

**KORONER BY-PASS CERRAHİSİ (CABG)
PLANLANAN HASTALARDA PON 1 VE PON 2
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Yaşar SIVACI

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. Yasemin SOYSAL

Tez No: 2011 – 005

2011-Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KORONER ARTER BY-PASS CERRAHİSİ PLANLANAN HASTALARDA
PON1 ve PON2 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Yaşar SIVACI

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yard.Doç.Dr.Yasemin SOYSAL

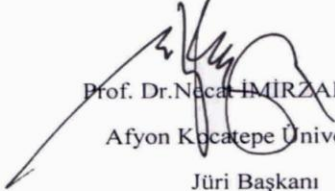
KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Genetik Programı

Çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07/02/2011


Prof. Dr. Necatî MİRZALIOĞLU

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Yusuf TUNCA

Gülhane Askeri Tıp Akademisi

Üye



Yard. Doç. Dr. Yasemin SOYSAL

Afyon Kocatepe Üniversitesi

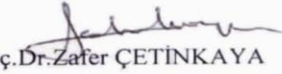
Danışman



Doç. Dr. Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

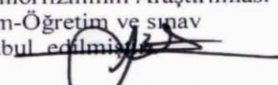


Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Yaşar SIVACI'nın " Koroner Bypass Cerrahisi(CABG) Planlanan Hastalarda PON 1 ve PON 2 Polimorfizminin Araştırılması " başlıklı tezi..11.02.2011..günü saat.14.00..'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Esma KOZAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tıbbi genetik eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve bana emeği geçen değerli hocam Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU'na; deneyimlerinden faydalandığım danışman hocam Yard.Doç.Dr.Yasemin SOYSAL'a; bölüm hocalarımızdan bana emeği geçen Yard.Doç.Dr. Serap TUTGUN ONRAT'a; tezimin hazırlanmasında destek ve katkıları olan Doç.Dr. Cevdet KOÇOĞULLARI'na Doç.Dr. Mustafa EMMİLER'e; klinik genetik rotasyonum sırasında değerli bilgilerinden yararlandığım ve bana emeği geçen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD öğretim üyeleri Prof.Dr. Cihangir ÖZKINAY ve Prof.Dr. Ferda ÖZKINAY hocalarıma en içten şükranlarımı sunarım. Ayrıca tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Yard.Doç.Dr. Nurhan DOĞAN'a, biyokimyasal parametrelerin çalışılmasındaki yardımlarından dolayı Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Şefi Prof. Dr. Özcan EREL'e ve aynı klinikte araştırma görevlisi olan Dr.Salim NEŞELİOĞLU'na ve Dr. Semra IŞIKOĞLU'na; asistanlık sürecini birlikte paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve hastane personeline teşekkür ederim.

Beni yetiştiren fedakar anne ve babama, eşime ve oğluma en içten teşekkürlerimle...

Dr. Yaşar SIVACI

İÇİNDEKİLER

| | sayfa |
|---|-------|
| Kabul ve Onay | ii |
| Önsöz | iii |
| İçindekiler | iv |
| Simgeler ve Kısaltmalar | vi |
| Birimler | vii |
| Şekiller | viii |
| Çizelgeler | ix |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Koroner Arter Hastalığı (KAH) | 4 |
| 2.2. Diabetes Mellitus (DM) | 6 |
| 2.2.1. Diabetes Mellitus Tanımı | 6 |
| 2.2.2. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi | 7 |
| 2.2.3. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması | 8 |
| 2.2.4. Diabetes Mellitus Etiyopatogenezi | 11 |
| 2.2.5. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri | 13 |
| 2.2.6. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları | 14 |
| 2.3. Hipertansiyon (HT) | 15 |
| 2.4. Paraoksonaz (PON) Geni | 18 |
| 2.4.1. PON Gen Ailesi | 18 |
| 2.4.2. Paraoksonaz Enzimin Yapısı | 20 |
| 2.5. Polimorfizm Genel Bilgisi | 23 |
| 2.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) | 23 |
| 2.5.2. Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) | 24 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 25 |
| 3.1. Hasta ve Kontrol Grupları | 25 |
| 3.2. Kullanılan Cihazlar | 26 |
| 3.3. Kullanılan Sarf Malzemeler | 27 |
| 3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler | 27 |
| 3.5. Kullanılan Kitler | 27 |
| 3.6. Primerler | 28 |
| 3.7. Solusyon ve Tamponların Hazırlanması | 29 |
| 3.7.1. DNA İzolasyon Kiti Presipitasyon Solusyonunun Hazırlanması | 29 |
| 3.7.2. 0,5X TBE Solusyonu Hazırlama | 29 |
| 3.7.3. %2'lik Agaroz Jel Hazırlama | 29 |
| 3.8. Periferik Kandan DNA İzolasyonu | 30 |
| 3.9.1. PON1 Geni L55M Polimorfizmi PCR Koşulları | 30 |

| | |
|---|----|
| 3.9.2. PON1 Geni L55M Polimorfizmi Hin1 I ile Enzim Kesimi | 31 |
| 3.10.1. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi PCR Koşulları | 32 |
| 3.10.2. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi Acl I ile Enzim Kesimi | 32 |
| 3.11.1. PON2 Geni S311C Polimorfizmi PCR Koşulları | 33 |
| 3.11.2. PON2 Geni S311C Polimorfizmi HypF3 I ile Enzim Kesimi | 33 |
| 3.12. Paraoksonaz Aktivite Ölçümü | 35 |
| 3.13. Hardy Weinberg Eşitliği (HWE) | 35 |
| 3.14. İstatistiksel Analiz | 36 |
| 4. BULGULAR | 37 |
| 5. TARTIŞMA | 51 |
| 6. SONUÇ | 57 |
| ÖZET | 58 |
| SUMMARY | 60 |
| KAYNAK DİZİNİ | 62 |
| ÖZGEÇMİŞ | 74 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------------|--|
| ACE: | Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim |
| ADA: | American Diabetes Association |
| Alw 1 (BspP I) : | Basillus Species d 1-34 Restriksiyon Enzimi |
| apo-A1: | Apolipoprotein A1 |
| apo-J1: | Apolipoprotein J1, Klusterin |
| AR: | Aril esteraz |
| AS: | Ateroskleroz |
| C (Cys): | Sistein |
| Ddel (HpyF3 I): | Helicobacter Pylori RFL3 Restriksiyon Enzimi |
| DM: | Diabetes Mellitus |
| ESC: | European Society of Cardiology; |
| ESH: | European Society of Hypertension; |
| HDL: | Yüksek Dansiteli Lipoprotein |
| Hin1 II (Nla III): | Haemophilus İnfluenza RFL1 Restriksiyon Enzimi |
| HMG Co-A Redüktaz: | 3-Hidroksi-3-Metil-Glutaril-KoA Redüktaz |
| JNC: | Joint National Committee; Birleşik Ulusal Komite |
| KAH: | Koroner Arter Hastalığı |
| L (Leu) : | Lösin |
| LDL: | Düşük Dansiteli Lipoprotein |
| M (Met): | Metionin |
| MODY: | Maturity Onset of Diabetes of theYoung, Genç yaşta başlayan diabet |
| NO: | Nitrik Oksit |
| NOS: | Nitrik Oksit Sentaz |
| OGTT : | Oral Glukoz Tolerans Testi |
| PAF-AH | Platelet Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz |
| PCR: | Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu=PZR) |
| PON : | Paraoksonaz |
| Q (Glu) : | Glutamin |
| S (Ser) : | Serin |
| SNP: | Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi=TNP) |
| T2DM : | Tip 2 Diabetes Mellitus |
| VKİ : | Vücut Kitle İndeksi |
| VYA : | Vücut Yüzey Alanı |
| WHO : | Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) |

BİRİMLER

SI Birimleri İle Kullanılan Ön Ekler

| Çarpan | Ön Ek | Sembol |
|---------------|--------------|---------------|
| 10^{-6} | Mikro | μ |
| 10^{-3} | Mili | M |

Temel Birimler

| Temel Nicelik | İsim | Sembol |
|----------------------|-------------|--------------------|
| Uzunluk | Metre | M |
| Kütle | Kilogram | Kg |
| Elektrik Akımı | Amper | A |
| Madde Miktarı | Mole | Mol |
| Sıcaklık | Celsius | $^{\circ}\text{C}$ |
| Zaman | Dakika | 1 min= 60 s |
| Hacim | Litre | L, ℓ |

Fiziksel Nicelik

| | İsim | Sembol |
|------|-------------|---------------|
| Alan | Metrekare | m^2 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Kas Lifinde İnsülin Direnci ile İndüklenen Lipid Modeli | 12 |
| Şekil 2. İnsan Serum Paraoksonaz (PON 1) Enziminin Yapısı | 22 |
| Şekil 3. PON 1 55 PCR Görüntüsü | 48 |
| Şekil 4. PON1 55 Enzim Kesimi | 48 |
| Şekil 5. PON1 192 PCR Görüntüsü | 49 |
| Şekil 6. PON1 192 Enzim Kesimi | 49 |
| Şekil 7. PON2 311 PCR Görüntüsü | 50 |
| Şekil 8. PON2 311 Enzim Kesimi | 50 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | | |
|------------------|---|----|
| Tablo 1. | Çalışmada Kullanılan Restrüksiyon Enzimlerinin Özellikleri | 29 |
| Tablo 2. | PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Polimorfizmleri için PCR Tepkime Karışımları | 34 |
| Tablo 3. | PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Polimorfizm Bölgelerinin Çoğaltılması için Kullanılan PCR Programları | 34 |
| Tablo 4. | PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Genotiplerinin Enzim Kesimi Ürünleri | 35 |
| Tablo 5. | Çalışma Grubundaki Olguların Demografik Özellikleri | 41 |
| Tablo 6. | Çalışma Grubundaki Olguların Biyokimyasal Parametreleri | 42 |
| Tablo 7. | Çalışma Grubundaki Olguların PON1 L55M Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı | 42 |
| Tablo 7a. | Çalışma Grubundaki Olguların PON1 L55M Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı | 43 |
| Tablo 8. | Çalışma Grubundaki Olguların PON1 Q192R Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı | 43 |
| Tablo 8a. | Çalışma Grubundaki Olguların PON1 Q192R Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı | 44 |
| Tablo 9. | Çalışma Grubundaki Olguların PON2 S311C Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı | 44 |
| Tablo 9a. | Çalışma Grubundaki Olguların PON2 S311C Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı | 45 |
| Tablo 10. | Çalışma Grubundaki Olguların Hardy-Weinberg Eşitliği | 46 |
| Tablo 11. | Gruplar Arası Genotip ve Cinsiyete Göre Allel Dağılımı | 46 |
| Tablo 12. | Gruplar Arası Cinsiyete Göre PON Allel Dağılımı | 47 |

Tablo 13. Gruplar Arası Genotiplere göre PON Enzim Aktivitesi Dağılımı 47

1.GİRİŞ

Gelişmiş toplumlarda, kardiyovasküler hastalıklar ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır (Poulter, 2003). Bununla birlikte, kardiyovasküler hastalıkların neden olduğu ölümlerin %30'u hipertansiyon (HT) ile ilişkilidir (Erdogan ve ark, 2007., Mainous ve ark, 2004., Qureshi ve ark, 2005). Kardiyovasküler risklerin belirlenmesinde sistolik ve diyastolik kan basınç düzeyleri yanı sıra aterosklerotik damar hastalığı için risk faktörlerinin belirlenmesi de önem arz etmektedir (Mackness ve ark, 2001). Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) ile damarlardaki bozulma nörolojik ve vaskülojenik etkenlerden dolayı öncelikle otonomik nöropatiye daha sonra ise ateroskleroza neden olmaktadır (Mackness ve ark, 2003). Ateroskleroza neden olan zemindeki en önemli etken düşük dansiteli lipoprotein (LDL) olup, LDL'nin oksidatif modifikasyonu vasküler değişikliklerde anahtar rolü oynamaktadır (Mertens ve Hobvoet, 2001., Cakmak ve ark, 2009). Paraoksonaz (PON) enzim aktivitesi ve PON geni polimorfizmindeki genetik varyasyonlar LDL oksidasyonunu etkileyerek koroner arter hastalığı (KAH) oluşumunda önemli rol oynarlar (Navab ve ark,1996., Deakin, 2002., Qu ve ark, 2008). İki polimorfik kodonu olan PON1 geninin PON1 Leu55Met (L55M) (Leucine→Methionine) ve PON1 Gln192Arg (Q192R) (Glutamine→Arginine) polimorfizmlerinin KAH ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Guxens ve ark, 2008). PON1 enzim aktivitesi, 55. kodonda lösin (Leu) amino asitini kodlayan allelinin ve 192. kodonda arginin (Arg) aminoasitini kodlayan allelinin varlığında artar (Agachan ve ark, 2005., Mackness ve ark, 1998). PON 1 geni ve bu genin ürünü olan PON enziminin koroner arter hastalarında β hücre disfonksiyonu ile dislipidemi ve T2DM'yi içeren metabolik sendrom oluşumunu engelleyici bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Ikeda ve ark, 2003., Robertson ve ark, 2003., Cakmak ve ark, 2009). T2DM'li hastalarda oksidatif stres ile ilişkilendirilen PON enzim aktivitesindeki azalma KAH oluşumundan sorumludur (Thomas ve ark, 2003). PON gen ailesi insanda 7.

kromozomun uzun kolunda bulunan PON1, PON2 ve PON3 olarak adlandırılan substrata özel hidrolazlardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan genidir. PON1 birçok substrata karşı esteraz aktivitesi gösterirken PON2 ve PON3 yüksek laktonaz aktivitesine sahiptir (Mackness ve ark, 1993., Rosenblat ve ark, 2006). PON1 ve PON3 primer olarak karaciğerde expresse edilirken PON2 geninin mRNA'sı kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, plasenta, ince barsak, dalak ve testis gibi tüm insan dokularında yaygın olarak expresse edilir (Shin, 2009). PON2 proteininin arter duvarı endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve arter duvarında yer alan makrofajlarda da ekspresse olduğu bilinmektedir (Ng ve ark, 2006., Erlich ve ark, 2006). PON2 geni, PON1 ve PON3 gibi LDL peroksidasyonunu önlemekle birlikte HDL ile ilişkili olmayıp, sadece hücresel düzeyde hidroperoksitlerin üretimini azaltarak antioksidan ve dolayısıyla antiaterojenik özellik göstermektedir (Ng ve ark, 2001., Jalilian ve ark, 2008). PON1 enzim aktivitesi, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde PON1 genotipinden daha belirleyici bir faktör olarak belirlenmiştir (Aviram ve Rosenblat, 2004). PON2 geni sık görülen, 148. kodonda Ala148Gli (A148G) (Alanine→Glisin) ve 311. kodonda Ser311Cys (S311C) (Serine→Cystein) olarak tanımlanan iki polimorfik kodona sahiptir (Mochizuki ve ark, 1998). PON 1 ve PON 2 genindeki polimorfizmlerin ve PON enzim aktivitesinin KAH, Parkinson hastalığı, inme, ailesel hiperkolesterolemi, T2DM ve Alzheimer hastalığı gibi birçok patofizyolojik durumla bağlantısı vardır (Janka ve ark, 2002., Shin, 2009). PON2 gen polimorfizmi T2DM'deki mikrovasküler komplikasyonlardan sorumludur ve bu varyasyon, KAH ile sıklıkla birliktelik gösterir (Mackness ve ark, 2005). PON2 kodon S311C polimorfizminin KAH ve oksidatif hasar ile A148G polimorfizmine göre daha fazla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Shin ve ark, 2008., Zintzaras ve Hadjigeorgiou, 2004., Slowik ve ark, 2007., Qu ve ark, 2008).

Değişik populasyonlarda yapılan çalışmalarda, PON1 ve PON2 allel frekanslarındaki değişimlerin etnik gruplar içinde farklılık göstermekle birlikte, hastalıkların prognostik risk faktörlerinin belirlenmesinde, tanı ve tedavi protokollerinin oluşturulmasında önemli bir gösterge olduğu bildirilmiştir (Shin, 2009., Homma, 2004). Bu tez çalışmasında, koroner arter bypass greftleme planlanan, hipertansiyon

hastaları veya T2DM'li hastalarda PON1 ve PON2 gen polimorfizmleri ile PON 1 enzim aktivitesi arasındaki ilişkinin gösterilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Koroner arter hastalığı (KAH) kalbi besleyen koroner arterlerin aterosklerotik plaklarla tıkanması ve buna bağlı olarak kalbin ihtiyacı olan yeterli kanı taşıyamaması sonucu oluşan iskemik tablodur (Fauci ve ark, 2008). Gelişmiş ülkelerde KAH mortalite ve morbidite açısından majör bir sağlık problemidir (Poulter ve ark 2003., Guxens ve ark, 2008). Toplumda her beş kişiden biri kardiyovasküler hastalığa yakalanmakta ve her altı kişiden biri 65 yaşından önce kardiyovasküler nedenlerden ötürü ölmektedir (Simons, 1986). Tüm dünyada koroner arter hastalığı nedeniyle ölümlerin %28-40 olduğu bildirilmiştir (Fauci, 2008). KAH'dan korunmada ve bir toplumun genel olarak mortalite ve morbiditesini azaltmada ilk adım kuşkusuz o topluma ait risk faktörlerinin ve bunların dağılımının belirlenmesi ile yakından ilişkilidir (Poulter, 2003., Navab ve ark, 1996). Bu amaçla, son yıllarda erken tanı belirteçleri üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır.

2.1 Koroner Arter Hastalığı

KAH'ın temel fizyopatolojik mekanizmasında, koroner arterlerin subendotelyal bölgesindeki LDL'nin oksidasyonu etkilidir (Ross, 1993). Paraoksonaz enzim defekti ile LDL oksidasyonuna yatkınlık ve ateroskleroz oranı artmaktadır (Watson ve ark, 1995., Aviram ve ark, 2000). LDL oksidasyonu endotel hücrelerinin uyarılması ile adezyon moleküllerinin salınımına ve kemotaktik proteinlerin ekspresyon artışına neden olur. Özellikle, ateroskleroz (AS) mediatörleri monositlerin endotel hücrelerine yavaşmasına ve subendotelyal alana göç etmesine yol açar (Cakmak ve ark, 2009). Monositler subendotelyal alanda makrofaja dönüşüp LDL moleküllerini fagosite ederek köpük hücrelerini oluştururlar. Makrofajlardan salınan büyüme

hormonu ve sitokinler damarların orta tabakasındaki düz kas hücrelerine etki ederek makrofajların intima tabakasına ilerlemesine yol açarlar. Düz kas hücrelerinin kollajen ve elastin gibi bağ doku proteinlerini sentezlemelerine bağlı olarak intimada yağ birikimine fibrotik yapılar eklenir. Parçalanmış köpük hücrelerinden açığa çıkan sitokinler kronik inflamasyona neden olurlar. Aterosklerotik alanlarda LDL'nin yanı sıra okside olan HDL'nin de aterojen etki gösterdiği bilinmektedir (Zheng ve ark, 2004). Buna ek olarak; nitrik oksit (NO) LDL'nin aterojenik LDL'ye dönüşümünü engelleyerek vazodilatasyona neden olurken; hipertansiyon, diabetes mellitus (DM) ve hiperlipidemide NO sentezinde rol alan nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimini kodlayan genlerde oluşan çeşitli mutasyonlar sonucu NO salınımında azalma görülmektedir (Tangürek ve ark, 2005). NO salınımındaki azalmaya bağlı olarak LDL oksidasyonundaki artış sonucu yüksek dansiteli lipoproteinlerin (HDL) inhibe edilmesiyle KAH gelişimine karşı koruma ortadan kalkmaktadır (Navab ve ark, 2000., Watts ve ark, 2007). NO seviyesindeki azalma PON1 aktivitesinde düşmeye neden olarak kardiyovasküler hastalık riskinde artışa yol açmaktadır (Mackness B ve ark, 2001., Mackness ve ark, 2003).

Aterosklerotik değişiklikler sonucu KAH oluşumuna yol açan en önemli iki faktör HT ve T2DM'dir. Ateroskleroz zemininde gelişen T2DM prognozu daha da dramatik hale getirmektedir (Verdecchia ve Angeli, 2005., Ezzeti ve ark, 2008). DM'li hastalar, DM'li olmayanlara göre 4 kat daha fazla KAH'a yatkınlık riskine sahiptir (Garber, 1998). İngiltere'de T2DM'un genetik bir hastalık olduğuna yönelik olarak identik ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada %100 konkordans görüldüğü bildirilmiştir (Barnett ve ark, 1981). Özellikle, T2DM vasküler düz kas hücrelerinin aterojenik aktivitelerini uyarak ateroskleroz gelişiminde rol alır. Geniş ve orta büyüklükteki elastik müküler arterlerin progresif ve kronik bir hastalığıdır. Aterosklerozun en erken lezyonları yağlı çizgiler ve esas lezyonları olan aterom ve fibröz plaklar arter duvarının en iç tabakası olan intimada oluşur (Ross, 1999). Yağlı çizgiler mikroskopik olarak incelendiğinde köpük görüntüsü veren ve intrasellüler lipidlerle dolu makrofajların (köpük hücreler = foam cells) endotel altında toplanması ile karakterizedir. Bunların orta kısmında hücre dışında biriken kolesterol ve kolesterol esterlerinin oluşturduğu ekstrasellüler lipidden oluşan bir çekirdek bulunmaktadır. Bunların etrafını düz kas hücreleri ve bağ dokusundan oluşan bir

kapsül sarar. Fibröz plaklar genellikle asemptomatik olup tıkanıklık yapmazlar (Ross, 1990., Libby, 2001). Fibröz plak, tromboz, hemoraji veya kalsifikasyonla ilişkili olan komplike lezyon yaşla birlikte artış göstermektedir. Ateroskleroz risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemez olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır (Reddy ve ark, 1994):

Değiştirilebilir risk faktörleri:

- Sigara kullanımı (10 adet/gün'den fazla)
- Hipertansiyon
- Kolesterol yüksekliği
- Lipoprotein A yüksekliği
- Fiziksel aktivite azlığı (Hareketsizlik)
- Doğum kontrol hapı kullanımı
- Alkol kullanımı

Değiştirilemez risk faktörleri:

- Yaş
- Cinsiyet (Erkek)
- Ailede erken (55 yaş altında) koroner arter hastalığı hikayesi varlığı
- Diabetes mellitus
- A Tipi kişilik yapısı (Stresli yaşantı)
- Obezite

2.2. Diabetes Mellitus

2.2.1. Diabetes Mellitus Tanım

Diabetes Mellitus (DM) kendi içinde Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus olmak üzere 2 gruba ayrılır.

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) genetik ve immün yapının neden olduğu pankreas beta (β) hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun mutlak veya göreceli azlığından kaynaklanan karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluğudur.

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) ise periferik dokularda insülin direnci, pankreasta insülin salınım kusuru ve karaciğerde glikoz üretiminin artışı ile oluşan tablodur.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bozulmuş glukoz toleransı ve DM tanı kriterlerini 1980 yılında tanımlamıştır. Amerikan Diabet Cemiyeti (American Diabetes Association-ADA) 1997'de bu kriterleri yeniden gözden geçirmiş ve yeni DM tanı kriterlerini yayınlamıştır (Pickup ve Williams, 1997).

2.2.2. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi

DM birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde epidemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. DM insidansı farklı etnik gruplar ve ülkeler arasında değişiklik göstermektedir (King ve ark, 1998). Genellikle T1DM ve T2DM arasında prevalans açısından çok fark olmamakla birlikte olguların %5-10'u T1DM %90-95'i T2DM'tur. Halen dünya genelinde 150 milyon insanın bu hastalıktan etkilendiği ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. DM sıklıkla 20-70 yaş arasında görülen ve kadınlarda erkeklere göre daha sık rastlanan bir hastalıktır (Sicree ve ark, 2006., Reaven ve Strom, 2003). Ülkemizde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada her iki Diabetes Mellitus tipinde de kadınlarda insidansın erkeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmiş olmasına karşılık, çalışmanın 2010 yılı ocak ve haziran ayları arasında yapılan ikinci aşamasında, DM'un erkeklerde kadınlardan çok az oranda düşük olduğu; bununla birlikte erkekler ve kadınlar arasında anlamlı bir fark görülmediği bildirilmiştir. Bu çalışmanın birinci aşamasında DM prevalansı %7.2 iken 2. aşamasında %13.7'ye çıkmıştır (Satman ve ark, 2002., TURDEP II, 2010).

2.2.3. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Amerikan Diabet Cemiyeti (ADA) Diabet tanı kriterlerini gözden geçirerek 1997 yılında yeniden yayınlamıştır (Pickup ve Williams, 1997).

ADA Diabetes Mellitus Sınıflaması:

I. Tip 1 Diabetes Mellitus-T1DM

Mutlak insülin eksikliği

a) Klasik tip-İmmun nedenlere bağlı

b) İdiopatik tip

II. Tip 2 Diabetes Mellitus-T2DM

III. Diğer Özel Tipler

a) Beta hücrelerinin genetik hastalıkları

MODY 1-Hepatosit nükleer transkript faktör-4 α (HNF-4 α) / 20. Kromozom

MODY 2-Glukokinaz / 7.Kromozom

MODY 3- HNF-1 α / 12.Kromozom

MODY 4- İnsülin promotor faktör-1 (IPF-1) / 13. Kromozom

MODY 5- HNF-1 β / 17.Kromozom

MODY 6-Neuro D1 / 2.Kromozom

Mitokondrial DNA - A3243G Mutasyonu

ATP duyarlı potasyum kanal alt ünitleri

Diğerleri

b) İnsülin etkisinin genetik defektleri

Tip A insülin direnci

Leprechaunism

Rabson-Mendenhall sendromu

Lipoatrofik diabet

c) Pankreas hastalıkları

Pankreatitler

Pankreatektomi

Neoplazi

Kistik fibrozis

Hemakromatozis

Fibrokalkuloz pankreas hastalığı

Diğerleri

d) Endokrinopatiler

Akromegali

Cushing sendromu

Glukagonoma

Feokromasitoma

Hipertiroidizm

Somatostatinoma

Aldosteronoma

Diğerleri

e) İlaçlar ve kimyasal madde etkileri

Vacor

Pentamidine

Nikotink asit

Glukokortikoidler

Tiroid hormonları

Diazoksit

β -Adrenerjik agonistler

Tiazidler

Dilantin

α -İnterferon

Diğerleri

f) Enfeksiyonlar

Konjenital rubella virüsü

Koksaki B (Tip B4 ve B3) virüsü

Sitomegalovirus

Diğerleri

g) İmmün mekanizmalar

Stiff-man sendromu

Anti-insülin reseptör antikorları

Diğerleri

h) Diabetin genetik sendromları

Down sendromu

Klinefelter sendromu
Turner sendromu
Wolfram sendromu
Friedreich ataxisi
Huntington koresi
Laurence-Moon-Biedl sendromu
Miyotonik distrofi
Porfiria
Prader-Willi sendromu
Diğerleri

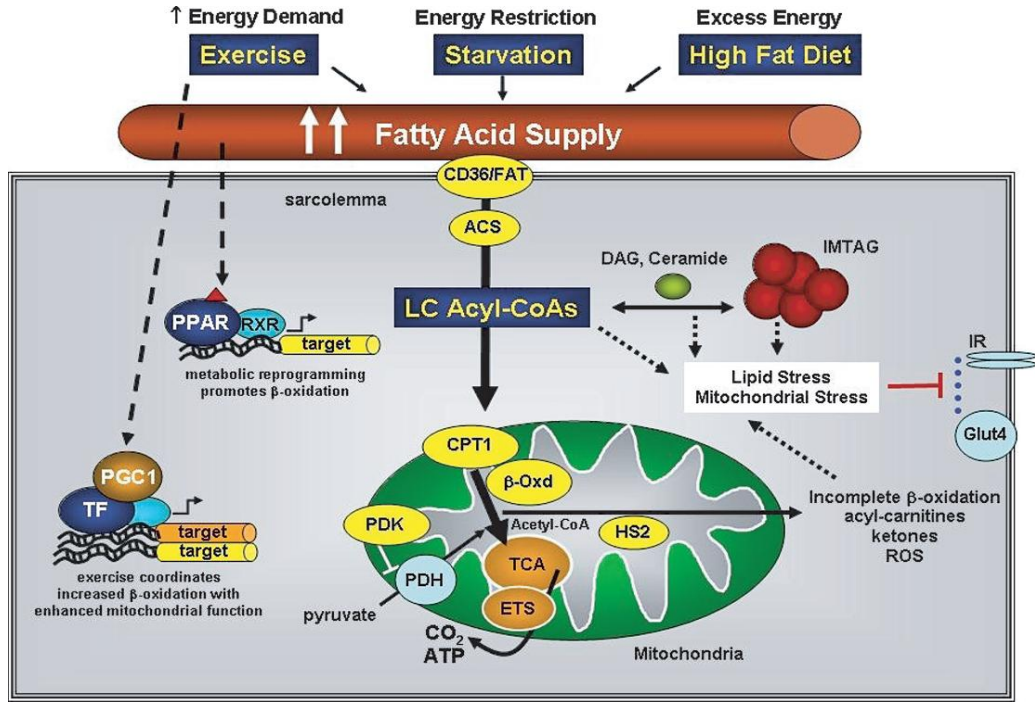
IV. Gestasyonel Diabet

2.2.4. Diabetes Mellitus Etiyopatogenezi

T1DM, klinik tablo immunolojik olarak β hücrelerinin %90'ı harap olduktan sonra ani olarak ortaya çıkan bir hastalıktır. En sık görülen bu tipte pankreas β hücrelerinin idiopatik otoimmün yıkımı söz konusudur. T1DM poligenik bir eğilim göstermektedir. Bu hastalarda klinik yakınmaların başlaması ile beraber dolaşımda adacık hücrelerine karşı otoantikörler (islet cell autoantibodies-ICA) saptanır. Otoantikörlerin çoğu IgG tipindedir. Genetik yatkınlığı olan çocuklarda genelde 5-15 yaşları arasında tetiği çeken bir olaydan sonra hastalık hızla gelişmektedir. Tetiği çeken olay viral enfeksiyonlar (kabakulak, konjenital rubella ve koksaki B), diyet, toksinler ve strestir. Büyük çoğunlukta ise otoimmün mekanizmayı başlatan faktörün ne olduğu bilinmemektedir. ICA titresi zamanla düşen Tip 1 DM'li hastalarda ICA (-) olduğu için, Tip 1 DM ile Tip 2 DM'un erken yaşta başlayan formunun ayrıcı

tanısında ICA önemli bir laboratuvar bulgusudur (Littorin ve ark, 1999., Fajans, 1996., Karam ve ark, 1991).

Toplumda en sık rastladığımız DM tipi ise T2DM'dir. İnsüline bağımlı olmayan T2DM'de ilk bulgular 45 yaş üzerinde başlar, kronik seyirli ve sinsi gidişlidir (Başkal, 2003). Hastaların çoğu obez olmasına rağmen obez olmayanlarda da görüldüğü için bu durum etiyolojik sınıflamada önem kazanır. Obezitenin göstergesi olan VKİ ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$) yüksekliği DM için yüksek risk faktörüdür. Buna göre obez T2DM'lilerde insülin direnci daha önemli iken, non-obez T2DM'lilerde insülin sekresyon bozukluğu birinci plandadır. Bu hastaların hemen hepsinde aile öyküsü olabilmesine rağmen, hastalığın etiopatogenezi henüz tek bir genetik zemine oturtulamamıştır (Tamara ve ark, 2005) (Şekil 1).



Şekil 1. Kas lifinde insülin direnci ile indüklenen lipid modeli (Feinglos ve Bethel, 2008)

T2DM'de kardiyovasküler hastalıklar morbidite ve mortalite açısından önemli risk faktörleri arasındadır (Masharani ve Karam, 2001). Kontrol altına alınmamış diabette, kronik hiperglisemi arter çeperinden mukopolisakkarid sentezinin artmasına

yol açar ve bu durum LDL'lerin hapsedilmesi için uygun ortam hazırlar. Muhtemelen myokarddaki mikroanjiyopatik değişiklikler interstisyumda mukopolisakkarid yapısındaki maddelerin birikimine bağlıdır. Böylece insülin yokluğunun aterojen olduğu söylenebilir (Porksen ve ark, 2002). Ancak kan dolaşımında artan insülin aslında başka yollardan ateroma oluşumunu harekete geçirir. Lipidlerin arter çeperinden temizlenmesini inhibe eder ve hepatic plazma lipidleri sentezini artırır. Birçok hafif diabetli ya da eksojen insülin tedavisi görenlerde zaman zaman (özellikle açlık durumunda) kan dolaşımında insülin hormonu aşırı derece mevcuttur. Diabetiklerde aynı zamanda trombosit adezyon ve agregasyonu artmış, fibrinoliz aktivitesi azalmış ve kan viskozitesi artmıştır. Bütün bunlar ateromalı hastalarda intravasküler tromboza ortam yaratan faktörlerdir (Meier ve ark, 2006). Koroner yetersizlik diabetik olan ve olmayan kişilerde aynı klinik semptomlarla seyreder. Ancak otonom nöropati gelişmiş diabetiklerde asemptomatik koroner arter hastalığı olacağı ve sessiz infarktüs gelişebileceği bilinmelidir. Korunma için iyi bir diabet regülasyonu ve diğer risk faktörlerinin (hipertansiyon, dislipidemi, sigara, nefropati) tedavisi yaşamsal önem taşır. Antiagregan ajanlar profilaksi amacıyla kullanılabilir. T2DM klinikte hipertansiyon ve koroner arter hastalığı olsun veya olmasın sol ventrikül fonksiyon bozukluğu ve kalp yetersizliği ile ortaya çıkabilir. Tip 2 Diabetes Mellitus prelinik evre, bozulmuş glukoz toleransı dönemi ve belirgin diabet olmak üzere 3 evreye ayrılır (Fajans ve ark, 1996). Bozulmuş glukoz tolerans döneminde koroner arter hastalığı için risk faktörleri olan hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve HDL-kolesterol düşüklüğü sık görülür ve bu nedenle makrovasküler komplikasyonlar gelişebilir.

2.2.5. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

- Bir hafta arayla en az 8 saatlik tam açlık venöz plazma glukoz seviyesinin iki ayrı ölçümünde 126 mg/dl'ye eşit veya yüksek saptanması veya;
- Diabete özgü semptomlar; poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybıdır.

- Diabete özgü semptomların varlığına ek olarak günün herhangi bir zamanında ölçülen venöz plazma glukoz değerinin 200 mg/dl'ye eşit veya yüksek olması veya;
- Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2. saat plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl'ye eşit veya yüksek olması.

OGTT Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) tanımladığı biçimde 75 gram anhidroz glukozun suda çözünmesiyle yapılmaktadır. OGTT 2. saatte glukoz 140 mg/dl altında ise normaldir. 140-199 mg/dl arasında ise bozulmuş glukoz toleransı olarak kabul edilir (Yazıcı ve ark, 2005).

2.2.6. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

DM'nin akut ve kronik komplikasyonları olup kronik komplikasyonlar erken ölümlerden ve morbiditeden sorumludur. DM'nin makrovasküler komplikasyonları ise; serebrovasküler, koroner arter ve periferik arter hastalıklarıdır. Diabetteki makrovasküler komplikasyonların nedeni olarak endotel hasarı, dislipoproteinemi ve bozulmuş hemostaz sorumlu tutulmaktadır. DM'un komplikasyonları akut ve kronik olarak sınıflandırılmıştır (Fauci ve ark, 2008).

A) Akut (metabolik) komplikasyonlar:

-Diabetik ketoasidoz

-Hiperosmolar non-ketotik koma

-Laktik asidoz koması

-Hipoglisemi koması

B) Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar:

1) Makrovasküler komplikasyonlar:

-Kardiyovasküler hastalıklar

-Serebrovasküler hastalıklar

-Periferik damar hastalığı

2) Mikrovasküler komplikasyonlar:

-Diabetik nefropati

-Diabetik retinopati

-Diabetik nöropati

DM’li hastalarda doku ve organlarda biyokimyasal morfolojik ve fonksiyonel bir takım değişiklikler meydana gelir. Akut dönemde oluşan metabolik komplikasyonlar yaşamı tehdit edecek düzeyde hatta fatal olabilir, fakat asıl sorun uzun sürede oluşan küçük ve büyük damarların hastalığıdır buna “kronik vasküler sendrom” da denir. Diabetik mikroanjiopatik değişiklikler diabetik metabolik bozukluklarla hızlanmış ateroskleroz tablosu olup diabetiklere özgü patolojik damarsal bozukluklardır.

2.3. Hipertansiyon

Hipertansiyon erişkin popülasyonunun önemli bölümünü etkileyen en önemli koroner hastalık riski belirleyicilerindedir. Epidemiyolojik veriler 30’lu yaşlarda %20-25 olan hipertansiyon prevalansının yaşla birlikte belirgin artış göstererek 60 yaş ve üzerinde %50'lere çıktığını göstermektedir (Burt ve ark, 1995). Ülkemizde de hipertansiyon prevalansının erişkin erkeklerde %36.3, erişkin kadınlarda %49.1 olduğu bulunmuştur (Onat ve ark, 2002., Satman ve ark, 2002., Erkoç ve ark, 1997). ESH/ESC (Avrupa Hipertansiyon Derneği / Avrupa Kardiyoloji Derneği)’nin kan basıncı düzeylerinin tanımları ve sınıflandırması:

| Kategori | Sistolik | | Diyastolik |
|----------|----------|---------|------------|
| Optimum | <120 | ve | <80 |
| Normal | 120–129 | ve/veya | 80–84 |

| | | | |
|------------------------------|---------|---------|---------|
| Yüksek normal | 130–139 | ve/veya | 85–89 |
| 1. derece hipertansiyon | 140–159 | ve/veya | 90–99 |
| 2. derece hipertansiyon | 160–179 | ve/veya | 100–109 |
| 3. derece hipertansiyon | ≥180 | ve/veya | ≥110 |
| İzole sistolik hipertansiyon | ≥140 | ve | <90 |

İzole sistolik hipertansiyon diyastolik değerlerin <90 mmHg olması kaydıyla belirtilen aralıktaki sistolik kan basıncı değerlerine göre 1. 2. ve 3. dereceler sırasıyla; hafif, orta ve şiddetli sınıflamalarına karşılık gelmektedir. Toplumda HT'li olguların %30-50'sinin hastalığının genetik olduğu öngörülmektedir (Ward ve ark, 1995). Bununla birlikte, HT'li hastaların çoğunluğunda mendelyan kalıtımla ilgili net bir patern yoktur. Bu, HT'nin çevresel koşullar altında bir çok genin etkileşimi sonucunda ortaya çıktığını desteklemekte ve HT multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul görmektedir (Katzmarzyk ve ark, 2001). İkizler üzerinde yapılan çalışmalar, kan basıncı ölçümü değerleri, monozigotik ikizler arasında dizigotik ikizler arasındakinden daha fazla benzerlik göstermektedir (Luft, 2001., Loss ve ark, 2001)

Yayınlanan kılavuzlarda HT tedavisinde kan basıncı kontrolü kadar kardiyovasküler risklerin önlenmesi de önemli bir yer tutmaktadır (Mancia ve ark, 2007). Hipertansiyon tedavisinde amaç uzun dönemde ortaya çıkabilecek hedef organ hasarlarını engellemek, kardiyovasküler ve renal morbidite ve mortaliteyi düşürmektir. Kardiyovasküler risk faktörlerinin ya da hedef organ hasarının bulunup bulunmamasına göre hastalar risk gruplarına ayrılarak hipertansiyonun evresine göre tedavi planlanmaktadır. Tedavi hastanın dahil olduğu risk grubuna göre yaşam tarzının değiştirilmesini ve tek ya da kombine olarak çeşitli antihipertansif ilaçların kullanılmasını kapsamaktadır. Yaklaşımında en önemli belirleyici faktör hastanın toplam olarak taşımakta olduğu kardiyovasküler risk düzeyidir. Kardiyovasküler riskin belirleyicileri sistolik ve diyastolik kan basıncı düzeylerinin yanında aterosklerotik damar hastalığı için risk faktörlerinin, hedef organ hasarının ve eşlik eden hastalıkların bulunmasıdır. Bu risk faktörlerinin varlığına göre, ESC/ESH Tedavi Rehberi /2003, hastalarda kardiyovasküler risk durumunu düşük, orta, yüksek

ve çok yüksek risk gruplarına ayrılmıştır. Hastanın risk grubunun doğru tespit edilebilmesi için fizik muayene, öykü ve bilinen organ hasarını belirlemek için rutin yöntemlerin yanı sıra gerektiğinde ileri tetkikler de önerilmektedir. Ekokardiyografi ve karotis ultrasonografisi uygulanmış ve daha önce düşük risk grubunda kabul edilen hastaların %50'sinin yüksek risk grubunda olduğu anlaşılmıştır. Hedef organ hasarının belirlenmesinde kullanılan önemli belirteçlerden biri olan mikroalbuminüri hem böbrek hasarının ilerleyici karakterini hem de genel kardiyovasküler morbiditeyi yansıtır. Toplumda kan basıncı ünimodal dağılım göstermektedir (Pickering, 1961., MacMahon ve ark, 1990). Çok sayıda gözlemsel çalışma kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin hem sistolik hem de diyastolik kan basıncıyla sürekli bir ilişki içinde olduğunu göstermiştir (MacMahon ve ark, 1990., Lewington ve ark, 2002).

Bu ilişkinin inmeye göre koroner olaylar için daha az risk olduğu bildirilmiştir ve inme hipertansiyonla ilişkili en önemli komplikasyon olarak tanımlanmıştır (MacMahon ve ark, 1990). Hem sistolik hem de diyastolik kan basıncı, kalp yetersizliği, periferik arter hastalığı ve son evre böbrek hastalığıyla kademeli ve bağımsız bir ilişki göstermektedir (Kannel, 1996., Levy ve ark, 1996., Criqui ve ark, 1992., Klag ve ark, 1996). Buna göre hipertansiyon bir dizi kardiyovasküler ve ilişkili hastalıklar için olduğu kadar kardiyovasküler riskte belirgin bir artışa neden olan hastalıklar için de başlıca bir risk faktörü olarak kabul edilmelidir. Avrupa Hipertansiyon Birliği ve Avrupa Kardiyoloji Birliği'nin 2003 yılındaki kılavuzlarında HT tanı ve tedavisinin toplam kardiyovasküler riskin ölçülmesiyle ilişkili olması gerektiği vurgulanmıştır (Chobanian ve ark, 2003., Guidelines Committee, 2003). Bu kavram hipertansif topluluğun yalnızca küçük bir bölümünde tek başına kan basıncı artışı olmasına rağmen, büyük çoğunlukta kan basıncındaki artışın şiddeti ile glukoz ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler arasındaki ilişkiyle birlikte ek kardiyovasküler risk faktörleri bulunmasına dayanmaktadır (Kannel, 2000., Thomas ve ark, 2001., Wei ve ark, 1996., Assmann ve Schulte, 1988., Mancia ve ark, 2005). Ayrıca eşzamanlı bulunduğu kan basıncı ve metabolik risk faktörleri sinerjistik etki oluşturmakta, bu da tek tek bileşenlerin toplamından daha büyük bir toplam kardiyovasküler riske yol açmaktadır (Kannel, 2000., Asia Pacific Cohort Studies Collaboration, 2005., Multiple Risk Factor Intervention Trial, 1986).

2.4. Paraoksonaz (PON) Geni

İlk kez 1946 yılında hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidrolize eden bir enzim olan Paraoksonazın (PON) varlığı bildirilmiştir (Mazur ve ark, 1946). Bu enzim 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat propiyonat ve bütiratu hidroliz eden aril esteraz olarak tanımlanmıştır. 1961'de Uriel tarafından insan serumunda yapılan bir çalışmada ilk kez HDL ile PON ilişkisi gösterilmiştir (Uriel, 1961). Mackness ve ark. yaptıkları çalışmalar ile 1985'te PON'un HDL üzerinde bulunduğunu, 1988'de PON'un HDL üzerinde apolipoprotein AI (apo-AI)'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve 1991 yılında da LDL üzerindeki lipidperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (Mackness ve ark, 1985., Mackness ve ark, 1988., Mackness ve ark, 1991). PON, pestisid olan paraokson gibi organofosfat bileşiklerin detoksifikasyonuna katılmaktadır. Ayrıca, HDL üzerinde yer alan paraoksonaz 1 (PON1) platelet aktive edici faktör asit hidrolaz (PAF-AH) ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile okside LDL'deki lipoperoksitleri hidrolize ederek LDL'yi oksidasyondan korumaktadır (Mackness ve ark, 1995; Durrington ve ark, 2001). HDL ve paraoksonaz enzimi arasındaki bu ilişki nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar ile paraoksonaz enzimini kodlayan gen arasındaki bağlantı bilim insanlarını bu konuda araştırma yapmaya yöneltmiştir.

2.4.1. PON Gen Ailesi

PON için ilgili insan geni HUMPONA'dır (Serrato ve Marian, 1995). İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan paraoksonaz gen ailesi, % 60 oranında sekans benzerliği gösteren PON1, PON2 ve PON3 genlerinden oluşmaktadır (Mackness ve ark, 2002). PON1 geni kromozom 7q21.3-q22.1 bölgesinde lokalizedir (Humbert ve ark, 1993., Motti ve ark, 2001). PON1'in diğerlerinden farkı N-terminalinde hidrofobik bir sinyal dizisinin bulunmasıdır (Aviram, 1999). PON1'de 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır. PON1 ve PON3 karaciğerde ekspresye olup plazmada bulunmasına karşılık, PON2'nin karaciğer,

böbrek, kalp, beyin, testis dokularında ve özellikle endotel hücreleri ile aortik düz kas hücrelerinde ekspresse olduğu immünohistokimyasal yöntemle gösterilmiştir (La Du ve ark, 1993., La Du ve ark, 1996., Ng ve ark, 2006., Shin, 2009). Antioksidan aktiviteye sahip PON1 enziminin kolesterolü dokulardan karaciğere taşıyan HDL-K'nın apo-A1 ve apo-J proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Abbott ve ark, 1995). Günümüzde PON1 geni iki yaygın kodon polimorfizmi gösterir. Bunlar 55. kodonda lösinin (L) metionin (M) ile yer değiştirdiği (L55M) ve 192. pozisyonda glutamin (Q) ile argininin (R) yer değiştirdiği (Q192R) polimorfizmidir (Aviram, 1999).

Üzerinde en çok çalışılan PON1 55 ve 192 polimorfizimleri KAH, Parkinson hastalığı, stroke, ailesel hiperkolesterolemi, T2DM ve geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı gibi çeşitli patofizyolojik durumlarla birliktelik göstermektedir (Shin ve ark, 2008., Zintzaras ve ark, 2004). Çünkü bu iki alloenzimin çeşitli substratlara karşı affiniteleri ve katalitik aktiviteleri farklılık göstermektedir. Paraokson PON1 192 R alloenzimi tarafından 6 kat daha hızlı hidrolize edilir. PON1 192 R alloenziminde arginin aktif bölgenin önemli bir yerinde bulunduğundan LDL oksidasyonundan koruma özelliğini etkiler (Yamaguchi ve ark, 2007). LDL oksidasyonu aterosklerotik değişikliklere, oksidatif ve inflamatuvar süreçlere neden olmaktadır (Shishebor ve Hazen, 2004., Barter, 2005). HT ve DM'de görülen mikro ve makroanjiyopatik aterosklerotik değişiklikler myokardiyal beslenmeyi bozarak koroner arter hastalığına neden olurlar. PON ailesi üyesi olan PON 1 ve PON 3 antioksidan ve antiinflamatuvar fonksiyonları ile LDL oksidasyon ürünleri ve periferik dokularda kolesterol birikimini önleyerek KAH oluşumunu engellemektedir (Sanghera ve ark, 1997., Reddy ve ark, 2001., Durrington ve ark, 2001., Byoung ve ark, 2009). HDL total kolesterol ve non-HDL kolesterolden bağımsız olarak antiaterojenik etki gösterir. Klinik gözlemler HDL-K düzeyinde 1 mg/dl'lik artışın KAH riskini %2-4 azalttığını göstermektedir. Bu etkiyi aterogenezisde kilit rol oynayan lipoproteinlerin oksidasyonunu önleyerek gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (Dirican ve ark, 1999). HDL'nin de nitrik oksit (NO) sentezini artırıp damarlarda vazodilatasyon yaparak tromboz ile inflamasyona yatkınlığı ve adezyon moleküllerinin sentezini azalttığı endotel tamirini uyardığı ve LDL'nin oksidatif değişimlerini önlediği öne sürülmüştür (Calabresi ve ark, 2003).

HDL ile ilişkili olan PON 1 aktivitesindeki değişimler ise bu enzimi kodlayan gen bölgesindeki polimorfizmlerinden kaynaklanmaktadır (Durrington ve ark, 2001). Düşük HDL düzeylerinin eşlik ettiği miyokard enfarktüsü, ailesel hiperkolesterolemi ve T2DM gibi ateroskleroz riskinin yüksek olduğu lipid metabolizması ile ilgili hastalıklarda serum PON 1 aktivite düzeyi düşük seyretmektedir (Sanghera ve ark, 1997., Aviram, 1999). PON ailesinin intrasellüler lokalizasyonlu PON 2 geni mRNA'sı lipid ve lipoprotein metabolizmasında PON1 benzeri antioksidan ve anti-inflamatuar mekanizmalarla aterosklerozise karşı direnç gösterirler (Mackness ve ark, 2002., Ng ve ark, 2006). PON2 geninin sık görülen polimorfik alanlarından biri 311. kodonda serin (S) yerine sistein (C) aminiasidinin geldiği S311C polimorfizmidir (Humbert ve ark, 1993., Primo-Parmo ve ark, 1996., Mochizuki ve ark, 1998). PON2 kodon S311C polimorfizmi oksidatif hasar ve KAH oluşumu ile daha fazla ilişkilidir (Shin ve ark, 2008; Zintzaras ve ark, 2004; Slowik ve ark, 2007; Qu ve ark, 2008). Özellikle PON 2 gen polimorfizmi T2DM'teki mikrovasküler komplikasyonlardan sorumlu tutulmuştur. Mikrovasküler komplikasyonların oluşumundaki birincil mekanizma fosforilasyonun hedefi olan aktif hidroksil grubunu içeren ve sıklıkla proteinin aktif bölgesinde yer alan serinden sıklıkla metal iyonları bağlayan ve proteinin yapısındaki sisteine değişerek proteinin fonksiyonunu etkilemesidir (Mackness ve ark, 2005., Qu ve ark, 2008). Çünkü antioksidan aktiviteye sahip PON2 genindeki aktif aminoasit natüründeki değişiklikler yetersiz antioksidan fonksiyona ve sonuçta hücrelerdeki metabolik potensin değişmesine neden olur. PON2 311 homozigot (SS) genotipinin, homozigot (CC) ve heterozigot (CS) PON2 311 genotip yapısına göre LDL kolesterol düzeyini daha fazla yükselttiği öne sürülmüştür (Gunnarsdottir ve ark, 2002., Hegele ve ark, 1999., Leus ve ark, 2001).

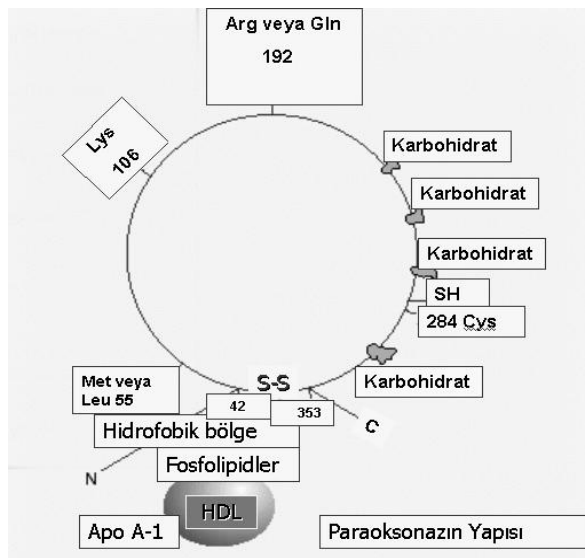
2.4.2. Paraoksonaz Enzimin Yapısı

Paraoksonaz enziminin; paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonaz olmak üzere 3 bileşeni vardır. PON1-IgG füzyon proteinleri, organofosfatların santral sinir sistemindeki muskarinik-kolinerjik etkilerini nötralize ederek sekonder olarak gelişen

hipotansiyon ve apne kaynaklı letaliteyi engellemektedirler (Mackness ve Durrington, 1995). Paraoksonaz bu etkisi nedeniyle organofosfat intoksikasyonlarında yeni bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilmektedir (Boado ve ark, 2008). Arilesteraz ise antioksidan bir parametre olup HDL'nin büyüklüğü ve şeklindeki değişiklikler PON1'in stabilite ve bağlanma affinitesini güçlü bir şekilde etkileyerek antioksidatif kapasitesini azaltmaktadır (Shin, 2009., Durrington ve ark, 2001). PON ailesi enzimleri substrata spesifik hidrolazlardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılmış olan genidir. PON1 enzimi 43kDA molekül ağırlığında 354 aminoasitten oluşan hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip bir glikoprotein olup kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (Durrington ve ark, 2001).

Paraoksonaz enzimi (**Şekil 2**) aterosklerozis zemininde endotelial seviyedeki HDL ve LDL oksidasyonunda inflamatuvar değişikliklerde rol oynar (Pasdar ve ark, 2006). Kalsiyum, enzimin katalitik mekanizmasında rol oynayan hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekli bir iyondur. Aktif bölgeden dietilfosfatın uzaklaştırılması bu bölgenin uygun konformasyonel yapı kazanmasını sağlar (Lee ve ark 2001., Mackness ve ark, 1998). Paraoksonaz enzimi N-terminal hidrofobik sinyal peptidi aracılığı ile fosfolipidlere ve lipoproteinlere bağlanır (Sorenson ve ark, 1999). PON1 hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri Apolipoprotein A1(Apo A1) ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Başkol ve ark, 2004). PON1 6 yapraklı beta tabakası bir yapı içerir. Her bir yaprak 4 β tabakası içerir ve enzimin merkez kısmında yapısının ve katalitik aktivitesinin korunması için gerekli olan iki kalsiyum atomu vardır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması geri dönüşümsüz denatürasyona neden olmaktadır. Diğeri ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (Harel ve ark, 2004). PON1 tarafından hidrolize edilen bileşikler olan organofosfatlar (paraokson ve diazokson), sinir gazı ajanları (somon ve sarin) ve aromatik esterlerin (fenilasetat) PON1'in non-fizyolojik substratları olduğu bildirilmiştir. Paraokson (O O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat) hem aril esteraz aktivitesini hem de paraoksonaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır.

Fenil asetat ise sadece arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır. PON1 polimorfik dağılımı nedeniyle aynı substrata karşı farklı aktivite gösterir (Başkol ve ark, 2004). PON1 enziminin lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağımlı hidrolize ettiği gösterilmiştir. Okside olmuş lipoproteinler ve kolesterol esterlerinin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik substrat olduğu düşünülmektedir. İnsan arteriyal duvar hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada PON1 enziminin okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-glisero-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipid türlerini hidrolize ettiği böylece HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu görülmüştür (Mackness ve ark, 1998., Cao ve ark, 1999). Oksidatif stres altında HDL'de oksidasyona maruz kalmaktadır. HDL-K lipid peroksitlerin serumdaki en önemli taşıyıcısıdır (Agachan ve ark, 2005). HDL-K yapısındaki kolesterol ester hidroperoksitler, LDL'de bulunanlara oranla daha hızlı ancak daha az reaktif hidroksitlere indirgenmektedir. HDL'nin oksidatif modifikasyonu; ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonunda bozulmalara yol açar. Paraoksonaz HDL'yi oksidasyondan koruyarak ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır (Ekmekçi ve ark, 2004) .



Şekil 2. İnsan Serum Paraoksonaz (PON 1) Enziminin Yapısı (Ekmekçi ve ark 2004).

2.5. POLİMORFİZM GENEL BİLGİSİ

Polimorfizm, genetik hastalıkların ortaya çıkmasında DNA ya da kromozom yapısında nadir değişimler oluşturan mutasyonlardır (Nussbaum ve ark, 2005). Bir genin belli bir yerinde lokalize olan alternatif kopyalarından her birine allel denir. Bir popülasyonda kromozomlar üzerindeki genlerde % 1'den fazla allelik farklılık bulunmasına genetik polimorfizm denmektedir (Becker ve Deamer, 1981). Herhangi iki bireyin kromozomlarında aynı yerde bulunan DNA dizisi %99.9 benzerlik göstermektedir (Wilson, 2000). DNA dizisindeki %0.1'lik farklılık, kişiler arası genotipik farklılıkların ortaya çıkmasını sağlamaktadır. İntronlarda lokalize olan polimorfizmler herhangi bir genin fonksiyonu için önemsizdir. Polimorfizmler kodlayan dizilerde farklı fenotiplerin ortaya çıkmasında rol alırlar ve hastalık nedeni olmayıp hastalığa yatkınlık gösterirler. En sık görülen polimorfizm tek nükleotid polimorfizmidir (Single Nucleotide Polymorphism=SNP).

2.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction – PCR)

İnvitro koşullarda, bir DNA parçasının çoğaltılması amacıyla kullanılan moleküler yöntemdir. Hücrelerdeki DNA, replikasyon ile çoğaltılarak her hücre bölünmesi ile DNA miktarı iki katına çıkartılır. DNA çift sarmalının birbirinden ayrılan ipliklerinden, onunla aynı olan iki yavru DNA molekülü meydana gelir. DNA miktarı jenerasyonlar süresince üssel olarak artmaktadır. Bugün polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmak istenen herhangi bir DNA dizisinin uygun koşullarda çoğaltılması mümkün olmuştur. PCR yöntemi ile istenilen genlerin yada DNA dizilerinin replikasyonları hızlı bir şekilde gerçekleştirilir. PCR reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürün miktarı, bu üç adımın tekrarına bağlıdır. a) Denatürasyon (90-95°C), b) Primer bağlanma (50-70 °C) ve c) DNA sentezi (70-75 °C). Denatürasyon aşamasında, amplifiye edilecek DNA ısı ile denatüre edilerek

tek sarmal hale getirilir. Hibridizasyon aşamasında ısı düşürülerek tek sarmal DNA'ya komplementer olarak hazırlanmış oligonükleotid primerlerin hedef DNA bölgesine bağlanması ve kalıp DNA'daki nükleotid dizisine komplementer serbest deoksinükleotidlerin DNA Polimeraz varlığında serbest 3'OH uçlarına bağlanarak zincir uzaması yani polimerizasyon aşaması gerçekleşir. Bu üç basamağın arka arkaya 25-30 kez tekrarlanması ile hedef DNA bölgesi 2^n kadar çoğaltılmış olur (n=döngü sayısı). Otuz PCR döngüsü sonrası istenen DNA dizisinin yaklaşık milyar katı kadar kopyası elde edilir (Arı ve ark, 2008). PCR tekniğinden yola çıkılarak geliştirilen diğer teknikleri kullanarak PCR ile çoğaltılmış DNA bölgesinde, mutasyonlar, allelik polimorfizmler, DNA'nın nükleotid dizisi ve gen ifadesinin kantitasyonu gibi birçok analiz yapılabilmektedir (Saiki ve ark, 1985).

2.5.2. Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP)

Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi yöntemi, PCR'a dayalı olarak yapılmaktadır. Genomik DNA'daki dizi değişiklikleri belirli kesim bölgeleri yaratır veya varolan kesim bölgelerini ortadan kaldırır. DNA molekülündeki özel çift iplikli dizileri tanıyan spesifik restriksiyon enzimleri, DNA'yı tanıma bölgesinden veya tanıma bölgesine yakın yerden keser. Daha sonra enzimatik olarak kesilmiş DNA agaroz jel üzerinde yürütülerek allelik varyantlar görüntülenmekte ve genetik farklılık tespit edilebilmektedir (Nussbaum ve ark, 2005) .

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Koroner Arter By-Pass Cerrahisi (CABG) Planlanan Hastalarda PON1 ve PON2 Gen Polimorfizminin Araştırılması” konulu tez çalışmamız için Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 16.10.2008 tarih ve 2008/12 No. ile etik kurul onayı, çalışma öncesinde hasta ve kontrollerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı.

3.1. Hasta ve Kontrol Grupları

Koroner arter bypass greftleme (CABG) planlanan, yaşları 40-80 arasında değişen, T2DM ($61,4 \pm 7,34$) veya hipertansiyonu ($60,6 \pm 9,05$) olan koroner arter hastası 61 hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan, sağlıklı bireylerden oluşan, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu %40’ın üzerinde olan 31 birey kontrol grubu (51 ± 10) olarak çalışmaya dahil edildi.

Akut koroner sendrom, ciddi renal ve hepatik yetmezlikli hastalar, ciddi kardiyak ritim bozukluğu olan hastalar, kontrol altında olmayan sistemik hastalık ve inotropik ilaç desteği uygulaması çalışmaya alınmama kriterleri olarak kabul edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalar KAH + T2DM (n=31) , KAH + HT (n=30) ve kontrol grubu (n=31) olmak üzere 3 gruba ayrıldılar.

Tüm hasta ve kontrollerde demografik olarak yaş, boy, kilo, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ) ve vücut yüzey alanı (VYA) ölçümleri kaydedildi. $VKİ = \text{Vücut Ağırlığı (kg)} / \text{Boy (m)}^2$ ve VYA (The Mosteller Formula) = $\sqrt{(\text{boy (cm)} \times \text{ağırlık (kg)})/3600}$ formülleri ile hesaplandı ve çalışma gruplarındaki bireylerin demografik özellikleri **Tablo 1**’de sunuldu (Mosteller, 1987). Hasta ve kontrol grubunda biyokimyasal parametre olarak AKŞ, HDL-K, LDL-K, TG ve PON enzim aktivitesi

ölçümleri **Tablo 2**'de sunuldu. Çalışma gruplarını oluşturan bireylerin ön kollarından DNA elde etmek için 0,5M Etilen diamin tetra asetik asitli (EDTA) tüp içerisine 2-4 ml periferik venöz kan ve serumdan biyokimyasal parametrelerin değerlendirilebilmesi için rutin tüpüne 3-4 ml. periferik venöz kan alındı. EDTA'lı tüpler DNA ekstrakte edilene kadar 4 °C'de muhafaza edildi. Biyokimya tüpüne alınan kandan ise 5000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilerek serum elde edildi. Elde edilen serumlar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (Profilo, Türkiye)
- Çeker Ocak
- Derin Dondurucu (Bosch, Germany)
- Distile Su Cihazı (Barnstead, Germany)
- Güç Kaynağı (Apelex PS 503, France)
- Hassas Terazisi (Sartorius, Germany)
- Hot Plate (Nüve, Türkiye)
- Jel Görüntüleme Sistemi (UVP- Transilluminator M-20E, USA)
- Mikro Dalga Fırın (Arçelik İntellowave, Türkiye)
- Mikropipetler 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl (Thermo, Germany)
- Mikrosantrifüj (Biofuge Pico Heraeus, Germany)
- Soğutmalı Santrifüj (Thermo Micromax RF, USA)
- Spektrofotometre (Nanodrop ND-1000, Thermo, USA)
- Su Banyosu (Nüve BM 302, Türkiye)
- Termal Cyclus (Eppendorf Mastercycler Personal, Germany)
(Techne TC-3000, USA)
- Yatay Elektroferez Tankı (Thermo Midicell Primo EC 330, Germany)
(CleverMulti Sub Midi, UK)
- Vortex (Nüve NM 110, Türkiye)

3.3. Kullanılan Sarf Malzemeleri

- Biyokimya Tüpleri
- Eldiven
- Ependorf Tüpleri 0.5-2 ml. (Corning, NY 14831/Mexico)
- Erlen Mayer (Isolab, Germany)
- Filtreli pipet uçları (Corning, NY 14831/Mexico)
- Kağıt Havlu
- PCR Tüpleri 0.2µl (Corning, NY 14831/Mexico)
- Parafilm Pechiney Plastic Packaging (Chicago, IL 60631)

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Absolu Etanol (Tekel, Türkiye)
- Agaroz Basica Le (Prona, Spain)
- Agaroz Gamma Micropor (Prona, Spain)
- 6X DNA Loading Dye #RO611 (Fermentas, USA)
- Etidium Bromür (Sigma, USA)
- Orange G (6X) Yükleme Solusyonu (Zeydanlı, Türkiye)
- TBE (Tris Borat EDTA) TBE X5 (Biological Industries, Israel)
TBE- Puffer (5X) (Applichem, Germany)

3.5. Kullanılan Kitler

- BspP I (Alw I) #ER 1321 (Basillus Species d 1-34) (Fermentas, USA)
- DNA İzolasyon Kiti : Genomic DNA Purification Kit # K0512 (Fermentas, USA)

- dNTP Mix. 10mM each #RO191 (Fermentas, USA)
- Gene Ruler 100 bpPlus DNA Ladder #SM0321 (Fermentas, USA)
- Hin 1 II (Nla III) #ER 1831 (Haemophilus Influenza RFL1) (Fermentas, USA)
- Hinf I (Dde I) #ER 0801 (Helicobacter Pylori RFL3) (Fermentas, USA)
- Hot Start Taq DNA Polymerase #EP0602 (Fermentas, USA)
- Maxima Hot Start Taq Polymerase #EP 0602 (Fermentas, USA)
- Paraoxonase Kit (Rel Assay, Türkiye)
- Taq DNA Polymerase (Recombinant) #EP 0402 (Fermentas, USA)

3.6.Primerler

- PON1 Geni L55M Primerleri (Alpha DNA, Canada)
 - PN-55-F: 5'- GAA GAG TGA TGT ATA GCC CCA G-3' (Sense)
 - PN-55-R: 5'-TTT AAT CCA GAG CTA ATG AAA GCC-3' (Antisense)
- PON1 Geni Q192R Primerleri (Alpha DNA, Canada)
 - PN-192-F: 5'- TAT TGT TGC TGT GGG ACC TGA G- 3' (Sense)
 - PN-192-R: 5'-CAC GCT AAA CCC AAA TAC ATC TC- 3' (Antisense)
- PON2 Geni C311S Primerleri (Alpha DNA, Canada)
 - PN2-F: 5- ACA TGC ATG TAC GGT GGT CTT ATA-3' (Sense)
 - PN2-R: 5- AGC AAT TCA TAG ATT AAT TGT TA-3' (Antisense)

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Restriksiyon Enzimlerinin Özellikleri

| Polimorfizm Lokalizasyonları | Restriksiyon Enzimi | Kesim Noktası | Sıcaklık | Süre |
|---|--------------------------------|--|-----------------|-------------|
| PON1 L55M | Hin1II (Nla III) | 5'...CATG [^] ...3' 3'... [^] GTAC...5' | 37°C | 3 Saat |
| PON1 Q192R | Alw 1 (BspP I) | 5'...GGATC(N) ₄ [^] ...3' 3'...CCTAG(N) ₅ [^] ...5' | 55°C | 16 Saat |
| PON2 C311S | Ddel (HpyF3 I) | 5'...C [^] TNAG...3' 3'...GANT [^] C...5' | 37°C | 16 Saat |

3.7. Solusyon ve Tamponların Hazırlanması

3.7.1. DNA İzolasyon Kiti Presipitasyon Solusyonunun Hazırlanması

80 µl. konsantre presipitasyon solusyonuna 720 µl. dH₂O eklenerek hazırlandı.

3.7.2. 0.5 X TBE Buffer Hazırlama

5 X TBE Buffer'dan 1'e 9 oranında dH₂O eklenerek hazırlandı.

3.7.3. %2'lik Agaroz Jel Hazırlama

PCR amplifikasyon ürünlerinin kontrolü amacı ile %2'lik agaroz jel ve restriksiyon enzim kesimi sonucundaki kesim sonucunu görmek için %3'lük agaroz jel hazırlandı. %2'lik jel için 100 ml 0.5X TBE'ye 2 gr agaroz hassas terazide tartılarak eklendi ve mikro dalga fırında kaynatılıp içine 5 µl ethidium bromür eklendi. Yatay jel elektroforez tankına dökülerek jelin donması sağlandı. Jelin üzerini örtecek şekilde 0.5X TBE tamponu konuldu ve PCR amplifikasyon ürünlerinden 5 µl ve 1X Orange G yükleme boyasından 3 µl alınarak karıştırıldı ve karışım kuyucuklara yüklendi. Son kuyucuklara ise 100 bç'lik DNA marker yüklendi. 100 volt sabit akımda 1 saat yürütülerek sonuçlar jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

3.8. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Genomik DNA'nın izolasyonu için Fermentas Genomic DNA Purification Kiti uygulama kılavuzunda belirtildiği gibi aşağıdaki prosedüre göre kullanıldı.

1. Su banyosu 65 °C'ye ayarlandı.
2. 200 µl periferik kan örneği üzerine 400 µl lysis solusyonu eklenerek karışım vortexlendikten sonra santrifüjde spin atıldı. 65 °C'de 5 dakika (dk) inkübe edildi.
3. 5 dk sonunda karışım üzerine 600 µl kloroform eklenerek vortexlendi ve 3-5 kez aşağı-yukarı sallandı. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi.
4. Tüp üst kısmında ve DNA'yı da içeren yoğun kısım yeni bir eppendorf tüpe alındı. Üzerine 800 µl dilüe edilmiş presipitasyon solusyonu eklendi. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı atıldı.
5. Pellet üzerine 100 µl NaCl eklenerek DNA çözüldü. -20 °C'de 10 dk beklemiş soğuk etanolden 300 µl eklenerek 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı atıldı.
6. Pellet %70'lik soğuk etanol ile yıkandı.
7. 65°C'deki dH₂O'dan 100 µl kullanılarak DNA elde edildi.

Elde edilen DNA'ların miktarı (ng/µl) ve saflığı (260/280 nm dalga boyundaki absorban değeri) spektrofotometre ile ölçüldü.

3.9.1. PON1 Geni L55M Polimorfizmi için PCR Koşulları

PON1 Geninin 55. aminoasidini kodlayan kodonda 12801 pozisyonundaki T > A (TTG > ATG) missens mutasyonu gösteren SNP (rs854560) tespiti için PCR

gerçekleştirildi. Takiben ilgili tek nükleotid polimorfizmini göstermek için restriksiyon enzimi ile kesim işlemi uygulandı.

PCR karışımı ince çeperli 0.2 ml'lik tüplere dağıtıldıktan sonra elde edilen genomik DNA eklendi (**Tablo 2**). Otomatik ısı döngüsü cihazı (Thermal Cycler) kullanılarak **Tablo 3**'de verilen programa ayarlanarak ilgili bölgeleri çoğaltıldı.

Reaksiyon sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde elektroforezi yapıldı (**Şekil 3**).

3.9.2. PON1 Geni L55M Polimorfizmi için Hin1II (Nla III) ile Enzim Kesimi

Elde edilen PCR ürünleri Hin1II (Nla III) enzimi ile kesildi.

Enzim Kesim Karışımı

PCR Amplikonu - 7.5 µl

Hin 1II (Nla III) - 0.25 µl

Buffer Tango - 1 µl

dH₂O – 1.25 µl

Pipetajlanan karışım su banyosunda 37 °C'de 3 saat inkübe edildi. Elde edilen enzim kesim ürünleri %3'lük agaroz jeldeki kuyucuklara önce enzim kesim ürünleri ve son kuyucuğa da DNA marker yüklenerek analiz edildi. Jel görüntüleme sistemi ile bakıldığında üç farklı genotip saptandı (**Şekil 4**) (**Tablo 4**).

PCR Ürünü – 170 bç

LL - 170 bç büyüklüğünde tek bant

LM - 44 bç + 126 bç + 170 bç büyüklüğünde üç bant

MM - 44 bç + 126 bç büyüklüğünde iki bant

3.10.1. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi için PCR Koşulları

PON1 Geninin 192. aminoasidini kodlayan kodonda 21439 pozisyonundaki A > G (CAA > CGA) missens mutasyonu gösteren SNP (rs662) tespiti için PCR gerçekleştirildi. Takiben ilgili tek nükleotid polimorfizmini göstermek için restriksiyon enzimi ile kesim işlemi uygulandı.

PCR karışımı ince çeperli 0.2 ml'lik tüplere dağıtıldıktan sonra elde edilen genomik DNA eklendi (**Tablo 2**). Otomatik ısı döngüsü cihazı (Thermal Cycler) kullanılarak **Tablo 3**'te verilen programa ayarlanarak ilgili bölgeleri çoğaltıldı.

Reaksiyon sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde elektroforezi yapıldı (**Şekil 5**).

3.10.2. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi için Awl 1 (BspP I) ile Enzim Kesimi

Elde edilen PCR ürünleri Awl 1 (BspP I) enzimi ile kesildi.

Enzim Kesim Karışımı

PCR Amplikonu - 7.5 µl

Awl 1 (BspP I) - 0.25 µl

Buffer - 1 µl

dH₂O - 1.25 µl

Pipetajlanan karışım su banyosunda 55 °C'de 16 saat inkübe edildi. Elde edilen enzim kesim ürünleri %3'lük agaroz jeldeki kuyucuklara önce enzim kesim ürünleri ve son kuyucuğa da DNA marker yüklenerek analiz edildi. Jel görüntüleme sistemi ile bakıldığında üç farklı genotip saptandı (**Şekil 6**) (**Tablo 4**)

PCR Ürünü – 99 bç

QQ - 99 bç büyüklüğünde tek bant

QR - 33 bç + 66 bç + 99 bç büyüklüğünde üç bant
RR - 33 bç + 66 bç büyüklüğünde iki bant

3.11.1. PON2 Geni S311C Polimorfizmi için PCR Koşulları

PON2 Geninin 311. aminoasidini kodlayan kodonda 34610 pozisyonundaki C > G (TCT > TGT) missens mutasyonu gösteren SNP (rs7493) tespiti için PCR gerçekleştirildi. Takiben ilgili tek nükleotid polimorfizmini göstermek için restriksiyon enzimi ile kesim işlemi uygulandı.

PCR karışımı ince çeperli 0.2 ml'lik tüplere dağıtıldıktan sonra elde edilen genomik DNA eklendi (**Tablo 2**). Otomatik ısı döngüsü cihazı (Thermal Cycler) kullanılarak **Tablo 3**'te verilen programa ayarlanarak ilgili bölgeleri çoğaltıldı. Reaksiyon sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde elektroforezi yapıldı (**Şekil 7**).

3.11.2. PON2 Geni S311C Polimorfizmi için HpyF3 I (Ddel) ile Enzim Kesimi

Elde edilen PCR ürünleri HpyF3 I (Ddel) enzimi ile kesildi.

Enzim Kesim Karışımı

PCR Amplikonu - 7.5 µl

HpyF3 I (Ddel) - 0.25 µl

Buffer - 1 µl

dH₂O - 1.25 µl

Pipetajlanan karışım su banyosunda 37 °C'de 16 saat inkübe edildi. Elde edilen enzim kesim ürünleri %3'lük agaroz jeldeki kuyucuklara önce enzim kesim ürünleri

ve son kuyucuğa da DNA marker yüklenerek analiz edildi. Jel görüntüleme sistemi ile bakıldığında üç farklı genotip saptandı (**Şekil 8**) (**Tablo 4**).

PCR Ürünü – 262 bç

SS - 67 bç + 75 bç + 120 bç büyüklüğünde üç bant

CS - 67 bç + 75 bç + 120 bç + 142 bç büyüklüğünde dört bant

CC -120 bç + 142 bç büyüklüğünde iki bant

Tablo 2. PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Polimorfizmleri için PCR Tepkime Karışımları

| Karışım İçeriği | L55M | Q192R | S311C |
|----------------------------|---------|---------|---------|
| dH ₂ O | 15,2 µl | 12,7 µl | 12,7 µl |
| MgCl ₂ (25mM) | 1,5 µl | 1,5 µl | 1,5 µl |
| Primer F (10pmol/ µl) | 1 µl | 1 µl | 1 µl |
| Primer R (10pmol/ µl) | 1 µl | 1 µl | 1 µl |
| dNTP karışımı (10mM) | 0,5 µl | 1 µl | 1 µl |
| Taq DNA Polimeraz (5u/ µl) | 0,3 µl | 0,3 µl | 0,3 µl |
| Tampon çözeltisi (10X) | 1,5 µl | 2,5 µl | 2,5 µl |
| DNA | 4 µl | 5 µl | 5 µl |
| Toplam PCR Mixi | 25 µl | 25 µl | 25 µl |

Tablo 3. PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Polimorfizm Bölgelerinin Çoğaltılması için Kullanılan PCR Programları

| | Kapak Isısı | Başlangıç Denaturasyonu | Tepkime Döngüsü (40 Döngü) | | | Son Sentez aşaması (1 döngü) |
|-------|-------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|
| | | | Denatürasyon Aşaması | Hibridizasyon aşaması | Sentez (Uzama) Aşaması | |
| L55M | 105°C | 95°C'de 5dk | 92°C'de 1dk | 52°C'de 0,45dk | 72°C'de 0,45dk | 72°C'de 5dk |
| Q192R | 105°C | 95°C'de 5dk | 94°C'de 1dk | 61°C'de 1dk | 72°C'de 1dk | 72°C'de 7dk |
| S311C | 105°C | 94°C'de 4dk | 94°C'de 1dk | 50°C'de 1,5dk | 72°C'de 2dk | - |

Tablo 4. PON1 L55M ve Q192R ile PON2 S311C Genotiplerinin Enzim Kesimi Ürünleri

| | LL | | | 170 | |
|----------|----|------|-------|-------|-------|
| PON1 55 | LM | 44bç | 126bç | 170bç | |
| | MM | 44bç | 126bç | | |
| | QQ | | | 99bç | |
| PON1 192 | QR | 33bç | 66bç | 99bç | |
| | RR | 33bç | 66bç | | |
| | SS | 67bç | 75bç | 120bç | |
| PON2 311 | CS | 67bç | 75bç | 120bç | 142bç |
| | CC | | | 120bç | 142bç |

3.12. Paraoksonaz Aktivite Ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi uygun ticari kit (Relassay, Turkey) kullanılarak otoanalizör (siemens advia 1800/2400 autoanalyzer / Japan) ile ölçüldü. Çalışmada 500 µl reagent I (Buffer Solusyonu) üzerine 25 µl serum numunesi eklenerek karıştırıldı. Üzerine reagent II (Substrat Solusyonu; Paraokson) eklendi. 37⁰C’de substratın hidrolizi ile açığa çıkan ürünlerden p-nitrophenol’ün 412 nm dalga boyunda absorbansındaki lineer artış kinetik ölçümle belirlendi. Paraoksonaz aktivitesi ticari kitte belirtilen faktörle (1294) çarpılarak U/L olarak verildi (Eckerson, 1983; Camuzcuoglu, 2009).

3.13. Hardy Weinberg Eşitliği (HWE)

İngiliz matematikçi Geoffrey Hardy ve Alman fizikçi Wilhelm Weinberg’in 1908 yılında birbirinden bağımsız olarak formüle ettikleri bu

eşitlik populasyon genetiğinin temel taşıdır. Homozigot ve heterozigotlarda allel frekanslarından genotip frekanslarını hesaplamak için Hardy-Weinberg eşitliği olarak bilinen matematiksel bir modeldir. Gen havuzunda A allellinin frekansının p ve a

allelinin frekansının q olduğunu ve allellerin genotiplerde rastgele bir araya geldiğini varsayalım. İki allelin çift oluşturup AA genotipini verme şansı p^2 'dir, iki a allelinin bir araya gelip aa genotipini oluşturma şansı q^2 'dir ve bir A, bir a çiftinin bir araya gelme şansı $2pq$ 'dur. Hardy-Weinberg kanununun birinci önemli özelliği üç genotipin AA, Aa ve aa'nın frekanslarının $(p+q)^2$ 'nin binomial açılımı olmasıdır. Hardy-Weinberg kanununun ikinci ve çok önemli katkısı da genotiplerin oranının bir jenerasyondan diğerine değişmeden kalacağıdır şöyle ki; populasyonun genotip frekansları eğer p ve q 'nun allel frekansları sabit kalırsa, populasyonun genotip frekansları da sabit ve dengede kalır. Daha da spesifik olarak, populasyonda rastgele çiftleşme varken, genotipler AA, Aa ve aa $p^2:2pq:q^2$ oranlarında mevcut iken bir sonraki jenerasyonda da aynı relatif oranda $p^2:2pq:q^2$ olarak kalır. HW Eşitliği = $p^2+2pq+q^2 = (p+q)^2 = 1$. Hardy-Weinberg eşitliği p ve q için herhangi bir değer vermez; ancak populasyonda mevcut olan allel frekansı her ne ise $p^2:2pq:q^2$ genotip frekansında da ortaya çıkar ve bu allel frekansları değişmediği zaman relatif genotip frekansları da değişmez. Populasyona özgü mutant allellerin varlığı genetik hastalıkların orjinini anlamak için önemlidir ve aynı zamanda risk altındaki toplumlarda tanı imkanı sağlar.

3.14. İstatistiksel Analiz

Tüm sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programında yazılarak istatistiksel analizleri yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarının demografik verileri ve biyokimyasal parametreleri varyans analizleri One-Way ANOVA testiyle değerlendirildi. Anlamlı farklılık bulunan değişkenler için Tukey/Bonferroni testi kullanıldı. Verilerdeki değişimlerin istatistiksel analizinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. PON1 L55M ve Q192R ile PON2 C311S genotip değerlendirmesinde ve cinsiyet analizinde ise χ^2 testi kullanıldı. Gruplar arasında genotip, klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılmasında One-way ANOVA testi kullanıldı. %95 güven aralığında logistik regresyon analizi yapıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlı sınır olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen KAH+DM (n=31), KAH+HT (n=30) ve kontrol (n=31) grubundaki bireylerin demografik klinik özellikleri **Tablo 5**'te ve tüm grupların laboratuvar verileri ise **Tablo 6**'da gösterildi. Yaş değişkeni kontrol grubunda T2DM ve HT gruplarına göre daha genç olduğundan bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Boy açısından gruplar arasında farklılık yoktu ($p>0,05$). Kilo açısından T2DM grubundaki hastaların daha obez olmaları nedeniyle kontrol ve HT gruplarına göre daha yüksek bulundu ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi ($p<0.05$). Erkek cinsiyet, T2DM ve HT gruplarında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). VKİ ve VYA açısından da T2DM grubunda, HT ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğundan istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,05$). Bu durum bize, KAH olan hastalarda kontrol grubuna göre yaş, kilo, cinsiyet, VKİ ve VYA açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermektedir.

Olguların biyokimyasal parametrelerinden açlık kan şekeri ve lipid profili **Tablo 6**'da verildi. Bu parametreler açısından AKŞ, LDL ve TG oranları T2DM grubunda daha yüksek olup fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). HDL değeri, T2DM ve HT gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0.05$). HDL düzeyi açısından T2DM grubu HT grubuna göre daha düşük olmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). LDL düzeyi HT grubunda kontrol ve T2DM gruplarına göre belirgin derecede yüksek olduğundan bu fark anlamlı bulundu ($p<0,05$). T2DM grubunda ise LDL düzeyi kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). TG düzeyi T2DM grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). HT grubu TG düzeyi açısından kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). PON aktivitesi HT grubunda, T2DM ve kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu farkın allel dağılımına bakıldığında PON1 192 RR homozigot 3 olgunun HT grubunda bulunmasından kaynaklandığı sonucuna varıldı

($p < 0,05$). T2DM grubunda ise PON1 192 RR homozigot 1 olgunun olması nedeniyle kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen aradaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).

PON1 L55M genotip ve allel frekans dağılımı ve **Tablo 7**'de ve ikili grupların karşılaştırmaları ise **Tablo 7a**'da gösterildi. Her üç grubun PON1 L55M genotip ve allel frekans dağılımına bakıldığında T2DM, HT ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p = 0,748$). PON1 L55M kodonundaki genotip dağılımında LL homozigot oranı T2DM grubunda % 41,9 (LL=13), HT grubunda % 40 (LL=12) ve kontrol grubunda ise % 29 (LL=9), grup içi dağılımına bakıldığında ise T2DM grubunda % 38,2 , HT grubunda % 35,3 ve kontrol grubunda ise % 26,5 olduğu görüldü. LM heterozigot oranı T2DM grubunda % 48,4 (LM=15), HT grubunda % 46,7 (LM=14) ve kontrol grubu ise % 51,6 (LM=16), grup içi dağılımı ise T2DM grubunda % 33,3, HT grubunda % 31,1 ve kontrol grubunda ise % 35,6 olduğu görüldü. MM homozigot dağılımına bakıldığında T2DM grubunda % 9,7 (MM=3) , HT grubunda ise % 13,3 (MM=4) ve kontrol grubunda % 19,4 (MM=6) olarak tespit edildi. Grup içi dağılımına bakıldığında ise T2DM grubunda % 23,1, HT grubunda % 30,8 ve kontrol grubunda ise % 46,2 olarak tespit edildi. PON1 55 allel frekans dağılımına bakıldığında ise L allel frekansının T2DM grubunda % 66,12, HT grubunda % 63,33 ve kontrol grubunda ise % 54,84 olduğu görüldü. M allel frekans dağılımı ise T2DM grubunda % 33,88, HT grubunda % 36,67 ve kontrol grubunda ise % 45,16 olduğu görüldü. Bu dağılıma göre anlamlı olmamakla beraber KAH'da daha çok L allel dağılımına rastlandığı sonucuna varıldı ($p = 0,405$).

PON1 L55M polimorfizmi için DM, HT ve Kontrol gruplarında gözlenen ve beklenen genotip ve allel frekans dağılımı yapıldı. DM grubunda yapılan PON1 55. kodon polimorfizm analizinde LL homozigot birey sayısı 13, LM heterozigot birey sayısı 15 ve MM homozigot birey sayısı 3 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2 = 0,1990$, $p = 0,6554$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. HT grubunda yapılan PON1 55. kodon polimorfizm analizinde LL homozigot birey sayısı 12, LM heterozigot birey sayısı 14 ve MM homozigot birey sayısı 4 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2 = 0,0006$, $p = 0,9790$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kontrol grubunda da yapılan PON1 55. kodon polimorfizm analizinde LL homozigot birey

sayısı 9, LM heterozigot birey sayısı 16 ve MM homozigot birey sayısı 6 olarak bulundu. Kontrol grubunda ki kare testi allel frekanslarının değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($X^2= 0.0547$, $p=0.8150$). Allel dağılım frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine uymaktadır.

PON1 Q192R genotip ve allel frekans dağılımı **Tablo 8** ve ikili grupların karşılaştırmaları **Tablo 8a**'da gösterildi. PON1 Q192R genotipi açısından ise yine her üç grup arasında fark yoktu ($p=0.149$). PON1 192 kodonundaki genotip dağılımında QQ homozigot oranı T2DM grubunda % 35,5 (11), HT grubunda % 40 (12) ve kontrol grubunda % 58,1 (18) idi. Grup içi dağılım oranları ise T2DM grubunda % 26,8, HT grubunda % 29,30 ve kontrol grubunda ise % 43,9 olarak belirlendi. QR heterozigotlarda T2DM grubunda % 61,3 (19), HT grubunda % 50 (15) ve kontrol grubunda ise % 41,9 (13) olarak değerlendirildi. Grup içi dağılımda ise T2DM grubunda % 40,4, HT grubunda % 31,9 ve kontrol grubunda % 27,7 bulundu. RR homozigot dağılımında T2DM grubu % 3,2 (1), HT grubu % 10 (3) ve kontrol grubu % 0 olarak bulundu. Grup içi dağılımda T2DM grubu % 25, HT grubu % 75 olarak bulundu. PON1 192 allel frekans dağılımına bakıldığında Q allel frekansının T2DM grubunda % 66,12 , HT grubunda % 65 ve kontrol grubunda ise % 79,03 olduğu görüldü. R allel frekans dağılımı ise T2DM grubunda % 33,88 , HT grubunda % 35 ve kontrol grubunda ise % 20,97 olarak bulundu. Bu dağılıma göre anlamlı olmamakla beraber daha çok R allel dağılımına rastlandığı sonucuna varıldı ($p=0.168$)

PON1 Q192R polimorfizmi için DM, HT ve Kontrol gruplarında gözlenen ve beklenen genotip ve allel frekans dağılımı yapıldı. DM grubunda yapılan PON1 192. kodon polimorfizm analizinde QQ homozigot birey sayısı 11, QR heterozigot birey sayısı 19 ve RR homozigot birey sayısı 1 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2= 4.2021$, $p=0.6612$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. HT grubunda yapılan PON1 192 kodon polimorfizm analizinde QQ homozigot birey sayısı 12, QR heterozigot birey sayısı 15 ve RR homozigot birey sayısı 3 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2= 0.2934$, $p= 0.6500$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kontrol grubunda da yapılan PON1 192 kodon polimorfizm analizinde QQ homozigot birey

sayısı 18, QR heterozigot birey sayısı 13 ve RR homozigot allele sahip birey saptanmadı. Kontrol grubunda ki kare testi allel frekanslarının değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($X^2= 2.1820$, $p=0.7903$). Allel dağılım frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine uymaktadır.

PON2 genotip ve allel frekans dağılımı **Tablo 9** ve ikili grupların karşılaştırması **Tablo 9a**'da gösterildi. PON2 C311S genotipi açısından da her üç grup arasında fark bulunmadı ($p=0.254$). PON2 311 kodonundaki genotip dağılımında SS homozigot oranı T2DM grubunda % 48,4 (15), HT grubunda % 56,7 (17) ve kontrol grubunda % 54,8 (17) idi. Grup içi dağılım oranları ise T2DM grubunda % 30,6, HT grubunda % 34,7 ve kontrol grubunda ise % 34,7 olarak belirlendi. CS heterozigotlarda T2DM grubunda % 38,7 (12), HT grubunda % 23,3 (7) ve kontrol grubunda ise % 16,1 (5) olarak değerlendirildi. Grup içi dağılımda ise T2DM grubunda % 50, HT grubunda % 29,2 ve kontrol grubunda % 20,8 bulundu. CC homozigot dağılımında T2DM grubu % 12,9 (4), HT grubu % 20 (6) ve kontrol grubu % 29,0 (9) olarak bulundu. Grup içi dağılımda T2DM grubu % 21,1, HT grubu % 31,6 ve kontrol grubunda ise % 47,4 olarak bulundu. PON2 311 allel frekans dağılımına bakıldığında S allel frekansının T2DM grubunda % 67,74 , HT grubunda % 68,33 ve kontrol grubunda ise % 62,90 olduğu görüldü. C allel frekans dağılımı ise T2DM grubunda % 32,26 , HT grubunda % 31,67 ve kontrol grubunda ise % 37,10 olarak bulundu. Bu dağılıma göre anlamlı olmamakla beraber KAH'da daha çok S allel dağılımına rastlandığı sonucuna varıldı ($p=0.783$)

PON2 C311S polimorfizmi için DM, HT ve Kontrol gruplarında bulunan allel frekans değerlendirmesi yapıldı. DM grubunda yapılan PON2 311. kodon polimorfizm analizinde SS homozigot birey sayısı 15, CS heterozigot birey sayısı 12 ve CC homozigot birey sayısı 4 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2= 0.4048$, $p=0.6774$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. HT grubunda yapılan PON2 311. kodon polimorfizm analizinde SS homozigot birey sayısı 17, CS heterozigot birey sayısı 7 ve CC homozigot birey sayısı 6 olarak bulundu. Ki kare testi ile yapılan değerlendirmede ($X^2= 6.3714$, $p= 0.6833$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kontrol grubunda da yapılan PON2 311. kodon polimorfizm analizinde SS homozigot birey sayısı 17,

CS heterozigot birey sayısı 5 ve CC homozigot birey sayısı 9 olarak saptandı. Kontrol grubunda ki kare testi allel frekanslarının değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($X^2= 13.2755$, $p=0.6290$). Allel dağılım frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine uymaktadır. Her üç grubun Hardy Weinberg eşitliği değerleri **Tablo 10**'da gösterildi. Gruplar arası genotip ve cinsiyete göre allel dağılımı **Tablo 11**'de özetlendi. Gruplar arası cinsiyete göre PON allel dağılımı **Tablo 12**'de verildi.

Tablo 5. Çalışma Grubundaki Olguların Demografik Özellikleri

| | <u>T2DM</u> | <u>HT</u> | <u>Kontrol</u> | <u>p değeri</u> |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------|
| | <u>Ort±SS</u> | <u>Ort±SS</u> | <u>Ort±SS</u> | |
| Yaş (Yıl) | 61,4±7,34 ^b | 60,6±9,05 ^b | 51±10 ^{a*†} | $p < 0,05$ |
| Boy (cm) | 168,51±6,22 | 167,66±7,06 | 169,22±8,17 | $p = 0,700$ |
| Kilo (kg) | 80,32±13,05 ^{b*†} | 70,03±12,48 ^a | 72,93±12,94 ^{ab} | $p = 0,007$ |
| Cinsiyet | | | | $p = 0,022$ |
| Erkek | 23 %74,2 | 20 %66,7 | 14 % 45,2 | |
| Kadın | 8 %25,8 | 10 %33,3 | 17 % 54,8 | |
| VKİ (kg/m²) | 28,3±4,22 ^{b*} | 24,4± 3,53 ^a | 26,2 ±3,98 ^a | $p < 0,05$ |
| VYA (m²) | 1,95±0,21 ^{a*} | 1,79±0,18 ^b | 1,85±0,21 ^{ab} | $p < 0,05$ |

$p < 0.05$, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, VYA: Vücut Yüzey Alanı

^a Oneway ANOVA, Post Hoc Tukey Testi

^b Oneway ANOVA, Post Hoc Tukey Testi

†: Kruskal- Wallis Testi

*: Oneway ANOVA Testi

Tablo 6. Çalışma Grubundaki Olguların Biyokimyasal Parametreleri

| | <u>T2DM</u> | <u>HT</u> | <u>Kontrol</u> | <u>p değeri</u> |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|
| | Ort±SS | Ort±SS | Ort±SS | |
| AKŞ (mg/dL) | 172,7±65,6 ^{b*†} | 104,3±0,18 ^a | 94,4±14,4 ^a | <i>p</i> <0,05 |
| HDL (mg/dL) | 38,56±9,10 [†] | 40,8±10,91 ^{ab} | 45,67±9,7 ^{b*†} | <i>p</i> <0,05 |
| LDL (mg/dL) | 103,4±33,6 ^{ab*†} | 123,7 ±43,2 ^{b*†} | 85,0± 24,0 ^a | <i>p</i> <0,05 |
| TG (mg/dL) | 213,7±18,2 ^{*†} | 177,7±57,4 ^{*†} | 143,1±35,07 | <i>p</i> <0,05 |
| PON enzim aktivitesi (U/L) | 71,74±54,66 ^{ab} | 104,6±86,03 ^{b*†} | 65,2±33,14 ^a | <i>p</i> =0,032 |

p <0,05

^a Oneway ANOVA, Post Hoc Tukey Testi

^b Oneway ANOVA, Post Hoc Tukey Testi

[†]: Kruskal- Wallis Testi

*: Oneway ANOVA Testi

Tablo 7. Çalışma Grubundaki Olguların PON1 L55M Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı

| | <u>T2DM</u> | <u>HT</u> | <u>Kontrol</u> | <u>p değeri</u> |
|-----------------------|--------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| | n (%) | n (%) | n (%) | |
| Genotip | | | | <i>p</i> =0,748 |
| LL | 13 (41,9) | 12 (40,0) | 9 (29,0) | |
| LM | 15 (48,4) | 14 (46,7) | 16 (51,6) | |
| MM | 3 (9,7) | 4 (13,3) | 6 (19,4) | |
| Allel Frekansı | | | | <i>p</i> =0,405 |
| L | 41 (66,12) | 38 (63,33) | 34 (54,84) | |
| M | 21 (33,88) | 22 (36,67) | 28 (45,16) | |
| L/M Oranı | 0,66/0,34 | 0,63/0,37 | 0,55/0,45 | |

χ^2 = Ki kare testi , *p*<0,05 , L: Lösin , M: Methionin

Tablo 7a. Çalışma Grubundaki Olguların PON1 L55M Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı

| PON1 L55M | LM | LL | <i>p</i> | OR | CI %95 |
|--------------------|-----------------|-----------|----------|------|-----------|
| Grup I-II | 15/14 | 13/12 | 0.98 | 0.99 | 0.34-2.89 |
| Grup I-III | 15/16 | 13/9 | 0.44 | 0.65 | 0.22-1.96 |
| Grup II-III | 14/16 | 12/9 | 0.46 | 0.66 | 0.21-2.02 |
| | MM | LL | | | |
| Grup I-II | 3/4 | 13/12 | 0.67 | 0.69 | 0.13-3.75 |
| Grup I-III | 3/6 | 13/9 | 0.19 | 0.35 | 0.07-1.76 |
| Grup II-III | 4/6 | 12/9 | 0.37 | 0.50 | 0.11-2.31 |
| | LM+MM | LL | | | |
| Grup I-II | 18/18 | 13/12 | 0.88 | 0.92 | 0.33-2.56 |
| Grup I-III | 18/22 | 13/9 | 0.29 | 0.57 | 0.20-1.63 |
| Grup II-III | 18/22 | 12/9 | 0.37 | 0.62 | 0.21-1.78 |
| ALLEL | FREKANSI | | | | |
| | L | M | | | |
| Grup I-II | 41/38 | 21/22 | 0.75 | 1.13 | 0.54-2.38 |
| Grup I-III | 41/34 | 21/28 | 0.20 | 1.61 | 0.78-3.32 |
| Grup II-III | 38/34 | 22/28 | 0.34 | 1.42 | 0.69-2.94 |

χ^2 = Ki kare testi, $p<0,05$, L: Lösin, M: Methionin
OR: Olasılık oranı (Odds ratio), CI%95: Güven aralığı (Confidental Interval %95)

Tablo 8. Çalışma Grubundaki Olguların PON1 Q192R Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı

| PON1 Q192R | T2DM | HT | Kontrol | <i>p</i> değeri |
|-----------------------|--------------|--------------|----------------|------------------------|
| | n (%) | n (%) | n (%) | |
| Genotip | | | | <i>p</i> =0,149 |
| QQ | 11 (35,5) | 12 (40,0) | 18 (58,1) | |
| QR | 19 (61,3) | 15 (50,0) | 13 (41,9) | |
| RR | 1 (3,2) | 3 (10,0) | 0 (0) | |
| Allel Frekansı | | | | <i>p</i> =0,168 |
| Q | 41 (66,12) | 39 (65) | 49 (79,03) | |
| R | 21 (33,88) | 21 (35) | 13 (20,97) | |
| Q/R Oranı | 0,66/0,34 | 0,65/0,35 | 0,79/0,21 | |

χ^2 = Ki kare testi , $*p<0,05$, Q: Glutamin R: Arjinin

Tablo 8a. Çalışma Grubundaki Olguların PON1 Q192R Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekans Dağılımı

| PON1 Q192R | QR | QQ | <i>p</i> | OR | CI %95 |
|--------------------|-----------------|-----------|--------------|---------------------------|-------------|
| Grup I-II | 19/15 | 11/12 | 0.55 | 1.38 | 0.48-4.00 |
| Grup I-III | 19/13 | 11/18 | 0.09 | 2.39 | 0.85- 6.70 |
| Grup II-III | 15/13 | 12/18 | 0.30 | 1.73 | 0.61-4.91 |
| | RR | QQ | | | |
| Grup I-II | 1/3 | 11/12 | 0.40 | 0.69 | 0.03- 4.04 |
| Grup I-III | 1/0 | 11/18 | 0.21 | 0.40f | 1.66 - 4.20 |
| Grup II-III | 3/0 | 12/18 | 0.05* | 0.08f | 1.61-3.88 |
| | QR+RR | QQ | | | |
| Grup I-II | 20/18 | 11/12 | 0.72 | 1.21 | 0.43-3.42 |
| Grup I-III | 20/13 | 11/18 | 0.08 | 2.52 | 0.90-7.02 |
| Grup II-III | 18/13 | 12/18 | 0.16 | 2.08 | 0.75-5.77 |
| ALLEL | FREKANSI | | | | |
| | Q | R | | | |
| Grup I-II | 41/39 | 21/21 | 0.90 | 1.05 | 0.50-2.22 |
| Grup I-III | 41/49 | 21/13 | 0.11 | 0.52 | 0.2-1.16 |
| Grup II-III | 39/49 | 21/13 | 0.08 | 0.49 | 0.22-1.11 |

$p < 0,05$, $\chi^2 =$ Ki kare testi , Q: Glutamin R: Arginin
OR: Olasılık oranı (Odds ratio), CI%95: Güven aralığı (Confidental Interval %95)
 f : Fisher's Exact Testi

Tablo 9. Çalışma Grubundaki Olguların PON2 S311C Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı

| PON2 C311S | <u>T2DM</u> | <u>HT</u> | <u>Kontrol</u> | <u><i>p</i> değeri</u> |
|----------------------|--------------|--------------|----------------|------------------------|
| | n (%) | n (%) | n (%) | |
| Genotip | | | | $p=0,254$ |
| SS | 15 (48,4) | 17 (56,7) | 17 (54,8) | |
| CS | 12 (38,7) | 7 (23,3) | 5 (16,1) | |
| CC | 4 (12,9) | 6 (20,0) | 9 (29,0) | |
| Allel Fekansı | | | | $p=0,783$ |
| S | 42 (67,74) | 41 (68,33) | 39 (62,90) | |
| C | 20 (32,26) | 19 (31,67) | 23 (37,10) | |
| S/C Oranı | 0,68/0,32 | 0,68/0,32 | 0,63/0,37 | |

$p < 0,05$ $\chi^2 =$ Ki kare testi , S: Serin , C: sistein

Tablo 9a. Çalışma Grubundaki Olguların PON2 S311C Polimorfizminin Genotip ve Allel Frekansının Dağılımı

| PON2 S311C | CS | SS | <i>p</i> | OR | CI %95 |
|--------------------|--------------|-----------------|----------|------|------------|
| Grup I-II | 12/7 | 15/17 | 0.26 | 1.94 | 0.61-6.21 |
| Grup I-III | 12/5 | 15/17 | 0.11 | 2.72 | 0.78- 9.52 |
| Grup II-III | 7/5 | 17/17 | 0.62 | 1.40 | 0.37-5.29 |
| | CC | SS | | | |
| Grup I-II | 4/6 | 15/17 | 0.70 | 0.76 | 0.18-3.20 |
| Grup I-III | 4/9 | 15/17 | 0.32 | 0.50 | 0.13-1.98 |
| Grup II-III | 6/9 | 17/17 | 0.37 | 0.50 | 0.19-2.29 |
| | CS+CC | SS | | | |
| Grup I-II | 16/13 | 15/17 | 0.52 | 1.40 | 0.51-3.83 |
| Grup I-III | 16/14 | 15/17 | 0.61 | 1.61 | 0.48-3.52 |
| Grup II-III | 13/14 | 17/17 | 0.89 | 0.93 | 0.34-2.55 |
| | ALLEL | FREKANSI | | | |
| | S | C | | | |
| Grup I-II | 42/41 | 20/19 | 0.94 | 0.97 | 0.46-2.08 |
| Grup I-III | 42/39 | 20/23 | 0.57 | 1.24 | 0.59-2.60 |
| Grup II-III | 41/39 | 19/23 | 0.53 | 1.27 | 0.60-2.69 |

χ^2 = Ki kare testi , $p < 0,05$, S: Serin , C: Sistein , OR: Olasılık oranı (Odds ratio), CI%95: Güven aralığı (Confidential Interval %95)

Tablo 10. Çalışma Grubundaki Olguların Hardy Weinberg Eşitliği (p/q)

| PON1 L55M | LL | LM | MM | p/q değeri |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-------------------|
| DM | 13 | 15 | 3 | 0,661 / 0.339 |
| HT | 12 | 14 | 4 | 0,633 / 0.367 |
| K | 9 | 16 | 6 | 0,548 / 0.452 |
| PON1 Q192R | QQ | QR | RR | |
| DM | 11 | 19 | 1 | 0,661 / 0.339 |
| HT | 12 | 15 | 3 | 0,650 / 0.350 |
| K | 18 | 13 | 0 | 0,790 / 0.210 |
| PON2 S311C | SS | CS | CC | |
| DM | 15 | 12 | 4 | 0,677 / 0.323 |
| HT | 17 | 7 | 6 | 0,683 / 0.317 |
| K | 17 | 5 | 9 | 0,629 / 0.371 |

Tablo 11. Gruplar Arası Genotip ve Cinsiyete Göre Allel Dağılımı

| | DM | HT | K | DM | HT | K | DM | HT | K | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
| | E/K | E/K | E/K | E/K | E/K | E/K | E/K | E/K | E/K | |
| LL | 1/0 | 2/0 | 0 | 1/0 | 2/0 | 0/1 | 1/0 | 1/0 | 1/1 | SS |
| LL | 3/2 | 2/1 | 0 | 3/0 | 0 | 0/1 | 0 | 0/1 | 0/1 | CS |
| LL | 0 | 2/0 | 0 | 1/1 | 0/1 | 0 | 0 | | 4/0 | CC |
| LM | 0 | 2/2 | 0 | 8/2 | 0 | ¾ | 0 | 3/2 | 4/1 | SS |
| LM | 1/1 | 2/0 | 0 | 1/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | CS |
| LM | 1/0 | 2/0 | 0 | 0/1 | 0 | 0/3 | 0 | 0/1 | 0/1 | CC |
| MM | 1/0 | 0 | 0 | 0/1 | 0 | 1/1 | 0 | 1/2 | 0 | SS |
| MM | 1/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ½ | 0 | 1/0 | 0 | CS |
| MM | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/1 | 0 | 0 | 0 | CC |
| | QQ | QR | RR | QR | RR | QQ | RR | QQ | QR | |

E= Erkek K= Kadın

Tablo 12. Gruplar Arası Cinsiyete Göre PON Allel Dağılımı

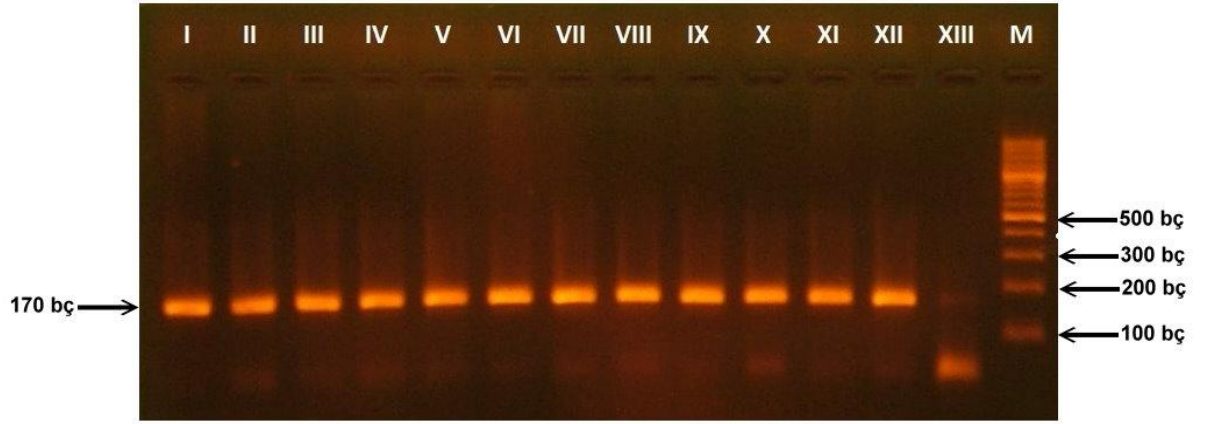
| | DM | | HT | | Kontrol | |
|-----------------|----|---|----|---|---------|----|
| | E | K | E | K | E | K |
| PON1 55 | | | | | | |
| LL | 10 | 3 | 9 | 3 | 5 | 4 |
| LM | 11 | 4 | 9 | 5 | 7 | 9 |
| MM | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| PON1 192 | | | | | | |
| QQ | 8 | 3 | 6 | 6 | 5 | 13 |
| QR | 14 | 5 | 12 | 3 | 9 | 4 |
| RR | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| PON2 311 | | | | | | |
| SS | 12 | 3 | 11 | 6 | 9 | 8 |
| CS | 9 | 3 | 5 | 2 | 1 | 4 |
| CC | 2 | 2 | 4 | 2 | 4 | 5 |

Tablo 13. Gruplar Arası Genotiplere göre PON Enzim Aktivitesi Dağılımı

| Genotip/Gruplar | DM | HT | Kontrol | <i>p</i> değeri | |
|-----------------|------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------|
| | n - Ort±SS | n - Ort±SS | n - Ort±SS | | |
| | LL | 13 - 84.3±68.3 | 12 - 131.8±106.6 | 9 - 91.0±50.3 | 0,149 |
| PON1 55 | LM | 15 - 67.3±45.0 | 14 - 103.0±66.7 | 16 - 53.6±16.6 | 0,286 |
| | MM | 3 - 39.7±4.7 ^a | 4 - 29.0±2.9 ^b | 6 - 57.5±3.7 ^c | 0,005 |
| | QQ | 11 - 47.5±13.9 | 12-41.9±17.6 | 18 - 54.1±7.1 | 0,089 |
| PON1 192 | QR | 19 - 75.5±48.8 ^a | 15-131.1±57.3 ^b | 13 -80.6±47.3 ^a | 0,012 |
| | RR | 1 - 267.0± | 3-223.3±180.0 | 0 | Göz.Sayısı Az |
| | SS | 15 - 91.3±66.0 | 17 - 95.9±100.8 | 17 - 65.8±37.8 | 0,742 |
| PON2 311 | CS | 12 - 46.1±13.7 ^a | 7 - 122.7±74.6 ^b | 5 - 56.2±4.2 ^a | 0,022 |
| | CC | 4 - 75.3±65.5 | 6 - 108.3±54.8 | 9 - 69.2±34.5 | 0,486 |

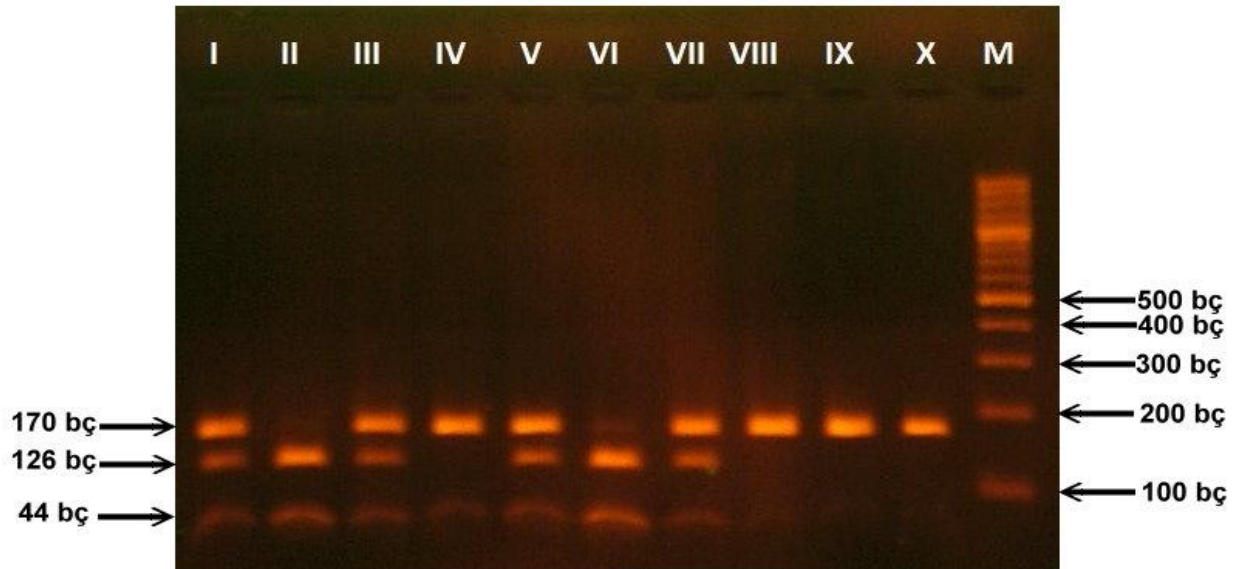
p<0.05,^{abc} Oneway ANOVA,Post Hoc Tukey Testi

PON1 Geninde bulunan rs854560 T > A polimorfizmini tesbit için yapılan PCR uygulaması sonucunda elde edilen 170 bç'lik amplikon %2'lik agaroz jelde yürütüldü (Şekil 3).



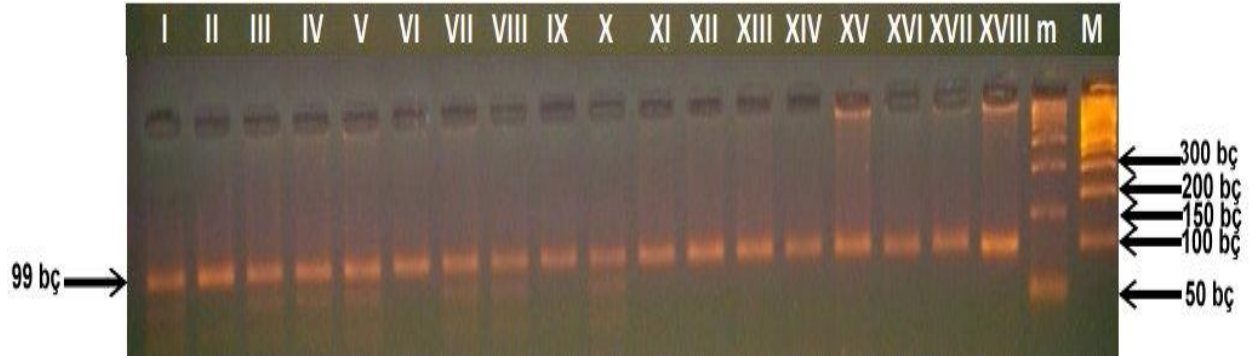
Şekil 3. PON1 Geni L55M Polimorfizmi PCR Görüntüsü – 170 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. I-XII Olgulara ait amplifikasyon ürünleri. XIII-negatif kontrol M:100bç'lik DNA Marker DNA (100bç, 200bç, 300bç,400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

PON1 Geninde bulunan rs854560 T > A polimorfizmini tesbit için Hin1 II (Nla III) ile yapılan enzim kesim işlemi sonucunda elde edilen kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütüldü (Şekil 4).



Şekil 4. PON1 Geni L55M Polimorfizmi Enzim Kesimi Görüntüsü - 170 bç'lik amplifikasyon ürününün Hin1 II restriksiyon enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %3 Agaroz jelde görüntülenmesi. I-IX olgulara ait Hin1 II enzim kesim ürünleri (I:LM, II:MM, III:LM, IV:LL, V:LM, VI:MM, VII:LM, VIII:LL, IX:LL), X:PCR Ürünü, M:Marker (100bç, 200bç, 300bç, 400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

PON1 Geninde bulunan rs662 A > G polimorfizmini tesbit için yapılan PCR uygulaması sonucunda elde edilen 99 bç'lik amplikon %2'lik agaroz jelde yürütüldü (Şekil 5).



Şekil 5. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi PCR Görüntüsü – 99 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. I-XVIII Olgulara ait amplifikasyon ürünleri. m:50bç'lik DNA Marker (50bç, 150bç, 300bç, 500bç, 750bç, 1000bç), M:100 bç'lik DNA Marker (100bç, 200bç, 300bç, 400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

PON1 Geninde bulunan rs662 A > G polimorfizmini tesbit için Awl I (BspP I) ile yapılan enzim kesim işlemi sonucunda elde edilen kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütüldü (Şekil 6).



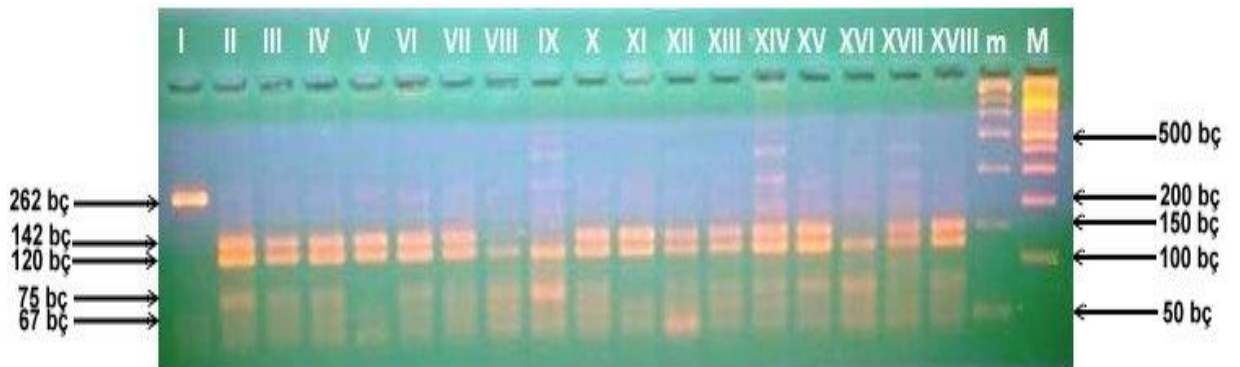
Şekil 6. PON1 Geni Q192R Polimorfizmi Enzim Kesimi Görüntüsü - 99 bç'lik amplifikasyon ürününün Awl I restriksiyon enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %3 Agaroz jelde görüntülenmesi. I-XVI olgulara ait Awl I enzim kesim ürünleri (I:QQ, II:QQ, III:QR, IV:QR, V:QR, VI:QQ, VII:QQ, VIII:QQ, IX:QR, X:QR, XI:QR, XII:QQ, XIII:RR, XIV:QQ, XV:QQ, XVI:QQ, XVII:QQ), XVII:PCR Ürünü, m:50bç'lik DNA Marker (50bç, 150bç, 300bç, 500bç, 750bç, 1000bç), M: 100bç'lik DNA Marker (100bç, 200bç, 300bç, 400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

PON1 Geninde bulunan rs7493 C > G polimorfizmini tesbit için yapılan PCR uygulaması sonucunda elde edilen 262 bç'lik amplikon %2'lik agaroz jelde yürütüldü (Şekil 7).



Şekil 7. PON2 Geni S311C Polimorfizmi PCR Görüntüsü – 262 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. I-VII Olgulara ait amplifikasyon ürünleri. VIII: negatif kontrol. M:100bç'lik DNA Marker (100bç, 200bç, 300bç, 400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

PON1 Geninde bulunan rs7493 C > G polimorfizmini tesbit için HpyF3 I (Ddel) ile yapılan enzim kesim işlemi sonucunda elde edilen kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütüldü (Şekil 8).



Şekil 8. PON2 Geni S311C Polimorfizmi Enzim Kesimi Görüntüsü - 262 bç'lik amplifikasyon ürününün Ddel restriksiyon enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %3 Agaroz jelde görüntülenmesi. I:PCR ürünü.

II-XVIII olgulara ait Ddel enzim kesim ürünleri (II:CS, III:CS, IV:CS, V:CC, VI:CS, VII:CS, VIII:SS, IX:SS, X:CS, XI:CC, XII:CS, XIII:CS, XIV:CS, XV:CS, XVI:SS, XVII:CS, XVIII:CS), m:50bç'lik DNA Marker (50bç, 150bç, 300bç, 500bç, 750bç, 1000bç), M:100bç'lik DNA Marker (100bç, 200bç, 300bç, 400bç, 500bç, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç, 1000bç)

5. TARTIŞMA

Koroner arter hastalığı, çevresel ve genetik faktörlerin varlığında oluşan kompleks bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalarda KAH için birçok risk faktörü saptanmıştır (Ruiz ve ark, 1995., Serrato ve Marian, 1995., Zama ve ark, 1997). Bu risk faktörlerinden düşük HDL-kolesterol düzeyi en önemli risk faktörü olarak ön plana çıkmaktadır. Antioksidan aktiviteye sahip serum paraoksonaz enzimi HDL'ye bağlı bir enzim olarak, HDL'nin antioksidatif özelliğinden sorumludur ve paraoksonaz ile KAH arasında sıkı bir ilişki olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Guxens ve ark, 2008). Düşük paraoksonaz aktivitesi ise lipid peroksidasyonuna yatkınlığı artırarak ateroskleroz oluşumuna ve böylece kardiyovasküler hastalıklara neden olmaktadır (Cakmak ve ark, 2009). HDL-kolesteroldeki her %1'lik azalma KAH riskini % 2-3 arttırmaktadır. Bundan dolayı koruyucu bir etkiye sahip olan HDL-kolesterol ile ilgili mekanizmalar yoğun bir şekilde araştırılmış ve HDL ile trigliserid (TG) düzeyleri açısından KAH ve kontrol grubu arasında fark olmadığı bildirilmiştir (Jalilian ve ark, 2008). HDL kolesterol ile ilişkili in vitro çalışmalarda ise HDL-bağımlı PON1enziminin LDL oksidasyonunu önlediği ve okside LDL'deki biyolojik olarak aktif olan lipidleri parçaladığı gösterilmiştir. Ayrıca, normal arter duvarında da bulunmakta ve aterosklerotik süreçte konsantrasyonları giderek artmaktadır. HDL düzeyindeki değişimlerle ilişkili olarak PON1 enzim affinitesi ve stabilitesinde değişim olmakta ve antioksidatif kapasite ile sonuçlanmaktadır (Durrington ve ark, 2001). Aviram ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda PON1 enziminin in vitro ve in vivo LDL oksidasyonunu önlemesi, aterosklerotik lezyonlarda okside olmuş lipidleri azaltma kapasitesi ve serum aktivitelerine olan etkisi nedeniyle, PON1 enziminin KAH'ı oluşturan bağımsız bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür (Aviram, 1999., Aviram ve ark, 2000). Bu nedenle KAH oluşumunda rol alan aterosklerotik değişikliklerde PON polimorfizmi iyi bir gösterge olmaktadır (Mackness ve ark, 2004., Pati ve ark, 1998.,

Humbert ve ark, 1993., Primo-Parmo ve ark, 1996., Mochizuki ve ark, 1998). PON1 polimorfizmi ve KAH arasındaki ilişki üzerine yapılan çalışmalarda aynı etnik nüfusta elde edilen bulgularda bile farklılıklar olduğu görülmüş; bu farklılık nedeniyle genin çevreyle ve/veya genin genle etkileşiminin PON1 polimorfizmi ve KAH arasındaki ilişkiyi etkilediği ileri sürülmüştür (Imai ve ark, 2000., Saha ve ark, 1991). Değişik populasyonlarda yapılmış çalışmalarda PON 1 ve PON 2 gen polimorfizmlerinin değişkenlik göstermesinde genetik yatkınlık ve alleldeki varyabilitenin etkili olduğu gösterilmiştir (Byoung ve ark, 2009., Pati ve ark, 1998). M alleli taşıyanlar düşük PON1 enzim aktivitesine sahiptir. L alleli taşıyanlar ise proteolize daha dayanıklı ve stabil olduğundan yüksek serum aktivitesine sahiptirler (Rosenblat ve ark, 2006). PON1 55 L alloenzimi M alloenzimine göre LDL oksidasyonunu önlemede daha fazla etkilidir. PON1 55 polimorfizmi ile ilgili yapılmış vaka-kontrol çalışmalarında PON1 55 L alleli ile ateroskleroz arasında ilişki saptanmamıştır (Sanghera ve ark, 1998). Bununla birlikte İsbir ve ark.'nın (İsbir ve ark, 2007) yaptığı bir çalışmada PON1 55 ve 192 polimorfizmleri açısından koroner arter hastalığı olanlar ile kontrol grubu arasında fark olmadığı ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda ise PON 55 LL genotipi T2DM'li ve HT gruplarına göre kontrol grubunda daha düşük bulundu. PON1 55 L allel frekansı ile PON enzim aktivitesi arasında korelasyon olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda da PON 55 LM ve MM genotipi daha yüksek bulunup KAH ile zayıf bir ilişki olduğu gözlemlendi. Bu durum bize KAH olanlarda sadece PON1 55 LL alleleline daha sık rastlandığını düşündürmektedir. Taşkiran ve Aynacıoğlu'nun yaptıkları çalışmada, KAH PON1 L55M polimorfizmi ile ilişkili bulunurken, Q192R polimorfizmi ile ilişkili bulunmamıştır (Taşkiran ve ark, 2009., Aynacıoğlu ve ark, 2000). Bu çelişkili sonuçlar ise etnik köken, diyet alışkanlıkları, bireysel farklılıklar, çevresel faktörler ve çalışma tipindeki farklılıklardan PON 1 enziminin farklı etkilenmesinden dolayı kaynaklanmaktadır. İnsanlarda PON1 192 Q allelinin kodladığı alloenzimin R allelinin kodladığı alloenzimden daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu hala tartışmalıdır (Cao ve ark, 1999., Aviram ve ark, 2000). PON1 192 R allelinin Q alleleline göre KAH ile daha çok ilişkili olduğunu ileri süren birçok vaka-kontrol çalışması bulunmaktadır (Ladu ve ark, 1993., Ladu ve ark, 1996., Durrington ve ark, 2001). Bu çalışmaların bazılarında PON1 192 R allelinin varlığında T2DM, sigara ve

yaş gibi diğer KAH risk faktörlerine karşı yatkınlığın arttığı ileri sürülmektedir (Deakin ve James, 2004). Bazı çalışmalarda ise PON1 192 R alleli ile KAH arasında herhangi bir ilişki gösterilmemiştir (Senti ve ark, 2001., Herrmann ve ark, 1996). Bizim çalışmamızda PON1 192 polimorfizmine bakıldığında RR genotipi HT hasta grubunda % 10, T2DM'li grupta % 3.2 iken kontrol grubunda ise % 0 olarak bulundu. PON1 192 QR genotipinin en yüksek oranı % 61.3 ile T2DM'li hasta grubunda olduğu gözlemlendi. QQ genotipi ise % 58.1 oranı ile kontrol grubunda en yüksek bulundu. Bizim çalışmamızda, QQ genotipinin sıklıkla normal bireylerle, RR genotipi ise KAH ve HT'li bireylerle ilişkili olduğu sonucuna varıldı. Bunun yanı sıra QR genotipine ise sıklıkla HT ve T2DM zemininde rastlandığı gözlemlendi.

KAH ile ilişkili en yaygın diğer bir polimorfizm PON2 geninin kodon 311'deki Ser → Cys değişikliği olup özellikle hipertansif T2DM'li hastaların kan basıncı regülasyonunda rol aldığı bilinmektedir. Bu nedenle T2DM'e yatkınlığı artıran bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Toplumlaraya göre sıklıkları değişen PON2 311 polimorfizmi ile T2DM riski arasında da ilişki olduğu gösterilmiştir (Shin, 2009., Byong ve ark, 2009). Özellikle T2DM'un mikrovasküler komplikasyonlarından sorumlu tutulmuştur (Mackness ve ark, 2005). Bu olgularda PON1 192 R allelinin etkilerine benzer olarak PON2 311 S allel varlığının artmış olduğu gösterilmiştir (Qu ve ark, 2008., Mackness ve ark, 2000). Guxens ve ark.'larının İspanyol popülasyonunda yaptığı bir vaka-kontrol çalışmasında, PON1 Q192R ve PON2 S311C polimorfizmlerinin KAH ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. 3 meta analiz çalışmasında PON1 192 R alleli ile KAH riskinin ilişkili olduğu öne sürülmesine rağmen, başka çalışmalarda PON1 Q192R ve PON2 S311C polimorfizmlerinin KAH ile ilişkisinin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ileri sürülmüştür (Tomás ve ark, 2004., Wheeler ve ark, 2004., Mackness ve ark, 2001). Bazı çalışmalarda KAH'nin belirleyicisi olarak PON1 Q192R ve PON2 S311C polimorfizmlerinin her ikisi birlikte değerlendirilmiştir (Sanghera ve ark, 1998., Chen ve ark, 2003., Martinelli ve ark, 2004., Wang ve ark, 2003., Pasdar ve ark, 2006). Bu çalışmalardan ikisinde, PON1 192 R alleli ile beyaz ırkta PON2 311 C birlikteliği görülürken, Asyalı Hintlilerde PON1 192 R alleli ile PON2 311 S allellerinin birlikteliğinin KAH için yüksek riske sahip olduğu gösterilmiştir. Jalilian ve ark. hem PON2 311 C allel sıklığını hemde 311 CC genotip sıklığını KAH'da

kontrol gruplarından daha yüksek bulmuşlar ve PON2 311 C allel varlığını KAH ile ilişkili olarak değerlendirmişlerdir (Jalilian ve ark, 2008). Beyaz ırkta yapılan bir çalışmada PON1 192 Q ve PON2 311 S allelleri açısından homozigot olan aynı grup hastalarda bu polimorfizmlerin sadece biri için homozigot olanları ile karşılaştırıldığında KAH riskinde artış görülmüştür. PON2 311 S allelinin diğer klasik risk faktörlerinden bağımsız olarak PON1 polimorfizmleri ile sinerjistik etki gösterebildiği öne sürülmüştür (Sanghera ve ark, 1998., Robertson ve ark, 2003). Literatürde (Qu ve ark, 2008) belirtildiği gibi bizim çalışmamızda da, PON2 S311C polimorfizminde S allel frekansının özellikle HT ve T2DM grubu hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek seyrettiği gözlemlendi. Buna ek olarak, PON2 311 kodonunda SS genotipi T2DM'li hasta grubunda % 48.4, HT'li hasta grubunda % 56.7 ve kontrol grubunda ise % 54.8 olarak bulundu. PON2 311. kodonda CC genotipi T2DM'li hasta grubunda % 12.9, HT'li hasta grubunda % 20.0 ve kontrol grubunda ise % 29.0 olarak bulundu. Qu ve ark.'nın yaptıkları çalışmada belirttikleri gibi bizim çalışmamızda da PON2 S311C polimorfizminin T2DM'e yakınlığı arttırmakla birlikte HT ile daha sıkı bir bağlantısı olduğu sonucuna vardık.

PON enzim aktivitesi ölçümü PON 1 ve PON 2 polimorfizm araştırmalarında çalışmanın güvenilir bir belirteç rolü üstlenmektedir. Özellikle heterozigot olgularda enzim düzeyleri yani fenotipik görünümde değişiklik göstermekte, ayrıca sigara kullanımı ve T2DM PON1 enzim aktivasyon düzeyini etkilemektedir. DM hastalarında da PON1 enzim aktivitesinin azaldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da PON 1 enzim aktivitesi T2DM grubunda düşük ve kontrol grubunda ise en düşük seviyede bulunmuştur. Bu azalmanın diabetik hastalarda oksidatif stresin artması sonucu antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Shin, 2009). Bunun bir başka nedeni ise PON1 R allel frekansının kontrol grubu hastalarda bulunmamasından kaynaklanmaktadır. PON1 enzim aktivitesi üzerindeki etki muhtemelen genotipten bağımsızdır. Bununla birlikte PON1 55 L allelinin diabetik retinopati ile ilişkili olduğu belirlenmiştir ve PON1 192 R alleli daha çok kardiyovasküler hastalığı olan diabetiklerle ilişkilidir. PON1 L55M polimorfizmi ise azalmış glukoz toleransı, pankreas hücre harabiyeti ve artmış insülin rezistansı ile ilişkili olarak bulunmuştur. Diabetiklerde PON1 enzim

aktivitesindeki azalma mekanizmasının artmış glukoz konsantrasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Başkol ve ark, 2003).

PON1 55 L/M polimorfizminde MM genotipe sahip bireylerde LL genotipe sahip bireylere kıyasla paraoksonaza karşı daha düşük PON1 enzim aktivitesi bulunduğu rapor edilmiştir (McElveen ve ark, 1986). PON1 enzim aktivitesinin oksidatif stres ile yakından ilişkili olduğu ve PON1 55 L alleli varlığında arttığı gözlenmiştir (Ikeda ve ark, 2003., Robertson ve ark, 2003).

Çok az çalışmada hipertansiyonda PON1 enzim aktivitesi ile gen polimorfizmi arasında ilişki olduğunu gösterilmiştir. PON1 Q192R polimorfizminde Q alleleline sahip bireylerde, R allelini taşıyan bireylere göre daha düşük PON1 enzim aktivitesi gözlenmektedir (Adkins ve ark, 1993., Aynacioglu ve Kepekci, 2000). Makrofajlar PON2 gen ekspresyonunu oksidatif stres altında artırırlar (Aviram ve ark, 2004). Böylelikle PON2 proteini hücre düzeyinde selektif bir antioksidan olarak etkili olur ve oksidatif stres makrofajlardan köpük hücre oluşumunu azaltarak antiaterojenik bir rol oynar (Ng ve ark, 2001). PON1 enzim aktivitesinin düşük olduğu durumlarda KAH'a yatkınlık ve myokard enfarktüsü oranında artış gözlenmektedir (Mackness ve ark, 2000). KAH'da anahtar rolü oynayan mekanizma arteriyal subendotelyal bölgedeki LDL'nin oksidasyonudur. HDL-PON1 enzim kompleksi, okside LDL gibi okside fosfolipidlerin uzun zincirlerini hidrolize edebilir. PON ailesi üyesi olan PON 1 ve PON 3 antioksidan ve antiinflamatuvar fonksiyonları ile LDL oksidasyonunu önleyerek KAH oluşumunu engellerler. Yapılan çalışmalarda (Jalilian ve ark, 2008), HDL ve TG düzeyleri açısından KAH ve kontrol grubu arasında fark olmadığı bildirilmesine rağmen, bizim çalışmamızda AKŞ ve TG düzeyi T2DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Ancak LDL yüksek olmasına rağmen, bu yükseklik anlamlı değildi. HDL ise kontrol grubunda T2DM grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. LDL ve TG HT grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, AKŞ yüksekliği anlamlı değildi. HDL ise kontrol grubunda HT grubuna göre yüksek bulunmasına rağmen, anlamlı değildi. Mackness ve ark. tarafından PON2 311 polimorfizminin paraoksonaz aktivitesi ile sinerjistik etki gösterdiği ve T2DM'li hastalarda PON2 SS genotiplilerdeki paraoksonaz aktivitesinin diğer genotipli hastalardan daha yüksek

olduğu gösterilmiştir (Mackness ve ark, 2000). PON2 311. kodondaki değişikliklere bağlı bu muhtemel mekanizma T2DM'e yatkınlık düşündürmektedir. PON1 192 R allelinin azlığının ve PON2 311 polimorfizmlerinin KAH riskini arttırdığı bildirilmiş olup bazı meta analiz çalışmalarında ise bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı rapor edilmiştir (Tomás ve ark, 2004., Mackness ve ark, 2001., Wheeler ve ark, 2004).

Buna ek olarak, PON1 192 QQ genotipinin KAH'a yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (Guxens ve ark, 2008). Bizim çalışmalarımızda ise PON1 192 QR ve RR genotiplerinin varlığında KAH'a yatkınlığın arttığını ve özellikle T2DM'li hastalarda PON1 192 QR genotipinin HT'li hastalarda ise PON1 192 RR genotip oranının yüksek olduğunu gözlemledik.

PON2 311 S allel varlığı ile PON1 192 Q allel varlığında MI riskinin yüksek olduğu ve bunun MI için bağımsız bir risk faktörü olduğu söylenebilir. PON1 192 Q alleli R allelinden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Oksidatif stres varlığında makrofajlardan hücresel düzeyde PON2 salınımı artmaktadır. Böylece PON2'nin hücresel düzeyde antioksidan cevap ile antiaterojenik rol oynadığı gösterilmiştir (Guxens ve ark, 2008).

6. SONUÇ

Bu çalışmanın sonucunda, PON polimorfizmi ile PON1 enzim aktivitesinin birlikte değerlendirilmesinin daha anlamlı olacağı sonucuna varılarak kardiyovasküler belirteçler arasında yer alması gerektiği düşünüldü. PON1 L55M ve Q192R polimorfizmleri ile KAH arasında ilişki olduğu gözlemlendi. HT+KAH grubunda PON1 55 L ve PON1 192 R allellerinin varlığında PON1 enzim aktivitesinde yükselme izlendi. Bu durumda, PON1 enzim aktivitesinin KAH, HT ve DM gelişiminde önemli bir önleyici faktör olduğu sonucuna varıldı. Buna ek olarak, PON1 L55M polimorfizmi ile HT+KAH arasında anlamlı bir ilişki olduğu, ancak MM genotipe sahip bireylerde LL genotipe sahip bireylere kıyasla PON1 enzim aktivitesinin düşük olduğu tespit edildi. Bu sonuç, PON1 L55M polimorfizminin KAH gelişiminde spesifik bir risk faktörü olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Öte yandan, PON1 Q192R polimorfizminde ise RR veya QR genotipleri ile KAH arasında daha zayıf bir bağlantı olduğu izlendi. PON1 polimorfizmi ve KAH arasındaki ilişki beslenme alışkanlıkları, etnik köken, yaşam tarzı ve fiziksel aktivite faktörlerine bağlı değişkenlik göstermekle birlikte, genin çevreyle ve/veya genin genle etkileşiminin de önemli olduğunu düşündürmektedir. PON2 S311C ise KAH'tan ziyade daha çok DM'un mikrovasküler komplikasyonları ile birliktelik göstermektedir. Ancak PON2 311 ile T2DM'li hipertansif hastalardaki risk faktörleri arasındaki nedensellik ilişkisinin belirlenmesi için daha geniş çaplı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Moleküler yöntemlerin ilerlemesiyle genetik polimorfizmlerin multijenik hastalıkların etiyopatogenezinde rol aldığı gösterilmektedir. Bu bilgiler ışığında; PON1, PON 2 ve PON1 enzim aktivitesindeki değişimlerin saptanmasının multigenik ve kompleks bir hastalık olan KAH'ın tanı ve tedavisinde risk altındaki bireylere erken safhada önlem alınabilme imkanı sağlayacaktır.

7.ÖZET

AMAÇ: Gelişmiş ülkelerde koroner arter hastalığı en sık görülen sağlık problemlerinden biridir. Hipertansiyon ve Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) muhtemelen artmış oksidatif stres yoluyla endotelial disfonksiyona neden olmaktadır. Bu nedenle HT ve T2DM koroner arter hastalığı etiopatogenezinde önemli rol alır. HDL'ye bağlı bulunan paraoksonaz (PON) ateroskleroz ve endotelial disfonksiyonu inhibe eden bir enzimdir. Bu çalışmada, koroner arter bypass greftleme planlanan, hipertansiyon hastaları veya T2DM'li hastalarda PON1 ve PON2 gen polimorfizmleri ile PON 1 enzim aktivitesi arasındaki ilişkinin gösterilmesi amaçlandı.

METOD: Çalışmaya 92 hasta ve sağlıklı kontrol dahil edildi. Üç gruba ayrıldı. Hastalar grup 1(n=31) T2DM + KAH, grup 2 (n=30) HT + KAH ve grup 3 (n=31) kontrol grubu ise sağlıklı bireylerden oluşturuldu. PON1 Leu 55 Met ve Gln 192 Arg; PON2 Ser 311 Cys polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile serum PON aktivitesi ise paraokson hidrolizinin spektrofotometrik ölçümüyle değerlendirildi. Koroner arter hastalığında PON1 ve PON2 polimorfizmleri, PON aktivitesi ve lipid profilleri değerlendirildi.

BULGULAR: Üç grup arasında PON1 L55M, PON1 Q192R and PON2 C311S polimorfizmlerinin allel frekansları ve genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$). PON 1 aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında T2DM'li hastalarda yüksek bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bununla birlikte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HT grubunda, PON aktivitesinin yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). PON aktivitesi ile diğer biyokimyasal değerler arasında istatistiksel olarak korelasyon vardı ($P<0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ: Bu bulgular T2DM'li hastalarda PON aktivitesinin azaldığını gösterdi. Bununla beraber PON aktivitesi HT'lu hastalarda daha yüksekti. Sonuç olarak PON1, PON2 polimorfizmlerindeki ve PON1 enzim aktivitesindeki

değişimlerin saptanması, kompleks ve multijenik gelişim gösteren koroner arter hastalığının erken evresindeki riskli bireylerin tanı ve tedavisinde önlem almaya fırsat sağlayacaktır.

SUMMARY

PURPOSE: Coronary artery disease (CAD) is one of most important health problems in developed countries. Hypertension and type 2 diabetes mellitus (T2DM) cause endothelial dysfunction probably through increased oxidant stress. Thus hypertension and type 2 diabetes mellitus (T2DM) play role in the etiopathogenesis of CAD. Paraoxonase (PON) is a high-density lipoprotein-bound anti-oxidant enzyme that inhibits atherosclerosis and endothelial dysfunction. In this study, We scheduled to investigate the relationship between PON1, PON2 and PON activity in patients with T2DM or HT.

METHODS: Ninety-two patients were enrolled in the study. They were divided into three groups. Thus, patients were separated as group T2DM (n=31): group HT (n=30) and group control (n=31) were composed of individuals healthy patient. PON1 Leu 55 Met, Gln 192 Arg; PON2 Ser 311 Cys polymorphisms and serum PON activity were evaluated by PCR-RFLP techniques and measuring spectrophotometric paraoxon hydrolysis.respectively. The association between PON1, PON 2 ,PON activity and lipid profiles were evaluated in the CAD.

RESULTS: PON1 and PON2 genotypes of all three groups the allele frequencies and genotype distribution were not significant differences in terms of looking at the PON1 L55M, PON1 Q192R and PON2 C311S genotype homozygous codon among three groups ($P>0.05$). When compared control group PON1 activity was found higher in the T2DM patients. This difference was not significant. However, when compared control group with the HT group was higher. PON activity difference was significant ($p<0.05$). Serum PON activity was a significant correlation with other biochemical parameters ($P<0.05$).

DISCUSSION and CONCLUSION: These findings suggest that serum PON activity is reduced in the T2DM patients. However, serum PON activity is higher in

the HT patients. In conclusion detection of changes in PON 1, PON 2 polymorphisms and activity of serum PON1 enzyme a complex and multigenic disease at an early stage will provide the opportunity precaution in the diagnosis and treatment of CAD at-risk individuals.

KAYNAK DİZİNİ

ABBOTT CA MACKNESS MI KUMAR S BOULTON AJ. Durrington PN. Serum paraoxonase activity concentrations and phenotype distribution in diabetes mellitus its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; **15**: 1812-1818.

ADKINS S, GAN KN, MODY M, LA DU BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191 for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993; **52**:598-608.

AGACHAN B, YILMAZ H, ERGEN Z, KARAALI E, ISBIR T. Paraoxonase (PON1) 55 and 192 Polymorphism and Its Effects to Oxidant-Antioxidant System in Turkish Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiol. Res* 2005; **54**: 287-293.

ANTOGNELLI C, DEL BUONO C, LUDOVINI V, GORÌ S, VINCENZO N, LUCIO T, BARBERINI CF, ANTONIO RULLI. CYP17 GSTP1 PON1 and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer* 2009; **9**: 115.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Type 2 diabetes in children and adolescents. American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2000; **23**: 381–389.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2004; **27** suppl 1S:5-14.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus *Diabetes Care* 2007; **30(1)**: 36-45.

ARI S, DNA'nın PCR ile Çoğaltılması. TEMIZKAN G, ARDA N. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. Nobel Tıp Kitabevi. 3. Baskı. 2008; Bölüm 5 Sy 101-117

ARICI M, TURGAN C, ALTUN B, SINDEL S, ERBAY B, DERICI U, KARATAN O, ERDEM Y, HASANOGLU E, CAGLAR S. For the Turkish Society of Hypertension and Renal DiseasesHypertension incidence in Turkey (HinT): a population-based study. *Journal of Hypertension* 2010; **28 (2)**: 240–244.

ASIA PACIFIC COHORT STUDIES COLLABORATION. Joint effects of systolic blood pressure and serum cholesterol on cardiovascular disease in the Asia Pacific region. *Circulation* 2005; **112**: 3384–3390.

ASSMANN G, SCHULTE H. The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J* 1998; **116**: 1713–1724.

AVIRAM M. Does Paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular diseases? *Mol Med Today* 1999; **5**: 381-386.

- AVIRAM M, HARDAK E, VAYA J, MAHMOOD S, MILO S, HOFFMAN A. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000; **101**: 2510-2517.
- AVIRAM M, ROSENBLAT M. Paraoxonases 1, 2 and 3 oxidative stress and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004; **37**:1304-1316.
- AYNACIOGLU AS, KEPEKCI Y. The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in Turkish patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2000; **74**: 33-37.
- BARNETT AH, EFF C, LESLIE RD, PYKE DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981; **20**: 87-93.
- BARTER P: The role of HDL-cholesterol in preventing atherosclerotic disease. European Heart Journals Supplements. 2005; (7): 4-8.
- BASKAL N. Diabetes Mellitus tanım klasifikasyon tanı klinik laboratuar ve patogenez. Erdoğan G (ed). Klinik endokrinoloji 3.Baskı. Ankara: Baran Ofset 2003; 207-232.
- BAŞKOL G, KÖSE G. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2004; **26**: (2): 75-80.
- BECKER WM, DEAMER DW. The world of the cell, 2nd ed, 748, The Benjamin/Cumming publishing Ca, redwood City-1991.
- BOADO RJ, YUN ZHANG Y, YUFENG ZHANG WANG Y, PARDRIDGE WM. IgG-Paraoxonase-1 Fusion Protein for Targeted Drug Delivery Across the Human Blood-Brain Barrier. *Mol Pharm* 2008 ; **5**(6): 1037-1043.
- BURT VL, CUTLER JA, HIGGINS M. Trends in the prevalence awareness treatment and control of hypertension in the adult US population: data from health examination surveys 1960-91. *Hypertension* 1995; **26**: 60-69.
- CAKMAK A, SOKER M, KOC A, EREL O. Paraoxonase and Arylesterase Activity With Oxidative Status in Children With Thalassemia Major. *Pediatr Hematol Oncol* 2009; **31**(8): 583-587.
- CALABRESI L, OMARSHI M, FRANCSHINI G, Endotelial protection by high-density lipoproteins. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2003; **23**: 1724-1731.
- CAMUZCUOGLU H, ARIÖZ DT, TOY H, KURT S, CELİK H, EREL O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2009; **112**: 481-485.
- CAO H. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation. *J Lipid Res* 1999. **40**; 133-139.
- CHEN Q, REIS SE, KAMMERER CM, HOLUBKOV R, SHARAF BL. Association between the severity of angiographic coronary artery disease and paraoxonase gene polymorphisms in the National Heart Lung and Blood Institute-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Am J Hum Genet.* 2003;**72**:13-22.

CHOBANIAN AV BAKRIS GL BLACK HR CUSHMAN WC GREEN LA IZZO L JR JONES DW MATERSON BJ OPARIL S WRIGHT JT JR ROCCELLA EJ National Heart Lung Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention Detection Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;**42**:1206–1252.

CRIQUI MH LANGER RD FRONEK A FEIGELSON HS KLAUBER MR MCCANN TJ BROWNER D. Mortality over a period of 10 years in patients with peripheral arterial disease. *N Engl J Med* 1992;**326**:381–386.

DEAKIN S, LEVIEV I, NICAUD V, MEYNET MCR, TIRET L, JAMES RW, ON BEHALF OF THE ROPEAN ATHEROSCLEROSIS RISK STUDY GROUP. Paraoxonase-1 L55M Polymorphism Is Associated with an Abnormal Oral Glucose Tolerance Test and Differentiates High Risk Coronary Disease Families. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; **87**(3):1268–1273.

DEAKIN S, JAMES RW. Genetic and Enviromental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I. *Clinical Science*, 2004; **107**: 435-447.

DHARAMBIR K, CHRISTOPHER E. SAHA AN, KAMBOH MI. DNA Polymorphisms in Two Paraoxonase Genes (PON1 and PON2) Are Associated with the Risk of Coronary Heart Disease. *Am J Hum Genet* 1998; **62**: 36–44.

DIRICAN M: LDL oksidasyonu ve atherosklerozla ilişkisi. *Biyokimya Dergisi* 1999; **24**(1): 41-48.

DURRINGTON PN MACKNESS B MACKNESS MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; **21**: 473-80.

ECKERSON HW, WYTE CM, LA DU BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;**35**:1126–1138.

EKMEKÇI ÖB, DONMA O, EKMEKÇI H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 78-82.

ERDOGAN D, YILDIRIM I, CIFTCI O, OZER I, CALISKAN M, GULLU H. Effects of normal blood pressure prehypertension and hypertension on coronary microvascular function. *Circulation* 2007; **115**: 593–599.

ERKOC R, AKSOY H, ALICI S, ILHAN M, SAYARLIOGLU M. Hypertension Prevalance in Van Turkey 1997.

ERLICH PM, LUNETTA KL, CUPPLES LA, HUYCK M, GREEN RC, BALDWIN CB, FARRER LA, FOR THE MIRAGE STUDY GROUP. Polymorphisms in the PON gene cluster are associated with Alzheimer disease. *Human Molecular Genetics* 2006; **15**(1): 77–85.

EUROPEAN SOCIETY OF HYPERTENSION-EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY GUIDELINES COMMITTEE. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; **21**: 1011-1053.

- EZZATI M, OZA S, DANAEI G, MURRAY CJ. Trends and cardiovascular mortality effects of state-level blood pressure and uncontrolled hypertension in the United States. *Circulation* 2008; **117**: 905–914.
- FAJANS SS. Diabetes Mellitus: Classification and testing procedures in: DF Groot LJ (ed). *Endocrinology* WB Saunders Company 1996: pp1346.
- FAUCI AS, BRAUNWALD E, KASPER DL, HAUSER SI, LONGO DL, JAMESON JL, LOSCALZO J. Harrison's principles of internal medicine, *Mc Graw Hill* 17th ed, Ch 218, 2008.
- FAUCI AS, BRAUNWALD E, KASPER DL, HAUSER SL, LONGO DL, JAMESON JL, LOSCALZO J. Harrison's principles of internal medicine, *The McGraw-Hill Companies Inc.*, 17th ed. Part 15, Ch 3381, 2008; 2275-2310.
- FEINGLOS MN, BETHEL MA. Type 2 Diabetes Mellitus. An evidence-Based Approach to Practical Management. 2008; **44**: Pp388-404.
- GARIN MC, JAMES RW, DUSSOIX P, BLANCHÉ H, PASSA P, FROGUEL P. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997; **99**: 62-66.
- GARBER AJ. Vascular disease and lipids in diabetes. *Med Clin North Am* 1998; **82**: 931-948.
- GUIDELINES COMMITTEE 2003. European Society of Hypertension- European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003;**21**:1011–1053.
- GUNNARSDOTTIR I, BIRGISDOTTIR BE, THORSDDOTTIR I, GUDNASON V, BENEDIKTSSON R. Size at birth and coronary artery disease in a population with high birth weight. *Am J Clin Nutr* 2002; **76**: 1290-1294.
- GUXENS M, TOMAS M, ELOSUA R, ALDASORO E, SEGURA A, FIOLE M, SALA J, VILA J, FULLANA MM, VEGA G, DE LA RICA M, MARRUGAT J and THE IBERICA STUDY RESEARCH GROUP. Association Between Paraoxonase-1 and Paraoxonase-2 Polymorphisms and the Risk of Acute Myocardial Infarction. *Rev Esp Cardiol* 2008; **61**(3): 269-275.
- GUNDOGDU S, ACBAY Ö. Tip 2 diabetin evreleri ve takip kriterleri. *Aktüel Tıp Dergisi* 1996; **8**: 557-559.
- HAREL M, AHARONI A, GAIDUKOV L. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004; **11**: 412–419.
- HEINECKE JW. Eosinophil-dependent bromination in the pathogenesis of asthma. *J Clin Invest* 2000; **105**: 1331-2.
- HERRMANN SM, BLANC H, POIRIER O, ARVEILER D, LUC G, EVANS A. The Gln/Arg polymorphism of human paraoxonase (PON 192) is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study. *Atherosclerosis* 1996; **126**: 299-303.
- HOMMA Y. Predictor of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2004; **11**: 265-270.

- HUMBERT R, ADLER DA, DISTECHE CM, HASSETT C, OMIECINSKI CJ, FURLONG CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nature Genet* 1993; **3**: 73-76.
- IKEDA Y, SUEHIRO T, OHSAKI F, ARII K, KUMON Y, HASHIMOTO K. Relationships between polymorphisms of the human serum paraoxonase gene and insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; **60**: 79–85.
- IMAI Y, MORITA H, KURIHARA H, SUGIYAMA T, KATO N, EBIHARA A. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 2000; **149**: 435-42.
- IMAMOGLU S. Diabetes Mellitus. Dolar E İç Hastalıkları Nobel & Günes Tıp Kitabevi İstanbul; 2005: 692-719.
- INOUE H, TANIZAWA Y, WASSON J, BEHN P, KALIDAS K, BERNAL-MIZRACHI E. A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome). *Nat Genet* 1998; **20**: 143-148.
- IRACE C, CORTESE C, FIASCHI E. The Influence of PON1 192 Polymorphism on Endothelial Function in Diabetic Subjects with or without Hypertension. *Hypertens Res* 31(3) 2008; **31(3)**:507-513.
- JALILIAN A, JAVADI E, AKRAMI M, FAKHRZADEH H, HESHMAT R, RAHMANI M, BANDARIAN F. Association of Cys 311 Ser Polymorphism of Paraoxonase-2 Gene with the Risk of Coronary Artery Disease. *Arch Iranian Med* 2008; **11(5)**: 544 – 549.
- JANKA Z, JUHÁSZ A, RIMANÓCZY Á, BODA K, MÁRKI-ZAY J, KÁLMÁN J. Codon 311 (Cys > Ser) polymorphism of paraoxonase-2 gene is associated with apolipoprotein E4 allele in both Alzheimer's and vascular dementias. *Molecular Psychiatry* 2002; **7**: 110–112.
- KANNEL WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA* 1996; **275**: 1571–1576.
- KANNEL WB. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham Study. *Am J Hypertens* 2000; **13(Suppl 1)**: 3–10.
- KARAM JH, SALBER PR, FORSHAM PH. Pancreatic hormones and diabetes mellitus in: Greenspan FS (ed). *Basic and clinical endocrinology* Lange 1991 p: 616.
- KING H, AUBERT RE, HERMAN WH. Global burden of diabetes 1995-2025: prevalence numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998; **21**: 1414-1431.
- KLAG MJ, WHELTON PK, RANDALL BL, NEATON JD, BRANCATI FL, FORD CE, SHULMAN NB, STAMLER J. Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J Med* 1996; **334**: 13–18.
- LA DU BN, ADKINS S, KUO CL, LIPSIG D. Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interact* 1993; **87**: 25-34.
- LA DU BN. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med* 1996; **2**: 1186-1187.
- LEE J, PROHASKA JR, THIELE DJ. Essential role for mammalian copper transporter Ctr 1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci* 2001; **98**: 6842-6847.

LEUS FR, ZWART M, KASTELEÏN JJ, VOORBIJ HA. PON2 gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis* 2001; **154**: 641-649.

LIBBY P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; **104**: 365-72.

LITTORIN B, SUNDGVIK G, HAGOPIAN W, LERNMARK A, OSTMAN J. Islet Cell and Glutamic Acid Decarboxylase Antibodies Present at Diagnosis of Diabetes Predict the Need for Insulin Treatment. *Diabetes Care* 1999; **22**: 409-412.

LEVY D, LARSON MG, VASAN RS, KANNEL WB, HO KK. The progression from Hypertension to congestive heart failure. *JAMA* 1996; **275**: 1557-1562.

MACMAHON S, PETO R, CUTLER J, COLLINS R, SORLIE P, NEATON J, ABBOTT R, GODWIN J, DYER A, STAMLER J. Blood pressure stroke coronary heart disease. Part 1 prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* 1990; **335**: 765-774.

MACKNESS MI, HALAM SD. The Separation Of Sheep And Human Serum "A-Esterase Activity Into The Lipoprotein Fraction By Ultracentrifugation. *Biochem Physiol B* 1985; **82**: 675-677.

MACKNESS MI, WALKER CH. Multiple Forms Of Sheep Serum A-Esterase Activity Associated With The High-Density Lipoprotein. *Biochem J* 1988; **250**: 539-545.

MACKNESS MI, ARROL S, DURRINGTON PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; **286**: 152-154.

MACKNESS MI, ARROL S, ABBOTT C, DURRINGTON PN. Protection of lowdensity lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;**104**:129-135.

MACKNESS MI, DURRINGTON PN. HDL its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; **115**: 243-253.

MACKNESS B. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorfizms. *Febs Letter* 1998; **423**; 57-60.

MACKNESS B, DAVIES GK, TURKIE W, LEE E, ROBERTS DH, HILL E, ROBERTS C, DURRINGTON P N, MACKNESS MI. Paraoxonase status in coronary heart disease are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol* 2001; **21**: 1451-1457.

MACKNESS B, DURRINGTON PN, MACKNESS MI. The Paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002; **13**: 357-362.

MACKNESS B, DURRINGTON PN, MCELDUFF P, YARNELL J, AZAM N, WATT M, MACKNESS MI. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003; **107**:2775- 2779.

MACKNESS MI, MACKNESS B. Paraoxonase I and atherosclerosis: is the gene or protein more important? *Free Rad Biol Med* 2004; **37**; 1317-1323.

- MACKNESS B, MCEL DUFF P, MACKNESS MI. The paraoxonase-2-310 polymorphism is associated with the presence of microvascular complications in diabetes mellitus. *J Intern.Med* 2005; **258** 363–368.
- MAINOUS AG, EVERETT CJ, LISZKA H. Prehypertension and mortality in a nationally representative cohort. *Am J Cardiol* 2004; **94**: 1496-1500.
- MANCIA G, FACCHETTI R, BOMBELLI M, FRIZ HP, GRASSI G, GIANNATTASIO C, SEGA R. Relationship of office home and ambulatory blood pressure to blood glucose and lipid variables in the PAMELA population. *Hypertension* 2005; **45**: 1072–1077.
- MANCIA G, PARATI G, BORGHI C, GHIRONZI G, ANDRIANI E, MARINELLI L, VALENTINI M, TESSARI F, AMBROSIONI E. Hypertension prevalence awareness control and association with metabolic abnormalities in the San Marino population: the SMOOTH study. *J Hypertens* 2006;**24**: 837–843.
- MANCIA G, DE BACKER G, DOMINICZAK A, CIFKOVA R, FAGARD R, GERMANO G. Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007; **28**: 1462-1536.
- MARTINELLIN, GIRELLI D, OLIVIERI O, STRANIERI C, TRABETTI E, PIZZOLO FM. Interaction between smoking and PON2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 2004;**34**:14-20.
- MASHARANI U, KARAM JH. Pancreatic hormones and Diabetes Mellitus. Greenspan FS Gardner DG (eds). Basic and clinical endocrinology. 6th. Ed. The McGraw Hill Companies 2001, 623-698.
- MAZUR A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *J Biol Chem* 1946; 164: 271-289.
- MCELVEEN J, MACKNESS MI, COLLEY CM, PEARD T, WARNER S, WALKER CH. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986; **32**: 671-673.
- MEIER JJ, KJEMS LL, VELDHUIS JD, LEFEBVRE P, BUTLER PC. Postprandial suppression of glucagon secretion depends on intact pulsatile insulin secretion: further evidence for the intraislet insulin hypothesis. *Diabetes* 2006; **55**:1051–1056.
- MERTENS A, HOBVOET P. Oxidized LDL and HDL: 17 antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 2001; **15**: 2073–2084.
- MOCHIZUKI H, SCHERER SW, XI T, NICKLE DC, MAJER M, HUIZENGA JJ. Human PON-2 gene at 7q21.3: cloning multiple mRNA forms and missense polymorphisms in the coding sequence. *Gene* 1998; **213**:149–157.
- MOSTELLER RD. Simplified calculation of body surface area. *N Engl J Med* 1987; **317**:1098.
- MOTTI C, DESSI M, GNASSO A, IRACE C, INDIGENO P, ANGELUCCI CB, BERNARDINI S, FUCCI G, FEDERICI G, CORTESE C. A multiplex PCR-based DNA assay for the detection of paraoxonase gene cluster polymorphisms. *Atherosclerosis* 2001; **158**: 35–40.

MULTIPLE RISK FACTOR INTERVENTION TRIAL RESEARCH GROUP. Relationship between baseline risk factors coronary heart disease total mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Prev Med* 1986; **15**: 254–273.

NAVAB M, BERLINER JA, WATSON AD, HAMA SY, TERRITO MC, LUSIS AJ, SHIH DM, VAN LENTEN BJ, FRANK JS, DEMER LL, EDWARDS PA, FOGELMAN AM. The yin and yang of oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; **16**:831–842.

NAVAB M, HAMA SY, ANANTHARAMAIAH GM, HASSAN K, HOUGH GP, WATSON AD, REDDY ST, SEVANIAN A, FONAROW GC, FOGELMAN AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein. *J Lipid Res* 2000; **41**:1495–1508.

NG CJ, WADLEIGH DJ, GANGOPADHYAY A, HAMA S, GRIJALVA VR, NAVAB M, FOGELMAN AM, REDDY ST. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2001; **276**:444–449.

NG CJ, BOURQUARD N, GRIJALVA V, HAMA S, SHIH DM, NAVAB M, FOGELMAN AM, LUSIS AJ, Young S, REDDY ST. Paraoxonase-2 deficiency aggravates atherosclerosis in mice despite lower apolipoprotein-B containing lipoproteins: anti-atherogenic role for paraoxonase-2. *J Biol Chem* 2006; **281**: 29491-24500

NUSSBAUM RL, MC INNES RR, WILLARD HF, BOERKOEL CF. Thompson & Thompson. *Tıbbi Genetik Güneş Kitabevi*.2005; Bölüm 6 Sy 81-87.

ONAT A, DOGAN Y, UYAREL H. Erişkinlerimizde kan basıncı ve kontrol altında tutulması yönünde gelişme. *Türk Kardiyol Dern Arş*. 2002; **30**: 749-57.

PASDAR A, ADAMS HR, CUMMING A, CHEUNG J, WHALLEY L, CLAIR DST, MACLEOD MJ. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet* 2006; **7**: 28.

PATI N, PATI U. Paraoxonase gene polymorphism and coronary artery disease in Indian subjects. *Int J Cardiol* 1998; **66**: 165-168.

PICKERING G. The nature of essential hypertension. J & A. Churchill Ltd London 1961; **1**–151.

PICKUP JC. WILLIAMS G. Textbook of diabetes. 2nd edition Blackwell science DLD 1997. volume 1.

PORKSEN N. The in vivo regulation of pulsatile insulin secretion. *Diabetologia* 2002; **45**: 3–20.

PORTER JR, BARRETT TG. Monogenic syndromes of abnormal glucose homeostasis: clinical review and relevance to the understanding of the pathology of insulin resistance and beta cell failure. *J Med Genet*. 2005; **42**: 893–902.

POULTER N. Global risk of cardiovascular diseases. *Heart* 2003; **89**: Supp II 2-5.

PRIMO-PARMO SL, SORENSON RC, TEIBER J, LA DU BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; **33**: 498–507.

QU Y, YANG Z, JIN F, SUN L, ZHANG C, LINONG J, SUN H, WANG B, WANG L. The Ser311Cys variation in the paraoxonase 2 gene increases the risk of type 2 diabetes in northern Chinese. *Journal of Genetics*. 2008; **87**(2):165-69.

QURESHI AI, SURI MF, KIRMANI JF, DIVANI AA, MOHAMMAD Y. Is prehypertension a risk factor for cardiovascular diseases? *Stroke* 2005; **36**(9): 1859-1863.

REDDY ST, WADLEIGH DJ, GRIJALVA V. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**:542-547.

REDDY KG, NAIR RN, SHEEHAN HM, HODGSON JM. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *Am Coll Cardiol* 1994; **23**: 833-843.

ROBERTSON KS, HAWE E, MILLER GJ, TALMUD PJ, HUMPHRIES SE. Human paraoxonase gene cluster polymorphisms as predictors of coronary heart disease risk in the prospective Northwick Park Heart Study II. *Biochim. Biophys. Acta*. 2003; **1639** 203-212.

ROSENBLAT M, GAIDUKOV L, KHERSONSKY O, VAYA J, OREN R, TAWFIK DS. The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein associated serum paraoxonase-1 (PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J Biol Chem*. 2006; **281**:7657-65.

ROSENBLAT M, DRAGANOV D, CATHERINE E, CHARLES WL. Bisgaier Bert Paraoxonase 3 Activity Is Decreased Under Oxidative Stress Mouse Macrophage Paraoxonase 2 Activity Is Increased Whereas Cellular. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2003; **23**:468-474.

ROSS R. Atherosclerotic coronary heart disease. *The Heart* 7thEd. 1990; 877-892.

ROSS R. The pathogenesis of atherosclerosis . *Nature* 1993; **362**: 801-809.

ROSS R. Atherosclerosis: An inflammatory disease. *N Engl Med* 1999; **340**:115-126.

RUIZ J, BLANCHÉ H, JAMES RW, GARIN MC, VAISSE C, CHARPENTIER G. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995; **346**: 869-872.

SAHA N, ROY AC, TEO SH, TAY JS, RATNAM SS. Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and apolipoproteins. *Clin Genet* 1991; **40**: 277-282.

SAIKI RK, SCHARF S, FALOONA F, MULLIS KB, HORN GT, ERLICH HA, ARNHEIM N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; **230**,1350-1354.

SANGHERA DK, ASTON CE, SAHA N, KAMBOH MI. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet* 1998; **62**: 36-44.

SANGHERA DK, SAHA N, ASTON CE, KAMBOH MI. Genetic polymorphism paraoxonase and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; **17**: 1067-1073.

- SATMAN I, YILMAZ MT, TURDEP GROUP. Population-Based Study of Diabetes and Risk Characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002; **25**(9):1551-1556.
- SENTI M, TOMÁS M, VILA J, MARRUGAT J, ELOSUA R, SALA J. Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase1 gene: the REGICOR study. *Atherosclerosis* 2001; **156**: 443-449.
- SERRATO M, MARIAN AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; **96**: 3005-3008.
- SHIN BS, OH SY, KIM YS, KIM KW. The paraoxonase gene polymorphism in stroke patients and lipid profile. *Acta Neurol Scand* 2008; **117**: 237-43.
- SHIN BS. Paraoxonase gene polymorphism in South- Western Korean Population. *J Korean Med Sci* 2009; **24**:561-566.
- SHISHEHBOR MH, HAZEN SI. İnflammatory and oxidative markers in atherosclerosis:relationship to outcome. *Curr. Ather Rep* 2004; **6**:243-250.
- SICREE R, SHAW JE, ZIMMET PZ. Diabetes and impaired glucose tolerance in Diabetes Atlas D. Gan Editor. *2006 International Diabetes Federation*: Brussels. 10–149.
- SIMONS LA. Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease mortality in 19 countries *The American Journal of Cardiology* 1986, (**57**) **14**: 5-10.
- SLOWIK A, WLOCH D, SZERMER P, WOLKOW P, MALECKI M, PERA J, TURAJ W, DZIEDZIC T, KLIMKOWICZ-MROWIEC A, KOPEC G, FIGLEWICZ DA, SZCZUDLIK A. Paraoxonase 2 gene C311S polymorphism is associated with a risk of large vessel disease stroke in a Polish population. *Cerebrovasc Dis* 2007; **23**: 395-400.
- SORENSEN RC, BISGAIER CL, AVIRAM M, HSU C, BILLECKE S, LA DU BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; **19**: 2214-25.
- TAMARA SH, GOUTHAM R, SILVA AA. Childhood Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. *Pediatrics* 2005; **116**:473-480.
- TANGÜREK B, OZER N, SAYAR N, TERZI S, YILMAZ HY, ASILTURK R, AKSU H, CILOGLU F, AKSOY S, CAGIL A. Endotelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphism (T-786 C) in coronary artery disease and its relationship. *Türk Kardiyol Dern Arş*. 2005; **33**:467-472.
- TAŞKIRAN P, ÇAM SF, ŞEKURI C, TÜZÜN N, ALIOĞLU E, ALTINTAŞ N, BERDELI A. Paraoxonase gene Leu-Met (55) ve Gln-Arg (192) polymorphisms and their relationship with coronary artery disease. *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 2009; **37**(7): 473-478.
- THOMAS F, RUDNICH A, BACRI AM, BEAN K, GUIZE L, BENETOS A. Cardiovascular mortality in hypertensive men according to presence of associated risk factors. *Hypertension* 2001; **37**:1256–1261.
- THOMAS C. M. RICHARD J. MACISAAC R. J. TSALAMANDRIS C. POWER D. JERUMS G. Unrecognized Anemia in Patients With Diabetes. *Diabetes Care* 2003; **26**: 1164 – 1169.

TOMÁS M, LATORRE G, SENTÍ M, MARRUGAT J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 2004; **57**:557-569.

TURGAY ISBIR. Department of Molecular Medicine The Institute of Experimental Medicine. *Adv Mol Med* 2007; **3**(4): 197-204.

URIEL A. Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxyliQue apres electrophorese en gelose. *Am instit Pasteur*. 1961;101 104.

WANG X, FAN Z, HUANG J, SU S YU Q, ZHAO J, HUI R, YAO Z, SHEN Y, QIANG B, GU D. Extensive association Analysis Between Polymorphism of cluster with coronary heart diseases in chenese han population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**:328-334.

WATSON AD, NAVAB M, HAMA SY, SEVANIAN A, PRESCOTT SM, STAFFORINI DM, ET AL. Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; **95**:774-82.

WATTS GF, CHEW KK, STUCKEY BGA. The erectile-endothelial dysfunction nexus : new opportunities for cardiovascular risk prevention. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007; **4**: 263-273.

WEI M, MITCHELL BD, HAFFNER SM, STERN MP. Effects of cigarette smoking diabetes high cholesterol and Hypertension on all-cause mortality and cardiovascular disease mortality in Mexican Americans. The San Antonio Heart Study. *Am J Epidemiol* 1996; **144**:1058-1065.

VERDECCHIA P, ANGELI F. Natural History of Hypertension Subtypes. *Circulation* 2005; **111**:1094-1096.

WHEELER JG, KEAVNEY BD, WATKINS H, COLLINS R, DANESH J. Four paraoxonase gene polymorphisms in 11212 cases of coronary heart disease and 12786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet* 2004; **363**: 689-695.

WILSON GN. Clinical genetics. Wiley -liss, 9-63, New York, 2000.

WWW.İTF.İSTANBUL.EDU.TR. TURDEP II çalışma grubu, 13 ekim 2010

YAMAGUCHI S, YAMADA Y, MATSUO H, SEGAWA T, WATANABE S, KATO K, YOKOI K, ICHIHARA S, METOKI N, YOSHIDA H, SATOH K, NOZAWA Y. Gender differences in the association of gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Med* 2007; **19**: 631-637.

YAZICI H HAMURYUDAN V SONSUZ A. Cerrahpaşa İç Hastalıkları; İstanbul Medikal Yayıncılık 2. Baskı. 2005:1086-1089.

YENIGUN M. ALTUNTAS Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. İstanbul 2. Baskı. 2001.

ZAMA T, MURATA M MATSUBARA Y KAWANO K AOKI N YOSHINO H ET AL. A 192Arg variant of the human paraoxonase (HUMAPONA) gene polymorphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; **17**: 3565-3569.

ZHENG L NUKUNA B BRENNAN ML SUN M GOORMASTIC M SETTLE M SCHMITT D FU X THOMSON L FOX PL ISCHIROPOULOS H SMITH JD KINTER M

and HAZEN SL. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2004; **114**(4):529–541.

ZINTZARAS E, HADGIGEORGIU GM. Association of paraoxonase 1 gene polymorphisms with risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *J Hum Genet* 2004; **49**: 474-481.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Yaşar SIVACI

Doğum Tarihi: Eskişehir 17. 01. 1967

Medeni hali: Evli- bir çocuklu

Öğrenim Durumu: Tıp Fakültesi (Mezun-1990)

| Derece | Bölüm/Program | Mezuniyet Yeri/Üniversite | Yıl |
|-------------------|---------------------|-----------------------------|------|
| İlkokul | Yunus Emre İlkokulu | Eskişehir | 1978 |
| Ortaöğretim | Atatürk Ortaokulu | Eskişehir | 1981 |
| Lise | Atatürk Lisesi | Eskişehir | 1984 |
| Lisans- Y. Lisans | Tıp Fakültesi | Dokuz Eylül Üniversitesi | 1990 |
| Doktora Öğrencisi | Tıbbi GenetikA.D. | Afyon Kocatepe Üniversitesi | 2005 |

Görevler:

| Görev Unvanı | Görev Yeri | Yıl |
|--------------|---|-------|
| Aile Hekimi | Afyonkarahisar Merkez 13 No.lu Aile Sağlığı Merkezi | Halen |

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler :

Türk Tabipler Birliği Afyonkarahisar Tabip Odası

A. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings). basılan bildiriler :

A1. Sivaci, R., Balci C., Serteser M., Karabekir S., **Sivaci Y.**, “General Versus Regional Anesthesia for Surgical Intervention: Effects on Plasma Cytokines”, *61th Postgraduate Assembly in Anesthesiology*, P-9104, New York, December 7th-11th, 2007.

B. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

B1. Sivaci R., Yılmaz S., **Sivaci Y.**, İmirzalıoğlu N., “Hereditör Siferositozisli Olguda Anestezi Yönetimi”,*VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (uluslararası katılımlı), P-135, Çanakkale, 6-9 Mayıs, 2008.*

B2. Sivaci R., Yılmaz S., **Sivaci Y.**, İmirzalıoğlu N., “Ailesel Akdeniz Ateşli Olguda Anestezi Yönetimi”,*VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (uluslararası katılımlı), P-136, Çanakkale, 6-9 Mayıs, 2008.*

B3. İçduygu F.M., Şamlı H., Hekimler K., Özgöz A., **Sivaci Y.**, İmirzalıoğlu K., “5p Delesyon sendromlu Olan bir Olgunun Değerlendirilmesi”, *VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (uluslararası katılımlı), P-178, Çanakkale, 6-9 Mayıs, 2008.*

B4. Şamlı H., Özgöz A., İçduygu F.M., Hekimler K., **Sivaci Y.**,ve İmirzalıoğlu N., “Mozaik Ring 18 Olan Bir Olgunun Değerlendirilmesi”, *VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (uluslararası katılımlı), P-193, Çanakkale, 6-9 Mayıs, 2008.*