glasiyal asetik asit	48 mL
○ Metanol	240 mL
○ Coomassie-Brilliant blue R-250	1,32 g

Tablo 2.6: Elektroforezde yığıma ve ayırma jelleri.

	Yığıma Jeli	Ayırma Jeli
	%3	%10
1,5 M Tris-HCl (pH: 8,8)	-	25 mL
Akrilamid/Bis (%30)	5,2 mL	33,3 mL
Saf su	24,4 mL	40,2 mL
%10' luk SDS	400 µL	1 mL
0,5 M Tris-HCl (pH: 6,8)	10 mL	-
TEMED	40 µL	50 µL
%10' luk amonyum persülfat	40 µL	1500 µL

2.2 Yöntemler

2.2.1 Kan Serumunun Ayrılması

Kan numuneleri, jel santrifüj tüplerine alındı ve santrifüj 5000 rpm, +4 °C sıcaklığında 10 dakikaya ayarlandıktan sonra kan numuneleri yüklenerek serumun ayrılması sağlandı. Ayrılma işleminden hemen sonra serumlar deneysel çalışmada kullanıldı.

2.2.2 Enzimin Aktivite Tayini

PON1 enziminin aktivitesi, spektrofotometrik yöntem ile tayin edilerek açığa çıkan ürünün absorbans artışı 412 nm' de kinetik olarak izlenmektedir.

Aktivite ölçümü için 900 µL tampon (0,1 M Tris-Base aktivite tamponu pH:8,00) + 100 µL substrat (2 mM paraokson) çözeltisi + 50 µL serum (enzim

çözeltisi) hızlı bir şekilde küvete eklendi. 412 nm' de 37 °C sıcaklıkta 1 dakikadaki absorbansı belirlenerek, paraoksonun p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı tespit edilmiş oldu. Daha sonra enzim olmadan aynı işlem tekrarlandı. Absorbanstaki fark enzim aktivitesi olarak belirlendi. 1 dakikada açığa çıkan p-nitrofenolün µmol'ü 1 Ünite paraoksonaz olarak kabul edildi.

2.2.3 Q ve R Türlerinin Belirlenmesi

Aktivite ölçümü için 900 µL tuzsuz aktivite tamponu (0,1M Tris-Base Aktivite tamponu pH:10,5) +100 µL substrat (2 mM paraokson) çözeltisi + 50 µL serum (enzim çözeltisi) hızlı bir şekilde küvete eklendi ve 412 nm'de 37 °C sıcaklıkta 1 dakikadaki absorbans farkı belirlendi. Aynı solüsyonlara 900 µL tuzlu aktivite tamponu (0,1 M Tris-Base – 1M NaCl tamponu (pH:10,5)) eklenerek tuzla ayrılma (salt stimulate) aktivite değeri ölçüldü. Sonuç olarak paraoksonun p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı tespit edildi. Aynı işlem enzim olmadan tekrarlandı ve aradaki fark enzim aktivitesi olarak belirlendi. 1 Ünite paraoksonaz, dakikada meydana gelen p-nitrofenolün µmol' u olarak belirlendi.

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

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

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

2.2.4 Coomassie Brilliant Blue ile Kantitatif Protein Tayini

Bradford yöntemi, Coomassie brilliant blue G-250 reaktifi ile proteinlerin kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan ürün 595 nm' de maksimum absorbans gösterir. Saflaştırma basamaklarının her aşamasında elde edilen çözeltilerdeki protein miktar tayinleri bu yöntemle belirlendi.

1 mL' si 1 mg protein içeren standart sığır albümin çözeltisinden tüplere sırasıyla 0,10 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µL alındı. Çözeltinin bulunduğu tüplerin üzerine 0,1 M Tris-HCl tamponu (pH:8,00) ilave edilerek hacimleri 0,1 mL' ye tamamlandı. 5 mL C.B.B. G-250 reaktifi her bir tüpe eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. 10 dakika sonunda 3 mL'lik küvetlere alınarak 595 nm' de köre karşı absorbans değeri okundu ve 1.tüp kör olarak kullanıldı. Gözlemlenen absorbans değerine karşılık gelen µg protein değerleri ile standart grafik çizildi. İki ayrı tüpe enzim numunelerinden 0,1 mL alınarak, 5' er mL C.B.B. G-250 reaktifi ekledi. İki ölçümün ortalama absorbans değerine karşılık gelen protein miktarı standart grafik ile hesaplandı.

2.2.5 Enzimin Saflaştırılması

2.2.5.1 Amonyum Sülfat Çöktürmesi

Amonyum sülfat, belirli doygunluk derecesine sahip olan proteinlerin çöktürmesinde kullanılan 2 değerlikli bir tuzdur. Grubumuz tarafından belirlenen %60-80 amonyum sülfat çöktürmesi [114] aşağıda belirtilen formülle belirlendi;

$$g (NH_4)_2SO_4 = \frac{1,77 \times V \times (S_2 - S_1)}{3,54 - S_2}$$

V: Serum hacmi

S₁: 1'in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu

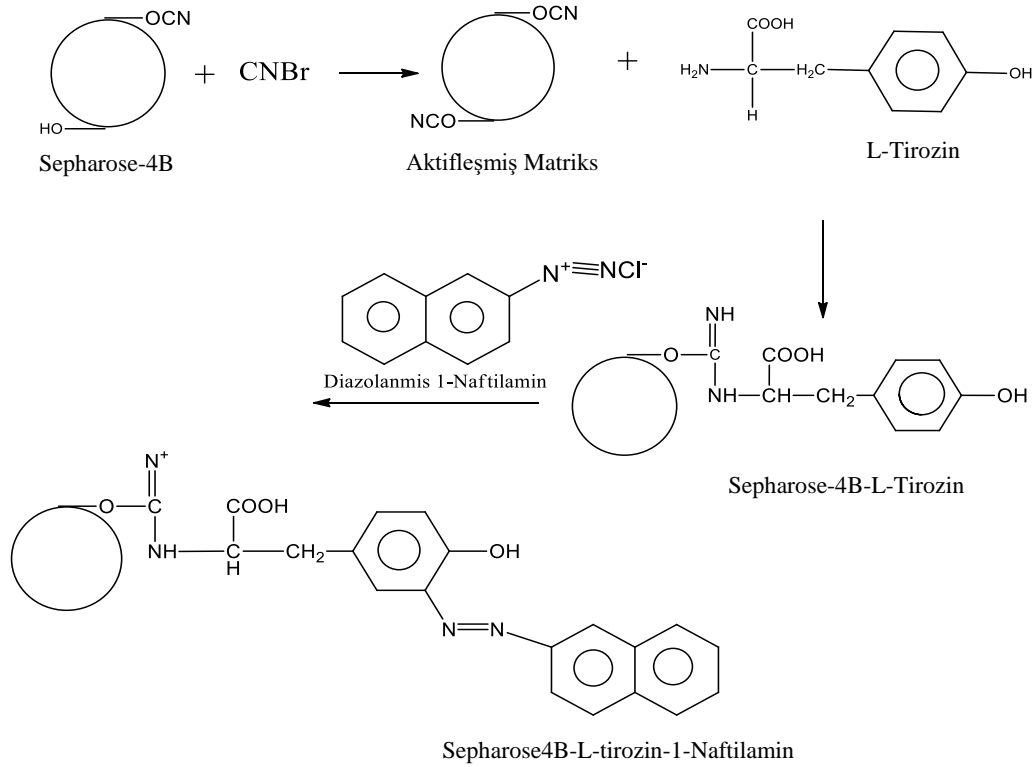
S₂: 1'in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğu

2.2.5.2 HEK ile Enziminin Saflaştırılması

PON1 enziminin saflaştırılmasında tuz çöktürmesinin ardından hidrofobik etkileşim kromatografi yöntemi kullanılmıştır. Laboratuvarımızda hidrofobik jeli sepharose-4B-L-tirozin-1-naftilamin sentezlenmiştir (Şekil 2.1).

Öncelikle 1 M (NH₄)₂SO₄ içeren 0,1M Tris-HCl (pH:8,0) tamponu hazırlandı. Bu tampon ile hidrofobik etkileşim kolonu dengelendi. Dengeleme işlemi sonrasında,

tampon çözeltisi jel seviyesine kadar indirildi. Tuz çöktürmesi sonucu elde edilen enzim çözeltisi, 5 mL çökelek tamponu yardımı ile çözüldü ve 1 M amonyum sülfat doygunluğuna getirildi. Çözeltinin enzim aktivitesi spektrometrik olarak belirlendi ve kolona eklendi. Kolona 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ içeren 0,1M Tris-HCl (pH:8,0) ve 0,1M Tris-HCl (pH:8,0) tamponları ile oluşturulan yüksek tuz konsantrasyonundan düşük tuz konsantrasyonuna doğru tuz gradienti işlemi gerçekleştirildi. Kolondan toplanan yıkama ve elüsyon çözeltilerinden 2 mL' lik tüplere toplandı. 280 nm' deki absorbans değeri sıfır oluncaya kadar yıkama ve elüsyon işlemine devam edildi. Son olarak, 0,1M Tris-HCl (pH:8,0) tamponu kör olarak kullanıldı. Toplanan her bir tüpün 280 nm' de kalitatif protein tayini yapıldı.



Şekil 2.1: HEK jel sentezi.

2.2.5.3 PON1' in Saflığının Kontrolü

Elektroforez cam plakaları ilk olarak distile su, etil alkol ile temizlendi. Kıskaçlar ile tutturulan cam plakalar jel hazırlama cihazına yerleştirildi. Tablo 2.6' da gösterildiği gibi hazırlanan ayırma jeli plakalar arasına üstten 2-3 cm boşluk kalacak şekilde enjektör yardımı ile döküldü. Jelin yüzeyi pürüzsüz olması için bütanol ile ince bir tabaka oluşturuldu. Polimerizasyon gözlemlendikten sonra bütanol döküldü. Önce ayırma jeli eklendi ve polimerleştikten sonra üzerine yığma jeli ilave edildi. Kasetin içinde bulunan jel üzerine kuyucukların oluşması için tarak yerleştirildi ve jelin polimerleşmesi beklendi. Polimerleşme gözlemlendikten sonra tarak çıkartıldı. Kaset elektroforez tankına yerleştirilerek elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu eklendi. HEK ile elde edilen fraksiyonlardan yüksek aktivite gösterenler birleştirildi. Toplam hacim 100 µL olacak şekilde 1:1 oranında numune tamponu ile karıştırıldı. Numuneler soğutularak enjektör ile kuyucuklara yüklendi. Elektroforez, güç kaynağına bağlanarak 90 volta ayarlandı. Numune tamponu içindeki boyaya ait bant, ayırma jeline ulaştığında 150 volt' a yükseltilecek proteinlerin hareketi gözlemlendi. Proteinlerin jele ulaşmasına 1 cm kala akım kesildi. Cam plakalar arasındaki jel çıkartıldı. Protein bantlarını içeren ayırma jeli renklendirme çözeltilisinin içine konuldu. Daha sonra 1,5-2 saat kadar çalkalayıcıda bırakıldı. Bu çözeltiden çıkarılarak renk açma çözeltilisine yerleştirildi ve renk açıldıktan sonra protein bantlarının görüntü fotoğrafı alınarak kaydedildi.

2.2.6 Antihistaminik İlaçların IC₅₀ Değerlerinin Bulunması

DeneySEL çalışmada kullanılan yedi farklı ilacın etken maddeleri ve çözücüleri belirlenerek, %50 inhibisyona sebep olan değerlerini belirlemek için reaksiyon ortamında 1 mM paraoksonaz olacak şekilde kullanıldı. Öncelikle ortamda ilaç yok iken enzim aktivitesi belirlenerek bu değerler %100 aktivite olarak kabul edildi. İlaçların farklı derişimlerinde gelen 412 nm' de köre karşı absorbans değerleri okundu. Bu değerler ile % aktiviteleri hesaplandı. % Aktivite-[I] grafikleri çizildi ve bu grafiklerin eğimlerinden her ilacın IC₅₀ değeri belirlendi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda 88 hasta, 41 kontrol olgunun kan serumları alınarak enzim fenotipi belirlenmiştir. Toplam 129 olgudan alınan bu kanlar, aldıktan hemen sonra santrifüjlenip serum kısmından ayrılarak analiz edilmiştir.

Materyal ve yöntemler bölümünde 2.2.3 Q ve R türlerinin belirlenmesi başlığı altında detaylıca anlatıldığı gibi söz konusu enzimlerin tuz ve pH'a farklı cevaplarını temel alarak farklı fenotiperi belirlenmiştir.

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

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

3.1 OUAS ve Kontrol Grubunda PON1 Aktivitesinin Belirlenmesi

Tablo 3.1: Obstrüktif uyku apnesi olan hasta bireylerin enzim aktivitesi.

HASTA		HASTA	
No	Bazal Aktivite (U)	No	Bazal Aktivite (U)
1	6,14	45	11,05
2	90,88	46	42,98
3	58,95	47	108,07
4	68,77	48	89,65
5	88,42	49	101,93
6	42,98	50	47,89
7	8,60	51	89,65
8	38,07	52	50,35
9	40,53	53	92,11
10	50,35	54	29,47
11	104,39	55	47,89

Tablo 3.1: (Devam).

12	66,32	56	46,67
13	1,23	57	45,44
14	110,53	58	11,05
15	60,18	59	67,54
16	24,56	60	79,82
17	39,30	61	33,16
18	38,07	62	51,58
19	22,11	63	115,44
20	92,11	64	62,63
21	29,47	65	31,93
22	35,61	66	103,16
23	108,07	67	34,39
24	83,51	68	83,51
25	40,53	69	56,49
26	81,05	70	95,79
27	22,11	71	70,00
28	57,72	72	51,58
29	49,12	73	124,04
30	94,56	74	115,44
31	28,25	75	90,88
32	41,75	76	97,02
33	94,56	77	83,51
34	73,68	78	68,77
35	56,49	79	101,93
36	67,54	80	70,00
37	35,61	81	51,58
38	25,79	82	124,04
39	87,19	83	115,44
40	58,95	84	90,88
41	79,82	85	97,02
42	89,65	86	68,77
43	71,23	87	101,93
44	14,74	88	90,88

Tablo 3.2: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi.

KONTROL		KONTROL	
No	Bazal Aktivite (U)	No	Bazal Aktivite (U)
1	14,74	23	40,53
2	3,68	24	76,14
3	3,68	25	3,68
4	135,09	26	61,4
5	23,33	27	62,63
6	44,21	28	33,16
7	55,26	29	12,28
8	30,7	30	47,89
9	22,11	31	70
10	27,02	32	22,11
11	20,88	33	27,02
12	65,09	34	71,23
13	65,09	35	108,07
14	25,79	36	33,16
15	55,26	37	38,07
16	36,84	38	84,74
17	56,49	39	121,58
18	73,68	40	101,93
19	38,07	41	82,28
20	87,19		
21	28,25		
22	63,86		

Tablo 3.3: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

	HASTA n=88	KONTROL n=41	p
Cinsiyet			
Kadın n, (%)	32 (% 36,4)	21 (% 51,4)	0,08
Erkek n, (%)	56 (% 63,6)	20 (% 48,8)	
Yaş ± SDI	48,2 ± 12	43,2 ± 12	0,036
Sigara kullanımı (paket/yıl)	9,4 ± 11,4	2,7 ± 5,5	0,001
PON1 aktivitesi (U/μ dak)	64,3 ± 31	50,5 ± 32	0,022

Tablo 3.4: Hasta, kontrol grubunun fenotipi ve görülme yüzdeleri.

FENOTİP	HASTA	KONTROL
QQ	11 (%12,5)	11 (%26,8)
QR	34 (%38,6)	21 (51,2)
RR*	43 (%48,9)	9 (%22,0)

Araştırmamızın yapılan deneysel sonuçlarına göre 88 hasta olgunun 11' inin (%12,5) QQ, 34' ünün (% 38,6) QR, 43' ünün (%48,9) RR fenotipi gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol grubunun ise 11' inin (%26,8) QQ, 21' inin (%51,2) QR, 9' unun (%22,0) RR fenotipi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca hasta RR fenotipi anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,009$).

3.2 OUAS'lı Bireylerde Q ve R Fenotipinin Belirlenmesi

Tablo 3.5: Obstrüktif uyku apnesi olan hasta bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.

No	Cinsiyet	Yaş	Bazal Aktivite (U)	Tuzla Uyarılmış aktivite (U)	Fenotip
1	E	70	6,14	100,70	QR
2	E	29	90,88	625,09	RR
3	E	69	58,95	181,75	QR
4	K	51	68,77	440,88	QR
5	E	30	88,42	147,37	QR
6	K	42	42,98	465,44	RR
7	K	55	8,60	467,89	RR
8	E	33	38,07	508,42	QR
9	E	60	40,53	141,23	QR
10	E	35	50,35	471,58	RR
11	E	29	104,39	1641,93	RR
12	E	77	66,32	117,89	RR
13	E	44	1,23	404,04	RR
14	E	47	110,53	611,58	RR
15	K	62	60,18	185,44	RR
16	E	69	24,56	508,42	RR
17	E	40	39,30	143,68	QR
18	E	53	38,07	766,32	RR
19	E	64	22,11	343,86	QR
20	E	47	92,11	85,96	QQ
21	K	39	29,47	195,26	QR
22	E	32	35,61	181,75	QR
23	E	51	108,07	825,26	RR
24	E	78	83,51	178,07	RR
25	E	22	40,53	293,51	QR
26	E	58	81,05	114,21	QR
27	K	49	22,11	165,79	RR
28	E	52	57,72	448,25	RR
29	K	57	49,12	378,25	QR

Tablo 3.5: (Devam).

30	K	55	94,56	76,14	QQ
31	E	71	28,25	94,56	QR
32	K	53	41,75	218,60	RR
33	K	32	94,56	23,33	QQ
34	E	50	73,68	229,65	QQ
35	E	55	56,49	85,96	QQ
36	E	44	67,54	451,93	QR
37	E	36	35,61	665,61	QR
38	E	53	25,79	60,18	QQ
39	K	56	87,19	97,02	QQ
40	K	60	58,95	542,81	RR
41	K	47	79,82	361,05	QR
42	K	39	89,65	618,95	RR
43	K	59	71,23	158,42	QR
44	E	56	14,74	509,65	QR
45	E	37	11,05	136,32	QR
46	K	26	42,98	837,54	RR
47	K	28	108,07	131,40	QR
48	E	42	89,65	803,16	RR
49	E	35	101,93	445,79	RR
50	K	37	47,89	525,61	RR
51	E	43	89,65	187,89	QR
52	K	48	50,35	179,30	RR
53	K	58	92,11	175,61	QQ
54	E	46	29,47	189,12	QR
55	K	60	47,89	579,65	RR
56	E	48	46,67	698,77	RR
57	E	37	45,44	390,53	RR
58	E	50	11,05	173,16	RR
59	K	51	67,54	420,00	RR
60	E	58	79,82	82,28	QQ
61	K	66	33,16	343,86	RR

Tablo 3.5: (Devam).

62	K	39	51,58	67,54	QQ
63	E	57	115,44	431,05	QR
64	E	40	62,63	564,91	RR
65	E	31	31,93	458,07	RR
66	E	64	103,16	85,96	QR
67	E	25	34,39	679,12	RR
68	K	57	83,51	132,63	QR
69	E	52	56,49	412,63	RR
70	K	56	95,79	144,91	QR
71	E	61	70,00	402,81	QR
72	K	40	51,58	351,23	RR
73	K	52	124,04	85,96	QR
74	E	52	115,44	392,98	RR
75	E	63	90,88	950,53	RR
76	E	73	97,02	104,39	QQ
77	E	49	83,51	205,09	RR
78	K	56	68,77	132,63	QR
79	E	37	101,93	541,58	RR
80	E	54	70,00	542,81	RR
81	K	35	51,58	391,75	QR
82	K	48	124,04	800,70	RR
83	E	36	115,44	192,81	QR
84	K	20	90,88	174,39	QR
85	E	34	97,02	606,67	RR
86	E	39	68,77	499,82	RR
87	E	48	101,93	417,54	RR
88	E	39	90,88	152,28	QR

Tablo 3.6: Sağlıklı bireylerin enzim aktivitesi, yaş, cinsiyet ve fenotip bilgileri.

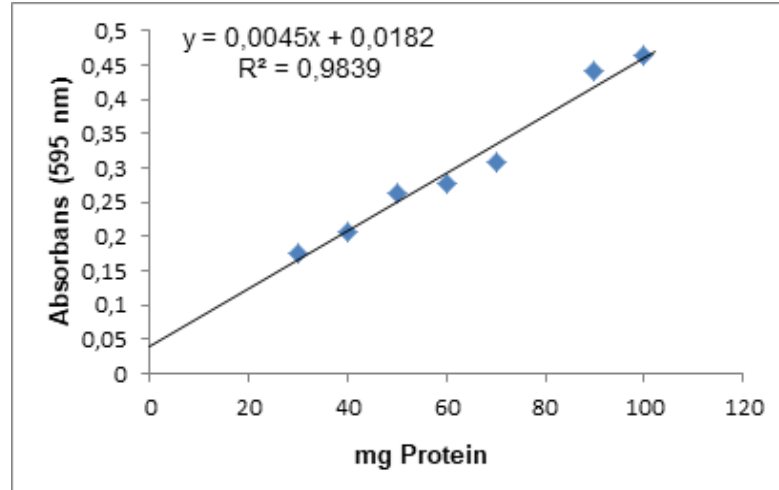
No	Cinsiyet	Yaş	Bazal Aktivite (U)	Tuzla Uyarılmış aktivite (U)	Fenotip
1	E	45	14,74	447,02	QR
2	K	51	3,68	137,54	QQ
3	E	62	3,68	98,25	QQ
4	E	35	135,09	90,88	QQ
5	K	58	23,33	109,30	QQ
6	K	47	44,21	830,18	RR
7	K	51	55,26	415,09	QR
8	K	63	30,7	321,75	QR
9	K	38	22,11	92,11	QR
10	K	28	27,02	556,32	QR
11	K	58	20,88	88,42	QQ
12	K	39	65,09	100,70	QQ
13	K	32	65,09	615,26	QQ
14	K	49	25,79	120,35	QR
15	K	53	55,26	518,25	QR
16	E	67	36,84	377,02	QR
17	E	29	56,49	289,82	QR
18	E	26	73,68	440,88	QQ
19	K	27	38,07	87,19	QQ
20	E	39	87,19	101,93	QR
21	E	57	28,25	329,12	QQ
22	K	29	63,86	93,33	QR
23	K	55	40,53	125,26	QR
24	K	51	76,14	185,44	RR
25	E	35	3,68	444,56	QR
26	K	36	61,4	313,16	QR
27	K	50	62,63	114,21	QR
28	E	55	33,16	163,33	RR
29	E	36	12,28	160,88	QQ
30	E	53	47,89	68,77	QR
31	E	37	70	88,42	QR
32	K	26	22,11	101,93	RR

Tablo 3.6: (Devam).

33	E	28	27,02	394,21	QR
34	E	35	71,23	665,61	RR
35	E	43	108,07	385,61	QR
36	K	33	33,16	164,56	RR
37	K	35	38,07	335,26	QR
38	E	31	84,74	164,56	RR
39	E	41	121,58	672,98	QR
40	E	45	101,93	164,56	RR
41	E	67	82,28	653,33	RR

3.3 Bradford Yöntemi ile Protein Tayini

Kantitatif protein tayininde Bradford yöntemi kullanılarak, standart grafik bölüm 2.2.4'te açıklandığı gibi hazırlandı. Safaştırma basamakların her aşamasında aşağıdaki standart grafiğe göre protein miktarları belirlendi.



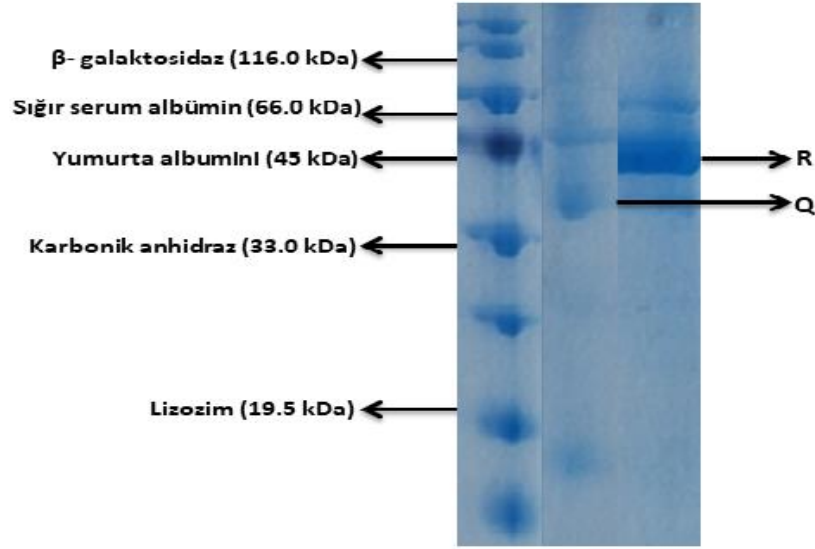
Şekil 3.1: Coomassie Brilliant Blue ile protein miktarının tayin edilmesinde kullanılan grafik.

Tablo 3.7: Q ve R türünün saflaştırma tablosu.

QQ	Adım	Hacim (ml)	Protein Miktarı (mg/ml)	Toplam Protein (mg)	Aktivite (U/ml)	Toplam Aktivite (U/ml)	Spesifik Aktivite (U/mg)	% Verim	Saflaştırma Derecesi
	Serum	6,4	86,19	551,62	53,85	344,64	0,62	100	-
	Amonyum sülfat çöktürmesi	5	58,05	290,24	27,13	135,65	0,47	39,36	0,75
	HEK	4	5,69	22,76	75,12	300,48	13,20	87,19	21,13
RR	Adım	Hacim (ml)	Protein Miktarı (mg/ml)	Toplam Protein (mg)	Aktivite (U/ml)	Toplam Aktivite (U/ml)	Spesifik Aktivite (U/mg)	% Verim	Saflaştırma Derecesi
	Serum	12	90,5	1086	70	840	0,77	100	-
	Amonyum sülfat çöktürmesi	10	35,83	358,33	31,52	315,2	0,88	37,52	1,14
	HEK	8	4,9	39,2	78,13	625,04	15,94	74,41	20,61

3.4 Q ve R İzoenzimlerinin SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrez

Q ve R izoenzimlerinin saflık kontrolü için bölüm 2.2.5.3' de açıklandığı şekilde hazırlanan SDS-PAGE, serumdan saflaştırılan paraoksonaz enzimin numunesi ilave edildi ve protein bantları içeren jellerin görüntüsü alınarak kaydedildi.



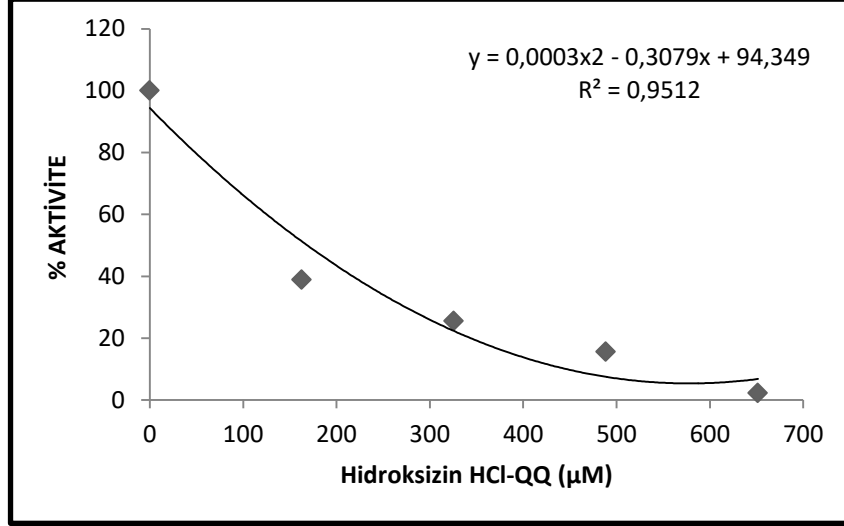
Şekil 3.2: Saf Q ve R izoenzimlerin elektroforez görüntüsü.

3.5 Bazı Antihistaminlerin Q ve R İzoenzimler Üzerine İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

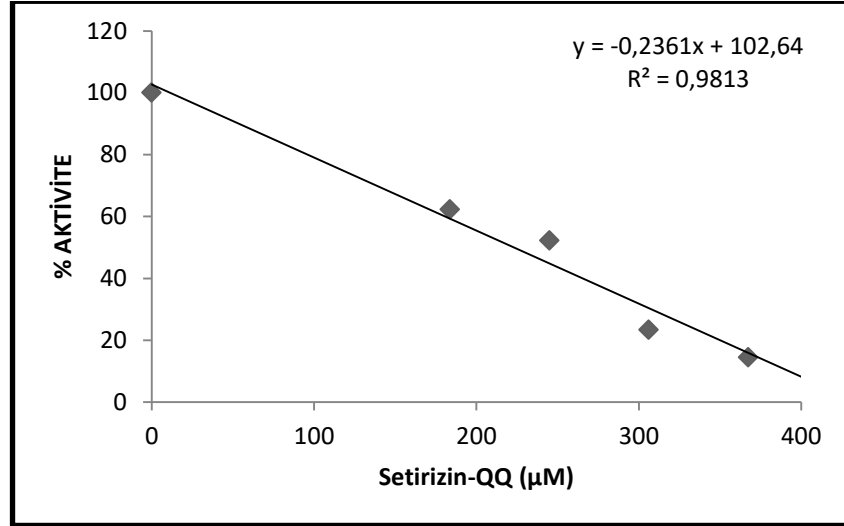
İnhibisyon çalışmalarında ilaçları etken maddeleri; Hidroksizin HCl, setirizin, feksofenadin, rupatadin fumarat, desloratadin, ebastin, feniramin olmak üzere 7 farklı ilaç kullanıldı. Bu ilaçların substrat konsantrasyonu sabit tutularak, farklı konsantrasyonlarda ilaç çözeltileri kullanılarak enzim aktiviteleri ve IC_{50} değerleri belirlendi.

Tablo 3.8: PON1Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Hidroksizin HCl-Setirizin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Hidroksizin HCl	100	100	-	-	0,09	110,53	100
845				5	162,86	0,035	42,98	38,89
840				10	325,71	0,023	28,25	25,56
835				15	488,57	0,014	17,19	15,56
830				20	651,43	0,002	2,46	2,22
850	Setirizin	100	100	-	-	0,09	110,53	100
835				15	183,71	0,056	68,77	62,22
830				20	244,95	0,047	57,72	52,22
825				25	306,19	0,021	25,79	23,33
820				30	367,43	0,013	15,96	14,44
815				35	428,67	0,002	2,46	2,22



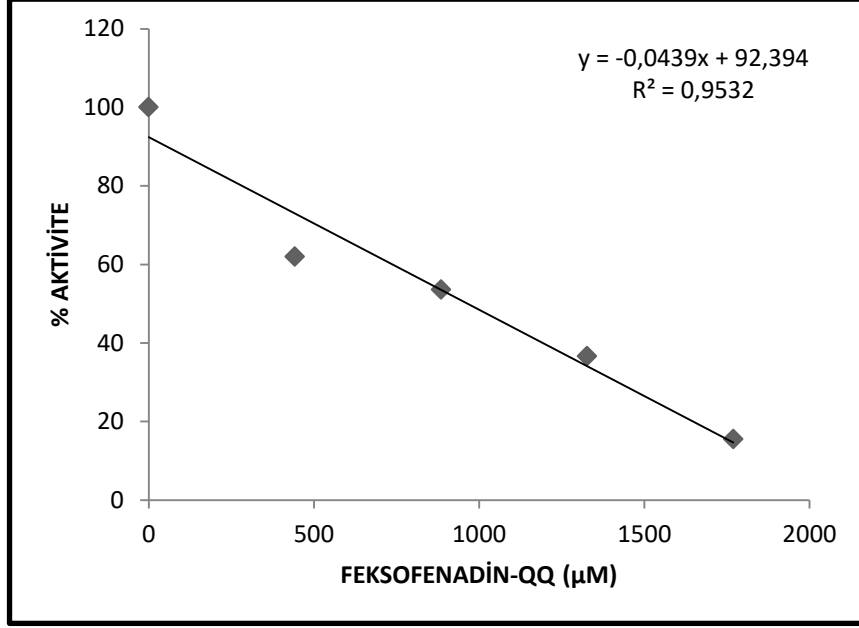
Şekil 3.3: PON1 Q izoenzimi üzerine Hidroksizin HCl inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



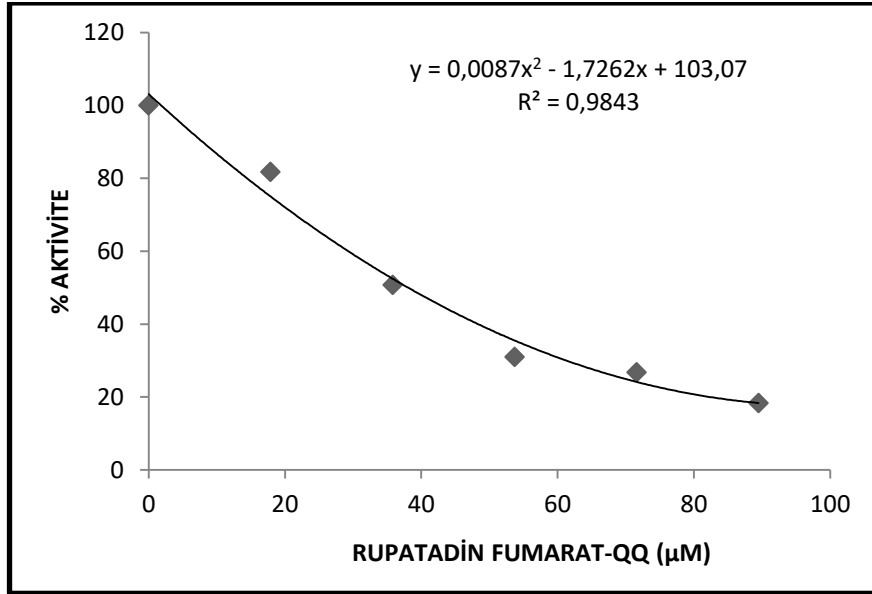
Şekil 3.4: PON1 Q izoenzimi üzerine Setirizin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.9: PON1Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Feksofenadin-Rupatadin fumarat IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Feksofenadin	100	100	-	-	0,071	87,19	100
845				5	422,48	0,044	54,04	61,97
840				10	884,95	0,038	46,67	53,52
835				15	1327,43	0,026	31,93	36,62
830				20	1769,90	0,011	13,51	15,49
850	Rupatadin Fumarat	100	100	-	-	0,071	87,19	100
848				2	17,90	0,058	71,23	81,69
846				4	35,80	0,036	44,21	50,70
844				6	53,70	0,022	27,02	30,99
842				8	71,60	0,019	23,33	26,76
840				10	89,50	0,013	15,96	18,31



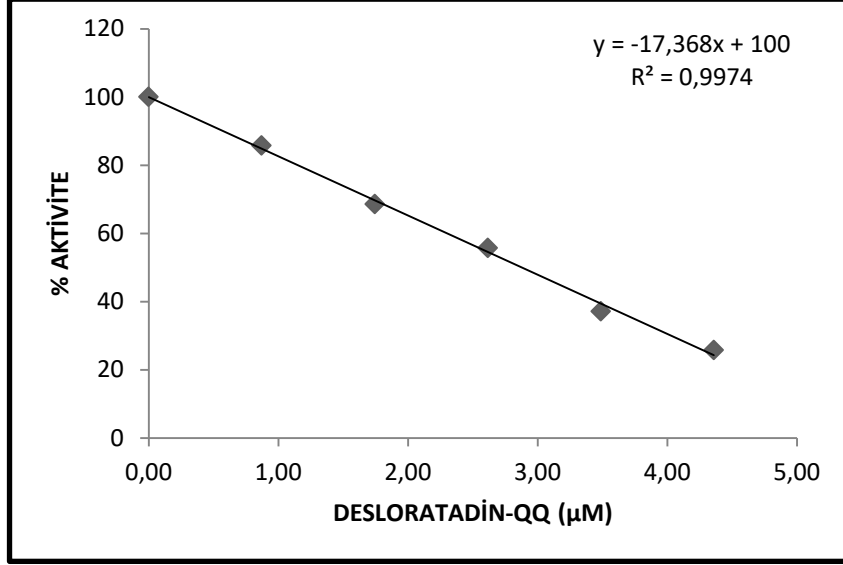
Şekil 3.5: PON1 Q izoenzimi üzerine Feksofenadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



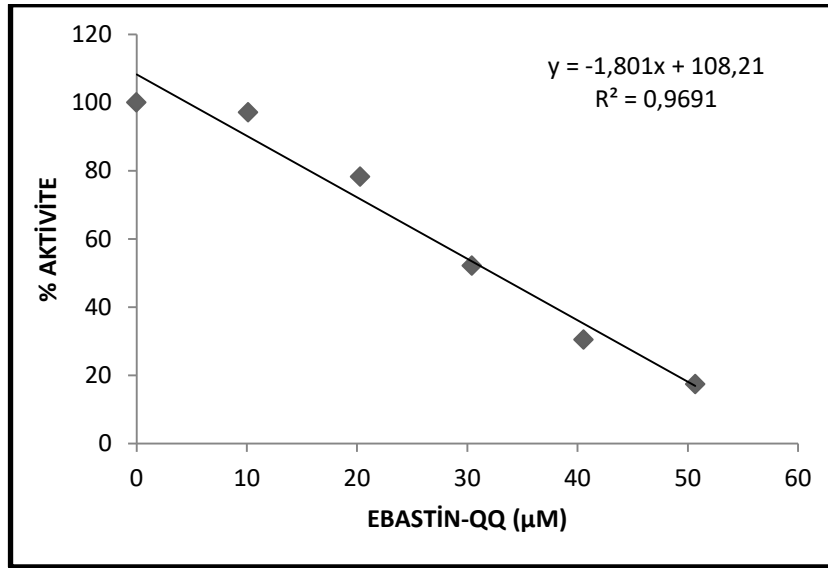
Şekil 3.6: PON1 Q izoenzimi üzerine RUPATADİN FUMARAT-QQ inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.10: PON1 Q izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Desloratadin-Ebastin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (μl)	İlaç	Enzim Çözeltisinin Hacmi (μl)	Substrat Çözeltisinin Hacmi (μl)	İlaç Çözeltisinin Hacmi (μl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (μM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Desloratadin	100	100	-	-	0,07	85,96	100
845				5	0,87	0,06	73,68	85,71
840				10	1,74	0,048	58,95	68,71
835				15	2,62	0,039	47,89	55,71
830				20	3,49	0,026	31,93	37,14
825				25	4,36	0,018	22,11	25,71
850	Ebastin	100	100	-	-	0,069	84,74	100
848				1	10,14	0,067	82,28	97,10
846				2	20,28	0,054	66,32	78,26
844				3	30,42	0,036	44,21	52,17
842				4	40,56	0,021	25,79	30,43
840				5	50,70	0,012	14,79	17,39



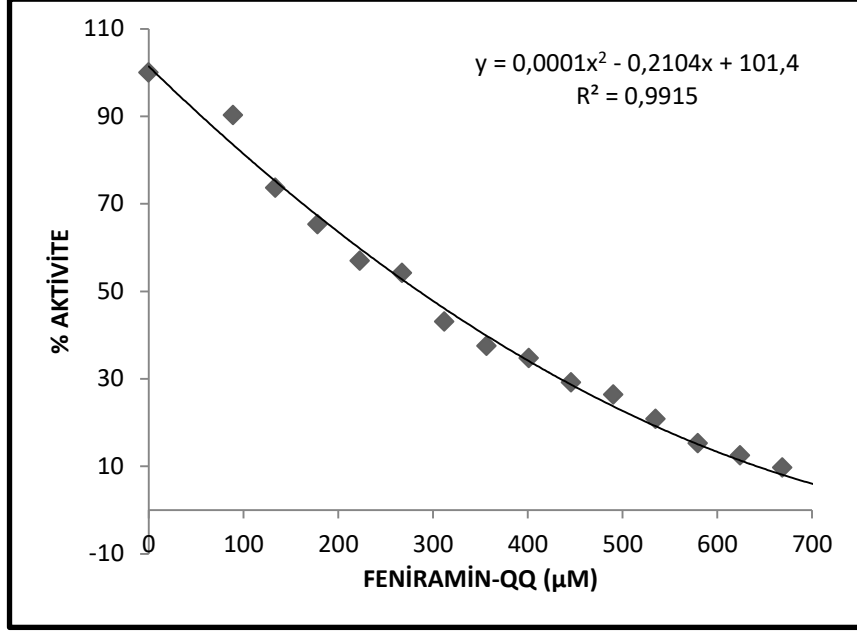
Şekil 3.7: PON1 Q izoenzim üzerine Desloratadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



Şekil 3.8: PON1 Q izoenzim üzerine Ebastin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.11: PON1 Q izoenzimi üzerinde imhibisyon etkisi gösteren Feniramin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları ,buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

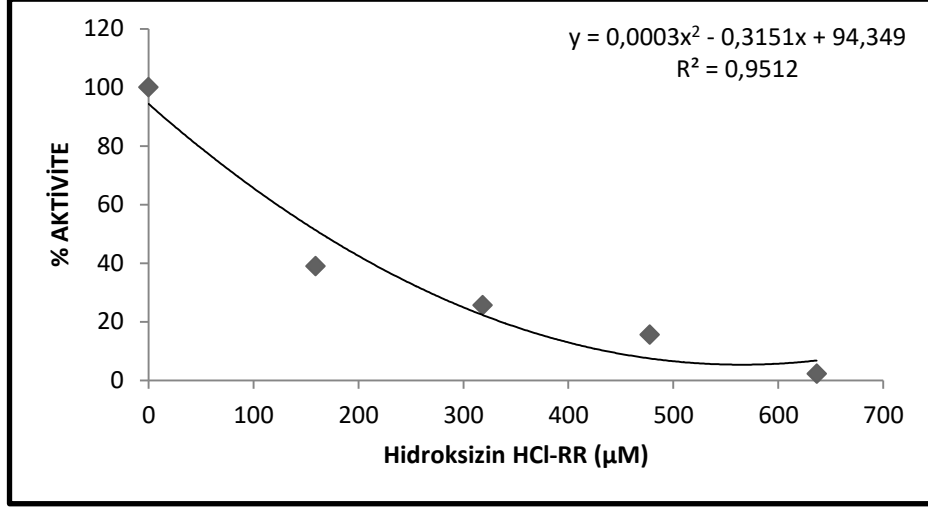
100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Feniramin	100	100	-	-	0,072	88,42	100
849				1	89,16	0,065	79,82	90,28
848,5				1,5	133,74	0,053	65,09	73,61
848				2	178,32	0,047	57,72	65,28
847,5				2,5	222,90	0,041	50,35	56,94
847				3	267,49	0,039	47,89	54,17
846,5				3,5	312,07	0,031	38,07	43,06
846				4	356,65	0,027	33,16	37,50
845,5				4,5	401,23	0,025	30,70	34,72
845				5	445,81	0,021	25,79	29,17
844,5				5,5	490,39	0,019	23,33	26,39
844				6	534,97	0,015	18,42	20,83
843,5				6,5	579,55	0,011	13,51	15,28
843				7	624,13	0,009	11,05	12,50
842,5				7,5	668,71	0,007	8,60	9,72
842				8	713,30	0,001	1,23	1,39



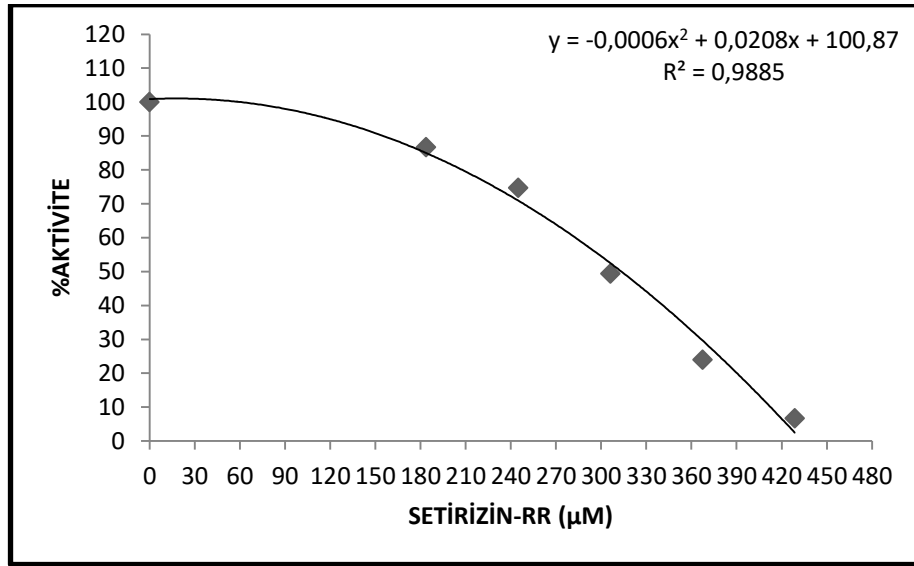
Şekil 3.9: PON1 Q izoenzim üzerine Feniramin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.12: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Hidroksizin HCl-Setirizin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Hidroksizin HCl	100	100	-	-	0,09	110,53	100
845				5	159,14	0,035	42,98	38,89
840				10	318,29	0,023	28,25	25,56
835				15	477,43	0,014	17,19	15,56
830				20	636,57	0,002	2,46	2,22
850	Setirizin	100	100	-	-	0,075	92,11	100
835				15	183,71	0,065	79,82	86,67
830				20	244,95	0,056	68,77	74,67
825				25	306,19	0,037	45,44	49,33
820				30	367,43	0,018	22,11	24,00
815				35	428,67	0,005	6,14	6,67



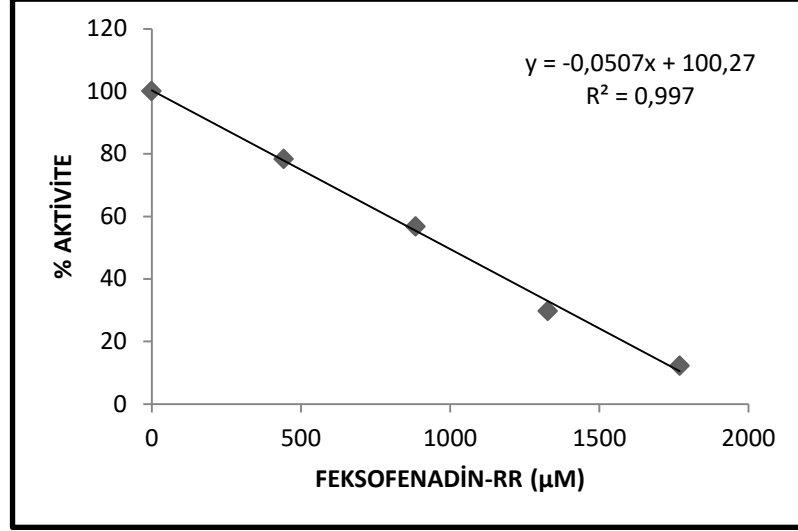
Şekil 3.10: PON1 R izoenzim üzerine Hidroksizin HCl inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



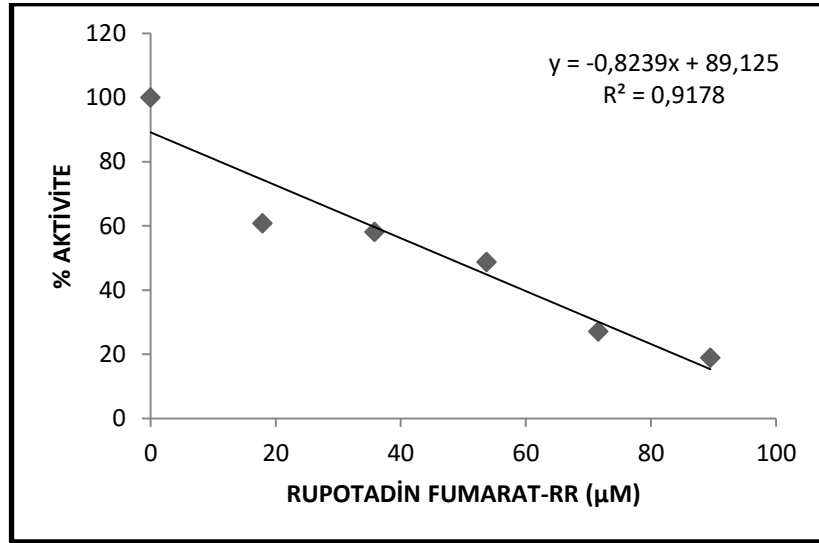
Şekil 3.11: PON1 R izoenzim üzerine Setirizin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.13: PON1 R izoenzim üzerine Feksofenadin-Rupatadin fumarat IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Feksofenadin	100	100	-	-	0,074	90,88	100
845				5	442,48	0,058	71,23	78,38
840				10	884,95	0,042	51,58	56,76
835				15	1327,43	0,022	27,02	29,73
830				20	1769,90	0,009	11,05	12,16
850	Rupatadin Fumarat	100	100	-	-	0,074	90,88	100
848				2	17,90	0,065	79,82	87,84
846				4	35,80	0,043	52,81	58,11
844				6	53,70	0,036	44,21	48,65
842				8	71,60	0,02	24,56	27,03
840				10	89,50	0,014	17,19	18,92



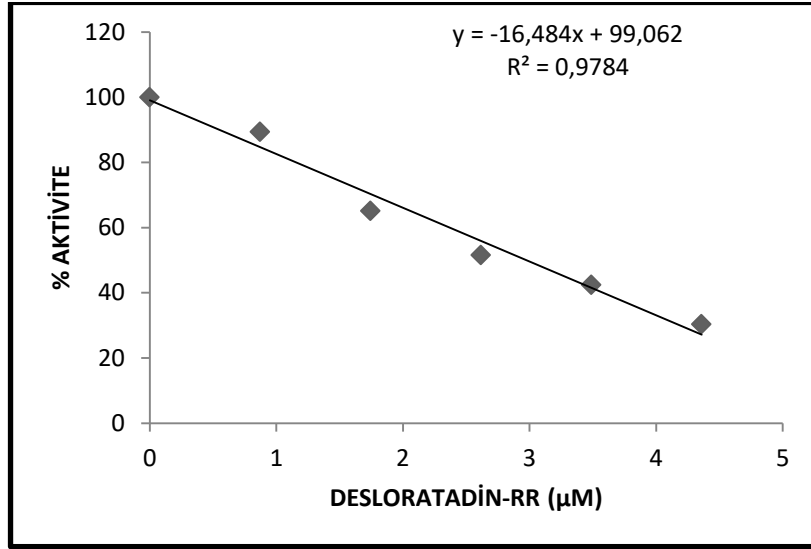
Şekil 3.12: PON1 R izoenzimi üzerine Feksofenadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



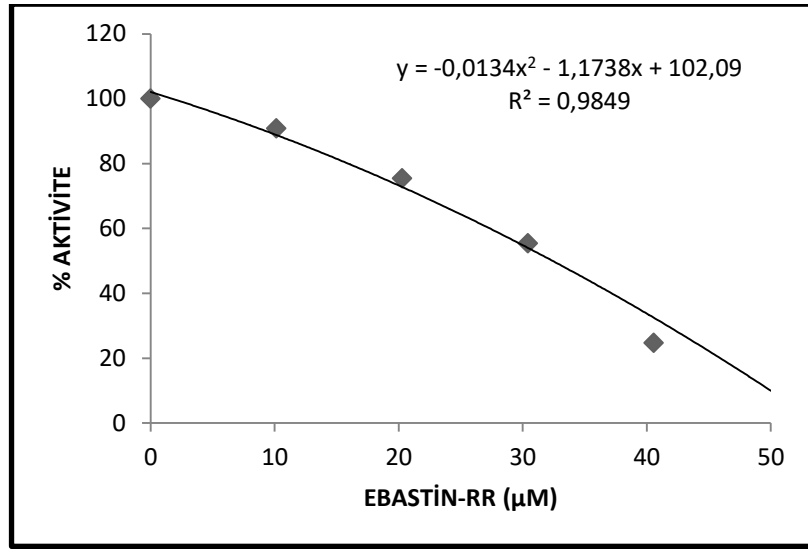
Şekil 3.13: PON1 R izoenzimi üzerine Rupadatin fumarat inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.14: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Desloratadin-Ebastin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları, buna karşılık gelen sustrat ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Desloratadin	100	100	-	-	0,066	81,05	100
845				5	0,87	0,044	54,04	66,67
840				10	1,74	0,043	52,81	65,15
835				15	2,62	0,034	41,75	51,52
830				20	3,49	0,023	28,25	34,85
825				25	4,36	0,015	18,42	22,73
850	Ebastin	100	100	-	-	0,071	87,19	100
849				1	10,14	0,062	76,14	87,32
848				2	20,28	0,053	65,09	74,65
847				3	30,42	0,037	45,44	52,11
846				4	40,56	0,018	22,11	25,35
845				5	50,70	0,013	15,96	18,31



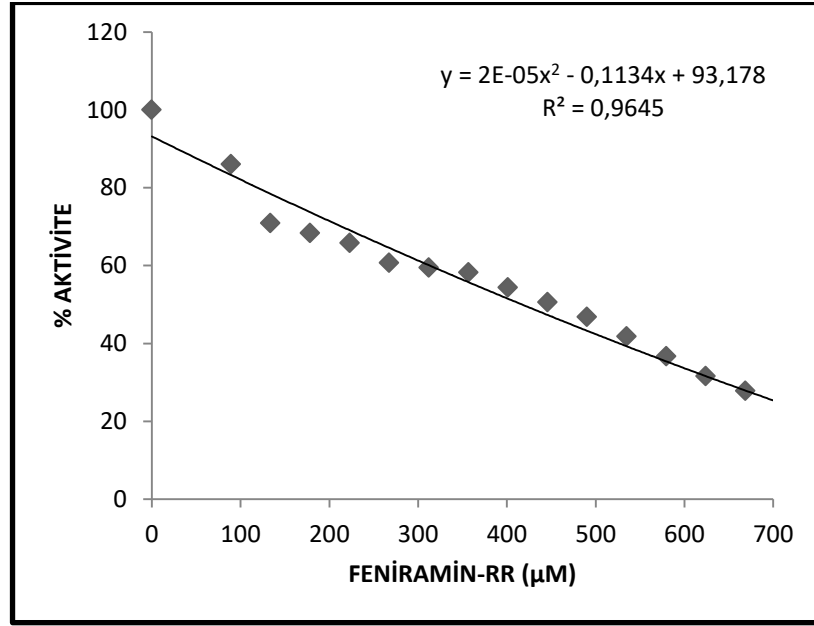
Şekil 3.14: PON1 R izoenzimi üzerine Desloratadin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.



Şekil 3.15: PON1 R izoenzimi üzerine Ebastin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.15: PON1 R izoenzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Feniramin IC₅₀ değerlerinin bulunmasında kullanılan çözeltilerin miktarları ,buna karşılık gelen substrat, ilaç konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlar.

100 Mm Tris tamponu (µl)	İlaç	Enzim Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Substrat Çözeltilisinin Hacmi (µl)	İlaç Çözeltilisinin Hacmi (µl)	Küvetteki İlaç Konsantrasyonu [I] (µM)×10 ⁻⁶	ΔA	Aktivite (U/mL dak)	% Aktivite
850	Feniramin	100	100	-	-	0,079	97,02	100
849				1	89,16	0,073	89,65	92,41
848,5				1,5	133,74	0,069	84,74	87,34
848				2	178,32	0,065	79,82	82,28
847,5				2,5	222,90	0,059	72,46	74,68
847				3	267,49	0,054	66,32	68,35
846,5				3,5	312,07	0,049	60,18	62,03
846				4	356,65	0,043	52,81	54,43
845,5				4,5	401,23	0,045	55,26	56,96
845				5	445,81	0,04	49,12	50,63
844,5				5,5	490,39	0,037	45,44	46,84
844				6	534,97	0,033	40,53	41,77
843,5				6,5	579,55	0,029	35,61	36,71
843				7	624,13	0,025	30,70	31,65
842,5				7,5	668,71	0,022	27,02	27,85
842				8	713,30	0,015	18,42	18,99



Şekil 3.16: PON1 R izoenzimleri üzerine Feniramin inhibisyonu için % aktivite-[I] grafiği.

Tablo 3.16: PON1 Q ve R izoenzimlerinin ilaçlar için % aktivite-[I] grafiği sonucunda elde edilen IC₅₀ değerleri.

İLAÇLAR	QQ (µM)	RR (µM)
Hidroksizin HCl	853	883
Setirizin	222	274
Feksofenadin	965	991
Rupatadin Fumarat	38	47
Desloratadin	2,87	2,97
Ebastin	32,3	32,4
Feniramin	282	411

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, obstrüktif uyku apne sendromu olan 88 hasta ve 41 sağlıklı bireyden alınan serumlarda PON1 aktivitesi ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, hasta bireylerde PON1 aktivitesinin anlamlı ($p=0,022$) olarak yüksek olduğu bulundu. Ayrıca hasta ve kontrol gruplarının Q ve R fenotip polimorfizmi belirlendi. Daha sonra OUAS' lı Q fenotipine sahip bireylerin serumları birleştirildi ve hidrofobik etkileşim kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldı. Aynı işlem R fenotipli bireyler için de uygulandı. Her iki izoenzimin saflık kontrolü SDS poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlendi ve yaklaşık olarak 43,0 kDa olarak tespit edildi. Bulunan bu molekül ağırlığı literatür ile uygunluk göstermektedir. Ayrıca bu izoenzimlerin her basamakta aktivite ve protein değerleri ölçülerek saflaştırma dereceleri hesaplandı. Saf Q ve R izoenzimleri üzerine bazı antihistaminik ilaçların inhibisyon etkileri bulundu.

PON1 enzimi, karaciğerde sentezlenen ve yüksek yoğunluklu lipoprotein ile ilişkili olarak plazmaya salınan bir kalsiyum içeren laktonazdır [115, 116]. Tezimizin giriş kısmında da ayrıntılı olarak anlatıldığı gibi söz konusu enzim detoksifikasyon, antioksidan ve anti bakteriyel üç farklı fizyolojik fonksiyona sahiptir [10]. Bu nedenle enzim üzerinde yoğun çalışmalar yapılmakta ve giderek ilgi artmaktadır.

PON1, organofosfor bileşiklerin bazı toksik metabolitlerini hidroliz eder. Bu nedenle, PON1 aktivitesi ve ekspresyon seviyeleri, organofosfor zehirlenmesine duyarlılığın inflamasyon ve oksidatif strese bağlı hastalıkların gelişme riskinin belirlenmesinde önemlidir [117].

Obstrüktif uyku apnesi, uyku sırasında üst hava yolunun geçici olarak tamamen ve kısmen tıkanması ile karakterizedir [118]. Uyku sorunlarının hipertansiyon, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, diyabet gibi çeşitli klinik bozukluklarla ilişkili olduğu bilinmektedir [119]. OUAS şiddeti; hafif ($5 \leq \text{AHI/RDI} < 15$), orta ($15 \leq \text{AHI/RDI} < 30$) veya şiddetli ($\text{AHI/RDI} > 30$) olarak sınıflandırılmaktadır [68]. Orta şiddetli OUAS, hipertansiyon, koroner hastalık, inme kalp yetmezliği ve artiyal fibrasyondan kaynaklanan artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir [120].

HDL tarafından taşınan bir estaraz olan PON1, anti inflamatuvar rolü olan hücrelerin ve lipoproteinlerin oksidatif hasarına karşı koruyucu bir etki yapar [121]. Düşük PON1 aktivitesi kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörüdür [5]. PON1 ve

OUAS arasındaki ilişki hakkındaki bilgi sınırlı olmasına rağmen kardiyovasküler olan OUAS hastalarında kardiyovasküler olmayan veya OUAS dışındaki kontrollerden daha düşük seviyede PON1 aktivitesi olduğu belirlenmiştir [83].

Araştırmamızda kullanılan hasta ve sağlıklı bireylerin demografik özellikleri Tablo 3.3' de verilmiştir. Çalışmamızda 88 obstrüktif uyku apnesi hasta serumu ve 41 kontrol grubu çalışılmıştır. Sonuç olarak;

1-Hastaların yaşı kontrol grubuna göre daha fazladır.

2-Hastaların sigara kullanımı kontrol grubuna göre daha fazladır.

3-Hastaların PON1 aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır.

Birçok faktör serum PON1 aktivitesini etkileyebilmektedir. E vitamini, C vitamini, flavonoidler, demir ve çinko gibi diyet takviyeleri PON1 aktivitesini değiştirebilir. Ayrıca alkol alımı, hamilelik ve egzersiz durumu gibi diğer faktörler de göz önüne alınmalıdır [122, 123]. Hastalarda PON1 aktivitesinin yüksek çıkması yukarıdaki parametrelerinin yanında RR fenotip oranının da fazla sayıda olması ile ilişkili olabilir.

Paraoksonaz enziminde farklı polimorfizmler görülmektedir ancak en önemlisi kodlanma bölgesindeki değişimdir. Bu polimorfizmler pozisyon 192'de glutamin (Q) ve arginin (R) (192 Q>R)' dir. Bu polimorfizmde Q allele sahip kişilerde, R alleli taşıyanlara göre daha düşük PON1 enzim aktivitesi gözlenir [10,124]. 192R izoformu paraoksonu, 192Q izoformu ise somon, diazokson ve sarin gibi maddeleri daha yüksek oranda hidroliz eder [54, 55]. Kandaki paraokson hidroliz kapasitesi sıklıkla PON1 enzim aktivitesinin belirteci olarak kullanılır ve bu aktivite Q192R polimorfizmi ile PON1 konsantrasyonundaki değişimi yansıtır [125]. Q192R pozisyonundaki aminoasit yerleşimleri iki alloenzimine sebep olmaktadır. Q alloenzimi, R alloenzimine kıyasla LDL üzerindeki lipit peroksitlerin birikimini daha çok engeller [126]. Paraoksonaz enziminin polimorfizmi ile birçok hastalık ilişkilendirilmiştir [10].

Araştırmamızın yapılan deneysel sonuçlarına göre 88 hasta olgunun 11' inin (%12,5) QQ, 34' ünün (% 38,6) QR, 43' ünün (%48,9) RR fenotipi gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol grubunun ise 11' inin (%26,8) QQ, 21' inin (%51,2) QR, 9' unun (%22,0) RR fenotipi gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3.4). Ayrıca hasta RR fenotipi anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,009$).

Seo T. ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, PON1'in solunum yollarının sigara dumanı toksisitesine karşı korunmasında bir rol oynayabileceği ve 192R allelinin hava yolu yaralanması için genetik risk faktörü olduğu bulunmuştur. [127].

Balcerzyk A. ve ark. yaptığı bir çalışmada, PON1 geninin R192Q polimorfizmi ile KAH arasındaki olası ilişkiyi incelemiştir. Söz konusu hastalıkta Q alleli taşıyanların oranı daha yüksek olarak bulunmuştur [128].

Andersen H.R. ve ark. prenatal pestisit maruziyeti ile PON1 geni arasındaki gen-çevre etkileşimini araştırmışlardır. Sadece R-alleli olan çocuklarda kardiyovasküler risk gelişmiş ortaya çıktığını tespit etmişlerdir [129].

Saadat M. ve ark. PON1 genetik polimorfizmi ve meme kanserine olan yatkınlığını için yaptığı çalışmada PON1 M ve Q allellerinin daha yüksek meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir [130].

Yaghmaei M. ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise PON1 R allele sahip kadınların preeklampsi (gebelik zehirlenmesi) için bir risk faktörü olduğunu bulmuşlardır [131].

Moghtaderi A. ve ark. PON1 192R polimorfizminin, bir grup İran popülasyonunda laküner enfarktüsleri (beyindeki damar hasarı) geliştirmede bir risk göstergesi olarak rol oynadığını öne sürmüşlerdir [132].

Gorshunskaja M.I. ve ark. tarafından PON1 geninin Q192R polimorfizmi diabet mellitus tip 2 (T2DM) olan bireylerle yapılan çalışmada, T2DM riski QQ fenotipinin 1,47 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır [133].

Veiga L. ve ark. Q192R polimorfizminde R allelinin Portekiz Kafkasya premenopozal kadınları arasında obezite gelişimi için bir risk faktörü olduğunu bulmuşlardır [134].

Uyar O.A. ve ark. PON1 Q192R ve L55M paraoksonaz gen polimorfizmleri 60 renal hücreli karsinom hastası ve 60 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışma sonucunda, hastalar ve kontroller arasında PON1 Q192R polimorfizminde önemli farklılıklar bulmuşlardır. Q alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha sık iken, R alleli kontrol grubunda daha sık gözlemlenmiştir [7].

Bouman H.J. ve ark. stent implantasyonu yapılan ve klopidogrel tedavisi alan koroner arter hastalığı olan bireylerin popülasyonunda PON1 Q192R genotipinin

linik uygunluğunu test etmişlerdir. QQ homozigot bireylerde, stent trombozlu hastalarda yüksek bir risk gösterdiğini bulmuşlardır [135].

Söğüt E. ve ark. PON1 gen polimorfizmlerinin yaşa bağlı maküler dejenerasyon (AMD) riskini etkileyip etkilemediğini belirlemek için yaptıkları çalışma sonucunda, PON1 MM ve QQ genotipleri olan deneklerin daha düşük AMD riski olduğunu bulmuşlardır [136].

Liu H. ve ark. PON gen polimorfizmleri ve iskemik inme arasındaki ilişkiyi göstermek için yaptıkları bir analiz sonucu, R alel ve RR genotipinin artmış iskemik inme riski ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir [137].

Liu T. ve ark. yaptıkları çalışmada, PON1 Q192R polimorfizmi, Çin popülasyonunda KAH' ın duyarlılığı ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır. R allelinin KAH için bir belirteç olabileceği sonucuna varmışlardır [138].

Hernández-Díaz Y. ve ark. PON1 gen polimorfizmlerinin kalp hastalıkları üzerine etkilerini, kalp hastalıkları için genetik riskin PON1 gen polimorfizmleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Q allelinin koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceğini belirtmişlerdir [139].

Rahman M.F. ve ark. PON1 gen varyantları ile erken başlangıçlı miyokart enfarktüsü (AMI) arasındaki bağlantıyı ele almış ve 192R alleli, Mısırlılarda erken başlangıçlı için bağımsız bir risk faktörü olduğu sonucuna varmışlardır [140].

Bu çalışmaların yanı sıra, alzheimer ve koroner arter hastalığı PON1 192Q için risk faktörü olduğu, PON1 192R polimorfizmi astım, diyabet ve katarakt için risk faktörü olduğu belirtilmiştir [139, 141, 142, 143, 144].

Bu çalışmada OUAS hastalarından sepharose4B-L-tirozin-1-naftilamin jeli kullanılarak QQ izoenzimi 21,13 kat ve RR izoenzimi 20,61 kat saflaştırılmıştır. (Tablo 3.7). Litaratürde sepharose4B-L-tirozin-9-aminofenantren jeli kullanılarak QQ izoenzimi 901 kat, RR izoenzimi ise 453 kat saflaştırılmıştır [145]. Söz konusu jellerin ligantlarının farklı olması, saflaştırma derecelerinin de farklı olmasını etkilemektedir.

Histaminin vücuttaki etkilerini ortadan kaldırmak için dışarıdan verilen ilaçlara antihistaminik denir. Bu ilaçlar histaminin dokularda tutunduğu reseptörlere, daha önce tutunarak histaminin etki etmesini önler. Histamin reseptörlere tutunduktan sonra verilen antihistaminikler ortaya çıkmış etkileri yok etmez ancak yeni oluşacak etkilere izin vermezler [146]. Antihistaminiklerin en sık kullanıldıkları hastalık Alerjik

Rinit (AR)' dir. Alerjik rinit ise Obstrüktif uyku apne sendromu için potansiyel bir risk faktörüdür. Her hasta değişik antihistaminige duyarlıdır ve bu sebeple hangisinin seçileceği hastaya göre değişir [147]. Çalışmamızda antihistaminik özellik gösteren Hidroksizin HCl, Setirizin, Feksofenadin, Ruptadin fumarat, Desloratadin, Ebastin ve Feniramin olarak toplam 7 farklı ilaç kullanılmıştır. OUAS hastalarından alınan kanlardan saflaştırılmış Q ve R izoenzimleri üzerine bu ilaçların *in vitro* etkisi belirlendi. Söz konusu ilaçların Q fenotipini daha fazla inhibe ettiği saptanmıştır (Tablo 3.17).

Sonuç olarak, ilaçların hepsi *in vitro* koşullar altında paraoksonaz enzim aktiviteleri üzerinde inhibe edici etki gösterdi. İlaçların kinetik parametreleri Tablo 3.16' da sunulmuştur. İlaçların IC₅₀ değerleri %aktivite-[I] karşı çizilen grafik eğiminden hesaplanmıştır. Hidroksizin HCl (853-883 µM), Setirizin (222-274 µM), Feksofenadin (965-991µM), Ruptadin fumarat (38-47 µM), Desloratadin (2,87-2,97 µM), Ebastin (32,3-32,4 µM) saflaştırılmış insan QQ ve RR fenotipi üzerine inhibisyon etkisi yaklaşık olarak birbirine yakın bulunmuştur. Feniramin ise QQ fenotipi inhibisyon etkisi (282 µM) RR fenotipi üzerine inhibisyon etkisinden (411 µm) daha fazla bulunmuştur. RR fenotipi olan bireylere Feniramin ilacının yan etkisinin daha az olacağı görülmektedir. Ayrıca, çalışmamızda adı geçen antihistaminik ilaçların Q ve R izoenzimler üzerine *in vitro* etkileri ile ilgili çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Ancak setirizin glutatyon S-transferaz (GST) enzimi üzerine, desloratadin glukuronil transferaz (UGT) (3,86 µM) enzimi üzerine, feniramin sıçan karaciğeri aldehit oksidaz enzimi üzerine (216 µM), feksofenadin ise siklooksijenaz (COX-1, COX-2) enzimi üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir [148, 149, 150, 151].

5. KAYNAKLAR

- [1] Azarsız, E. ve Sözmen, E.Y., "Paraoksonaz ve Klinik Önemi", *Türk Biyokimya Dergisi*, 25 (3) ,109-119, (2000).
- [2] Durrington, P.N., Mackness B. and Mackness M.I., "Paraoxonase and Atherosclerosis", *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 473-480, (2001).
- [3] Ng, C. J., Shih, D. M., Hama, S. Y., Villa, N., Navab, M. and Reddy, S. T., "The paraoxonase gene family and atherosclerosis", *Free Radical Biology and Medicine*, 38(2), 153-163, (2005).
- [4] Mackness, M. I., Mackness, B. and Durrington, P. N., "Paraoxonase and coronary heart disease", *Atherosclerosis Supplements*, 3(4), 49-55, (2002).
- [5] Gürsu, M. F. ve MÖ, F. G., "Koroner Kalp Hastaları le Etiyolojik Risk Faktörlerini Taşıyan Bireylerde Paraoksonaz Aktiviteleri ve Fenotiplerinin Araştırılması", *FÜ Sağlık Bil. Dergisi*, 17(4), 237-244, (2003).
- [6] Brophy, V. H., Jampsa, R. L., Clendenning, J. B., McKinstry, L. A., Jarvik, G. P. and Furlong, C. E. "Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression", *The American journal of human genetics*, 68(6), 1428-1436, (2001).
- [7] Uyar, O. A., Kara, M., Erol, D., Ardicoglu, A. ve Yuce, H., "Investigating paraoxonase-1 gene Q192R and L55M polymorphism in patients with renal cell cancer", *Genet Mol Res*, 10(1), 133-139, (2011).
- [8] Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., Bisgaier, C., Newton, R., Rosenblat, M., et al., "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", *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 18(10), 1617-1624, (1998).

- [9] Gaspar, L. S., Álvaro, A. R., Moita, J. and Cavadas, C., "Obstructive sleep apnea and hallmarks of aging", *Trends in molecular medicine*, 23(8), 675-692, (2017).
- [10] Mackness, M. I., Mackness, B., Arrol, S., Wood, G., Bhatnagar, D. and Durrington, P. N., "Presence of paraoxonase in human interstitial fluid", *FEBS letters*, 416(3), 377-380, (1997).
- [11] Uriel, A., "Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese et immunoelectrophorese en gelose, I; applications a l'etude des esterases du serum humain normal", *Am Insit Pasteur*, 101-104, (1961).
- [12] Mackness, M. I., Mackness, B., Durrington, P. N., Connelly, P. W. and Hegele, R. A., "Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins", *Current opinion in lipidology*, 7(2), 69-76, (1996).
- [13] Erden, I., "St Elevasyonlu miyokard infarktüsülü (Stemi) hastalarda insan paraoxonase geni Met-Leu/55 Polimorfizmi", Uzmanlık Tezi, *TC Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi*, (2004).
- [14] Furlong, C.E., Richter, C., Chapline, C. and Crabb, J.W., "Purification of rabbit and human serum paraoxonase", *Biochemistry*, 30, 10133-10141, (1991).
- [15] Rodrigo, L., Gil, F., Hernandez, A.F. and Pla, A., "Identification of two rat liver proteins with paraoxonase activity: biochemical evidence for the identity of paraoxonase and arylesterase", *Chem. Biol. Interact*, 119-120, 263-275, (1999).
- [16] Bastos, C., Rossini, A., Alves, M.V., Ceccarelli, P.S., Lima, J.A.F. and Bastos, J.C., "Paraoxonase activity in sera from *Piaractus mesopotamicus holmberg* (Characidae) and *Hypostomus punctatus valenciennes* (Siluridae)", *Revta bras. Zool*, 15(3), 665-675, (1998).
- [17] Keizer, J., D'Agostina, G. and Vittozi, L., "The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*)", *Aquatic toxic.*, 21, 239-254, (1991).

- [18] La Du, B.N., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R.C. and Standiford, T.J., "On The Physiological Role(s) of The Paraoxonases", *Chemico-Biological Interactions*, 379–388, (1999).
- [19] Mackness B., D.P.N. and Mackness M.I, "Human Serum Paraoxonase", *Gene Pharmacy*, 31(3) ,329-36, (1998).
- [20] Suchocka, Z., Swatowska, J., Pachecka, J. and Suchocki, P., "RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum", *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 42(1), 113-119, (2006).
- [21] Mackness, B., Durrington, P. N. and Mackness, M. I., "The paraoxonase gene family and coronary heart disease", *Current opinion in lipidology*, 13(4), 357-362, (2002).
- [22] Gan, K.N., Smolen A., Eckerson H.W. and La Du BN., "Purification of Human Serum Paraoksonase/Arylesterase, Evidence for One Esterase Catalyzing Both Activities", *Drug Metab. Dispos.*, 19 (1) , 100-6, (1991),
- [23] Jawad, Z. and Paoli, M., "Noval Sequences Propel Familiar Folds", *Structure*, 10, 447-454, (2002).
- [24] Mackness, M.I., "Commentary. 'A' esterases, Enzymes looking for a role?", *Biochem. Pharmacol*, 38, 385, (1989).
- [25] Reiner, E., Aldridge, W. N. and Hoskin, F. C., "Enzymes hydrolysing organophosphorus compounds", In International Meeting on Esterases Hydrolysing Organophosphorus Compounds (1988: Dubrovnik, Croatia), E. Horwood, (1989).
- [26] Josse, D., Ebel, C., Stroebel, D., Fontaine, A., Borges, F., Echaliier, A., et al., "Oligomeric states of the detergent-solubilized human serum paraoxonase (PON1)", *Journal of Biological Chemistry*, 277(36), 33386-33397, (2002).
- [27] Arslan, O. ve Sinan, S., "İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yeni Bir Yöntemle Safalaştırılması ve Bazı Antibiyotiklerin Enzim Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması", Doktora tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2005).

- [28] Lusis, A.J., "Atherosclerosis", *Nature*, 407, 233, (2000).
- [29] Mackness, B., Davies, G.K., Turkei, W., Lee, E., Roberts, D.H., Hill, E., et al., "Paraoxonase Status in Coronary Heart Disease", *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol*, 21, 1451, (2001).
- [30] Biggadike, K., Angell, R.M., Burgess, C.M., Farrell, R.M., Hancock, A.P., Harker, A.J., et al., "Selective plasma hydrolysis of glucocorticoid -lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: An ideal plasma inactivation mechanism", *J. Med. Chem*, 43, 19, (2000).
- [31] Teiber, J.F., Draganov, D.I and La Du Bert., "Lactonase and lactonizing activities human serum paraoxonase (PON1) and rabbit serum PON3", *Biochemical Pharmacology*, 66, 887–896, (2003).
- [32] Billecke, S., Draganov, D., Councell, R., Stetson, P., Watson, C., Hsu, C. and La Du, B.N., "Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyse lactones and cyclic carbonate esters", *Drug Metab. Dispos*, 28(11), 1335, (2000).
- [33] Costa, L. G., Li, W. F., Richter, R. J., Shih, D. M., Lusis, A. J. and Furlong, C. E., "PON1 and organophosphate toxicity", In *Paraoxonase (PON1) in Health and Disease*, 165-183, (2002).
- [34] Broomfield, C.A. and Ford, K.W., "Hydrolysis of nerve gasses by plasma enzymes", *Proceedings of the 3rd International Meeting on Cholinesterases*, La Grande-Motte, 167, (1991).
- [35] Baillie, T.A., Moldeus, P., Mason, R.P. and Younes, M., "Enzymes Interacting with Organophosphorus Compounds", *Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd, Shannon*, (1993).
- [36] Sorenson, R.C., Primo-Parmo, S.L., Kuo, C.L., Adkins, S., Lockridge, O. and La Du, B.N., "Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 7187, (1995).

- [37] Borhani, D. W., Rogers, D. P., Engler, J. A. and Brouillette, C. G., "Crystal structure of truncated human apolipoprotein AI suggests a lipid-bound conformation", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(23), 12291-12296, (1997).
- [38] Deakin, S.P. and James, R.W., "Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase", *Clinical Science*, 107, 435-447, (2004).
- [39] James, R. W. and Deakin, S. P., "The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity", *Free Radical Biology and Medicine*, 37(12), 1986-1994, (2004).
- [40] Deakin, S., Leview, I., Gomaraschi, M., Calabresi, L., Franceschini, G. and James, R.W., "Enzymatically active paraoxonase-1 is located at external membrane of producing cells and released by high affinity", *J.Biol.Chem*, 277, 4301-4308, (2002).
- [41] Gealy, R., Zhang, L., Siegfried, J.M., Luketich, J.D. and Keohavong, P., "Comparison of mutation in the p53 and K-ras genes in lung carcinomas from smoking and nonsmoking women", *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 8, 297-302, (1999).
- [42] Klimov, A. N., Gurevich, V. S., Nikiforova, A. A., Shatilina, L. V., Kuzmin, A. A., Plavinsky, S. L. and Teryukova, N. P., "Antioxidative activity of high density lipoproteins in vivo", *Atherosclerosis*, 100(1), 13-18, (1993).
- [43] Humbert, R., Adler, D.A., Distech, C.M., Hassett, C., Omiecinski, C.J. and Furlong, C.E., "The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism", *Nat Genet*, 3, 73-76, (1993).
- [44] Blatter, G.M.C., Abbott, C., Messmer, S., Mackness, M., Durrington, P.N., Pometta, D. and James, R.W., "Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations", *Biochem. J*, 304, 549, (1994).
- [45] Josse, D., Xie, W., Renault, F., Rochu, D., Schopfer, L. M., Masson, P., et al., "Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1)

arylesterase/organophosphatase activities", *Biochemistry*, 38(9), 2816-2825, (1999).

- [46] Leviev, I., Negro, F. and James, R.W., "Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA: an explanation for differences in serum concentrations of paraoxonase associated with the (Leu-Met54) polymorphism", *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 17, 3935, (1997).
- [47] Deakin, S., Leviev, I., Guernier, S. and James, R.W., "Simvastatin modulates expression of the PON1 gene and increases serum paraoxonase: a role for sterol regulatory element-binding protein-2", *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 23, 2083, (2003).
- [48] Feingold, K.R., Memon, R.A., Moser, A.H. and Grunfeld, C., "Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response", *Atherosclerosis*, 139, 307, (1998).
- [49] Hassett, C., Richter, R.J., Humbert, R., Chapline, C., Crabb, J.W., Omiecinski, C.J. and Furlong, C.E., "Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence", *Biochemistry*, 30, 10141, (1991).
- [50] Oda, M.N., Bielicki, J.K., Berger, T. and Forte, T.M., "Cysteine substitutions in apolipoprotein a-I primary structure modulate paraoxonase activity", *Biochem*, 40, 1710, (2001).
- [51] Costa, L.G., Cole, T.B., Jarvik, G.P. and Furlong, C.E., "Functional Genomics of the paraoxonase (PON1) Polymorphisms: Effects on Pesticide Sensitivity, Cardiovascular Disease, and Drug Metabolism", *Annu. Rev. Med*, 54, 371-92, (2003).
- [52] Geldmacher, M., Hommel, G. and Dumbach, J., "On The Genetics of The Human Paraoxonase", *Hum. Genet*, 50(3), 313-326, (1979).
- [53] Playfer, J., Eze, L.C., Bullen, M.F. and Evans, A.P., "Genetic Polimorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity", *J. Med. Genet*, 13, 337-342, (1976).

- [54] Heinecke, J.W. and Lusis, A.J., "Paraoxonase-Gene Polymorphisms Associated with Coronary Heart Disease: Support for the Oxidative Damage Hypothesis?", *Am. J. Hum. Genet.*, 62, 20–24, (1998).
- [55] Schmidt, H. and Schmidt, R., " PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study", *Stroke*, 29, 2043–2048, (1998).
- [56] Serrato M. and Marian A.J., "A variant of the human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease", *J Clin Invest.*, 96, 3005-3008, (1995).
- [57] Eckerson, H. W., Romson, J., Wyte, and C. La Du, B. N., "The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts", *American journal of human genetics*, 35(2), 214, (1983).
- [58] Sorenson, R.C., Primo-Parmo, S.L., Camper, S.A. and La Du, B.N., "The genetic mapping and gene structure of mouse paraoxonase/arylesterase", *Genomics*, 30, 431-38, (1995).
- [59] Leviev, I. and James, R. W., "Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations", *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20(2), 516-521, (2000).
- [60] Li, H.L., Liu, D.P. and Liang, C.C., " Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases", *J Mol Med*, 81, 766–779, (2003).
- [61] Leviev, I. and James, R. W., "Promoter Polymorphisms of the Human Paraoxonase PON1 Gene and Serum Paraoxonase Activities and Concentrations", *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 516-521, (2000).
- [62] Aynacioglu, A., Cascorbi., Mrozikiewicz, P.M., Nacak, M., Tapanyigit, E.E. and Roots, I., "Paraoxonase 1 Mutations in A Turkish Population", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157, 174-177, (1999).
- [63] Osei-Hyiaman D, H.L., Mengbai, F., Zhiyin, R., Zhiming, Z. and Kano K., "Coronary artery disease risk in Chinese type 2 diabetics: is there a role for paraoxonase 1 gene (Q192R) polymorphism?", *Eur J Endocrinol*, 144, 639-644, (2001).

- [64] Hegele, R.A., "Paraoxonase Genes and Disease", *Ann. Med.*, 31, 217-224, (1999).
- [65] Voetsch B, B.K., Damasceno B.P, Siqueira L.H. and Loscalzo, J., "Paraoxonase 192 Gln!Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial is chemic stroke among young adults", *Stroke*, 33, 1459-1464, (2002).
- [66] Ikeda T, O.H., Hasegawa, G., Nakamura, N., Yoshikawa, T., Imamura, Y., Koizumi, K. and Kinoshita, S., "Paraoxonase Gene Polymorphisms And Plasma oxidized Low-Density Lipoprotein Level As Possible Risk Factors For Exudative Age-Related Macular Degeneration", *Am J Ophthalmol*, 132, 191-195, (2001).
- [67] Konda I, Y.M., "Genetic Polymorphism of Paraoxonase 1 (PON1) and Susceptibility to Parkinson's Disease", *Brain Res*, 806, 271-273, (1998).
- [68] Rosenberg, R. S. and Van Hout, S., "The American Academy of Sleep Medicine inter-scorer reliability program: sleep stage scoring", *Journal of clinical sleep medicine: JCSM: official publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 9(1), 81, (2013).
- [69] Gaspar, L. S., Álvaro, A. R., Moita, J. and Cavadas, C. "Obstructive sleep apnea and hallmarks of aging", *Trends in molecular medicine*, 23(8), 675-692, (2017).
- [70] Mulgrew, A. T., Nasvadi, G., Butt, A., Cheema, R., Fox, N., Fleetham, J. A., et al., "Risk and severity of motor vehicle crashes in patients with obstructive sleep apnoea/hypopnoea", *Thorax*, 63(6), 536-541, (2008).
- [71] Sivertsen, B., Øverland, S., Glozier, N., Bjorvatn, B., Mæland, J. G. and Mykletun, A., "The effect of OSAS on sick leave and work disability", *European Respiratory Journal*, 32(6), 1497-1503, (2008).
- [72] Shamsuzzaman, A. S., Gersh, B. J. and Somers, V. K. "Obstructive sleep apnea: implications for cardiac and vascular disease", *Jama*, 290(14), 1906-1914, (2003).

- [73] Drager, L. F., Lopes, H. F., Maki-Nunes, C., Trombetta, I. C., Toschi-Dias, E., Alves, M. J. N., et al., "The impact of obstructive sleep apnea on metabolic and inflammatory markers in consecutive patients with metabolic syndrome", *PloS one*, 5(8), 12065, (2010).
- [74] Gozal, D., Ham, S. A. and Mokhlesi, B., "Sleep apnea and cancer: analysis of a nationwide population sample", *Sleep*, 39(8), 1493-1500, (2016).
- [75] Douglas, N., Young, A., Roebuck, T., Ho, S., Miller, B. R., Kee, K., et al., "Prevalence of depression in patients referred with snoring and obstructive sleep apnoea", *Internal medicine journal*, 43(6), 630-634, (2013).
- [76] Rosenzweig, I., Glasser, M., Polsek, D., Leschziner, G. D., Williams, S. C. and Morrell, M. J., "Sleep apnoea and the brain: a complex relationship", *The Lancet Respiratory Medicine*, 3(5), 404-414, (2015).
- [77] Bozbař, S.ř. ve Akkurt, E.S., "Obstruktif Uyku Apne Sendromu şiddetinin Karotis Arter İntima- Media Kalınlığı ve Serum Paraoksonaz Düzeyi İle İlişkisi", Uzmanlık Tezi, *Bařkent Üniversitesi Tıp Fakóltesi*, Göğüs Hastalıkları Anabilim dalı, Ankara, (2014).
- [78] Izci, B., Ardic, S., Firat, H., Sahin, A., Altinors, M. ve Karacan, I., "Reliability and validity studies of the Turkish version of the Epworth Sleepiness Scale", *Sleep and Breathing*, 12(2), 161-168, (2008).
- [79] Friedman, M., Tanyeri, H., La Rosa, M., Landsberg, R., Vaidyanathan, K., Pieri, S. and Caldarelli, D., "Clinical predictors of obstructive sleep apnea", *The Laryngoscope*, 109(12), 1901-1907, (1999).
- [80] Nieto, F. J., Young, T. B., Lind, B. K., Shahar, E., Samet, J. M., Redline, S., et al., "Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study", *Jama*, 283(14), 1829-1836, (2000).
- [81] Shahar, E., Whitney, C. W., REdline, S., Lee, E. T., Newman, A. B., Javier Nieto, F., et al., "Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study", *American journal of respiratory and critical care medicine*, 163(1), 19-25, (2001).

- [82] Mackness, M. I., Harty, D., Bhatnagar, D., Winocour, P. H., Arrol, S., Ishola, M., et al., "Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus", *Atherosclerosis*, 86(2), 193-199, (1991).
- [83] Kotani, K., Kimura, S., Tsuzaki, K., Sakane, N., Komada, I., Schulze, J., et al., "Reduced paraoxonase 1/arylesterase activity and its post-therapeutic increase in obstructive sleep apnea syndrome: a preliminary study", *Clinica chimica acta*, 395(1-2), 184-185, (2008).
- [84] Gugliucci, A. and Menini, T., "Paraoxonase 1 and HDL maturation", *Clinica chimica acta*, 439, 5-13, (2015).
- [85] Ravera, A., Carubelli, V., Sciatti, E., Bonadei, I., Gorga, E., Cani, D., et al., "Nutrition and cardiovascular disease: finding the perfect recipe for cardiovascular health", *Nutrients*, 8(6), 363, (2016).
- [86] Ferrari R. and Fox K., "Heart rate reduction in coronary artery disease and heart failure", *Nature reviews Cardiology*, 13:493–501, (2016).
- [87] Agrawal, S., Tripathi, G., Prajnya, R., Sinha, N., Gilmour, A., Bush, L., et al., "Paraoxonase 1 GENE polymorphisms contribute to coronary artery disease risk", *Indian J Med Sci.*, 63(8), (2009).
- [88] Ko, Y. L., Ko, Y. S., Wang, S. M., Hsu, L. A., Chang, C. J., Chu, P. H., 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*, 141(2), 259-264, (1998).
- [89] James R, L.I., Ruiz, J., Passa, P., Fuegel, P. and Gavin, M.C.B., "Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients", *Diabetes*, 29, (2000).
- [90] Packard, C. and Shepherd, J., "Trigliseridler ile koroner kalp hastalığı arasındaki bağlantının metabolik temeli", (Eds.: Born GVR, Schwartz CJ), *Koroner Kalp Hastalığında Yeni Ufuklar'da*, Turgut Yayıncılık Tic. A.Ş., İstanbul, 1-2, (1995).
- [91] Yavuz, D., Deyneli, O., Yüksel, M., Toprak, A., Aydın, H. ve Akalın, S., "P022- TiP 1 Diyabetik Hastalarda Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Endotel

- Fonksiyonu ile İlişkisi", *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 7(1), (2003).
- [92] Marchesani, M., Tuomainen, T.P., Kaikkonen, J., Pukkala, E., Uimari, P., Seppala, E., et al., "New Paraoxonase 1 Polymorphism I102V and the Risk of Prostate Cancer in Finnish Men", *Journal of the National Cancer Institute*, 95(11), 812-818, (2003).
- [93] Suehiro T, I.Y., Ohsaki, F., Arii, K., Kumon, Y. and Hashimoto, K., "Relationships between polymorphism of the human serum paraoxonase gene and insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes", *Diabetes Res Clin Pract*, 60(2), 79-85, (2003).
- [94] Sanghera, D.K, Saha, N and Kamboh M.I., "The codon 55 polymorphism in the paraoxonase 1 gene is not associated with the risk of coronary heart disease in Asian Indians and Chinese.", *Atherosclerosis*, 136(2), 217-23, (1998).
- [95] Yavuz, D., Yüksel, M., Aydın, H., Deyneli, O. ve Akalın, S., "S002- Hipertiroidide Serum Paraoksonaz aktivitesi azalmaktadır", *Turkish Journal of Endocrinology and metabolism*, 7(1), (2003).
- [96] Elkiran, E. T., Mar, N., Aygen, B., Gursu, F., Karaoglu, A. and Koca, S., "Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population", *BMC cancer*, 7(1), 48, (2007).
- [97] Goswami, B., Tayal, D., Gupta, N. and Mallika, V., "Paraoxonase: a multifaceted biomolecule", *Clinica Chimica Acta*, 410(1-2), 1-12, (2009).
- [98] Camuzcuoglu, H., Arioiz, D. T., Toy, H., Kurt, S., Celik, H. and Erel, O., "Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer", *Gynecologic oncology*, 112(3), 481-485, (2009).
- [99] Pasca, S. P., Nemeş, B., Vlase, L., Gagyi, C. E., Dronca, E., Miu, A. C., et al., "High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism", *Life sciences*, 78(19), 2244-2248, (2006).
- [100] Paragh, G., Balla, P., Katona, E., Seres, I., Égerházi, A. and Degrell, I., "Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and

vascular dementia”, *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 252(2), 63-67, (2002).

- [101] Sarandol, A., Kirli, S., Akkaya, C., Ocak, N., Eroz, E. and Sarandol, E., “Coronary artery disease risk factors in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment”, *Journal of Psychopharmacology*, 21(8), 857-863, (2007).
- [102] Bodolay, E., Seres, I., Szodoray, P., Csípo, I., Jakab, Z., Vegh, J., et al., “Evaluation of paraoxonase activity in patients with mixed connective tissue disease”, *The Journal of rheumatology*, 35(2), 237-243, (2008).
- [103] Isik, A., Koca, S. S., Ustundag, B., Celik, H. and Yildirim, A., “Paraoxonase and arylesterase levels in rheumatoid arthritis”, *Clinical rheumatology*, 26(3), 342-348, (2007).
- [104] Karakucuk, S., Baskol, G., Oner, A. O., Baskol, M., Mirza, E. and Ustdal, M. “Serum paraoxonase activity is decreased in the active stage of Behcet’s disease”, *British journal of ophthalmology*, 88(10), 1256-1258, (2004).
- [105] Bachert, C., “Histamine-a major role in allergy?”, *Clinical and Experimental Allergy*, 28(6), 15-19, (1998).
- [106] Vardanyan, R. and Hruby, V., “Synthesis of best-seller drugs”, *Academic Press*, (2016).
- [107] “Hidroksizin HCl [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca.
- [108] “Setirizin [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca.
- [109] “Feksofenadin [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca
- [110] “Rupatadin Fumarat [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca
- [111] “Desloratadin [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca
- [112] “Ebastin [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca
- [113] “Feniramin [online]”, (7 Şubat 2018), www.drugbank.ca

- [114] Sinan, S., Kockar, F. and Arslan, O., "Novel purification strategy for human PON1 and inhibition of the activity by cephalosporin and aminoglikozide derived antibiotics", *Biochimie*, 88(5), 565-574, (2006).
- [115] Aldridge, W. N., "Serum esterases. 1. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination", *Biochemical Journal*, 53(1), 110, (1953).
- [116] Aldridge, W. N., "Serum esterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera", *Biochemical journal*, 53(1), 117, (1953).
- [117] Ponce-Ruiz, N., Murillo-González, F. E., Rojas-García, A. E., Mackness, M., Bernal-Hernández, Y. Y., Barrón-Vivanco, B. S., et al., "Transcriptional regulation of human paraoxonase 1 by nuclear receptors", *Chemico-biological interactions*, 268, 77-84, (2017).
- [118] Kalkbrenner, C., Eichenlaub, M., Rüdiger, S., Kropf-Sanchen, C., Rottbauer, W. and Brucher, R., "Apnea and heart rate detection from tracheal body sounds for the diagnosis of sleep-related breathing disorders", *Medical & biological engineering & computing*, 56(4), 671-681, (2018).
- [119] Jordan, A. S., McSharry, D. G. and Malhotra, "A. Adult obstructive sleep apnoea", *The Lancet*, 383(9918), 736-747, (2014).
- [120] Kaneko, Y., Floras, J. S., Usui, K., Plante, J., Tkacova, R., Kubo, T., et al, "Cardiovascular effects of continuous positive airway pressure in patients with heart failure and obstructive sleep apnea", *New England Journal of Medicine*, 348(13), 1233-1241, (2003).
- [121] Van Lenten, B. J., Navab, M., Shih, D., Fogelman, A. M. and Lusis, A. J., "The role of high-density lipoproteins in oxidation and inflammation", *Trends in cardiovascular medicine*, 11(3), 155-161, (2001).
- [122] Rantala, M., Silaste, M. L., Tuominen, A., Kaikkonen, J., Salonen, J. T., Alfthan., et al, "Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women", *The Journal of nutrition*, 132(10), 3012-3017, (2002).

- [123] Costa, L. G., Vitalone, A., Cole, T. B., and Furlong, C. E., "Modulation of paraoxonase (PON1) activity", *Biochemical pharmacology*, 69(4), 541-550, (2005).
- [124] Berkkan, H. ve Aksoy, P., "Akciğer Kanserinde Paraoksonaz 192 ve 55 gen polimorfizmleri ve serum paraoksonaz aktivitesinin incelenmesi", Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, (2005).
- [125] Mitra, S. and Kshatriya, G., "Genetic variation at Q192R and L55M polymorphisms in PON1", *Environmental toxicology and pharmacology*, 45, 251-256, (2016).
- [126] La Du and B.N., "Human serum paraoxonase/arylesterase, In Pharmacogenetics of Drug Metabolism", *Pergamon Pres*, 51, (1992).
- [127] Takayuki, S., Pahwa, P., McDuffie, H. H., Shindo, J., Goto, S., Hashimoto, M., et al., "Association between paraoxonase-1 Q192R polymorphism and lung function among Saskatchewan grain handlers", (2007).
- [128] Balcerzyk, A., Zak, I. and Krauze, J., "Synergistic effects between Q192R polymorphism of paraoxonase 1 gene and some conventional risk factors in premature coronary artery disease", *Archives of medical research*, 38(5), 545-550, (2007).
- [129] Andersen, H. R., Wohlfahrt-Veje, C., Dalgård, C., Christiansen, L., Main, K. M., Nellesmann, C., et al., "Paraoxonase 1 polymorphism and prenatal pesticide exposure associated with adverse cardiovascular risk profiles at school age", *PLoS One*, 7(5), (2012).
- [130] Saadat, M., "Paraoxonase 1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer: a meta-analysis", *Cancer epidemiology*, 36(2), 101-103, (2012).
- [131] Yaghmaei, M., Hashemi, M., Azarian, A., Moazeni-Roodi, A., Mokhtari, M., Naghavaei, A., et al., "Association of L55M and Q192R polymorphisms of paraoxonase-1 gene with preeclampsia", *Archives of medical research*, 42(4), 324-328, (2011).

- [132] Moghtaderi, A., Hashemi, M., Dabiri, S., Moazeni-Roodi, A. and Hosseini, M., "Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lacunar infarction: A case control study", *Clinical biochemistry*, 44(4), 288-292, (2011).
- [133] Gorshunskaya, M. Y., Karachentsev, Y. I., Atramentova, L. A., Tyzhnenko, T. V., Kravchun, N. A., Pochernyaev, A. K., et al., "Q192R polymorphism of PON-1 gene in type 2 diabetes patients", *Cytology and Genetics*, 45(1), 38-40, (2011).
- [134] Veiga, L., Silva-Nunes, J., Melão, A., Oliveira, A., Duarte, L. and Brito, M., "Q192R polymorphism of the paraoxonase-1 gene as a risk factor for obesity in Portuguese women", *European journal of endocrinology*, 164(2), 213-218, (2011).
- [135] Bouman, H. J., Schömig, E., Van Werkum, J. W., Velder, J., Hackeng, C. M., Hirschhäuser, et al., "Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy", *Nature medicine*, 17(1), 110, (2011).
- [136] Sögüt, E., Ortak, H., Aydogan, L., and Benli, I., "Association of paraoxonase 1 L55M and Q192R single-nucleotide polymorphisms with age-related macular degeneration", *Retina*, 33(9), 1836-1842, (2013).
- [137] Liu, H., Xia, P., Liu, M., Ji, X. M., Sun, H. B., Tao, L. and Mu, Q. W., "PON gene polymorphisms and ischaemic stroke: a systematic review and meta analysis", *International Journal of Stroke*, 8(2), 111-123, (2013).
- [138] Liu, T., Zhang, X., Zhang, J., Liang, Z., Cai, W., Huang, M., et al., "Association between PON1 rs662 polymorphism and coronary artery disease" *European journal of clinical nutrition*, 68(9), 1029, (2014).
- [139] Hernández-Díaz, Y., Tovilla-Zárate, C. A., Juárez-Rojop, I. E., González-Castro, T. B., Rodríguez-Pérez, C., López-Narváez, M. L., et al., "Effects of paraoxonase 1 gene polymorphisms on heart diseases: Systematic review and meta-analysis of 64 case-control studies", *Medicine*, 95(44), (2016).
- [140] Rahman, M. F. A., Hashad, I. M., Abou-Aisha, K., Abdel-Maksoud, S. M. and Gad, M. Z., "Addressing the link between paraoxonase-1 gene variants and the incidence of early onset myocardial infarction", *Archives of medical science: AMS*, 11(3), 513, (2015).

- [141] Pi, Y., Zhang, L., Chang, K., Li, B., Guo, L., Fang, C., et al., "Lack of an association between Paraoxonase 1 gene polymorphisms (Q192R, L55M) and Alzheimer's disease: a meta-analysis", *Neuroscience letters*, 523(2), 174-179, (2012).
- [142] Sarioglu, N., Hismiogullari, A. A., Erel, F., Demir, D. and Gencer, N., "Paraoxonase 1 phenotype and paraoxonase activity in asthmatic patients", *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 14(1), 60, (2015).
- [143] Fekih, O., Triki, S., Rejeb, J., Neffati, F., Douki, W., Ommezzine, A., et al., "Paraoxonase 1 polymorphisms (L55M and Q192R) as a genetic marker of diabetic nephropathy in youth with type 1 diabetes", *Endokrynologia Polska*, 68(1), 35-41, (2017).
- [144] Baig, A., Zohaib, M. and Zarina, S., "Q192R paraoxonase1 polymorphism is a risk factor for cataract in Pakistani population", *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 29(3), (2016).
- [145] Gençer, N., ve Arslan O., "Paraoksonaz Q ve R izoenzimlerinin saflaştırılması ve bazı çevre kirleticilere karşı afinitesinin araştırılması", Doktora tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2008).
- [146] "Antihistaminik [online]", (7Şubat 2018) <https://tr.wikipedia.org/wiki/Antihistaminik>.
- [147] Stewart, M.G., "Identification and management of undiagnosed and undertreated allergic rhinitis in adults and children", *Clinical & Experimental Allergy*, 38(5), 751-760, (2008).
- [148] Teixeira, M., Almeida, Â., Calisto, V., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Wrona, F. J., et al., "Toxic effects of the antihistamine cetirizine in mussel *Mytilus galloprovincialis*" *Water research*, 114, 316-326, (2017).
- [149] Pattanawongsa, A., Nair, P. C., Rowland, A., and Miners, J. O. "Human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 2B10: validation of cotinine as a selective probe substrate, inhibition by UGT enzyme-selective inhibitors and

antidepressant and antipsychotic drugs, and structural determinants of enzyme inhibition”, *Drug Metabolism and Disposition*, 44(3), 378-388, (2016).

[150] Robertson, I. G., and Gamage, R. S. “Methadone: a potent inhibitor of rat liver aldehyde oxidase”, *Biochemical pharmacology*, 47(3), 584-587, (1994).

[151] Juergens, U. R., Gillissen, A., Uen, S., Racké, K., Stöber, M., Darlath, W., et al., “New evidence of H1-receptor independent COX-2 inhibition by fexofenadine HCl in vitro”, *Pharmacology*, 78(3), 129-135, (2006).