



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

**KRONİK KARACİĞER HASTALIKLARI İLE SERUM
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Murat KESKİN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2004

**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**KRONİK KARACİĞER HASTALIKLARI İLE SERUM
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Murat KESKİN

UZMANLIK TEZİ

**Tez Danışmanları:
Prof. Dr. Faruk Memik
Prof. Dr. Enver Dolar**

Bursa- 2004

İÇİNDEKİLER

Özet	i-ii
İngilizce özet	iii- iv
Giriş	1- 23
Gereç ve Yöntem	24- 27
Bulgular	28- 39
Tartışma ve Sonuçlar	40-46
Kaynaklar	47-55
Ekler	56
Teşekkür	57
Özgeçmiş	58

ÖZET

Kronik karaciğer hastalıkları yavaş seyirli, progresif hastalıklardır. Bu hastalıklarda serumda ölçülen standart karaciğer fonksiyon testleri genellikle belirgin hastalık bulguları ortaya çıkıncaya kadar normal sınırlar içinde kalır. Günümüzde kullanılan standart karaciğer fonksiyon testlerinin sensitivite ve spesifiteleri yetersizdir. Bu nedenle ilave testlere ihtiyaç vardır. Son zamanlarda tanımlanan, başlıca karaciğerde sentez edilen ve karaciğeri oksidatif strese karşı koruduğu düşünülen paraoksonaz enzim aktivitesinin ölçümünün, standart karaciğer fonksiyon testlerine önemli katkılar yapabileceği düşünülmüştür.

Serum ve karaciğerde bulunan paraoksonaz (PON1), paraoksonaz ve arilesteraz olmak üzere 2 enzimatik aktiviteye sahip bir ester hidrolazdır. PON1' in arilesteraz aktivitesi enzimin protein kitlesi hakkında bilgi vermektedir. Çalışmamızda kronik karaciğer hastalığı ve hastalığın şiddeti ile serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi arasındaki ilişkiyi, serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri üzerine genetik değişkenliğin etkisini, karaciğer hasarının değerlendirilmesinde, standart karaciğer fonksiyon testleriyle birlikte veya tek başına serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinin ölçümünün tanısal değerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya değişik etyolojilere bağlı 50 karaciğer sirozlu hasta, 25 yeni tanı konulan, tedavi almamış kronik viral hepatitli hasta ve 25 sağlıklı gönüllü alındı. Çalışmaya alınan tüm katılımcıların standart karaciğer fonksiyon testleri ile serum bazal ve tuzla aktive edilmiş paraoksonaz ile arilesteraz enzim aktiviteleri ölçüldü. Ayrıca serum tuzla aktive edilmiş paraoksonaz aktivitesinin, serum arilesteraz aktivitesine bölünmesiyle tüm katılımcıların fenotipik özellikleri belirlendi.

Kronik karaciğer hastalarında, serum bazal paraoksonaz, tuzla aktive edilmiş paraoksonaz ve özellikle arilesteraz enzim aktiviteleri, kontrol

grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış bulundu. Karaciğer sirozlu hastalar kendi aralarında Child- Pugh sınıflamasına göre ayrılıp incelendiğinde, Child B ve C gruplarında, Child A grubuna göre serum bazal paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin anlamlı olarak azalmış olduğu saptandı. Kronik karaciğer hastalığını saptamada tanısal doğruluk açısından bu üç enzim aktivitesi karşılaştırıldığında, enzimin protein kitlesini gösteren arilesteraz aktivitesi ölçümünün hastalığı saptamada ve şiddetini göstermede daha anlamlı olduğu bulundu. Standart karaciğer fonksiyon testleri ile karşılaştırıldıklarında ise kronik hepatitli hastalarda ALT ölçümünün, sirozlu hastalarda ise albumin ve arilesteraz aktivitesi ölçümünün tanısal doğruluk açısından ön plana çıktığı saptandı. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu arasında fenotip açısından fark yoktu ve böylece azalmış PON1 aktivitesi üzerine PON fenotipinin etki etmediği gösterildi.

Sonuç olarak, bu bulgularla kronik karaciğer hastalığını saptamada ve hasarın derecesini göstermede serum paraoksonaz ve özellikle de arilesteraz aktivitesinin ölçümünün standart karaciğer fonksiyon testlerine anlamlı katkılarda bulunabileceği ve ileride günlük kullanıma girebileceği, ancak bunun başka çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Kronik karaciğer hastalığı, standart karaciğer fonksiyon testleri, serum paraoksonaz aktivitesi.

SUMMARY

Chronic liver diseases are slowly progressing diseases which standard liver function tests usually limited within normal ranges until specific disease symptoms appear. Current standard liver function test's specificity are not adequate so additional tests are needed. Paraoxonase enzyme is mainly synthesized in and secreted from the liver. It is thought to be protect liver from oxidative stress so it can be additive to standard liver function tests.

Paraoxonase (PON1), is an ester hydrolyses with two enzymatic activities such as paraoxonase and arylesterase and is present in serum and liver. Arylesterase activity of PON1 reflects protein mass of the enzyme. In the present study, we aimed to evaluate the relationship between severity of chronic liver diseases and serum paraoxonase and arylesterase activity. The effect of genetic variability effect on serum paraoxonase activity is also investigated.

50 patients with liver cirrhosis with different etiologies, 25 patients with new diagnosed and non treated chronic viral hepatitis and 25 healthy volunteers were enrolled the study. We examined all the participants with standard liver function tests and serum baseline paraoxonase, salt stimulated paraoxonase and arylesterase enzyme activities. Also phenotypic characteristics determined by salt stimulated paraoxonase activity divided by serum arylesterase activity.

Serum baseline paraoxonase, salt stimulated paraoxonase and especially arylesterase enzyme activities were diminished significantly in chronic liver diseases compared to control group. When cirrhotic patients staged with modified Child- Pugh classification; patients in Child B and C have diminished serum paraoxonase and arylesterase activities compared to Child A. When this three enzyme activities compared with each other in regard to diagnostic accuracy, the arylesterase activity measurement found

more sensitive in reflecting severity of disease. Serum ALT levels in patients with chronic hepatitis and serum albumin and arylesterase activity in cirrhotic patients displayed better diagnostic value than other standard liver function tests. In this study, there was no phenotypic difference between groups, so we suggest that PON phenotype does not affect the PON activity.

Finally, we concluded that serum PON and especially arylesterase may be value as an additive to the standard liver function tests in establishing the disease and determining the severity. These assays can be routinely used in the future, but there are still some concerns to be elucidated in prospective trials.

Key words: Chronic liver diseases, standard liver function tests, serum paraoxonase activity.

GİRİŞ

Kronik karaciğer hastalıkları hepatosellüler inflamasyon, nekroz ve fibrozisin ilerlemesiyle karakterize, yavaş seyirli, progresif hastalıklardır. Kronik karaciğer hastalıklarının büyük bir kısmını bugün kronik viral hepatitler ve siroz oluşturmaktadır. Bu hastalıklarda progresyon yavaştır ve serumda ölçülen standart karaciğer fonksiyon testleri genellikle belirgin hastalık bulguları ortaya çıkıncaya kadar normal sınırlar içinde kalır. Günümüzde kullanılan standart karaciğer fonksiyon testleri karaciğerin fonksiyonel durumunu iyi yansıtmayan, ancak tanı ve tedavinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan değerli testlerdir. Hepatosellüler hasarın en iyi serum göstergeleri aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimleridir. AST karaciğer dışında kalp, iskelet kası, böbrek ve beyin gibi birçok dokuda bulunan sitoplazmik ve mitokondriyal bir enzimken, ALT başlıca karaciğerde bulunur, daha spesifiktir ve sitoplazmik bir enzimdir. Bu enzimlerin serum değerlerindeki yükselme, hepatosellüler hasarı yansıtır, hastalığın seyri için iyi bir gösterge değildir. Alkalen fosfataz (ALP) ve gamma glutamil transpeptidaz (GGT) enzimleri, serumda kolestazı gösteren başlıca testlerdir. GGT kolestaz dışında hepatosellüler hastalıklarda da artan, nonspesifik bir testtir. Direkt bilirubin ölçümü de nonspesifik bir test olup, genellikle karaciğer parenkimal hastalıkları ve biliyer kanal obstruksiyonlarında yüksek bulunur. Serum albumini kronik karaciğer hastalıklarında azalır. Karaciğer hastalıklarının tanısında, özellikle hastalığın ağırlığının ve prognozunun belirlenmesinde, değerli bir testtir. Ancak birçok sistemik hastalıkta hipoalbuminemi görülebilir. Sonuç olarak günümüzde kullanılan standart karaciğer fonksiyon testlerinin sensitivite ve spesifiteleri yetersizdir (1-3). Bu nedenle ilave testlere ihtiyaç vardır. Son zamanlarda tanımlanan, başlıca karaciğerde sentez edilen ve karaciğeri oksidatif strese karşı koruduğu düşünülen paraoksonaz enzim aktivitesinin ölçümünün, standart karaciğer fonksiyon testlerine önemli katkılar yapabileceği düşünülmüştür (4,5).

I. Kronik Hepatit

I.1. Tanımı ve Sınıflaması

Kronik hepatit, karaciğer hücresindeki inflamasyon ve nekrozun 6 ay ile bir yıldan fazla sürdüğü, değişik sebepleri olan, farklı patogenez, histopatoloji ve klinik özellikler ile karakterize bir sendromdur (1). Kronik hepatit karaciğer hastalıkları içinde en sık rastlanan patolojidir. Tüm iltihabi durumlarda olduğu gibi hepatitlerde de iltihabın süresi, doku harabiyeti ve özelliğine göre olay akut ve kronik dönemlerden oluşmaktadır. Akut hepatitin yavaş seyreden iyileşme dönemi ve kronik hepatit arasındaki ayırım için keskin bir çizgi yoktur. Sıklıkla hepatitin başlangıç dönemini tanımak zordur. Yukarıda belirtildiği gibi, 6 aydan uzun süren hepatitlerin kronik olarak kabul edilmesine karşın, C hepatiti ve otoimmün hepatit gibi belli bir süre asemptomatik olabilen hepatitler için bu zaman kısıtlaması tartışmalıdır. Ayrıca metabolik karaciğer hastalıklarının da başlangıçtan itibaren kronik olarak kabul edilmesi gereklidir. Kronik hepatitler için uzun yıllar daha çok histolojiye dayanan morfolojik bir sınıflama kullanılmıştır. Ancak kronik hepatitli bir hastada prognozu ve yapılacak tedaviyi belirleyen başlıca faktörlerin hastalığın etyolojisi ve patogenezinin olduğunun anlaşılması ile bu sınıflama terkedilmiştir (6-8).

I.2. Kronik Hepatitlerin Morfolojik Sınıflaması

Benzer histopatolojik görünümde olan kronik hepatitler uzun bir süre etyolojilerine bakılmaksızın aynı başlık altında incelenmiştir. Daha sonra kliniği de yansıttığı düşünülen, histopatolojiye göre yapılan morfolojik bir sınıflandırma kullanılmıştır. Buna göre önce kronik hepatitler, kronik persistan hepatit (KPH) ve kronik aktif hepatit (KAH) olarak iki ana grup altında toplanmış, KPH ve KAH' in yıllarca karaciğer hastalığının iki ayrı formu olduğu düşünülmüş ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla bunların kronik hepatit spektrumunun iki ayrı ucu olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca bu iki form

dışında kronik lobüler hepatit (KLH) olarak adlandırılan ayrı bir grup tanımlanarak, kronik hepatitler üç ana gruba ayrılmışlardır.

1.2.1. Kronik Persistan Hepatit

Lezyonun lokalizasyonun temel alındığı bu sınıflandırmaya göre, kronik persistan hepatit; lobülün yapısının korunduğu, "limiting plate" in sağlam olduğu, hepatosit nekrozu olmaksızın plazma hücreleri ve makrofajlarla birlikte lenfositlerin yoğun infiltrasyonunun görüldüğü inflamasyonun portal alanla sınırlı olduğu, belirgin fibrozisin görülmediği kronik karaciğer hastalığı olarak tanımlanmıştır.

1.2.2. Kronik Aktif Hepatit

Hepatositlerin progresif olarak destrüksiyonu, hepatik fonksiyon rezervinin devamlı kaybı ile karakterizedir. KAH plazma hücreleri, lenfositler ve makrofajlardan oluşan inflamatuvar hücrelerin portal ve periportal infiltrasyonunun görüldüğü, lobülün yapısının bozulmaya başladığı, inflamasyonun portal alandan lobüle doğru ilerlediği, "limiting plate" de güve yeniği nekrozu, ağır formlarda iki santral veni, iki portal alanı ve bir santral ven ile bir portal alanı birbirine bağlayan köprüleşme nekrozlarının izlendiği ve fibrozisin görüldüğü kronik hepatit formu olarak tanımlanmıştır.

1.2.3. Kronik Lobüler Hepatit

Bu sınıflamada, lobülün yapısının korunduğu, inflamasyonun lobül içinde sınırlı kaldığı, fibrozis ve nekrozun görülmediği, portal alanın sağlam olduğu veya çok az inflamasyona sahip olduğu kronik hepatit formu olarak bildirilmiştir.

Bu morfolojik sınıflamanın klinik yansımasında, kronik persistan hepatitin karaciğer aminotransferaz enzimlerinin (AST ve ALT) ve serum ALP düzeyinin devamlı yüksekliğine sebep olan, genellikle ciddi semptomaya yol

açmayan fakat bazı vakalarda halsizlik, iştahsızlık, bulantı ve bazen hafif sarılık şikayetlerine yol açan, progresif olmayan, çok iyi prognoza sahip ve siroza ilerlemeyen bir hastalık olduğu, aksine kronik aktif hepatitin değişken klinik özelliklere sahip olmakla birlikte, yorgunluk, iştahsızlık, hafif derecede ateş ve bazen sarılık gibi belirti ve bulgularla semptomatik olan, siroza ilerleyen, hatta bazı vakalarda hepatosellüler kanserin geliştiği, kötü prognozlu bir hastalık olduğu, kronik lobüler hepatitin ise kronik persistan hepatit gibi iyi huylu ve siroza ilerlemeyen bir hastalık olduğu kabul edilmiştir (9-11). Yukarıda da değinildiği gibi KPH ve KLH' in prognozunun KAH' den daha iyi olduğu düşünülmekte ve KLH, KPH, KAH' in birbirini takip eden bir spektrum olduğuna inanılmıştır. Kronik hepatitin seyri sırasında morfolojik formlarından herhangi birinin tespit edilebileceğinin saptanması sonrasında günümüzde bu görüşün doğru olmadığı ortaya konmuştur. Örneğin HBV' ye bağlı enfeksiyonlarda virusun replikasyonu ile morfolojinin şiddeti paralellik göstermezken, kronik C hepatitli hastaların çoğunda KPH veya hafif şiddette KAH morfolojisi saptanmakta, ancak bu hastaların masum morfolojik bulgularına karşın, yüksek oranda siroz gelişimi tespit edilmektedir. Bu nedenlerle bugün için etyolojiyi göz ardı eden bu sınıflamanın kullanılmasının çok büyük yanlışlara yol açacağı düşünülmektedir. Tıptaki gelişmeler ile etyolojilerin net bir şekilde ortaya konabilir hale gelmesinden sonra morfolojik sınıflama özellikle klinisyenler tarafından yavaş yavaş terk edilmeye başlamıştır (7).

1.3. Kronik Hepatitlerin Etyolojik Sınıflaması

Etyolojik olarak kronik hepatitler başlıca viral kökenli olanlar, otoimmün kronik hepatitler, ilaçlara bağlı olanlar ve genetik temelli olmak üzere 4 gruba ayrılmış olup, bunlar Tablo 1' de gösterilmiştir. Bazı yazarlar primer biliyer sirozun, otoimmün kolanjitin, primer sklerozan kolanjitin de kronik hepatitler başlığı altında incelenmesini teklif etmişlerse de bu konuda fikir birliği oluşmamıştır (11). Bir başka etyolojik sınıflandırmada ise Tablo 2' de görüldüğü gibi morfolojik olarak kronik hepatitlerden bazı farklı özellikler

gösteren alkolik ve non-alkolik steatohepatit, metabolik karaciğer hastalıkları, primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit gibi hastalıklar kronik hepatite benzer hastalıklar başlığı altında incelenmiş ve ayrılmışlardır (7).

Tablo 1: Kronik hepatitlerin etyolojik sınıflaması

Kronik Viral Hepatitler Kronik Hepatit B Kronik Hepatit B ve D Kronik Hepatit C Tipi belirlenemeyenler
Otoimmün Hepatitler
Kronik İlaça Bağlı Hepatitler
Genetik Temelli Kronik Hepatitler Wilson Hastalığı Alfa-1 Antitripsin eksikliği
Kriptojenik
Primer Biliyer Siroz
Otoimmün Kolanjit
Primer Sklerozan Kolanjite Bağlı Kronik Hepatit

Tablo 2: Kronik hepatit ve hepatit benzeri hastalıklar

I - Kronik Hepatitler a- Kronik viral hepatitler: HBV, HDV, HCV, HGV ? b- Otoimmün hepatit c- İlaçlara bağlı ve toksik kronik hepatit d- Kriptojenik hepatit e- Non A-E hepatit f- Post infantil dev hücreli hepatit	II- Kronik hepatitte benzeyen hastalıklar a- Primer biliyer siroz b- Primer sklerozan kolanjit c- Wilson hastalığı d- Alfa-1 antitripsin eksikliği e- Alkolik karaciğer hastalığı f- Non-alkolik steatohepatitis
---	--

HBV: Hepatit B Virusü, HDV: Hepatit D Virusü

HCV: Hepatit C Virusü, HGV: Hepatit G Virusü

Viral hepatit vakalarının büyük bir kısmına beş hepatotropik virüsten (A, B, C, D ve E) birisi sebep olmaktadır. Bunların tümü akut hepatite sebep olurken sadece hepatit B virusu (HBV), hepatit C virusu (HCV) ve hepatit D virusu (HDV, delta ajanı) kronik hepatite neden olur. Son zamanlarda tanımlanan, hepatit G virus (HGV), TTvirus ve SEN-V virusun karaciğer hastalığının bir nedeni olarak rolleri kanıtlanamamıştır (10). Bunların dışında Epstein Barr virusu (EBV), herpes simpleks virus (HSV), cytomegalovirus (CMV) ve varisella zoster virus (VZV) gibi non-hepatotropik viruslar ve immünsüpresif hastalarda fırsatçı viral enfeksiyonlar da kronik hepatite neden olabilirler. Türkiye' deki kronik viral hepatitlerin % 46.5' i HBV' ye bağlı, % 35' i HCV' ye bağlı ve % 4.5' i HBV+HDV' ye bağlı geliştiği saptanmıştır. Tüm dünyada, akut ve kronik karaciğer hastalığı ve hepatosellüler kanserin (HCC) muhtemelen en sık sebebi hepatit B' dir (7,8). Bu küçük, çift sarmallı DNA virusu ile dünya nüfusunun %5' inin (300.000.000 kişi) infekte olduğu düşünülürse bu enfeksiyonun ne kadar büyük bir sorun olduğu anlaşılabilir. Defektif bir RNA virusu olan, enfeksiyona yol açmak ve replike olmak için HBV virusuna ihtiyaç duyan HDV' nin kronik enfeksiyonu her zaman kronik HBV enfeksiyonu ile birlikte olur. Bu birliktelik HDV ve HBV' nin birlikte alınması şeklinde ki buna ko-enfeksiyon denilir veya kronik HBV enfeksiyonu olanlarda HDV süperenfeksiyonu şeklinde olur. HBV enfeksiyonuna sahip olan hastalarda HDV enfeksiyonu görülme oranları toplumdan topluma farklılıklar gösterirken ülkemizde içinde bulunduğu Akdeniz ülkelerinde bu oran %20-30 civarındadır. Bir RNA virusu olan HCV' nin neden olduğu kronik hepatit C enfeksiyonu tüm dünyada %0.5-2 oranında görülürken, ülkemizde bu oranın %1 civarında olduğu bilinmektedir (11).

1.4. Kronik Hepatitlerde Klinik

Etyolojik sebep ne olursa olsun kronik hepatitlerde klinik seyir genellikle birbirine benzer ve hafif, nonspesifik semptomlar görülür. Bizim çalışmamızda da incelediğimiz kronik viral hepatitler etyolojik sebepler içinde en yaygın olanlarıdır ve bunlar içinde de en sık HBV, HCV ve HDV' nin

yaptığı kronik hepatitler görülür. Komplikasyon gelişmemiş kronik hepatit B' li hastaların yarısından fazlasında karaciğer hastalığına ait semptom yoktur. Genellikle hafif ve intermittan olan halsizlik en sık görülen semptom olup, ağır egzersiz ile artış gösterir. Daha az sıklıkla bulantı, iştah azalması, karın ağrısı, kilo kaybı ve idrar renginde koyulaşma gibi semptomlar görülürken bunların hepsi egzersizle daha belirgin hale gelir. Ayrıca özellikle kadınlarda daha sık olarak artralji, miyalji ve geçici raşlar gibi immün kompleks depolanmasına bağlı semptomlar görülebilir (12). Kronik hepatit C hastalarının çoğu asemptomatiktir ve karaciğer hastalığına ait fizik bulgulara sahip değildir. En sık görülen semptom halsizliktir. Akut post-transfüzyon hepatitli hastaların uzun süreli izlemleri sonucunda hastaların çoğunun kronik hepatite ait biyokimyasal bulgulara sahip olduğu ancak sadece %6 hastada karaciğer hastalığının semptomları gösterdiği bulunmuştur. Klinik silik olmasına rağmen hastalık histolojik olarak sinsice ilerler. Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda kronik C hepatitli hastaların teşhis edildiklerinde yapılan biyopsilerinde %41 kronik aktif hepatit, %20 siroz tespit edilmiştir. Hastalığın ekstrahepatik bulguları kronik hepatit B kadar sık değildir. Kronik hepatit C vakalarında %22 ile %57 oranında esansiyel mikst kriyoglobulinemi tanımlanmış ve çok nadir olarak aplastik anemi rapor edilmiştir. Ayrıca lökositoklastik vaskülit, sistemik nekrotizan vaskülit, membranöz ve mezengial proliferatif glomerulonefrit, romatoid artrit ve Sjögren sendromu da nadiren kronik HCV enfeksiyonu ile birlikte görülebilir (13). Kronik hepatit D enfeksiyonunun klinik bulguları diğer kronik viral hepatit vakalarına benzer. Ancak sadece HBV enfeksiyonu olanlara göre daha ciddi seyrettiği ve daha hızlı olarak siroza yol açtığı kabul edilmektedir (11). Komplike olmamış kronik hepatit vakalarında patolojik fizik muayene bulguları genellikle yoktur veya çok azdır. Bazı hastalarda spider anjioma, hafif bir hepatomegali ve splenomegali görülebilir. Siroz gelişen hastalarda ödem, asit, palmar eritem, kas erimesi, hepatosplenomegali ve ensefalopati gibi siroza ait periferik bulgular ortaya çıkabilir (12). Kronik hepatit hastalarının hepsinin doğal seyri sırasında hastalık siroza ilerlemekte, bir kısmında HCC gelişmekte ve hastalar son dönem karaciğer yetmezliğinden kaybedilmektedir (7).

I.5. Kronik Hepatitde Laboratuvar

Aminotransferazlar olarak bilinen aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri genellikle normalden 1.5-2 kat artmış düzeyde bulunur. ALT sitozolik bir enzim olup, AST hem sitozolik hem de mitokondriyal bir izoenzimdir. AST hepatositler dışında iskelet ve kalp kası, böbrek, beyin, pankreas ve kan hücrelerinde de bulunurken ALT nispeten karaciğere spesifiktir. Karaciğer hücre hasarını takiben bu enzimlerin serumdaki düzeyleri artar. Bu enzimlerin düzeyleri özellikle akut viral hepatit, kimyasal ve iskemik hasar gibi anlamlı hepatosit nekrozunun olduğu birçok karaciğer hastalığında artar. Aminotransferazlar hepatosellüler nekrozun oldukça sensitif bir indikatörü olmasına ve kan vericilerinde gizli viral hepatiti göstermede tarama testi olarak kullanılmalarına rağmen kronik viral hepatit, herediter hemakromatozis, metotreksat kullanımı gibi devam eden anlamlı karaciğer hasarı yokluğunda ilerlemiş sirozlu hastalarda sıklıkla normal veya normale yakın düzeyde bulunabilirler (2). Çoğu vakada tek laboratuvar bulgusu artmış aminotransferaz aktivitesidir. Gamma-glutamil transferaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP) düzeyleri normal veya hafif yüksek olabilir. Serum bilirubin düzeyi genellikle normaldir ancak hafif artışlar olabilir (7,11). Kronik hepatit düşünülen her hastada HBV ve HCV serolojik göstergelerinin araştırılması kronik viral hepatit tanısı için en önemli adımdır. Hastada enzim yükseklğine sebep olabilecek yağlanma ve/veya hepatotoksik ilaç alma hikayesi olsa bile serolojik testler mutlaka yapılmalıdır. HBsAg pozitif her hastada rutin olarak anti-HDV bakılmalıdır (8).

I.6. Kronik Hepatitde Tanı

Kronik viral hepatitli hasta farklı klinik şekillerde doktora başvurabilir ve bir çok hastalık ile ayırıcı tanı gerekir. Çok değişik etyolojik nedenlerle gelişen ve etyolojisine göre farklı klinik seyir gösteren kronik hepatitlerde genellikle klinik semptom ve bulgular siliktir. En sık karşılaşılan tablo, tesadüfen

saptanmış transaminaz yükseklikleri ve/veya HBsAg ve anti-HCV pozitifliğidir. Etyolojinin önemli bir kısmını oluşturan kronik viral hepatitlere tanı koymada biyokimyasal testler yanında ayırıcı tanıda serolojik testler yardımcı olur. Karaciğer biyopsisi tanı için hala altın standart olmaya devam etmektedir. Kronik viral hepatitte karaciğer biyopsisi tanı koyma yanında ayırıcı tanı yapma, hastalığın prognozunun belirlenmesi, tedaviye karar verme ve daha sonra tedavinin değerlendirilmesi için gereklidir. Karaciğerdeki inflamasyonun yaygınlığını, şiddetini değerlendirmede ve tedaviye başlama, devam etme veya sona erdirme konusunda karar vermede serum aminotransferaz düzeyleri tek başına yeterli değildir. Karaciğer biyopsisi çok yaygın kullanılan, mortalite ve morbiditesi az olan, bunun yanında kesin tanının hemen daima konulabildiği tanı yöntemidir. Karaciğerin patolojik incelemesi için çeşitli şekillerde materyal alınmaktadır. Farklı klinik durumlarda birbirlerine üstünlüğü olan 4 temel biyopsi tipi vardır. Bunlar perkutanöz kör iğne biyopsisi, ultrason veya bilgisayarlı tomografi eşliğinde yapılan biyopsi, laparoskopik biyopsi ve transvenöz biyopsidir. Bunlardan en sık kullanılanı perkutanöz iğne biyopsisi olup, yaklaşık 1,5 cm' lik bir biyopsi materyali, tüm organın 1/ 1000000' lik bir bölümünü gösterir ve tek başına, hastaya ait diğer veriler göz önüne alınmadan, ışık mikroskopik incelenmesi tanı konusunda yanlışlığa sebep olabilir (7,8).

1.7. Kronik Hepatitlerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

Kronik hepatitte histolojik bulguların değerlendirilmesi için farklı şemalar, skorlama sistemleri ve sınıflamalar önerilmiştir. Bunlar içinde en yaygın kullanılanı Knodell' in Histolojik Aktivite İndeksi (HAI) olmuştur. Ancak oldukça karışık olan bu sistem yerine daha pratik ve anlaşılır olanları önerilmektedir. Amaç hastalığın aktivitesini ve evresini doğru olarak saptamaktır. Kronik hepatitte grade nekroinflamatuvar olayın şiddetini, evre nekroinflamatuvar hasar sonucu oluşan fibrozisin derecesi gösterir (7,8). Knodell ve ark.' nın (14) yaptığı bu sistemde kronik hepatitlerin periportal ve/ veya köprüleşme nekrozu, intralobüler dejenerasyon, portal inflamasyon ve

fibrozis gibi 4 morfolojik özelliğine ayrı skor verilmekte ve bunların toplamı da Knodell' in Histolojik Aktivite İndeks (HAİ) skorunu oluşturmaktadır. Tablo 3' de bu skora sistemi görülmektedir. Knodell skora sistemi, kantitatif hepatopatolojiye olan ilginin artmasını sağlamıştır (15). HAİ skoru, histolojik olarak nümerik "grade" i gösterir. Tablo 4' de Knodell' in HAİ skoru ile yeni terminolojinin tanımlamaları karşılaştırılmıştır. HAİ skoru yeni terminoloji ile tanımlandığında; 1-3 skoru minimal kronik hepatiti gösterirken, 4-8 skoru hafif kronik hepatiti, 9-12 skoru orta şiddette kronik hepatiti, 13-18 skoru şiddetli kronik hepatiti gösterir. Histolojik grade, klinik ve biyokimyasal sonuçlarla genellikle paraleldir.

Tablo 4: HAİ skoru ile yeni terminolojinin karşılaştırılması

HAİ SKORU*	YENİ TERMİNOLOJİ
1-3	Minimal kronik hepatit
4-8	Hafif kronik hepatit
9-12	Orta şiddette kronik hepatit
13-18	Şiddetli kronik hepatit

* Knodell' in HAİ komponentlerinin ilk üçünün toplamı

Nekroinflamatuvar hasar sonucu oluşan fibrozisin derecesini gösteren Knodell kronik hepatit evreleme sistemi Tablo 5' de gösterilmiştir. Knodell ve ark.' nın (14) geliştirdiği bu sistemde portal alanda fibrozis yoksa evre 0, fibrozis portal alana sınırlı ise evre I olarak kabul edilmiş olup, evre II bulunmamaktadır. Fibrozis varlığı portal alanda sınırlı veya sınırlayıcı membran harabiyetine neden olsa da evre I olarak kabul edilmektedir.

Tablo 5: Knodell evreleme sistemi

EVRE	FİBROZİS
0	Yok
I	Portal alana sınırlı
III	Köprüleşme nekrozu
IV	Siroz

Tablo 3: Karaciğer biyopsi örneklerinde nümerik skora için histolojik aktivite indeksi (HAI)^a

Periportal		İntralobüler		Portal		Fibrozis	
+/-	Skor	degenerasyon	ve Skor	inflamasyon	Skor	Skor	Skor
köprüleşme nekrozu		fokal nekroz ^b					
Yok	0	Yok	0	Yok	0	Yok	0
Hafif güve yeniği nekrozu	1	Hafif (lobül veya nodüllerin <1/3'ünde tutulma)	1	Hafif (İnflamatuar hücrelerin portal alanların <1/3'üne yayılması)	1	Portal alanda sınırlı	1
Orta derecede güve yeniği nekrozu (çoğu portal alanın <%50'sini etkiler)	3	Orta (lobül veya nodüllerin 1/3-2/3'ünün tutulması)	3	Orta (İnflamatuar hücrelerin portal alanların 1/3-2/3'ünde artması)	3	Köprüleşme oluşumu	3
Belirgin güve yeniği nekrozu (çoğu portal alanın >%50'sini etkiler)	4	Belirgin (lobül veya nodüllerin >2/3 tutulması)	4	Belirgin (İnflamatuar hücrelerin portal alanların >2/3'ünde yoğun paketler yapması)	4	Siroz ^c	4
Orta derecede güve yeniği nekrozu + köprüleşme nekrozu ^d	5						
Belirgin güve yeniği nekrozu + köprüleşme nekrozu ^d	6						
Multilobüler nekroz ^e	10						

^a HAI skoru, nekroz, inflamasyon ve fibrozis için birleşmiş skordur.

^b Dejenerasyon- asidofilik cisimcikler, balonlaşma; fokal nekroz- hepatosellüler nekroz odağı.

^c Fibroz septalarla ayrılma ve nodüllerle çevrelenme ile normal hepatik mimarinin kaybı.

^d Köprüleşme karaciğer biyopsi örneğinde ≥ 2 köprü olarak tanımlanır. Portal- portal veya portal-santral ayırımı yoktur.

^e İki veya daha fazla komşu lobülde panlobüler nekrozdur.

Bu sistemde köprüleşme nekrozu varsa evre III, siroz gelişmişse evre IV olarak belirtilmektedir. Kronik hepatitlerde sadece tanı konulması yeterli değildir. Aynı zamanda takip, tedaviye yanıtın ve prognozun belirlenmesi gereklidir. Bunun için ideal bir tanı içinde morfoloji, grade, evre ve etyoloji yer almalıdır. Etiyoloji göz önüne alınmaksızın yapılan tanım ve sınıflandırmalar büyük yanlışlıklara yol açabilir (7).

II. Karaciğer Sirozu

II.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Siroz, karaciğerde hepatosellüler nekrozu takiben diffüz fibrozis ve rejenerasyon nodüllerinin oluşmasıyla karakterize progresif bir hastalıktır (16). Başka bir şekilde tanımlayacak olursak, siroz, nodül formasyonu ile sonuçlanan karaciğer parenkiminin fibrozisi şeklinde tanımlanabilir. Sirozun toplam insidansı ABD' de 100.000' de 360 veya yaklaşık 900.000 toplam hasta şeklindedir. Vakaların büyük bir kısmı alkolik karaciğer hastalığı ve kronik viral hepatitlere bağlı gelişir. ABD' de her yıl yaklaşık 30.000 ölüm siroza bağlıdır ve siroz, nonneoplastik hepatobiliyer ve sindirim sistemi hastalıkları arasında en sık ölüm sebebidir. Alkole bağlı sirozu olan hastalarda mortalite diğer nedenlere bağlı sirozu olan hastalara göre daha yüksektir. Ölüm oranları da erkeklerde, kadınlara göre daha fazladır (17).

II.2. Etiyoloji ve Sınıflama

Karaciğer sirozu morfolojik ve etyolojik olarak sınıflandırılabilir. Morfolojik olarak nodüllerin boyutlarına (3 mm' den büyük veya küçük) göre mikronodüler, makronodüler ve mikst (karışık) olmak üzere 3 ayrı gruba ayrılan siroz olgularının çoğunu her iki morfolojik görünümün birlikte olduğu mikst tip oluşturur. Zaman içinde mikronodüler sirozların makronodüler forma dönüştüğü bildirilmiştir (16). Dünyanın pek çok bölgesinde olduğu gibi ülkemizde de siroz önemli ölüm nedenlerinden birisidir. Siroz etyolojisinde

Ülkemizde en önemli sebep kronik viral hepatit B ve C olup, alkolik ve biliyer hastalıklar bunu izlemektedir. Ülkemizde yapılan bir araştırmada karaciğer sirozlarının %60' ının kronik viral hepatitlere, %11' inin alkole, %4' ünün alkol+viral hepatitlere bağlı olduğu, %16' sında ise herhangi bir neden bulunamadığı (kriptojenik) saptanmıştır (18,19). Tablo 6' da siroz nedenleri görülmektedir (20). Siroz vakalarının %15 ile %20' sinde neden bulunamaz ve bunlar kriptojenik olarak sınıflanır (21).

Tablo 6: Siroz etyolojisi

Otoimmün hepatit	Biliyer hastalıklar
Alkole bağlı karaciğer hasarı	<i>Primer biliyer siroz</i>
İlaç veya toksinlere bağlı karaciğer hasarı	<i>Kistik fibrozis</i>
Kronik viral hepatitler (HBV, HCV, HDV)	<i>Sarkoidoz</i>
Metabolik hastalıklar	<i>Primer sklerozan kolanjit</i>
<i>Alfa-1 antitripsin eksikliği</i>	<i>Biliyer atrezi</i>
<i>Wilson hastalığı</i>	<i>Sekonder biliyer siroz</i>
<i>Hemakromatozis</i>	<i>İntrahepatik safra kanallarının</i>
<i>Tirozinemi</i>	<i>konjenital yokluğu</i>
Nonalkolik steatohepatit veya yağlı karaciğer	<i>Progresif familial intrahepatik kolestaz</i>
Vasküler hasar	Malnutrisyon
<i>Kronik sağ kalp yetmezliği</i>	Postjejunoileal bypas cerrahisi
<i>Budd-Chiari sendromu</i>	Kriptojenik
<i>Uzun süreli portal ven trombozu</i>	

II.3. Sirozda Klinik

Sirozun erken dönemlerinde klinik bulgular silik olabilir ve genellikle ileri eçrede hastalığa ve komplikasyonlara bağlı belirti ve bulgular ortaya çıkabilir. Halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık, bulantı, hafif ve sebebi belli olmayan ateş, ödem, sarılık, kaşıntı, kanama diyatezi belirtileri, dispne, empotans,

erkeklerde memelerde büyüme, kıllarda azalma ve dağılımında bozukluk, menstruasyon değişiklikleri ve kas krampları gibi semptomlar görülebilir. Fizik muayenede spider anjioma, palmar eritem, sarılık, hepatomegali, splenomegali, asit, ödem, jinekomasti, testiküler atrofi, çomak parmak, beyaz tırnak, tenar ve hipotenar atrofi, temporal atrofi, solukluk, dilde atrofi, parotis büyüklüğü, fetor hepaticus, ensefalopati, pigmentasyon ve hipotansiyon gibi bulgular saptanabilir. Asit ve/veya sarılığın ortaya çıktığı olgulara dekompanse, olmadığı olgulara kompanse siroz adı verilir. Bu belirti ve bulgular hastalığın kendisinden kaynaklanabileceği gibi hastalığın sonucu gelişen hepatosellüler yetmezlik ve portal hipertansiyondan da kaynaklanmaktadır (17-21).

II.4. Sirozda Tanı ve Ayırıcı Tanı

Hastalığın tanı ve ayırıcı tanısında anamnez ve fizik muayene bulguları çok önemlidir. Ancak tanının kesinleştirilmesi ve etyolojinin ortaya konması için laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri gereklidir. Laboratuvar bulguları siroz tanısında önemli yer tutar. Ancak laboratuvar bulgularının normal olmasının siroz varlığını ekarte ettiremeyeceğini unutmamak gerekir. Hematolojik incelemelerde hastalarda anemi, lökopeni, trombositopeni, protrombin zamanında uzama ve protrombin aktivitesinde azalma saptanabilir. Biyokimyasal testler hastalığın evresine ve etyolojisine göre değişiklik gösterir. Serum AST, ALT, ALP, GGT, bilirubin seviyeleri normal veya yükselmiş olabilir. Serum albumin düzeyi azalır ve protein elektroforezinde gama globulin yüksek bulunur. İdrarda ürobilinojen ve bazen bilirubin artmış olarak bulunabilir. Etiyolojiye yönelik olarak viral hepatit belirteçleri, otoantikolar, serum bakır, seruloplazmin, ferritin gibi çeşitli spesifik serolojik ve immünolojik araştırmalar yapılabilir.

Siroz hastalığından kuşku edilen hastalarda ilk uygulanacak görüntüleme yöntemi ultrasonografidir (USG). USG ile karaciğer büyüklüğü ve şekli, parenkim ekojenitesi, portal hipertansiyon ve ayrıca sirozun önemli bir sonucu olan hepatosellüler karsinom varlığı saptanabilir. Bilgisayarlı

tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve anjiografinin hastalığın tanınmasında ilave bir yararı yoktur. Bunlar daha çok USG ile saptanamayan lezyonları değerlendirmek için kullanılır. Endoskopi de sirozlu hastanın değerlendirilmesinde, özofagus varislerinin varlığının ve derecesinin saptanmasında, konjestif gastropatinin gösterilmesinde önem taşır. Siroz tanısının kesinleştirilmesinde karaciğer biyopsisi zorunludur. Biyopsi için kullanılan en yaygın yöntem lateral perkütan yoldur. Biyopsi ile hastalığın derecesi ve aktivitesi dışında bazen etyolojisi de saptanabilir (16,18).

II.5. Sirozun Komplikasyonları

Sirozdaki komplikasyonların çoğu karaciğerin sentez fonksiyonunda azalma ve portal hipertansiyona bağlıdır. Karaciğer yetmezliğine bağlı olarak hipoalbuminemi, asit, koagülopati, enfeksiyonlara yatkınlık, protein-kalori malnutrisyonu, renal disfonksiyon görülürken, portal hipertansiyon ve buna bağlı olarak da özofagus varis kanamaları, asit, hepatik ensefalopati, hepatorenal sendrom, spontan bakteriyel peritonit, hepatopulmoner sendrom, portopulmoner sendrom ve hidrotoraks gibi komplikasyonlar görülür (20). Bunların dışında sirozlu hastalarda görülen diğer komplikasyonlar hepatosellüler karsinom, feminizasyon, ilaç metabolizmasında değişiklikler ve hepatik osteodistrofi olarak bildirilmiştir (21).

II.6. Prognoz

Karaciğer sirozu ciddi ve öldürücü bir hastalıktır. Sirozda prognoz hastalığın nedenine, evresine ve tedavi olanaklarına bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu amaçla kullanılan en yaygın ve objektif parametre karaciğer yetmezliğinin derecesini gösteren Child-Pugh sınıflaması tablo 7' de gösterilmiştir.

Bu sınıflama da toplam puan 5-6 ise Child A, 7-9 ise Child B ve 10-15 ise Child C olarak yorumlanır. Örneğin, alkolik sirozda Child A evresinde bir hasta için 5 yıllık yaşam beklentisi %90, Child B evresinde ise %20' dir.

Hepatit B' ye bağlı sirozda ise Child A evresinde 5 yıllık yaşam beklentisi %70-80' dir. Ortalama kompanse sirozların %10' u her yıl dekompanse döneme geçer. Dekompanse sirozlu hastaların yaklaşık %20' si 6 yıl yaşar. (16,18,19).

Tablo 7: Modifiye "Child-Pugh" sınıflaması

PARAMETRE	1	2	3
Ensefalopati	Yok	Grade I-II	Grade III-IV
Asit	Yok	Az	ok
Bilirubin (mg/dl)	< 2	2-3	> 3
Albumin (gr/dl)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
PTA* (%)	>50	40-50	<40

* PTA: protrombin aktivitesi

1.3. Paraoksonaz

Paraoksonaz (PON); bir arildialkilfosfataz olarak organofosfatlar, ansatüre alifatik esterler, aromatik karboksilik asitler ve muhtemelen karbamatlar gibi bazı ksenobiyotiklerin hidrolizini katalize eden bir ester hidrolazdır (22).

1.3.1. Paraoksonaz' ın Yapısı

İnsan serum paraoksonaz (PON1) enzimi, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ile birliktelik gösteren kalsiyum (Ca^{+2}) bağımlı, 45 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (23). İ*n situ* hibridizasyon çalışmalarıyla paraoksonaz geninin insanlarda 7. kromozomun uzun kolu üzerinde q21 ile q22' de lokalize olduğu ve paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere en az üç üyesinin bulunduğu gösterilmiştir. PON 2 ve PON3 gen ekspresyon ürünleri üzerinde araştırmalar devam etmektedir (24,25). Serum PON1 geni iki polimormik alana sahiptir. Bunlardan biri 192. sıradaki aminoasit glutamin

yerine arginin yer değişikliği ile, diğeri ise 55. sıradaki aminoasit metiyonin yerine lösin yer değişikliği ile meydana gelir (26). Glutamin-arginin polimorfizmi, paraokson hidroliz fonksiyonunda iki ayrı alloenzime yol açar. Arginin alloenzimi nispeten daha yüksek aktiviteye sahiptir ve 1 mmol/L NaCl ile glutamin alloenziminden daha fazla derecede stimölasyon gösterir (27). Metiyonin-lösin polimorfizmi ise dolaşan enzim konsantrasyonlarında değişikliğe yol açar. Lösin alloenzimi daha yüksek PON1 konsantrasyonu ile birlikte (28).

Direkt bir kanıt olmamakla birlikte PON1' in karaciğer tarafından sentez ve sekrete edildiğine inanılmaktadır . Bununla birlikte revers kriptaz polimeraz zincir reaksiyonu tekniklerini kullanan çalışmalar PON1 mRNA' nın farelerde karaciğer, akciğer, beyin, ince barsak ve böbrekte bulunduğunu göstermişlerdir (25). Çeşitli insan ve tavşan dokularında Northern blot analizleri, saptanabilir PON1 mRNA' nın sadece karaciğerde olduğunu göstermiştir (4). İn vitro biyokimyasal çalışmalar hepatik ve serum PON1 enzimlerinin optimum pH, substrat afinitesi (K_m), ısı inaktivasyonu ve kalsiyum içeren ortamda benzer özellikler içerdiiğini göstermiştir. Bu bilgiler her iki enzim için ortak bir kimlik kavramını desteklemektedir (29). Seres ve ark. (30), serum PON1 aktivitesinin, serum konsantrasyonunda azalma olmaksızın yaşla birlikte azaldığını ve bu azalmanın yaşlılarda HDL' nin oksidasyona eğiliminin artması ve yaşla oksidatif stres yaratan durumların gelişmesi ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Paraoksonaz, HDL ile tamamen kompleks oluşturmuş bir insan serum enzimidir (31). Ayrıca PON1 enzimi apolipoprotein A1 (apo A1) ile de sıkı bir birliktelik gösterir ki bu insan serumunda arındırma (purifikasyon) işlemleri sırasında apo A1' in PON1' den tamamen ayrılmasının çok zor olduğunun gösterilmesiyle ispatlanmıştır (32). PON1, HDL lipitlerine sıkıca bağlanmasını sağlayan son derece hidrofobik N-terminal uca sahiptir. PON1 ile HDL arasında spesifik bir etkileşim mevcuttur ve belki bu apo A1 aracılığı ile olmaktadır. PON1 aktivitesinin cinsiyetle olan ilişkisi incelendiğinde, PON1' in HDL ile birliktelik göstermesine ve kadın, erkek arasında dolaşan kanda HDL konsantrasyonlarında belirgin bir fark

olmasına rağmen cinsiyetler arasında bir fark göstermediği bulunmuştur (23,33).

Paraoksonaz aynı zamanda arilesteraz aktivitesine de sahiptir. Önceleri paraoksonaz ile arilesteraz enzimlerinin farklı iki enzim olduğu sanılıyorken bu iki enzimin aslında aynı proteinin farklı enzimatik aktiviteleri olduğu anlaşıldı. Bir aromatik ester olan fenilasetat, paraoksonaz tarafından hidroliz edilerek fenol ve asetata ayrılır. Açığa çıkan fenol miktarı spektrofotometrik olarak tayin edilerek arilesteraz aktivitesi ölçülür (34-36).

Yapılan bir çalışmada genel popülasyonda genetik, beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzı gibi faktörlerin serum paraoksonaz enzim aktivitesinin düzenlenmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmaya göre serum paraoksonaz aktivitesindeki düzenlemenin başlıca genetik faktörlere bağlı olduğu, ancak HDL kolesterol ve tütün içiminin de enzim aktivitesindeki düzenlemede rol oynayabileceği bulunmuştur. Cinsiyet, fizik egzersiz, vücut kitle indeksi, enerji tüketimi, besinlerle alınan doymuş yağ asitleri, beta-karotenler, vitamin C ve E miktarının enzim aktivitesi üzerinde anlamlı bir etkisi gösterilememiştir (37). Bununla birlikte Jarvik ve ark. (38) ise vitamin C ve E alımının paraoksonaz aktivitesini artıracaklarını ileri sürmüşlerdir.

1.3.2. Serum Paraoksonaz Aktivitesi Üzerine Genetik Zeminin Etkisi

PON1 polimorfik bir enzimdir ve ilk olarak Playfer ve ark. (39) tarafından üzerinde genetik incelemeler yapılmıştır. Sonuçta düşük ve yüksek PON1 aktivitesinin, tek bir otozomal lokusun 2 alleli tarafından kontrol edildiği saptanmıştır. Eckerson ve ark. (34) 1983 yılında enzimi 192. pozisyondaki aminoasit farklılığına göre günümüzde sırasıyla Q ve R olarak adlandırılan A ve B olmak üzere 2 alloenzime ayırdılar. Buna göre 192. pozisyondaki aminoasit glutamin ise A alleli, arjinin ise B alleli ismini aldı. Yine Eckerson ve ark. (40), tuzun (NaCl) paraoksonaz aktivitesi üzerindeki etkilerini incelemişler ve kişileri paraoksonaz aktivitelerinin tuzla etkileşimine göre 3 fenotipe ayırmışlardır. NaCl ile aktive olmayanlar (%60' dan daha az

aktivasyon artışı olanlar) fenotip A, NaCl ile orta derecede aktive olanlar (%60- 200 aktivasyon artışı olanlar) fenotip AB, NaCl ile aktive olanlar (% 200' den fazla aktivasyon artışı olanlar) fenotip B olarak adlandırılmışlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarla serum PON1' i genetik olarak aminoasit diziliminde 192. pozisyonda glutamin (G)- arjinin (A) farklılığı ile PON1₁₉₂ polimorfik alanına ve 55. pozisyondaki lösin (L)- metiyonin (M) farklılığı ile PON1₅₅ polimorfik alanına ayrıldı. PON1₁₉₂ polimorfizmi , paraokson hidroliz fonksiyonunda iki ayrı alloenzime yol açar ve Q ile R fenotipi ile açık bir korelasyon gösterir. Arginin alloenzimi (R fenotipi) nispeten daha yüksek aktiviteye sahiptir ve 1mmol/L NaCl ile glutamin alloenziminden (Q fenotipi) daha fazla derecede aktivasyon gösterir. PON1₅₅ polimorfizmi ise dolaşan enzim konsantrasyonlarında değişikliğe yol açar. Lösin izoformu (L fenotipi), metiyonin izoformuna (M fenotipi) göre daha yüksek serum PON1 konsantrasyonu ile birlikte (26-28). Nevin ve ark. (41) 55 polimorfizminin enzim aktivitesini etkilemediğini ileri sürmüşlerdir.

I. 3. 3. Paraoksonaz' in Fizyolojik Fonksiyonları

Memelilerde PON ailesi, PON geni üzerinde en az üç üyeye sahip olup, bu enzim ailesinin önemli fizyolojik rolleri vardır. PON1' in en iyi bilinen koruyucu etkisi sinir gazları ve insektisidler gibi toksik organofosfatları hidroliz etme yeteneğidir. Ayrıca karbamatlar ve aromatik esterleri de hidrolize edebilir. Bununla birlikte PON1' in, gram negatif infeksiyonların seyri sırasında ortaya çıkan ölümcül endotoksemi ve şoktan sorumlu bakteriyel endotoksin olan lipopolisakkaridlere karşı da koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (25,42,43).

Çeşitli çalışmalarla memelilerde PON1' in ateroskleroza karşı koruyucu etkisi olduğu ortaya çıkmıştır. PON1, HDL kompleksinin anahtar bir komponentidir ve serum düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) lipid komponentlerinin oksidasyonu sonucu oluşan toksik ürünleri inaktive etme yeteneğindedir. Serum LDL oksidasyonu, ateroskleroz gelişiminde önemli erken basamaklardan biridir. Okside LDL aterosklerozun başlamasında ve

ilerlemede anahtar bir role sahiptir. Okside LDL ürünleri, endotel altında yerleşmiş makrofajlar tarafından alınmakta ve sonuçta kolesterol esterleri ile dolu olan makrofajlar köpük hücrelerine dönüşmektedir. Takip eden olaylar zinciri sonucunda makrofajlar, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından çeşitli mediyatörler salınır ve düz kas hücre proliferasyonu, düz kas hücrelerinin endotel altına migrasyonu, endotelde yağlı çizgilenmeler, kalsiyum çökmesi ile aterom plağı meydana gelir. Yapılan çalışmalarla PON1' in bu olaylar zincirinde ilk adım olan LDL' nin okside olmasını önleyerek ateroskleroz gelişimini önlediği veya azalttığı ve okside LDL' nin makrofaj tarafından geri alımını engellediği öne sürülmüştür (23,42-46). Yapılan bir hayvan çalışmasında, serum PON seviyesi yüksek olan farelere göre düşük olanlarda HDL' nin LDL oksidasyonuna karşı koruyuculuğunun yetersiz olduğu bulunmuştur (43). Bir başka çalışmada ise ortamda PON bulunmadığında, bakır sülfat ve azobis-amidino propan hidroklorür ile indüklenen LDL oksidasyonunun hızla gerçekleştiği ve ortama PON ilave edildiğinde LDL oksidasyonunun önemli oranda azaldığı ve çok daha yavaş geliştiği bulunmuştur (47). Paraoksonaz ile HDL oksidasyonu ilişkisi arasında da çok sayıda çalışma yapılmıştır. PON' un LDL oksidasyonu dışında HDL oksidasyonunu da önlediği saptanmıştır. HDL' nin oksidasyonunun önlenmesi, kolesterol esterleriyle dolarak köpük hücresi haline gelmiş makrofajlardan serbest kolesterolün alınıp karaciğere taşınmasında ve ateroskleroz gelişiminin önlenmesinde çok önemlidir (44,47, 48).

La Du ve ark. (42) PON enzim ailesinin hücresel oksidatif hasarla ilişkili akut ve kronik toksisitenin çeşitli tiplerine karşı önemli endojen koruyucu proteinler olduğunu ileri sürmüşlerdir.

I.3.4. Paraoksonaz' ın Sistemik Hastalıklarla İlişkisi

Paraoksonaz enzimi üzerinde yapılan çalışmalarda enzimin LDL ve HDL oksidasyonuna ve dolayısıyla ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin gösterilmesi ile araştırmalar daha çok koroner arter hastalığı ile enzim aktivitesi arasındaki ilişkiler üzerine olmuştur. PON1' in ateroskleroz ve

ardından ortaya çıkan koroner arter hastalığının gelişimini anlamlı olarak azalttığı öne sürülmüştür (49). Bu konuda çok sayıda araştırma yapılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada kontrol grubuna göre miyokard infarktüsü geçiren kişilerde serum PON1 kitlesinin daha az olduğu saptanmış ve azalmış serum paraoksonazının aterosklerotik hastalık için bir risk faktörü olabileceği savunulmuştur (50). Bir başka vaka-kontrol çalışmasında, anjiyografik olarak ispatlanmış koroner arter hastalığı olanlarda serum PON1 aktivitesinin ve konsantrasyonunun sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmış olduğu saptanmıştır (51). Kujiraoka ve ark. (52) da Japonya' da koroner arter hastalarının serum PON1 konsantrasyonlarının sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını bulmuşlardır. Mackness ve ark. (26) oksidatif değişikliğe karşı LDL' nin korunmasında PON1 polimorfizminin önemli olduğunu ve vaka-kontrol çalışmaları ile koroner arter hastalığı ve PON1 allelleri arasındaki ilişkinin açıklanabileceğini bildirmişlerdir. Serrato ve Marian (53) koroner ateroskleroz için bilinen sigara içimi, yüksek LDL, düşük HDL ile birlikte hipertrigliseridemi, diyabetes mellitus, hipertansiyon ve genetik risk faktörleri yanında yeni bir genetik risk faktörü tanımlamışlardır. Bu çalışmacılar PON gen allelleri ile koroner arter hastalığı arasında yakın bir ilişki olduğunu ve bu hastalarda G allelinin (arjinin), A allelinden (glutamin) daha sık görüldüğünü, böylece insan paraoksonaz genindeki değişimlerin koroner arter hastalığı için ayrı bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde Sanghera ve ark. (54), beyaz ırkta PON genindeki polimorfizmin kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte Aynacıoğlu ve ark. (55), Türk hastalarda koroner arter hastalığı ile paraoksonaz geninin 192. pozisyonundaki glutamin-arjinin polimorfizmi arasında ilişki olmadığını savunmuşlardır. Aviram ve ark. (56) insan koroner ve karotis arterlerindeki aterosklerotik lezyonları ile PON1Q ve PON1R izoformlarını kullandıkları çalışmada PON1' in lipid peroksidlerini hidrolize ettiği için antiaterojenik etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise sigara içimi, PON aktivitesi ve koroner arter hastalığı arasındaki ilişki incelenmiş, sigara içiminin bağımsız olarak, tek başına serum PON

aktivitesini ve seviyesini azalttığı ve böylece LDL oksidasyonu sonucunda koroner arter hastalığı riskini artırdığı gösterilmiştir (57). Ayub ve ark. (58), miyokard infarktüsü geçiren hastalarda serum PON1 aktivitesini ve konsantrasyonunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır.

Abetalipoproteinemili "Balık gözü" ve Tangier hastalığında, PON1 için taşıyıcı olan HDL' nin yokluğu sebebiyle PON1 aktivitesi büyük oranda azalmış veya hiç yoktur (59).

PON enzim ailesinin, akut ve kronik toksisitede hücrel oksidatif hasara karşı endojen koruyucu etkilerinin gösterilmesi ile bazı araştırmacılar bu yönde çalışmalar yapmışlardır. Senti ve ark. (60) metabolik sendromda antioksidan/oksidan dengenin giderek bozulduğunu ve metabolik sendromlu hastalarda artmış oksidatif stres ve lipid peroksidasyon ürünleri ile azalmış antioksidan PON1 enzimatik kapasitenin birlikte olduğunu göstermişlerdir. Yine Mackness ve ark.' nın (61) yaptıkları bir çalışmada ailesel hiperlipidemisi ve insüline bağımlı diyabet mellitusu olan hastalarda da serum PON aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir.

Üremik hastalarda da serum PON aktivitesinin sağlıklı kişilere göre azalmış olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (62,63). Üremik hastalarda serum paraoksonaz aktivitesinin azalmasıyla birlikte aterosklerozun görülme sıklığının da artması araştırmaların bu yönde olmasına sebep olmuştur. Suehiro ve ark. (64) 81 hemodiyalize giren üremik hasta ile 103 sağlıklı kontrol grubu arasında yaptıkları çalışmada, serum PON1 konsantrasyonunun üremik hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğunu ve bu azalmanın kardiyovasküler hastalık gelişmesini artırabileceğini bulmuşlardır. Juretic ve ark. (65) uzun süredir hemodiyalize giren hastalarda, sağlıklı gruba göre serum paraoksonaz/ arilesteraz enzim aktivitesinin azaldığını ve bunun da erken aterogenez için büyük bir risk olabileceğini göstermişlerdir.

Son yapılan çalışmalarla PON1 enziminin başlıca karaciğerde sentez edildiği ve buradan dolaşıma verildiği saptanmıştır (4). Bu nedenle son

zamanlarda kronik karaciğer hastalıkları ile serum PON1 aktivitesi arasında ilişki olup olmadığı araştırmacıların dikkatini çekmiş ancak az sayıda inceleme yapılmıştır. Ferre ve ark. (5) kronik karaciğer hastalarında serum paraoksonaz aktivitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğünü, hastalığın şiddeti ile enzim aktivitesinin azalması arasında bir ilişki olduğunu ve bu enzim aktivitesinin ölçümünün kronik karaciğer hastalığını değerlendirmede standart karaciğer fonksiyon testlerine yardımcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmanın amacı, kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda serum paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin değişip değişmediğini saptamak, karaciğer hastalığının derecesi ile enzim aktiviteleri arasındaki ilişkiyi araştırmak, serum PON1 aktivitesi üzerinde fenotipik değişkenliğin etkisini araştırmak ve karaciğer hasarının değerlendirilmesinde serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin ölçümünün tek başlarına ve standart karaciğer fonksiyon testleri ile kombinasyonunun değerini araştırmak olmuştur.

GEREÇ VE YÖNTEM

II. 1. Gereç

II. 1. 1. Olgular

Bu çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavi edilen 50 karaciğer sirozlu ve 25 kronik viral hepatitli hasta alındı. Kontrol grubu olarak da yaş ve cinsiyetleri uygun 25 sağlıklı kişi çalışmaya seçildi. Hipertansiyon, dislipidemi, diyabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, kardiyovasküler hastalık, akut veya kronik karaciğer hastalığı, malignitesi ve bilinen herhangi bir sistemik hastalığı olanlar kontrol grubuna alınmadı. Tüm hasta ve sağlıklı bireylere çalışma ile ilgili bilgi verilerek çalışmaya katılım formları dolduruldu ve olurları alındı.

Hasta grubu için çalışmaya alınma kriterleri şunlardı:

1. Etiyoloji göz önüne alınmaksızın klinik, laboratuvar, radyolojik, endoskopik ve/veya biyopsi ile siroz tanısı almış olan hastalar.
2. Karaciğer biyopsisi ile tanı almış HBV, HCV ve HDV'ye bağlı kronik viral hepatitli hastalar.
3. Yaş kriteri hem kronik hepatit hem de sirozlu hastalar için konmamıştır.

Hasta grubu için çalışmaya alınmama kriterleri ise şunlardı:

1. Kronik viral hepatit dışında başka nedenlere bağlı olan kronik hepatitler.
2. Karaciğer biyopsisi yapılmamış kronik viral hepatitli hastalar.
3. İnterferon ve/veya antiviral tedavi alan kronik viral hepatitli hastalar.

Çalışmaya alınan hastaların kimlik ve iletişim bilgileri, yaş, cinsiyet, etyolojiye ait bilgiler, sirozlu hastaların evresine (Child-Pugh skorlaması ile) ait bilgiler, başvurudaki hemogram, karaciğer fonksiyon testleri, lipid profilleri, apolipoprotein A1 düzeyleri, viral belirteçleri ve gereğinde otoimmün ve diğer etyolojiye yönelik tetkikleri kayıt formlarına kaydedildi. Sağlıklı kontrol grubunun da kimlik ve iletişim bilgileri, yaş, cinsiyet ve hemogram, karaciğer fonksiyon testleri, lipid profilleri, apolipoprotein A1 düzeyleri kayıt formlarına kaydedildi.

II. 1. 2. Örnek Toplanması

Hastalar ve sağlıklı kontrol grubunun kan örnekleri bir gecelik açlığı takiben alındı. Kan örneklerinin bir kısmı yukarıda belirtilen standart laboratuvar testleri için kullanıldı. Hemen çalışılmayacak olan parametreler (serum bazal PON1, tuzla stimüle edilmiş PON1 ve arilesteraz aktiviteleri) için ayrılan ve kuru tüpe alınan kan örnekleri 3000 devir/dakikada, 10 dakika santrifüj edilerek, serumları ayrıldı. Bu örnekler -80 °C' de derin dondurucuda saklandı.

II. 1. 3. Kimyasal Maddeler

1. 2-Tiyobarbitürik asit (>% 98), "Sigma" (A.B.D.) Kat.no: T 5500
2. n-Bütil alkol, "Merck" (Almanya) Kat.no: 988
3. Sodyum hidroksit, "Merck" (Almanya) Kat. no: 6462
4. Paraokson (Dietyl p-nitrofenil fosfat), "Sigma" (A.B.D.) Kat. no: D9286
5. Fenil asetat (%99), "Aldirch" (A.B.D.) Kat. no: 10,872-3
6. Sodyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat no: 6400
7. Tris (hidroksimetil) aminometan, "Merck" (Almanya) Kat no: 8387
8. Kalsiyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat no: 2389
9. Glisin, "Merck" (Almanya) Kat no: 4201

II. 2. Yöntemler

II. 2. 1. Serumda Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Alınan kan örnekleri bekletilmeden Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller Eğitim ve Araştırma Merkez Laboratuvarı' na götürüldü. Serum AST (7D81), ALT (7D56), total bilirubin (7D60-01), direkt bilirubin (7D59), total protein (7D73-01), albumin (7D53-01), total kolesterol (7D62-01), HDL-kolesterol (7D67-01), trigliserid (7D74-01) düzeyleri Abbott marka kitler kullanılarak otoanalizörde (Abbott-Aeroset, A.B.D.) ölçüldü. Serum apolipoprotein A1

(Dade Behring, OUED 15, No: Z 6347) düzeyi BN Prospec (Dade Behring Marburg Gmbh, Almanya) cihazında nefelometrik olarak ölçüldü. Serum protrombin zamanı (REP OU HP 49), protrombin aktivitesi (REP OU HP 49), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (B4218-2) ve INR (REP OU HP 49) düzeyleri ise Dade Behring marka kitler kullanılarak otoanalizör (Dade Behring, Almanya) ile ölçüldü.

II. 2. 1. Serum Paraoksonaz Aktivitesi Ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (40) tarif ettiği yonteme göre yapıldı. Bazal PON aktivitesinin saptanması amacıyla NaCl yokluğunda ve pH: 10.5' da 0.05 M Glisin-sodyum hidroksit tamponu içinde 1.0 mM CaCl₂ ve 1.0 Mm paraokson içeren karışıma 10 µl serum eklendi. Paraoksona PON' un etki etmesi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol, 25 °C' de spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda (Em= 18,290) ölçüldü. Paraokson' un non-enzimatik kendiliğinden hidroliz oranı ayıraç körü kullanılarak saptandı ve bu değer düşölerek gerçek absorbans değeri elde edildi. 1 ünite paraoksonaz aktivitesi 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum PON aktivitesi ünite/litre (Ü/L) şeklinde ifade edildi.

NaCl ile aktive paraoksonaz aktivitesi ölçümü, standart işlemdede 1 M NaCl eklenerek yapıldı (tuzla stimüle edilmiş PON aktivitesi).

II. 2. 2. Serum Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü

Serum arilesteraz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (40) yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı pH: 8.0' de 9.0 mM tris (hidroksimetil) aminometan/HCl tamponu içinde 0.9 mM CaCl₂ ve 1.0 mM fenilasetat içeriyordu. Reaksiyon 1.5 ml tampon/substrat ayıracına 1:3 oranında tamponla sulandırılmış, 10 µl seum eklenmesiyle başlatıldı. Fenilasetat' ın hidrolizi ile açığa çıkan fenol oluşumu 270 nm dalga boyunda saptandı. 10. saniyede ve 70. saniyede absorbanslar kaydedildi ve böylece

bir dakikada açığa çıkan fenol miktarı saptandı ($E_m = 1310$). Kör değeri spontan hidrolizi düzeltmek amacıyla kullanıldı.

1 Ünite Arilesteraz aktivitesi; 1 dakikada $1\mu\text{mol}$ fenol açığa çıkaran enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum arilesteraz aktivitesi Ü/L olarak ifade edildi.

II. 2. 3. PON Fenotipinin Tayin Edilmesi

PON fenotipinin tayin edilmesinde tuzla stimüle PON/arilesteraz aktivitesi oranı kullanıldı (34,66). Bu orana göre vakaların dağılımı incelendi ve dağılımın Karakaya ve ark.'nın (67) saptadığı gibi trimodal olduğu görüldü. Tuzlu PON/arilesteraz aktivitesi oranı 0.00-3.00 olanlar AA, 3.01-9.00 olanlar AB, 9.01-13.00 olanlar BB fenotipi olarak adlandırıldı.

II. 2. 4. İstatistiksel Analiz

İstatiksel değerlendirme için SSPS 11.5 paket programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Kontrol, siroz ve kronik viral hepatitli hasta gruplarının parametreleri arasında üçlü karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis ve ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney testleri kullanıldı. Olguların serum bazal PON1, tuzla stimüle PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ile standart karaciğer fonksiyon testlerinin tanısal doğruluk değerleri ROC analizi ile karşılaştırıldı. Paraoksonaz fenotipinin gruplardaki dağılımının farklı olup olmadığının incelenmesinde Pearson Ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

III. 1. Sağlıklı Kontrol, Kronik Hepatit ve Siroz Gruplarının Karşılaştırılması

III. 1. 1. Demografik Veriler

Çalışmamıza Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı' na başvuran 50 karaciğer sirozlu ve 25 kronik viral hepatitli hasta alındı. Kontrol grubu olarak da 25 sağlıklı, gönüllü alındı. Hastalara ve kontrol grubuna ait demografik özellikler Tablo 8' de gösterilmiştir.

Tablo-8: Gruplara ait demografik veriler

Parametre	Kontrol (n= 25)	Kronik hepatit (n= 25)	Siroz (n= 50)
Yaş (Ort,Min-Maks)	43 ± 11 (22-70)	41 ± 11 (18-63)	60 ± 13 (16-85)
Cinsiyet (K / E)	11 / 14	8 / 17	16 / 34
Etyoloji		HBV: 17 (%68) HCV: 8 (%32)	HBV: 12 (%24) HCV: 6 (%12) HBV+HDV: 1 (%2) Alkol: 6 (%12) PBS : 3 (%6) O. Hepatit: 1 (%2) Kriptojenik:21(%42)

HBV: Hepatit B virüsü, HCV: Hepatit C virüsü, HDV: Hepatit D virüsü,

PBS: Primer biliyer siroz, O. Hepatit: Otoimmün hepatit

III. 1. 2. Serumda Ölçülen Biyokimyasal Parametreler

Çalışmaya alınan sirozlu hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre AST (sırasıyla 72 ± 50 Ü/L ve 19 ± 5 Ü/L, $p < 0.001$), ALT (sırasıyla 57 ± 63 Ü/L ve 21 ± 10 Ü/L, $p < 0.001$) ve total bilirubin (sırasıyla 3.1 ± 4.5 mg/dL ve 0.6 ± 0.2 mg/dL, $p < 0.001$) düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek; albümin (sırasıyla 3.1 ± 0.6 g/dL ve 4.8 ± 0.3 g/dL, $p < 0.001$), total kolesterol (sırasıyla 116 ± 37 mg/dL ve 184 ± 35 mg/dL, $p < 0.001$), HDL-kolesterol (sırasıyla 33 ± 14 mg/dL ve 49 ± 8 mg/dL, $p < 0.001$), trigliserit (sırasıyla 87 ± 54 mg/dL ve 102 ± 34 mg/dL, $p < 0.001$) ve apo A1 (sırasıyla 80 ± 40 mg/dL ve 146 ± 28 mg/dL, $p < 0.001$) düzeylerinin ise istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu. Kronik hepatitli hasta grubunda ise kontrol grubuna göre AST (sırasıyla 88 ± 81 Ü/L ve 19 ± 5 Ü/L, $p < 0.001$) ve ALT (sırasıyla 140 ± 133 Ü/L ve 21 ± 10 Ü/L, $p < 0.001$) düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek; albümin (sırasıyla 4.5 ± 0.3 g/dL ve 4.8 ± 0.3 g/dL, $p < 0.05$) düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunurken, total bilirubin, total kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserit ve apo A1 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Sirozlu hasta grubunda kronik hepatit grubuna göre ALT (sırasıyla 57 ± 63 Ü/L ve 140 ± 133 Ü/L, $p < 0.001$), albümin (sırasıyla 3.1 ± 0.6 g/dL ve 4.5 ± 0.3 g/dL, $p < 0.001$), protrombin aktivitesi (sırasıyla $\%61 \pm 20$ ve $\%96 \pm 14$, $p < 0.001$), total kolesterol (sırasıyla 116 ± 37 mg/dL ve 175 ± 38 mg/dL, $p < 0.001$), HDL-kolesterol (sırasıyla 33 ± 14 mg/dL ve 46 ± 9 mg/dL, $p < 0.001$) ve apolipoprotein A1 (sırasıyla 80 ± 40 mg/dL ve 135 ± 22 mg/dL, $p < 0.001$) düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük düzeyde olduğu saptandı. AST ve trigliserit düzeylerinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 9).

Tablo-9: Tüm olgularda biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri

Parametre	Kontrol (n=25)	Kronik Hepatit (n=25)	Siroz (n=50)
AST (Ü/L)	19 ± 5	88 ± 81 ^{a**}	72 ± 50 ^{a**}
ALT (Ü/L)	21 ± 10	140 ± 133 ^{a**}	57 ± 63 ^{a**b**}
T.bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.3	3.1 ± 4.5 ^{a**b**}
Albümin (g/dL)	4.8 ± 0.3	4.5 ± 0.3 ^{a*}	3.1 ± 0.6 ^{a**b**}
PTA (%)		96 ± 14	61 ± 20 ^{b**}
T. Kolest. (mg/dL)	184 ± 35	175 ± 38	116 ± 37 ^{a**b**}
HDL- K (mg/dL)	49 ± 8	46 ± 9	33 ± 14 ^{a**b**}
Trigliserid (mg/dL)	102 ± 34	122 ± 76	87 ± 54 ^{a**}
apo A1 (mg/dL)	146 ± 28	135 ± 22	80 ± 40 ^{a**b**}

^a :Kontrol grubu ile karşılaştırma, ^b : Kronik hepatit grubu ile karşılaştırma

İstatiksel anlamlılık düzeyi: *p< 0.05, **p<0.001

AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, PTA: Protrombin aktivitesi, T. Kolest.: Total kolesterol, HDL-K: Yüksek dansiteli lipoprotein- kolesterol, apo A1: Apolipoprotein A1

III. 1. 3. Serum Paraoksonaz, Tuzla Aktive Edilmiş Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktiviteleri

Kronik hepatitli hasta grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum arilesteraz enzim aktivitesi (sırasıyla 41 ± 15 Ü/L ve 60 ± 21 Ü/L, p<0.01), arilesteraz/HDL-K oranı (sırasıyla 0.89 ± 0.31 ve 0.97 ± 0.58, p<0.01) ve arilesteraz/apo A1 oranı (sırasıyla 0.29 ± 0.10 ve 0.37 ± 0.21, p<0.01) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük düzeyde saptanırken serum bazal paraoksonaz ve tuzla aktive edilmiş paraoksonaz enzim aktiviteleri, PON/HDL-K ve PON/apo A1 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Sirozlu hasta grubunda ise kontrol grubuna göre serum bazal paraoksonaz (sırasıyla 73 ± 44 Ü/L ve 141 ± 77 Ü/L, p<0.001), tuzla aktive edilmiş paraoksonaz (sırasıyla 131 ± 100 Ü/L ve 230 ± 174 Ü/L,

p<0.05), arilesteraz (sırasıyla 27 ± 18 Ü/L ve 60 ± 21 Ü/L, p<0.001) enzim aktivite düzeyleri ve arilesteraz/HDL-K oranı (sırasıyla 0.90 ± 0.70 ve 0.97 ± 0.58, p<0.01) ile arilesteraz/apo A1 oranı (sırasıyla 0.38 ± 0.26 ve 0.37 ± 0.21, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu. PON/HDL-K ve PON/apo A1 oranlarında iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Sirozlu hasta grubu ile kronik hepatit hasta grubu karşılaştırıldığında ise sirozlu hastalarda serum paraoksonaz (sırasıyla 73 ± 44 Ü/L ve 131± 61 Ü/L, p<0.001) ve arilesteraz (sırasıyla 27 ± 18 Ü/L ve 41 ± 15 Ü/L, p<0.01) enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü. Serum tuzla aktive edilmiş PON aktivitesi, PON/HDL-K, PON/apo A1, arilesteraz/HDL-K ve arilesteraz/apo A1 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 10). Gruplar arasında serum PON, tuzla aktive edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktivitelerinin dağılımı Şekil 1' de gösterilmiştir.

Tablo-10: Kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarında serum PON, tuzla stimüle PON ve arilesteraz aktiviteleri

Parametre	Kontrol (n=25)	Kronik Hepatit (n=25)	Siroz (n=50)
PON (Ü/L)	141 ± 77	131± 61	73 ± 44 ^{b***C***}
Tuz. PON (Ü/L)	230 ± 174	218±186	131 ± 100 ^{b*}
Arilesteraz (Ü/L)	60 ± 21	41 ± 15 ^{a**}	27 ± 18 ^{b***C**}
PON/HDL-K	2.61 ± 1.41	2.84 ± 1.32	2.37 ± 1.44
PON/apo AI	1.01 ± 0.66	0.98 ± 0.51	1.04 ± 0.78
Arilesteraz/HDL-K	0.97 ± 0.58	0.89 ± 0.31 ^{a**}	0.90 ± 0.70 ^{b***}
Arilesteraz/apo A1	0.37 ± 0.21	0.29 ± 0.10 ^{a**}	0.38 ± 0.26 ^{b*}

^a : Kontrol ile kronik hepatit grubunu karşılaştırma

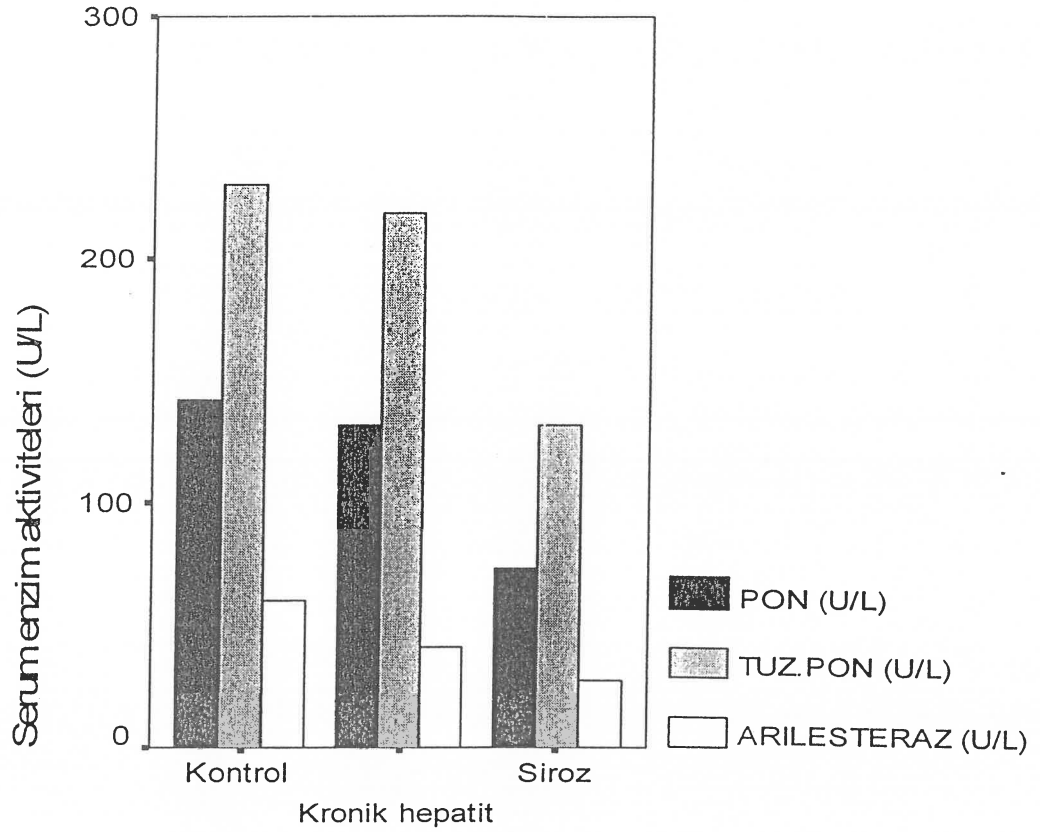
^b : Kontrol ile siroz grubunu karşılaştırma

^c : Kronik hepatit ile siroz grubunu karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

PON: Paraoksonaz, Tuz.PON: Tuzla stimüle edilmiş paraoksonaz

HDL-K: Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol, apo A1: Apolipoprotein A1



Şekil- 1: Gruplar arasında serum PON, tuzla aktive edilmiş PON (TUZ. PON) ve arilesteraz enzim aktivitelerinin dağılımı

III. 2. Child Evrelemesine Göre Ayrılan Sirozlu Hastalar Arasında Ölçülen Serum Paraoksonaz, Tuzla Aktive Edilmiş Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktiviteleri

Çalışmaya alınan sirozlu hastalar modifiye Child-Pugh skorlama sistemine göre kendi aralarında üç gruba ayrıldı. Child A grubuna göre Child B grubunda serum paraoksonaz (sırasıyla 107 ± 52 Ü/L ve 66 ± 28 Ü/L, $p < 0.05$) enzim aktivitesi ve serum arilesteraz (sırasıyla 40 ± 15 Ü/L ve 22 ± 9 Ü/L, $p < 0.001$) enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük saptandı. Serum arilesteraz enzim aktivitesindeki azalmanın, paraoksonaz enzim aktivitesindeki azalmaya göre daha belirgin olduğu görüldü. Tuzla aktive edilmiş paraoksonaz enzim aktiviteleri arasında iki grup

arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Child A grubuna göre Child C grubunda serum paraoksonaz (sırasıyla 107 ± 52 Ü/L ve 50 ± 31 Ü/L, $p < 0.01$), tuzla aktive edilmiş paraoksonaz (sırasıyla 196 ± 136 Ü/L ve 97 ± 78 Ü/L, $p < 0.05$) ve arilesteraz (sırasıyla 40 ± 15 Ü/L ve 21 ± 21 Ü/L, $p < 0.01$) enzim aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu (Tablo 11).

Tablo-11: Child evrelemesine göre sirozlu hastalarda gruplar arasında ölçülen serum PON, tuzla stimüle edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktiviteleri

Parametre	Child A (n=15)	Child B (n=18)	Child C (n=17)
PON (Ü/L)	107 ± 52	$66 \pm 28^{a*}$	$50 \pm 31^{a**}$
Tuz. PON (Ü/L)	196 ± 136	108 ± 48	$97 \pm 78^{a*}$
Arilesteraz (Ü/L)	40 ± 15	$22 \pm 9^{a***}$	$21 \pm 21^{a**}$

^a: Child A grubu ile karşılaştırma

İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

PON: Paraoksonaz, Tuz. PON: Tuzla stimüle edilmiş paraoksonaz

III. 3. Standart Karaciğer Fonksiyon Testleri ile Serum Paraoksonaz, Tuzla Aktive Edilmiş Paraoksonaz ve Arilesteraz Enzim Aktivitelerinin Karşılaştırılması

Standart karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, albumin ve total bilirubin ile serum bazal PON, tuzla stimüle PON ve arilesteraz enzim aktivitelerinin tanısal doğruluk açısından karşılaştırıldığı ROC analizi Tablo 12' de gösterilmiştir.

Buna göre kronik hepatitli hastalarda ALT için eğri altında kalan alan (0.97, %95 güvenlik aralığında 0.84-0.99) diğer karşılaştırılan tüm testlere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha büyüktü (Tablo 12) ve eğri altında

kalan alan farkı karşılaştırıldığında da diğer tüm parametrelerle arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark mevcuttu (Tablo 13).

Tablo-12: ALT, albumin ve total bilirubinin, serum PON, tuzla stimüle PON ve arilesteraz aktivitelerinin ROC analizi ile değerlendirilmesi

	EAKA (%95 GA)	
	<i>Kronik hepatit</i>	<i>Siroz</i>
ALT	0.97 (0.84-0.99)	0.75 (0.63-0.85)
Albumin	0.74 (0.56-0.87)	0.99 (0.93-1.00)
Total bilirubin	0.62 (0.44-0.78)	0.88 (0.77-0.95)
PON	0.55 (0.37-0.72)	0.84 (0.72-0.92)
Tuz. PON	0.58 (0.40-0.74)	0.69 (0.57-0.80)
Arilesteraz	0.79 (0.62-0.91)	0.91 (0.81-0.96)

EAKA: Eğri altında kalan alan, GA: Güvenlik aralığı, Tuz.PON: Tuzla aktive edilmiş PON

Sirozlu hastalarda serum albümin ve serum arilesteraz enzim aktiviteleri için eğri altında kalan alanları (sırasıyla 0.99, %95 güvenlik aralığında 0.93-1.00 ve 0.91, %95 güvenlik aralığında 0.81-0.96) diğer tüm testlere göre daha fazlaydı (Tablo12). Eğri altında kalan alan farkları incelendiğinde serum albümin ve serum arilesteraz enzim aktivitesi ölçümü birbirine benzerdi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.113$). Ancak serum albümininin eğri altında kalan alan farkı, serum arilesteraz enzim aktivitesi dışında diğer tüm testlerden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazlaydı. Serum arilesteraz enzim aktivitesinin eğri altında kalan alan farkı ise sadece tuzla aktive edilmiş PON aktivitesine göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde ($p<0.05$) daha fazla saptandı (Tablo 14).

Tablo-13: Kronik hepatitli hastalarda ROC analizi ile değerlendirilen parametrelerin eğri altında kalan alan farkları (%95 güvenlik aralığında) ve bunların istatistiksel farkları

	EAKA FARKI	GA (%95)	P
ALT- Alb	0.22	0.06-0.39	0.007
ALT- T.Bil.	0.34	0.16	0.000
ALT- PON	0.41	0.22-0.60	0.000
ALT- Tuz. PON	0.39	0.20-0.57	0.000
ALT- Arilest.	0.17	0.01-0.33	0.033
Arilest.- Alb	0.05	-0.17-0.27	0.645
Arilest.- T.Bil.	0.17	-0.06-0.40	0.147
Arilest.- PON	0.23	0.04-0.43	0.016
Arilest.-Tuz. PON	0.21	0.01-0.40	0.032
Alb- T.Bil.	0.11	-0.12-0.36	0.340
Alb- PON	0.18	-0.05-0.42	0.133
Alb- Tuz.PON	0.16	-0.08-0.40	0.190
T.Bil- PON	0.06	-0.19-.033	0.62
T.Bil- Tuz. PON	0.04	-0.22-0.30	0.775
Tuz. PON- PON	0.02	-0.03-0.08	0.384

EAKA: Eğri altında kalan alan, GA: Güvenlik aralığı, ALT: Alanin aminotransferaz, T.Bil: Total bilirubin, Alb: Albumin, Arilest : Arilesteraz, Tuz. PON: Tuzla aktive edilmiş PON

Tablo-14: Sirozlu hastalarda ROC analizi ile değerlendirilen parametrelerin eğri altında kalan alan farkları (%95 güvenlik aralığında) ve bunların istatistiksel farkları

	EAKA FARKI	GA (%95)	P
Alb- ALT	0.24	0.11-0.37	0.000
Alb- T.Bil.	0.11	0.03-0.19	0.007
Alb- PON	0.15	0.01-0.29	0.026
Alb- Tuz. PON	0.29	0.12-0.46	0.001
Alb – Arilest.	0.08	-0.02-0.19	0.113
Arilest.- ALT	0.15	-0.00-0.30	0.052
Arilest.- T.Bil.	0.02	-0.09- 0.14	0.673
Arilest.- PON	0.06	-0.06-0.20	0.308
Arilest.-Tuz. PON	0.21	0.04-0.37	0.011
T.Bil.- ALT	0.12	-0.01-0.26	0.069
T.Bil.- PON	0.04	-0.10-0.19	0.578
T.Bil.- Tuz. PON	0.18	0.00-0.36	0.046
PON- ALT	0.08	-0.08-0.25	0.325
PON- Tuz. PON	0.14	0.05-0.23	0.002
ALT- Tuz. PON	0.05	-0.13-0.24	0.561

EAKA: Eğri altında kalan alan, GA: Güvenlik aralığı, ALT: Alanin aminotransferaz, T.Bil: Total bilirubin, Alb: Albumin, Arilest : Arilesteraz, Tuz. PON: Tuzla aktive edilmiş PON.

III. 4. Standart Karaciğer Fonksiyon Testleri ile Serum Paraoksonaz, Tuzla Aktive Edilmiş Paraoksonaz ve Arilesteraz Enzim Aktivitelerinin Spesifite ve Sensitiviteleri

Kronik hepatitli hastalarda serum ALT, albümin ve total bilirubin değerleri ile serum PON, tuzla aktive edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktiviteleri düzeyleri ölçümünün sensitivite ve spesifite değerleri Tablo 15' te sunulmuştur.

Tablo-15: Kronik hepatitli hastalarda standart karaciğer fonksiyon testleri ile serum paraoksonaz, tuzla aktive edilmiş paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivite düzey ölçümlerinin spesifite ve sensitivite değerleri

PARAMETRE	SINIR DEĞER	SENSİTİVİTE (%95 GA)	SPESİFİTE (%95 GA)
ALT (n ₁ =25, n ₂ =25)	> 36	96.0 (79.6-99.3)	96.0 (79.6-99.3)
Alb. (n ₁ =22, n ₂ =13)	< = 4.5	54.5 (32.2-75.6)	84.6 (54.5-97.6)
T.Bil (n ₁ =24, n ₂ =15)	> 0.7	54.2 (32.8-74.4)	80.0 (51.9-95.4)
PON (n ₁ =25, n ₂ =25)	< = 209.9	92.0 (73.9-98.8)	24.0 (9.4-45.1)
T.PON(n ₁ =25, n ₂ =25)	< = 302.7	80.0 (59.3-93.1)	36.0 (18.0-57.5)
Arilest.(n ₁ =25, n ₂ =25)	< = 52.7	84.0 (63.9-95.4)	80.0 (59.3-93.1)

n₁= Kronik hepatitli hasta sayısı, n₂= Kontrol grubu sayısı, GA: Güvenlik aralığı, ALT: Alanin aminotransferaz (Ü/L), Alb: Albümin (gr/dL), T.Bil: Total bilirubin (mg/dL), PON: Paraoksonaz (Ü/L), T.PON: Tuzla aktive edilmiş PON (Ü/L), Arilest: Arilesteraz (Ü/L)

Sirozlu hastalarda serum ALT, albümin ve total bilirubin değerleri ile serum PON, tuzla aktive edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktivite düzeyleri ölçümünün sensitivite ve spesifite değerleri Tablo 16' da sunulmuştur.

Tablo-16: Sirozlu hastalarda standart karaciğer fonksiyon testleri ile serum PON, tuzla aktive edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktivite düzeylerinin spesifite ve sensitivite değerleri

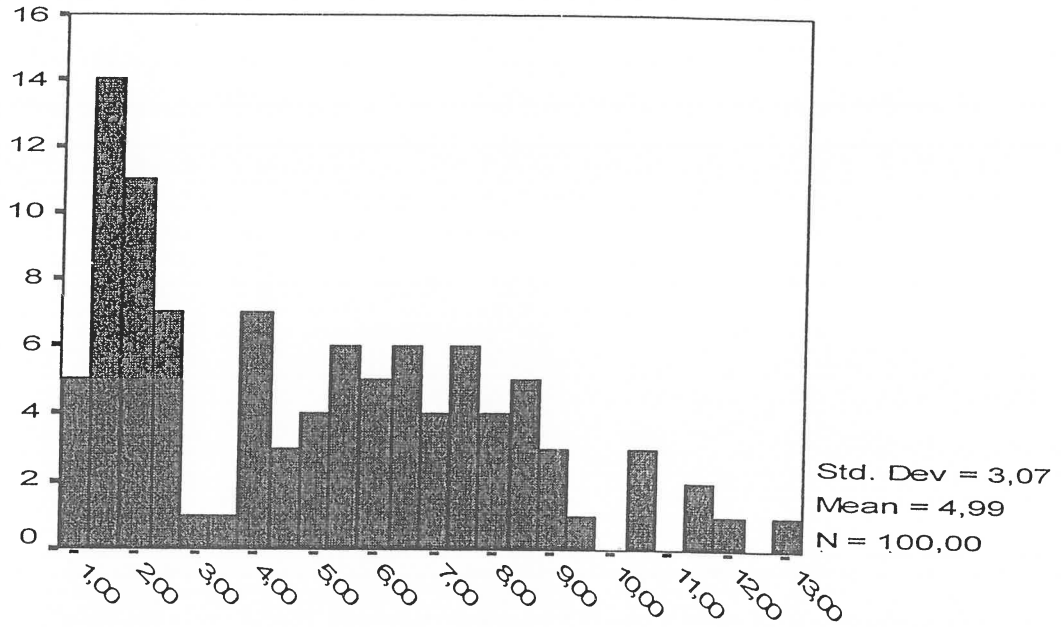
PARAMETRE	SINIR DEĞER	SENSİTİVİTE (%95 GA)	SPESİFİTE (%95 GA)
ALT (n ₁ =50, n ₂ =25)	> 29	68.0 (53.3-80.5)	80.0 (68.8-97.3)
Alb. (n ₁ =50, n ₂ =13)	< = 4.1	94.0 (83.4-98.7)	100.0 (75.1-100.0)
T.Bil (n ₁ =50, n ₂ =15)	> 1.1	72.0 (57.5-83.8)	100.0 (78.0-100.0)
PON (n ₁ =50, n ₂ =25)	< = 70.7	58.0 (43.2-71.8)	92.0 (73.9-98.8)
T.PON(n ₁ =50, n ₂ =25)	< = 188.2	86.0 (73.3-94.2)	44.0 (24.4-65.1)
Arilest.(n ₁ =50, n ₂ =25)	< = 54.3	92.0 (80.7-97.7)	80.0 (59.3-93.1)

n₁= Sirozlu hasta sayısı, n₂= Kontrol grubu sayısı, GA: Güvenlik aralığı, ALT: Alanin aminotransferaz (Ü/L), Alb: Albümin (gr/dl), T.Bil: Total bilirubin (mg/dl), PON: Paraoksonaz (Ü/L), T.PON: Tuzla aktive edilmiş PON (Ü/L), Arilest: Arilesteraz (Ü/L)

III. 5. Paraoksonaz Fenotipinin Saptanması ve Karşılaştırılması

Tuzla aktive edilmiş PON/ arilesteraz aktivitesi oranı kullanılarak elde edilen ve AA (Düşük aktiviteli fenotip), AB (Orta aktiviteli fenotip) ve BB (Yüksek aktiviteli fenotip) olarak ayrılan PON fenotiplerinin çalışmaya alınan siroz, kronik hepatit ve kontrol gruplarını oluşturan tüm katılımcılar arasında trimodal olarak dağıldığı görüldü (Şekil 2). Çalışmaya alınan kronik hepatitli ve sirozlu hastaların tümü hasta grubu olarak alınıp, sağlıklı kontrol grubu ile fenotipik olarak karşılaştırıldı (Tablo 17). PON fenotiplerinin yüzdesel dağılımı

incelendiğinde, hasta grubunun % 34.7' si AA, %53.3' ü AB, %12' si BB fenotipine sahipken kontrol grubunun %48' si AA, %48' si AB ve %4' ü BB fenotipine sahipti. Çalışmaya alınan kontrol ve hasta grubunun tümü incelendiğinde katılımcıların %38' inin AA, %52' sinin AB ve %10' unun BB fenotipine sahip olduğu görüldü (Tablo 18).



Şekil-2: PON fenotipi dağılımı

Tablo-17: Hasta ve kontrol grubunda PON fenotipinin dağılım oranları

FENOTİP	HASTA GRUBU*	KONT. GRUBU**	TÜM GRUP
AA	% 34.7 (n= 26)	% 48 (n= 12)	% 38 (n= 38)
AB	% 53.3 (n= 40)	% 48 (n= 12)	% 52 (n= 52)
BB	% 12 (n= 9)	% 4 (n= 1)	% 10 (n= 10)
Toplam	% 100 (n= 75)	% 100 (n= 25)	% 100 (n= 100)

*: Kronik hepatit ve sirozlu hasta grubu, **: Sağlıklı Kontrol grubu

Fenotipik olarak kontrol ve hasta grupları arasında Pearson Ki-kare testi ile istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı saptandı (p=0.336).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Paraoksonaz enziminin LDL ve HDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin gösterilmesi ile son yıllarda çalışmalar genellikle enzimin antiaterojenik etkisi ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi üzerine olmuştur (26,49-58). Aynı zamanda üremik hastalarda aterosklerotik kalp hastalıklarının sık görülmesi sebebiyle kronik renal yetmezlik ile serum PON1 arasındaki ilişki de incelenmiştir. Bu hastalarda serum PON1 ve arilesteraz enzim aktivitelerinin sağlıklı kişilere göre düşük olduğu ve bunun da ateroskleroz için bir risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (62-65). Bununla birlikte serum paraoksonaz enziminin başlıca karaciğerde sentez edilip, dolaşıma verildiğinin gösterilmesi ile kronik karaciğer hastalıkları ve enzim aktivitesi arasındaki ilişkiye ait çalışmalar artmıştır. Ancak bu konudaki bilgiler yetersizdir.

Primo-Parmo ve ark. (25) farelerde revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu tekniklerini kullanarak yaptıkları çalışmada PON1 mRNA' nın karaciğer, akciğer, beyin, ince barsak ve böbrekte bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. Northern blot analizini kullanan Hassett ve ark. (4) çeşitli tavşan ve insan dokularında saptanabilir PON1 mRNA' nın sadece karaciğerde olduğunu göstermişlerdir. Gil ve ark. (68) sıçanlarda paraoksonaz enziminin endoplazmik retikulumdan köken alan veziküllerle ilişkili olan, mikrozomal bir enzim olduğunu bulmuşlardır. Ozols (69) ise tavşan karaciğer mikrozomlarının bir paraoksonaz analogu içerdiğini bildirmiştir. İnsan karaciğer mikrozomlarında, EDTA, magnezyum, kobalt, baryum, bakır, civa gibi metaller, p-hidroksimerküribenzoat (p-OH-MB) ve fenil merkürük asetat gibi maddelerin etkilerini inceleyen bir çalışmada, bu maddelerin paraoksonaz aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur (70). Bundan sonra yapılan çalışmalarda sıçan karaciğer ve serum paraoksonazları arasında yüksek oranda bir benzerlik olduğu, sıçan karaciğerinden elde edilen paraoksonazın insan ve tavşan serum paraoksonazlarının N-terminal ve internal aminoasit sekansları ile büyük bir benzerlik gösterdiği bulunmuştur (71). Gonzalvo ve ark. (29) insan karaciğer paraoksonaz (PON1) enziminin

asıl olarak mikrozomal bir enzim olduğunu ve serum ile karaciğer PON1 enzimlerinin benzer biyokimyasal özellikler gösteren, birbirine eş enzimler olduklarını göstermişlerdir.

Paraoksonaz enzimin bir kısmı sekrete edilir ve HDL' ye bağlı olarak dolaşımda bulunurken, diğer bir kısmı karaciğerde depolanır (29,72). PON1' in karaciğerde oynadığı fizyolojik rol kesin olarak bilinmemekle birlikte bazı çalışmalar enzimin oksidatif strese karşı karaciğerin korunmasını sağladığını düşündürmektedir (73). Oksidatif stres, prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması ile ortaya çıkan ve hemen hemen tüm patolojik durumlarla ilgisi olan reaksiyonlar serisidir. Çoğu hücrede aerobik metabolizma ile normal olarak oksijenin son derece toksik olan metabolitleri üretilir. Serbest oksijen radikalleri denilen bu ürünler patolojik olayların çoğunda sıklıkla artar. Bu oksidan değişim, endojen antioksidan mekanizma kapasitesini aştığında doku hasarı meydana gelir. Serbest oksijen radikallerinin bu etkilerine karşı savunmayı sağlayan antioksidanlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimatik olanlar ve vitamin C, vitamin E ile selenyum gibi eser elementlerden oluşan enzimatik olmayanlar olarak ikiye ayrılırlar. Paraoksonaz, lipid hidroperoksitlerine karşı enzimatik savunma yapan antioksidanlar arasında yer alır (74-75). HCV' nin yapısal olan ve olmayan proteinlerinin, immün yanıt yokluğunda oksidatif stres, steatoz ve hepatosellüler kansere yol açabileceği bildirilmiştir (76). Moriya ve ark. (77) HCV "core" proteininin inflamasyon olmadan karaciğerde reaktif oksijen ürünlerini indüklediğini, bunun da kronik HCV' li hastalardaki gibi fare modellerinde hepatosellüler kanser gelişiminin bir kısmından sorumlu olabileceğini göstermişlerdir. Jain ve ark. (78) ise oksidatif stresin hepatit C infeksiyonlarının önemli bir ögesi olduğunu, antioksidan tedavinin kronik HCV' li hastalarda siroza ilerleyen süreci yavaşlatabileceğini bulmuşlardır. Oksidatif stresin sensitif bir göstergesi olan "ubiqinone" un "ubiqinol" e oranının kullanıldığı bir çalışmada Yamamoto ve ark. (79) "ubiqinone-10" yüzdesinin kronik hepatitli, sirozlu ve hepatosellüler kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığını, aynı zamanda plazma

askorbat seviyelerinin de yine kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azaldığını göstermişleridir. Bu sonuçlar kronik hepatitli, sirozlu ve hepatosellüler kanserli hastalarda oksidatif stresi gösteren bir kanıt olmuştur.

Çalışmamızda sirozlu hastalarda serum bazal PON ve arilesteraz enzim aktiviteleri (her ikisi için $p < 0.001$), kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Kronik hepatitli hastalar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece serum arilesteraz enzim aktivitesinin ($p < 0.01$) anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Sirozlu hastalarla kronik hepatitli hastalar karşılaştırıldığında ise sirozlu hasta grubunda serum bazal PON ($p < 0.001$) ve arilesteraz ($p < 0.01$) enzim aktiviteleri anlamlı olarak daha düşüktü. Bu sonuçlar kronik karaciğer hastalıklarında serum PON ve arilesteraz enzim aktivitelerinin azaldığını ve karaciğer hasarının derecesi ile enzim aktivitelerindeki azalma arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Ferre ve ark.'nın (73) karbontetraklorür (CCl_4) vererek deneysel olarak siroz geliştirdikleri sıçanlarda mikrozomal PON1 aktivitesinin azaldığını göstermesi bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklemiştir. Yine aynı çalışmada, CCl_4 ile siroz gelişmiş sıçanlara antioksidan olarak çinko verildiğinde, PON1 aktivitesinde parsiyel iyileşme gözlenmiş ve hepatik PON1' in karaciğerde antioksidan savunma sisteminde rolü olabileceği ileri sürülmüştür.

Çalışmamızda karaciğer hasarının derecesi ile serum PON ve arilesteraz enzim aktivitelerinin azalması arasındaki ilişkiyi gösteren bir diğer bulgu ise sirozlu hastaların modifiye "Child-Pugh" skora göre kendi aralarında üçe ayrılıp incelenmesi ile ortaya çıktı. Child B grubu sirozlu hastalarda Child A grubuna göre serum PON ($p < 0.05$) ve arilesteraz ($p < 0.001$) enzim aktiviteleri anlamlı olarak daha düşük bulunurken iki grup arasında tuzla aktive edilmiş PON aktiviteleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Child C grubu sirozlu hastalarda Child A grubuna göre serum PON ($p < 0.01$), tuzla aktive edilmiş PON ($p < 0.05$) ve arilesteraz ($p < 0.01$) enzim aktiviteleri anlamlı olarak daha düşük bulundu. Child B ve C grupları arasında her üç enzim aktivitesi arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu sonuçlar da gösterdi ki karaciğer hasarının derecesi arttıkça serum PON ve özellikle de arilesteraz enzim aktivitesi azalmaktadır.

PON, HDL' nin yapısında bulunan ve apolipoprotein A1 (apo A1) aracılığı ile taşınan bir enzimdir (31,32). Bu nedenle PON ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki azalmaya HDL-kolesterol ve apo A1 düzeylerindeki düşüklüğün sebep olabileceği ileri sürülmüştür. Schiavon ve ark. (80) hemodiyaliz hastalarında paraoksonaz aktivitesinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük olduğunu ve HDL-kolesterol ve apo A1 seviyeleri ile paraoksonaz aktivitesi arasında korelasyon olmadığını ileri sürmüşlerdir. Serum PON ve arilesteraz enzim aktiviteleriyle, HDL-kolesterol seviyesi arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmada Juretic ve ark. (65) üremik hastalarda HDL-kolesterol düzeyinin, PON ve arilesteraz aktivitelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, PON/HDL-kolesterol oranının gruplar arasında farklı olmadığını, arilesteraz/HDL-kolesterol oranının ise üremik hastalarda anlamlı olarak daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar düşük HDL-kolesterol düzeyinin, PON aktivitesindeki azalmada rolü olduğunu ancak arilesteraz aktivitesindeki azalmada etkisi olmadığını göstermiştir. Dolayısıyla çalışmamızda HDL-kolesterol ve apo A1 düzeyleri ile serum PON ve arilesteraz enzim aktiviteleri arasındaki ilişkiyi de inceledik. Kronik hepatit ve kontrol grubu arasında serum HDL-kolesterol ve apo A1 seviyeleri açısından fark yokken sirozlu hastalarda kontrol grubuna göre HDL-kolesterol ($p<0.001$) ve apo A1 ($p<0.001$) düzeyleri anlamlı olarak daha düşüktü. PON/HDL-kolesterol ve PON/apo A1 oranları bakımından gruplar incelendiğinde kontrol, kronik hepatit ve siroz grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi. Bu sonuçlar, serum HDL-kolesterol ve apo A1 düzeyindeki azalmanın, sirozlu hasta grubunda saptanan serum PON aktivitesindeki azalmaya yol açmış olabileceği şeklinde yorumlandı. Arilesteraz/HDL-kolesterol ve arilesteraz/apo A1 oranları incelendiğinde ise sirozlu hastalarda kontrol grubuna göre bu oranların anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.05$). Bu sonuçlar da sirozlu hastalarda saptanan düşük serum arilesteraz enzim aktivitesinin, yalnızca HDL-kolesterol ve apo A1 seviyelerindeki azalmadan olamayacağı şeklinde yorumlandı. Çalışmamızın bu sonuçları Juretic ve ark.' nın (65) yaptığı çalışmanın sonuçları ile uyumluydu.

Paraoksonaz enzimi genetik olarak, PON1₁₉₂ ve PON1₅₅ olmak üzere iki ayrı polimorfik alana sahiptir. Bu polimorfik alanlarda meydana gelen aminoasit yer değişiklikleri farklı allellere ve enzim aktivitesinde değişikliklere sebep olabilir (26-28). Koroner arter hastalığı ile serum PON1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çok çalışmada PON genindeki değişimlerin, enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğu ve kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür (26,53,54,56). Paragh ve ark. (81), hemodiyaliz hastalarındaki PON fenotipinin kontrol grubuna göre farklılık göstermediğini ve bu nedenle PON aktivitesindeki düşüklüğün fenotipik farklılıktan ileri gelmediğini göstermişlerdir. Üremik hastalarda saptanan düşük PON aktivitesinden, PON genotipi veya fenotipindeki farklılığın rolü olmadığını ileri süren başka çalışmalar da vardır (62,64). Bu nedenle çalışmamızda karaciğer fonksiyon bozukluğuna sekonder serum PON aktivitesindeki azalma üzerinde genetik değişkenliğin etkisinin olup olmadığını da inceledik. Çalışmaya alınan tüm katılımcıların PON fenotipi, tuzla aktive edilmiş PON/arilestrez oranı kullanılarak saptandı (40). PON fenotipinin çalışmaya alınan kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarının tümünde trimodal olarak dağıldığı görüldü (Şekil 2). Kronik hepatit ve siroz grubunun tümü hasta grubu olarak alınıp kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fenotipik açıdan aralarında fark olmadığı görüldü. Böylece çalışmamıza alınan kronik hepatitli ve sirozlu hastalarda saptanan PON aktivitesindeki azalma üzerinde, PON fenotipinin etkisinin olmadığı gösterildi. Ferre ve ark. (5) da kronik kronik karaciğer hastalarındaki serum PON1 aktivitesindeki azalmanın PON genotipi ve allel sıklığından etkilenmediğini göstermişlerdir. Bu çalışma da bizim sonuçlarımızı desteklemiştir.

Kronik karaciğer hastalıkları, hastalığın değişik basamaklarında hepatosellüler inflamasyon, nekroz ve fibrozisin görüldüğü, yavaş seyirli, progresif hastalıklardır. Plazma karaciğer fonksiyon testlerindeki değişiklikler her zaman hastalığın şiddetini göstermez ve genellikle belirgin hastalık bulguları ortaya çıkıncaya kadar laboratuvar değerleri normal sınırlarda kalır. Karaciğer hastalığından şüphelenildiğinde halen kullanılan en güvenilir test karaciğer biyopsisi ve dokunun histopatolojik incelenmesidir. Günümüzde

yaygın olarak kullanılan standart karaciğer fonksiyon testlerinin sensitivite ve spesifite yetersizdir (2,3,6-11,14,15). Bu nedenle karaciğer hastalığını değerlendirmede mevcut karaciğer fonksiyon testlerinin spesifitesi ve sensitivitesini artıracak yeni testlere ihtiyaç vardır. Ferre ve ark. (5) kronik karaciğer hastalarında serum PON1 aktivitesinin ölçümünün, standart karaciğer fonksiyon testlerine eklenmesinin bu testlerin spesifitesini değiştirmeden sensitivitesini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Yine aynı çalışmacılar serum PON1 ölçümünün basit, hızlı, ucuz, güvenilir ve kolaylıkla otoanalizörle ölçüme uyum sağlayabileceğini ve kronik karaciğer hastalığından şüphelenildiğinde standart karaciğer fonksiyon testlerine önemli katkılarda bulunabileceğini belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda standart karaciğer fonksiyon testlerinden serum ALT, total bilirubin ve albümin düzeyleri ile bazal PON, tuzla aktive edilmiş PON ve arilesteraz enzim aktivitelerini kronik karaciğer hastalığının değerlendirilmesi yönünden karşılaştırdık. ROC analizi kullanılarak yapılan değerlendirmede kronik hepatitli hastalarda ALT için eğri altında kalan alan diğer tüm testlere göre daha fazlaydı ve daha yüksek anlamlılığa sahipti. Sirozlu hastalarda ise albümin düzeyi ölçümü ve arilesteraz enzim aktivitesi için eğri altında kalan alan benzerdi ve her ikisi de diğer testlere göre daha yüksek anlamlılığa sahipti. Ayrıca tüm testler sensitivite ve spesifite yönünden de değerlendirildi. Kronik hepatitli hastaları değerlendirmede en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip test ALT olarak belirlendi. Bu hasta grubunda serum PON aktivitesinin sensitivitesi yüksek iken spesifitesi düşük olarak bulundu. Serum arilesteraz aktivitesi ölçümünün sensitivitesi ve spesifitesinin ALT' ye göre düşük olmakla beraber yeterli olduğu bulundu. Sirozlu hastaları değerlendirmede en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip testin serum albümin düzeyi ölçümü olduğu, aynı hasta grubunda serum arilesteraz enzim aktivitesi ölçümünün de yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu görüldü. Serum PON aktivitesi ölçümünün ise yüksek spesifite ve düşük sensitivite gösterdiği bulundu. Ferre ve ark.' nın (5) yaptığı çalışmada serum arilesteraz aktivitesi değerlendirilmemekle beraber, serum bazal PON1 ölçümünün kronik hepatitli hastalarda ALT' ye eş, sirozlu hastalarda ise diğer tüm testlere göre daha

yüksek oranda tanı doğruluğuna sahip olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları ise kronik hepatitli hastalarda bazal PON ölçümünün ALT kadar fazla tanısal doğruluğa sahip olmadığını, sirozlu hastalarda ise albümin ve arilesteraz aktivitesi ölçümünün tanısal doğruluk açısından ön plana çıktığını göstermektedir. Arilesteraz aktivitesi, enzimin kitlesi bakımından fikir verirken PON aktivitesi, enzimin paraoksonu hidroliz etme yeteneği hakkında bilgi verir (82). Bu bilgiler eşliğinde çalışmamızda da enzimin kitlesini gösteren serum arilesteraz enzim aktivitesi ölçümü kronik karaciğer hastalığını saptamada ve hasarın derecesini göstermede bazal PON ve tuzla aktive edilmiş PON aktivitesi ölçümüne göre daha fazla belirleyici bulundu.

Sonuç olarak, kronik karaciğer hastalarında serum PON ve arilesteraz enzim aktivitelerinin azalmış olduğu ve karaciğer hasarının derecesi ile enzim aktivitelerindeki azalmanın paralellik gösterdiği bulunmuştur. Bununla birlikte düşük HDL-kolesterol ve apo A1 düzeylerinin PON aktivitesindeki azalmada etkili olduğu, arilesteraz enzim aktivitesi düzeylerini etkilemediği görüşüne varılmıştır. Ayrıca PON fenotipinin, azalmış PON aktivitesi üzerine etki etmediği gösterilmiştir. Kronik karaciğer hastalığını saptamada ve hasarın derecesini göstermede serum PON ve özellikle de arilesteraz aktivitesinin ölçümünün standart karaciğer fonksiyon testlerine anlamlı katkılarda bulunabileceği ve ileride günlük kullanıma girebileceği düşünülmüştür. Ancak bunun başka çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Ockner RK. Chronic Hepatitis. In: Gill GN, Kokko JP, Mandell GL, Ockner RK, Smith TW (eds). Cecil Textbook of Medicine. 20th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1996. pp 776-80.
- 2- Davern TJ and Scharschmidt BF. Biochemical Liver Tests. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 7th edition. Philadelphia: Saunders; 2002. pp 1227-39.
- 3- Ökten A. Hepatobiliyer sistem hastalıklarında tanı yöntemleri. Ökten A. (ed). Gastroenterohepatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. 315-27.
- 4- Hassett C, Richter R, Humbert R, Chapline C, Crabb JW, Omiecinski CJ, Furlon CE. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: The mature protein retains its signal sequence. Biochemistry, 30: 10141-10149, 1991.
- 5- Ferre N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, Joven J. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. Clin Chem, 48 (2): 261-68, 2002.
- 6- Maddrey WC. Chronic hepatitis. In: Zakim & Boyer (ed). Hepatology. 2th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1990. pp 1025-61.
- 7- Dolar E. Kronik hepatitler. Klinik Karaciğer Hastalıkları. Bursa: Nobel & Güneş Tıp Kitabevi; 2002. 325-39.
- 8- Çakaloğlu Y. Kronik hepatit. Ökten A. (ed). Gastroenterohepatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. 387-400.
- 9- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Kronik Hepatit. Çevikbaş U. (çeviri ed). Temel Patoloji. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1995. 539-41.
- 10- Rogers SA. Acute and chronic viral hepatitis. In: Rakel RE and Bope ET. (eds). Conn' s Current Therapy. Philadelphia: Saunders; 2003. pp 567- 74.
- 11- Akarca US. Kronik Hepatitler. İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G. (eds). Temel İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi ; 1996. 1125- 32.

- 12- Hoofnagle JH. Hepatitis B. In: Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE (eds). Bockus Gastroenterology. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1995. pp 2062-81.
- 13- Davis GL, Lau JYN. Hepatitis C. In: Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE (eds). Bockus Gastroenterology. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1995. pp 2082-2114.
- 14- Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW. Formulation and application of a numerical scoring system for assesing histological activity in asemptomatic chronic active hepatitis. Hepatology; 15 (3): 311-9, 1981.
- 15- Desmet VJ. Milestones in liver disease, J Hepatol; 38: 382-86, 2003.
- 16- Tankurt E. Karaciğer Sirozu ve Komplikasyonları. İliçin G, Ünal S, Biberöğlü K, Akalın S, Süleymanlar G. (eds). Temel İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi ; 1996. 1144- 53.
- 17- Freidman SL. Chirrhosis of the liver and its major sequelae. In: Gill GN, Kokko JP, Mandell GL, Ockner RK, Smith TW (eds). Cecil Textbook of Medicine. 20th edition. Philedelphia: WB Saunders Company; 1996. pp 788-96.
- 18- Dolar E. Karaciğer Sirozu. Klinik Karaciğer Hastalıkları. Bursa: Nobel & Güneş Tıp Kitabevi; 2002. 343-60
- 19- Ökten A. Karaciğer Sirozu. Ökten A. (ed). Gastroenterohepatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. 449-67.
- 20- Schiano TD & Bodenheimer HC. Complications of chronic liver disease. In: Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH (eds). Current Diagnosis & Treatment in Gastroenterology. 2th edition. Philedelphia: McGraw-Hill Companies; 2003. pp 639-63.
- 21- Black M, Mlecko M. Cirrhosis. In: Rakel RE and Bope ET (eds). Conn' s Current Therapy. Philedelphia: Saunders; 2003. pp 524-34.
- 22- La Du BN. Human serum paraoxonase /arylesterase. In: Kalow W, ed. Pharmacogenetics of drug metabolism. New York: Pergamon Press, 1992: 51-91.

- 23- Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmac*, 31 (3): 329-336, 1998.
- 24- Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 3: 73-6, 1993.
- 25- Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Telber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*, 33; 498-507, 1996.
- 26- Mackness B, Durrington PN, Mackness M. Polymorphisms of paraoxonase genes and low-density lipoprotein lipid peroxidation. *Lancet*, 353; 468-9, 1999.
- 27- Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/ arylesterase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92; 7187-91, 1995.
- 28- Blatter- Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Forguel P. Paraoxonase polymorphism Met- Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. *J Clin Invest*, 99: 62-6, 1997.
- 29- Gonzalvo MC, Gil F, Hernandez AF, Rodrigo L, Villanueva E, Pla A. Human liver paraoxonase (PON1): subcellular distribution and characterization. *J Biochem Mol Toxicol*, 12: 61-9, 1998.
- 30- Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exper Gerontolgy*, 39 (1): 59-66, 2004.
- 31- Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45: identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem*. 211: 871-79, 1993.
- 32- La Du BN, Novais J. Human serum organophosphatase: biochemical characteristics and polymorphic inheritance. In: Reiner E, Aldridge WN, Hoskins FCG, eds. *Enzymes Hydrolysing Organophosphorus Compounds*. Chichester, UK: Ellis-Harwood; 1989:41-52.

- 33- 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*, 52: 598-608, 1993.
- 34- Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/ arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet*, 35(6): 1126-1138, 1983.
- 35- Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (EC 3.1.1.2) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *J Clin Biochem*, 30: 391-5, 1992.
- 36- Rodrigo L, Gil F, Hernandez AF, Pla A. Identification of two rat liver proteins with paraoxonase activity: Biochemical evidence for the identity of paraoxonase and arylesterase. *Chem Biol Interact*, 119: 263-75, 1999.
- 37- Ferre N, Cordi J, Fernandez J, Arija V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnes E, Vilella E, Tous M, Joven J. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem*, 49: 1491-1497, 2003.
- 38- Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, Schellenberg GD, Heagerty PJ, Hatsukami TS, Furlong CE. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22 (8): 1329, 2002.
- 39- Playfer JR, Eze LC, Bullen MF and Evns DAP. Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. *J Med Genet*, 13: 337-342, 1976.
- 40- Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism : identification of phenotypes by their response salts. *Am J Hun Genet*, 35: 214-27, 1983.
- 41- Nevin DN, Zambon A, Furlong CE, Richter RJ, Humbert R, Hokansn JE, Brunzell JD. Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 16(10): 1243-1249, 1996.
- 42- La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact*, 119-120: 379-388, 1999.

- 43- Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castelanni LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*, 394: 284-287, 1998.
- 44- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21: 473-480, 2001.
- 45- Mosca L, Rubenfire M, Tarshis T, Tsai A, Pearson T. Clinical predictors of oxidized low-density lipoprotein in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 80: 825-830, 1997.
- 46- Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Oxidative stress increases the expression of the CD36 scavenger receptor and the cellular uptake of oxidized low-density lipoprotein in macrophages from atherosclerotic mice: protective role of antioxidants and of paraoxonase. *Atherosclerosis*, 161 (2): 307-16, 2002.
- 47- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 101(8): 1581-1590, 1998.
- 48- Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Eroglu J, Hsu C, Dunlop C, La Du BN. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase /paraoxonase activities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18: 1617- 1624, 1998.
- 49- Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med*, 81: 766-79, 2003.
- 50- Mackness MI, Durrington PN, Ayub A, Mackness B. Low serum paraoxonase: a risk factor for atherosclerotic disease? *Chem Biol Interact*, 119-120: 389-97, 1999.
- 51- Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI. Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype ? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21: 1451-57, 2001.

- 52- Kujiraoka T, Oka T, Ishihara M, Egashira T, Fujioka T, Saito E, Saito S, Miller NE, Hattori H. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human serum paraoxonase concentration. *J Lipid Research*, 41: 1358-63, 2000.
- 53- Serrato M and Marian AJ. A variant of paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest*, 96: 3005-8, 1995.
- 54- Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17: 1067-73, 1997.
- 55- Aynacioğlu AŞ and Kepekçi Y. The human paraoxonase Gln-Arg 192 (Q/R) polymorphism in Turkish patients with coronary artery disease. *Inter J Cardiol*, 74 (1): 33-37, 2000.
- 56- Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D, Rosenblat M. Human serum paraoxonase (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation*, 101: 2510-17, 2000.
- 57- James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 101: 2252- 57, 2000.
- 58- Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19: 330-35, 1999.
- 59- Mackness MI. A- esterases: enzymes looking for a role? *Biochem Pharmacol*, 38: 385-390, 1989.
- 60- Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, Masia R, Marrugat J. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrin Metabol*, 88 (11): 5422-26, 2003.
- 61- Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin- dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, 86 (2-3): 193-99, 1991.

- 62- Hasselwander O, McMaster D, Fogaty DG, Maxwell AP, Nicholls DP, Young IS. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem*, 44 (1): 179-181, 1998.
- 63- Ak G, Özgönül M, Sözmen EY, Aslan SL, Sözmen B. Renal cortical thickness and PON1 activity both decrease in chronic renal failure. *J Nephrol*, 15: 144-49, 2002.
- 64- Shehiro T, Ikeda Y, Shiinoki T, Inoue M, Kumon Y, Ithara T, Hashimoto K. Serum paraoxonase (PON1) concentration in patients undergoing hemodialysis. *J Atheroscler Thromb*, 9 (3): 133-38, 2002.
- 65- Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients; cohort study. *Croat Med J*, 42: 146-50, 2001.
- 66- Reiner E, Simeon-Rudolf V, Skrinjaric –Spoljar M. Catalytic properties and distribution profiles of paraoxonase and cholinesterase phenotype in human sera. *Toxicology Letters*, 82/83: 447-52, 1995.
- 67- Karakaya A, Ibiş S, Kural T, Köse SK, Karakaya AS. Serum paraoxonase activity and phenotype distribution in Turkish subjects with coronary heart disease and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Chem Biol Interact*, 118 (3): 193-200, 1999.
- 68- Gil F, Pla A, Gonzalvo MC, Hernandez AF, Villanueva E. Partial purification of paraoxonase from rat liver. *Chem Biol Inter*, 87: 69-75, 1993.
- 69- Ozols J. Isolation and complete covalent structure of liver microsomal paraoxonase. *Biochem J*, 338: 265-72, 1999.
- 70- Gonzalvo MC, Gil F, Hernandez AF, Villanueva E, Pla A. Inhibition of paraoxonase activity in human liver microsomes by exposure to EDTA, metals and mercurials. *Chem Biol Inter*, 105: 169-79, 1997.
- 71- Rodrigo L, Gil F, Hernandez AF, Marina A, Vazquez J, Pla A. Purification and characterization of paraoxon hydrolase from rat liver. *Biochem J*, 321: 595-601, 1997.
- 72- Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/ paraoxonase ratio. *J Clin Invest*, 99: 2005-19, 1997.

- 73- Ferre N, Camps J, Cabre M, Paul A, Joven J. Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism*, 50 (9): 997-1000, 2001.
- 74- Reilly P, Schiller H, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surgery*, 161: 488-503, 1991.
- 75- Gali F, Canestari F, Buoncristiani U. Biological effects of oxidant stress in hemodialysis: The possible roles of vitamin E. *Blood Purif*, 17: 79-94, 1999.
- 76- Lai MMC. Hepatitis C proteins: direct link to hepatic oxidative stress, steatosis, carcinogenesis and more. *Gastroenterology*, 122 (2): 568-71, 2002.
- 77- Moriya K, Nakagawa K, Santa T, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Miyazawa T, Ishibashi K, Horie T, Imai K, Todoroki T, Kimura S, Koike K. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Research* 61 (11): 4365-70, 2001.
- 78- Jain S, Pemberton PW, Smith A, McMahon RFT, Burrows PC, Aboutwerat A, Warnes TW. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol*, 36: 805-11, 2002.
- 79- Yamamoto Y, Yamashita S, Fujisawa A, Kokura S, Yoshikawa T. Oxidative stress in patients with hepatitis, cirrhosis, and hepatoma evaluated by plasma antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun*, 247 (1): 166-70, 1998.
- 80- Schiavon R, De Fanti E, Giavarina D, Biasioli S, Cavalcanti G, Guidi G. Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta*, 247: 71-80, 1996.
- 81- Paragh G, Asztalos L, Seres I, Balogh Z, Lócsey L, Karpati I, Matyus J, Katona E, Harangi M, Kakuk G. Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients. *Nephron*, 83: 1209-14, 1997.
- 82- Cao H, Girard-Globa A, Berthenze F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards

paraoxon and unaffected by the Q→R genetic polymorphism. *J Lipid Resaerch*, 40: 133-39, 1999.

EKLER

1. Etik Kurul onay yazısı



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

Sayı : B.30.2.ULU.0.01.00.01.02.020/2519

BURSA

Konu : Etik Kurul Kararı.

19 Mart 2004

Sayın
Prof.Dr.Faruk MEMİK
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Gastroenteroloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi

Fakültemiz Etik Kurulunun 10 Mart 2004 tarih ve 2004-6/1 nolu kararı ile usul ve esas yönünden uygun görülen "Kronik Karaciğer Hastalıkları ile Serum Paraoksonaz Aktivitesi Arasındaki İlişkinin Araştırılması" isimli çalışma Dekanlığımızca da uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Müfit PARLAK
D e k a n

EK:

- Etik Kurul Kararı (2 adet)
- Bilgilendirilmiş Olur Formu (1 adet)


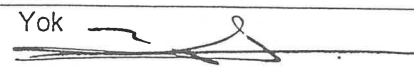
T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Oturum Tarihi: 10.03.2004
Oturum Sayısı: 2004-6

Karar 1: Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Faruk Memik tarafından yürütülecek olan **"Kronik Karaciğer Hastalıkları İle Serum Paraoksonaz Aktivitesi Arasındaki İlişkinin Araştırılması"** isimli çalışma ile ilgili olarak:

- a) Bu çalışmada, kronik hepatit ve karaciğer sirozu olan olgularla sağlıklı bireylerin serum paraoksonaz aktiviteleri arasındaki farklar ve karaciğer hastalığının şiddeti ile enzim aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.
- b) Dosyada kabul edilebilir bir araştırma protokolu bulunmaktadır.
- c) Dosyada kabul edilebilir bir "Bilgilendirilmiş Olur Formu" bulunmaktadır.
- d) Dekanlık tarafından uygun bulunduğu takdirde, çalışmanın yürürlüğe konabileceğine usul ve esas yönünden Etik Kurulumuzca müsaade edilmiştir.
- e) Etik Kurul Kararının bir nüshası, Dekanlıktaki Etik kurul dosyasına konmalı, Dekanlıkça uygun görülüyor ise bir nüshası da kendilerine tebliğ edilmelidir.
- f) Etik Kurul tarafından onaylanmış (Etik Kurul kaşesi bulunan) Bilgilendirilmiş Olur Form'unun çalışmada kullanılmasına,
- g) Prof.Dr.Faruk Memik'e Dekanlık onayından sonra çalışmanın yürürlüğe konabileceğinin bildirilmesine oybirliği ile karar verildi.

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı, Adı Soyadı,	Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Çalışma ile ilgisi (var/yok)	İmza
Prof. Dr. Berin ÖZCAN	Başkan	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yok	
Prof. Dr. Turgut ÖZEKE	Başkan Yardımcısı	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yok	
Prof. Dr. Ayşegül DEMİRHAN	Üye	Deontoloji	Yok	
Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYSAL	Üye	Farmakoloji	Yok	
Doç. Dr. Selim Giray NAK	Raportör	İç Hastalıkları (Gastroenteroloji)	Yok	İzinli
Doç. Dr. Sema ÖZUYSAL	Üye	Patoloji	Yok	
Doç. Dr. Mine Sibel GÜRÜN	Üye	Farmakoloji	Yok	
Doç. Dr. Melahat DIRİCAN	Üye	Biyokimya	Yok	Çalışmada bulunduğu için çalışma hakkında görüş bildirmemiştir.
Doç. Dr. İrfan KIRIŞTIOĞLU	Üye	Çocuk Cerrahisi	Yok	
Avukat Murat GÜNEY	Üye	Hukuk Müşaviri	Yok	

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen uzmanlık tezi danışmanlarım Prof. Dr. Faruk MEMİK ve Prof. Dr. Enver DOLAR' a, Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Melahat DİRİCAN' a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kamil DİLEK' e, uzmanlık eğitimim boyunca bana yol gösteren ve emek veren diğer tüm hocalarıma ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı' nda beraber görev yaptığım tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında beni sürekli destekleyen Uz. Dr. Murat KIYICI' ya ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarıyla katkı sağlayan Biyokimya Anabilim Dalı' nda araştırma görevlisi Dr. Selda ERDİNÇ' e ayrıca teşekkür ederim.

Beni yetiştiren aileme, en büyük destekçim ve hayat arkadaşım eşime sonsuz şükran duygularıyla.....

ÖZGEÇMİŞ

06. 05. 1973' de Akşehir' de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Akşehir' de tamamladım. Lise öğrenimimi Kabataş Erkek Lisesi ve Akşehir Lisesi' nde bitirdikten sonra 1990 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi' nde tıp eğitimime başladım. 1996 yılında mezun olduktan sonra 1997- 2000 yılları arasında sırasıyla Batman İli, Kozluk İlçesi, Bekirhan Beldesi ve Manisa Merkez 9 Nolu Sağlık Ocakları ile Manisa Moris Şinasi Çocuk Hastalıkları Hastanesi' nde toplam 3 yıl pratisyen hekimlik yaptım. Eylül 1999' daki Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı' na araştırma görevlisi olarak girdim. Aynı bölümde çalışmaktayken Nisan 2000' de tekrar Tıpta Uzmanlık Sınavı' na girdim ve buradaki görevimi bırakarak Haziran 2000' de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı' nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.

