

Bazı ilaçların paraoksonaz enziminin laktonaz aktivitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması

Merve ARSLAN*

Dursunbey Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Böl., Dursunbey, Balıkesir.

Geliş Tarihi (Received Date): 21.11.2025

Kabul Tarihi (Accepted Date): 07.12.2025

Öz

Paraoksonaz 1 (PON1), detoksifikasyon ve antioksidan özellikleri ile birçok metabolik süreçlerde önemli fonksiyonlara sahip PON ailesinin bir üyesidir. Ayrıca PON1, laktonaz aktivitesi aracılığıyla bakteriler tarafından üretilen lakton yapısındaki sinyal moleküllerini hidrolize ederek onların quorum sensing (QS) mekanizmalarının inhibisyonuna sebep olur. Bu mekanizmaların en kritik çıktılarından biri, klinik açıdan ciddi bir problem olan biyofilm oluşumudur. Bu nedenle PON1'in laktonaz aktivitesi, enzimi potansiyel bir anti-biyofilm ajanı haline getirmektedir. Bu çalışmada, ilk kez tarafımızca sentezlenen Sepharose 4B-L-tirozin-1-naftilamin jeli kullanılarak insan serumundan hPON1 enzimi hidrofobik etkileşim kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Enzimin laktonaz aktivitesi üzerine Rifamisin ve Teikoplanin etken maddelerinin inhibisyon etkileri in vitro olarak araştırılmış ve her iki antibiyotiğin de enzimi belirli düzeyde inhibe ettiği görülmüştür. Elde edilen IC₅₀ değerleri; Rifamisin için 42.81 µg/mL, Teikoplanin için ise 42.89 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bulgular, bu antibiyotiklerin bakterisidal etkilerinin yanı sıra hPON1 aracılı antibiyofilm mekanizmalarını da zayıflatabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: hPON1, laktonaz, quorum sensing, biyofilm, hidrofobik etkileşim kromatografisi, rifamisin, teikoplanin.

Investigation of the effects of selected drugs on the lactonase activity of the paraoxonase enzyme

Abstract

Paraoxonase 1 (PON1) is a member of the PON family, which possesses essential functions in numerous metabolic processes due to its detoxification and antioxidant properties. In addition, through its lactonase activity, PON1 hydrolyzes lactone-based

* Merve ARSLAN, mrvdrarslan102526@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-4191-0145>

signaling molecules produced by bacteria, thereby inhibiting their quorum sensing (QS) mechanisms. One of the most critical outcomes of these mechanisms is biofilm formation, a clinically significant problem. Therefore, the lactonase activity of PON1 makes it a potential antibiofilm agent. In this study, hPON1 was purified from human serum for the first time using Sepharose 4B–L-tyrosine-1-naphthylamine gel synthesized by our team, employing hydrophobic interaction chromatography. The inhibitory effects of Rifamycin and Teicoplanin on the enzyme's lactonase activity were investigated in vitro, and both antibiotics were found to significantly inhibit the enzyme. The calculated IC₅₀ values were 42.81 µg/mL for Rifamycin and 42.89 µg/mL for Teicoplanin. These findings suggest that, in addition to their bactericidal effects, these antibiotics may also weaken hPON1-mediated antibiofilm mechanisms.

Keywords: hPON1, lactonase, quorum sensing, biofilm, hydrophobic interaction chromatography, rifamycin, teicoplanin

1. Giriş

Bilindiği gibi bakteriler, planktonik ve biyofilm olmak üzere iki farklı formda varlıklarını sürdürebilirler [1]. Bakteriler için biyofilm formu çok daha tercih edilen bir yaşam biçimidir. Çünkü bu form, dış tehditlere karşı dayanıklı ve güvenilir bir bakteri topluluğu oluşturma imkânı sunar [2–4]. Günümüzde çok sayıda antibiyotik, patojen enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir rol oynamaya devam etmektedir. Ancak, bazı mikroorganizmalar, hücrelerin etrafında bir biyofilm bariyeri oluştururlar. Bu durumun, geleneksel antibiyotiklere duyarlılığı azaltarak, kalıcı enfeksiyonlara yol açtığı saptanmıştır [5]. Örneğin, Hoiby ve arkadaşları, biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik direncinin yaklaşık bin kat arttığını gözlemlemiştir [6]. Antimikrobiyal ajanlara karşı bakteriyel direncin yoğun gelişimi, günümüzde halk sağlığı açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır [7,8]. Bu nedenle, bakteriyel biyofilm oluşumunu engellemek için antibiyotik dışı alternatif stratejilerin geliştirilmesi kritik öneme sahiptir.

Biyofilm oluşumunun temel mekanizmalardan biri, “quorum sensing” (QS) adı verilen bir bakteriyel iletişim sistemidir. QS, bakteriyel popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak otoindüktör adı verilen küçük sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşen bir hücreler arası iletişim sürecidir. QS, virülans ve biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğundan, QS aktivitesinin inhibe edilmesi (quorum quenching - QQ) mikrobiyal enfeksiyonların tedavisi için alternatif bir yöntem sunabileceği düşünülmektedir [7–9].

En önemli QS inhibitörleri olan paraoksonazlar (PON), PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç farklı formdan oluşan bir hidrolaz enzim grubudur. PON1, PON ailesinin ilk ve üzerinde en çok çalışma yapılan üyesidir. Başlangıçta A-esteraz olarak adlandırılmış, ancak daha sonra paraokson bileşiğini hidroliz etme konusundaki spesifik özelliği nedeniyle PON olarak adlandırılmıştır [10]. PON1, 355 amino asit rezidüsünden oluşan, yaklaşık 43-45 kDa ağırlığında, kalsiyum bağımlı bir glikoproteindir [11–15]. İnsan PON1 (hPON1), üç boyutlu yapının farklı bölgelerinde konumlanmış iki Ca⁺² iyonu içerir. Her bir Ca⁺² iyonu, enzim içindeki konumuna bağlı olarak PON1 aktivitesinde önemli rol oynarlar [16]. Üç boyutlu yapının daha derininde yer alan Ca⁺² iyonu, PON1'in konformasyonel stabilitesi için kritik öneme sahiptir. Aktif bölgenin içinde bulunan diğer Ca⁺² iyonu ise enzimin katolitik aktivitesi için hayati öneme sahip

olduğu saptanmıştır. hPON1'in aktif bölgesinin üstünde H1, H2 ve H3 olarak adlandırılan üç alfa sarmal yapının yer aldığı belirlenmiştir. Bu yapıların lipofil karakteri, PON1-HDL etkileşmelerinde önemli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir [17,18].

PON1, karaciğerde sentezlendikten sonra dolaşıma salınır ve esas olarak yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde (HDL), daha az oranda ise çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerde (VLDL) ve şilomikronlarda bulunur [6]. Serbest PON1'in enzimatik aktivitesinin, HDL'ye bağlı hPON1'inkine kıyasla çok daha düşük olduğu saptanmıştır. hPON1, karaciğerden çeşitli dokulara taşınır [13] ve buralarda hücre membranlarına bağlanarak lipidleri peroksidasyona karşı koruduğu belirlenmiştir [4]. Ayrıca hPON1, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önleyerek, inflamatuvar yanıtı baskıladığı gözlemlenmiştir [19]. PON1'in diğer önemli rolü, spesifik organofosfat (OP) etkisine karşı koruyucu özelliğidir. PON1 geninden yoksun fareler üzerinde yapılan çalışmalarda birçok organofosfat bileşiklerine karşı kontrol grubuna göre çok daha duyarlı oldukları saptanmıştır [20].

Klinikte kullanılan birçok antibiyotiğin PON1'in paraoksonaz aktivitesi üzerindeki etkileri saptanmıştır [21–23]. Örneğin, oksitetrasiklin hidroklorür, netilmisin sülfat, lincomisin hidroklorür, klindamisin fosfat ve streptomisin sülfat bileşikler, saflaştırılmış hPON1 üzerindeki inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Çalışılan bileşiklerin tamamının enzimi önemli ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir [24,25]. Araştırma grubumuz tarafından, hPON1 izoenzimi, hidrofobik etkileşim tekniği ile saflaştırılmış ve birçok antibiyotiğin enzim üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bazı antibiyotiklerin paraoksonaz aktivitesini önemli ölçüde inhibe ettiği saptanmıştır [26–28]. Ancak literatürde, PON1 enziminin laktonaz aktivitesi üzerinde antibiyotiklerin etkisini gösteren çalışmalar son derece sınırlıdır. Yukarıda belirtildiği gibi PON1, laktonaz aktivitesi ile QS inhibitörü olarak biyofilm oluşumunu engelleme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle klinikte kullanılan ilaçların, PON1 laktonaz aktivitesindeki olası inhibisyon etkilerinin bilinmesi önemlidir. Çünkü antibiyotiklerin PON1 üzerindeki etkilerini anlamak, tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlayacaktır.

Bu çalışmada, ilk kez tarafımızca sentezlenen Sepharose 4B–L-tirozin-1-naftilamin jeli, hPON1 enziminin saflaştırılmasında kullanılacaktır [28]. Ayrıca, saf hPON1 enziminin laktonaz aktivitesi üzerinde Rifamisin ve Teikoplanin etken maddelerine sahip antibiyotiklerin olası inhibisyon etkileri ilk kez araştırılacaktır.

2. DeneySEL çalışMALAR

2.1. hPON1 enziminin laktonaz aktivitesinin belirlenmesi

hPON1 enziminin laktonaz aktivitesinin saptanmasında substrat olarak γ -tiyobutirolakton (TBL) kullanılmıştır. Enzimatik hidroliz sonucunda açığa çıkan tiol grupları, 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyona sokularak 412 nm'de absorbans veren sarı renkli kompleks oluşturmuştur. Reaksiyon, 50 mmol/L Tris, 1 mmol/L CaCl_2 , 50 mmol/L NaCl (pH 8.0), 50 mmol/L DTNB ve 10.5 mmol/L TBL içeren 190 μL çözeltinin üzerine 10 μL enzim örneğinin eklenmesiyle başlatılmıştır. Absorbans değişimleri spektrofotometrik olarak izlenmiş ve enzim aktivitesinin hesaplanmasında $13.6 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ molar ekstinksiyon katsayısı kullanılmıştır [29].

2.2. hPON1 enziminin saflaştırılması

hPON1'in saflaştırılması amacıyla alınan venöz kan örnekleri, 1500 g'de 15 dakika santrifüj edilerek serum fazı elde edilmiştir. Saflaştırmanın ilk basamağında, daha önce tanımlanan protokole uygun şekilde [30] %60-80 doygunlukta amonyum sülfat çöktürmesi uygulanmıştır. Elde edilen çöktürmeler, +4 °C'de 45 dakika boyunca 15.000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 0.1 M Na₂HPO₄ tamponu (pH 7.0) içinde çözölmüştür. Bu basamak hem kısmi saflaştırmayı sağlamış hem de numuneleri hidrofobik etkileşim kromatografisi için uygun hâle getirmiştir.

Saflaştırmanın ikinci aşamasında, araştırma grubumuz tarafından daha önce sentezlenmiş olan Sepharose 4B–L-tirozin-1-naftilamin hidrofobik jel [28] ile hidrofobik etkileşim kromatografisi uygulanmıştır. Jel, 10 cm uzunluğundaki kromatografi kolonuna paketlenmiş ve kolon 1 M amonyum sülfat içeren 0.1 M Na₂HPO₄ tamponu (pH 8.0) ile dengelenmiştir. Dengeleme işlemi absorbands takibi yapılarak doğrulanmıştır.

Kolona 5 mL serum fraksiyonu yüklendikten sonra, 1 M (NH₄)₂SO₄ içeren tampondan başlayarak düşük tuz konsantrasyonuna sahip 0.1 M Na₂HPO₄ tamponuna (pH 8.0) doğru uygulanan bir tuz gradiyenti ile elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elüatlar 1.5 mL'lik fraksiyonlar şeklinde toplanmış; her fraksiyonda sırasıyla toplam protein miktarı ve laktonaz aktivitesi ölçölerek enzimin yer aldığı fraksiyonlar tespit edilmiştir.

2.3. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi

Saflaştırılan hPON1'in saflık derecesi, SDS-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile değerlendirilmiştir. Yığıma jeli %3, ayırma jeli ise %8 akrilamid ve %0.1 SDS içerecek şekilde hazırlanmıştır. Saflaştırılmış enzimden 20 µL numune, jel kuyucuklarına yüklenmiş ve elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Jeller, %0.1 Coomassie Brilliant Blue R-250, %50 metanol ve %10 asetik asit içeren çözeltiyle 1.5 saat boyanmış, ardından renk açma çözeltisi ile dekolorize edilmiştir. Elektroforetik bant deseni fotoğraflanarak kaydedilmiştir (Şekil 1) [31].

2.4. İnhibitörlerin IC₅₀ değerlerinin belirlenmesi

Bu çalışmada biyofilm kontrolünde yaygın kullanılan antibiyotik etken maddeleri olan Rifamisin ve Teikoplanin bileşiklerinin hPON1 laktonaz aktivitesi üzerindeki potansiyel inhibisyon etkileri araştırılmıştır. İlk olarak inhibitörsüz koşullarda ölçölün laktonaz aktivitesi %100 aktivite kabul edilmiştir. Daha sonra her bir antibiyotik için en az beş farklı konsantrasyonda laktonaz aktivitesi belirlenmiş ve inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır.

Tüm ölçömler en az üç tekrar halinde gerçekleştirilmiş, elde edilen % Aktivite - [İnhibitör] grafiklerinden, aktivitenin yarıya düştüğü inhibitör konsantrasyonları (IC₅₀ değerleri) hesaplanmıştır (Şekil 2, Şekil 3) [28].

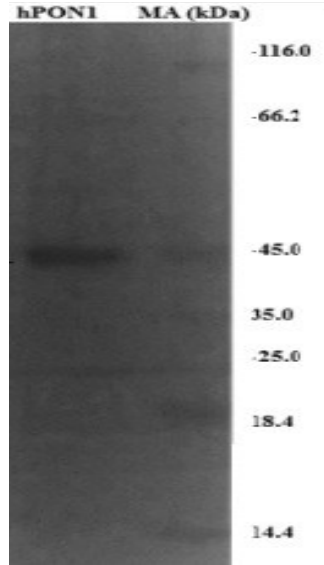
3. Sonuçlar ve tartışma

Bu çalışmada öncelikle insan kan serumundan hPON1, %80 amonyum sülfat çöktürmesi işlemi ile hem kısmen saflaştırılmış hem de hidrofobik etkileşim tekniğı için uygun hale getirilmiştir. Daha sonra hPON1, hidrofobik etkileşim tekniğı ile saflaştırılmıştır. hPON1'in aktif bölgesinin yakınında H1, H2 ve H3 olarak adlandırılan üç alfa sarmal yapının yer aldığı bilinmektedir. Bu yapıların lipofil karakteri, PON1-HDL etkileşmelerinde önemli işlevlere sahip olduğı bilinmektedir [17,18]. hPON1 yüzeyinde

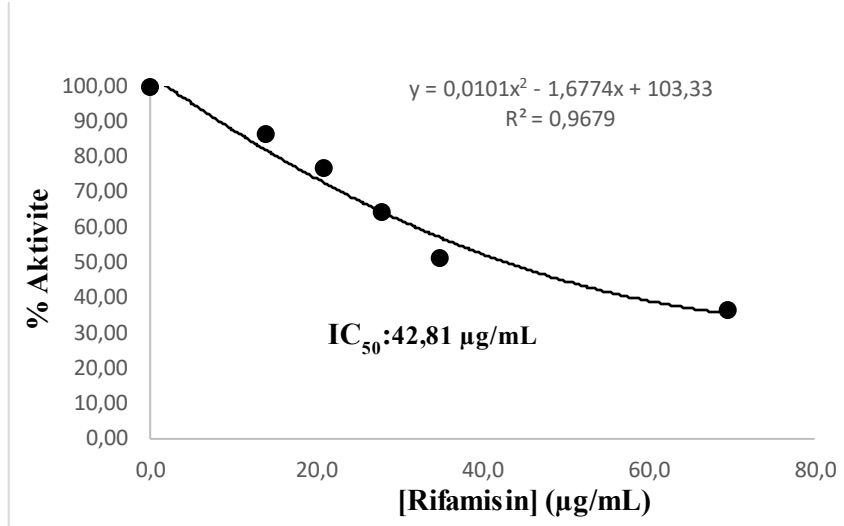
bulunan söz konusu hidrofobik bölgeler, enzimin hidrofobisitesini artırmaktadır. Bu durum enzimin saflaştırılması için hidrofobik etkileşim tekniğinin seçilmesinde temel neden olmuştur. Enzimin saflığı, poliakril amid jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. İlgili elektroforez görüntüsünden anlaşılabileceği gibi enzimin molekül ağırlığı ile uyumlu olan bölgede tek bant gözlemlenmiştir (Şekil 1).

Saflaştırılmış hPON1 enzimi üzerinde Rifamisin ve Teikoplanin etken maddelerinin inhibisyon etkileri incelenmiştir. Her iki antibiyotiğin de enzimin laktonaz aktivitesini belirli ölçüde azalttığı saptanmıştır. IC₅₀ değerleri ilgili grafikler kullanılarak, Rifamisin için 42,81 µg/mL, Teikoplanin için ise 42,89 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular, Rifamisin bileşiğinin Teikoplanin'e kıyasla çok küçük bir farkla daha etkili bir inhibitör olduğunu göstermektedir.

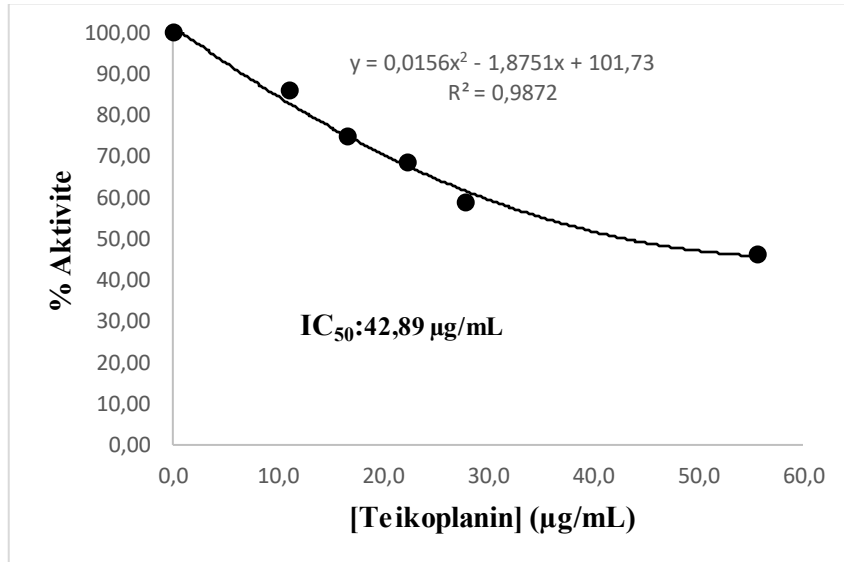
Rifamisin, biyofilm temelli enfeksiyonların tedavisinde etkinliği kanıtlanmış güçlü bir antibiyotiktir. Son yıllarda yapılan çok sayıda klinik ve klinik-öncesi çalışma, Rifamisin'in biyofilm ilişkili enfeksiyonlardaki tedavi başarısına önemli ölçüde katkı sağladığını göstermektedir [32].



Şekil 1. SDS-PAGE analizi sonucunda, 1. hatta yaklaşık 43 kDa moleküler ağırlığa sahip hPON1 bandı gözlenmiştir. 2. hat ise moleküler kütle standartlarını içermektedir: β-galaktozidaz (116.0 kDa), bovin serum albümini (66.2 kDa), ovalbümin (45.0 kDa), laktat dehidrogenaz (35.0 kDa), restriksiyon endonükleaz Bsp981 (25.0 kDa), β-laktoglobulin (18.4 kDa) ve lizozim (14.4 kDa).



Şekil 2. hPON1'in laktonaz aktivitesi üzerinde Rifamisin'in yüzde inhibisyon grafiği.



Şekil 3. hPON1'in laktonaz aktivitesi üzerinde Teikoplanin'in yüzde inhibisyon grafiği.

Rifamisin biyofilmlere karşı kombinasyon terapilerinde sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. Böylece hem antibiyotik direncinin gelişmesini yavaşlatmak hemde biyofilm içindeki bakterilere ulaşmak için etkili bir strateji olarak öne çıkmaktadır [33]. Araştırmamızda kullanılan bir diğer antibiyotik olan Teikoplanin, özellikle gram-pozitif bakterilerin, biyofilm potansiyeline sahip suşlara karşı önemli etki gösterdiği saptanmıştır. Söz konusu antibiyotik, biyofilm matrisine diğer antibiyotiklere nazaran daha iyi nüfus ederek biyofilm içindeki bakterilere ulaştığı konusunda çalışmalar mevcuttur [34]. Literatürde Rifamisin ve Teikoplanin türevlerinin hPON1'i inhibe ettiği yönünde çalışmalar mevcuttur [28]. Bu çalışmalarda substrat olarak parokson kullanılmış dolayısıyla enzimin paroksonaz aktivitesi üzerindeki bileşiklerin etkileri araştırılmıştır. Mevcut çalışmada ise söz konusu antibiyotiklerin, enzimin laktonaz aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır. Giriş bölümünde detaylıca belirtildiği gibi hPON1'in N-lakton hidrolizi aracılığıyla bakteriyel QS sinyallerini bozarak antibiyofilm etki gösterebileceği yönünde önemli kanıtlar vardır [35–37]. Farklı bakteriler ile enfekte olmuş bireylerin

serumlarında kontrol gruplarına göre düşük PON1 aktivitelerinin saptanması bu düşünceleri doğrulamaktadır. Örneğin, Aslan ve ark. *H. pylori* ile enfekte hastalarda, enfekte olmayan bireylere kıyasla serum PON1 aktivitesinde belirgin bir azalma ve lipid hidroperoksit seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir [38].

Bu çalışmada, Rifamisin ve Teikoplanin içeren antibiyotiklerin insan serumundan saflaştırılan hPON1 laktonaz aktivitesini *in vitro* olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, söz konusu antibiyotiklerin doğrudan bakterisidal etkilerine rağmen hPON1 aracılı antibiyofilm mekanizmalarının kısmen baskılanabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu etkileşimin klinik ve fizyolojik öneminin tam olarak anlaşılabilmesi için ileri *in vivo* çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Ayrıca araştırmamızdan elde edilen sonuçlar, literatürde verilen benzer çalışmaları destekler nitelikte olup, antibiyotiklerin yalnızca bakteriyel hedeflere değil, aynı zamanda konakçı enzimleri üzerinde de etkili olabileceğini göstermektedir.

Kaynaklar

- [1] Uruén, C., Chopo-Escuin, G., Tommassen, J., Mainar-Jaime, R.C., and Arenas, J., Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance, **Antibiotics**, 10, 1, 3, (2020).
- [2] Khelissa, S.O., Abdallah, M., Jama, C., Faille, C., and Chihib, N.-E., Bacterial contamination and biofilm formation on abiotic surfaces and strategies to overcome their persistence, **J Mater Environ Sci**, 8, 9, 3326–3346, (2017).
- [3] Koo, H., Allan, R.N., Howlin, R.P., Stoodley, P., and Hall-Stoodley, L., Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies, **Nature Reviews Microbiology**, 15, 12, 740–755, (2017).
- [4] Sharma, A., Singh, P., Sarmah, B.K., and Nandi, S.P., Quorum sensing: its role in microbial social networking, **Research in Microbiology**, 171, 5–6, 159–164, (2020).
- [5] Brauner, A., Fridman, O., Gefen, O., and Balaban, N.Q., Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment, **Nature Reviews Microbiology**, 14, 5, 320–330, (2016).
- [6] Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., and Ciofu, O., Antibiotic resistance of bacterial biofilms, **International Journal of Antimicrobial Agents**, 35, 4, 322–332, (2010).
- [7] Hemmati, F., Salehi, R., Ghotaslou, R., Samadi Kafil, H., Hasani, A., et al., Quorum quenching: A potential target for antipseudomonal therapy, **Infection and Drug Resistance**, 2989–3005, (2020).
- [8] Defoirdt, T., Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy, **Trends in Microbiology**, 26, 4, 313–328, (2018).
- [9] Kalaiarasan, E., Thirumalaswamy, K., Harish, B.N., Gnanasambandam, V., Sali, V.K., et al., Inhibition of quorum sensing-controlled biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by quorum-sensing inhibitors, **Microbial Pathogenesis**, 111, 99–107, (2017).
- [10] Aharoni, A., Gaidukov, L., Yagur, S., Toker, L., Silman, I., et al., Directed evolution of mammalian paraoxonases PON1 and PON3 for bacterial expression and catalytic specialization, **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 101, 2, 482–487, (2004).
- [11] Draganov, D.I., Stetson, P.L., Watson, C.E., Billecke, S.S., and La Du, B.N.,

- Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation, **Journal of Biological Chemistry**, 275, 43, 33435–33442, (2000).
- [12] Deakin, S., Leviev, I., Gomaraschi, M., Calabresi, L., Franceschini, G., et al., Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism, **Journal of Biological Chemistry**, 277, 6, 4301–4308, (2002).
- [13] Huang, Y., Wu, Z., Riwanto, M., Gao, S., Levison, B.S., et al., Myeloperoxidase, paraoxonase-1, and HDL form a functional ternary complex, **The Journal of Clinical Investigation**, 123, 9, 3815–3828, (2013).
- [14] Gökçe, B., Investigation effects of some anthraquinones on human paraoxonase 1 (hPON1) TT - Bazı antrakinonların insan paraoksonaz 1 (hPON1) üzerine etkilerinin incelenmesi, **Balikesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 21, 2, 546–553, (2019).
- [15] ERGÜN, A. and ÇİÇEK, B., PON1 enzimi üzerine DT-15-Crown-5 taç eterinin etkisinin araştırılması, **Balikesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 22, 1, 13–19, (2020).
- [16] Blaha-Nelson, D., Krüger, D.M., Szeler, K., Ben-David, M., and Kamerlin, S.C.L., Active Site Hydrophobicity and the Convergent Evolution of Paraoxonase Activity in Structurally Divergent Enzymes: The Case of Serum Paraoxonase 1, **Journal of the American Chemical Society**, 139, 3, 1155–1167, (2017).
- [17] Vitarius, J.A. and Sultatos, L.G., The role of calcium in the hydrolysis of the organophosphate paraoxon by human serum A-esterase, **Life Sciences**, 56, 2, 125–134, (1994).
- [18] Shunmoogam, N., Naidoo, P., and Chilton, R., Paraoxonase (PON)-1: A brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance, **Vascular Health and Risk Management**, 14, 137–143, (2018).
- [19] Navab, M., Imes, S.S., Hama, S.Y., Hough, G.P., Ross, L.A., et al., Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein, **Journal of Clinical Investigation**, 88, 6, 2039–2046, (1991).
- [20] Shih, D.M., Gu, L., Xia, Y.R., Navab, M., Li, W.F., et al., Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis, **Nature**, 394, 6690, 284–287, (1998).
- [21] Yılmaz, A. and Dilek, E., Antibiotics used in patients after surgery and effects of human serum paraoxonase-I (PON1) enzyme activity, **Protein and Peptide Letters**, 26, 3, 215–220, (2019).
- [22] Söyüt, H., Kaya, E.D., and Beydemir, Ş., Impact of antibacterial drugs on human serum paraoxonase-1 (hPON1) activity: an in vitro study, **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 4, 8, 603–609, (2014).
- [23] Soyut, H., Inhibition effects of commonly used some antibacterial and antiviral drugs on purified human serum paraoxonase-1 (hPON1), **International Journal of Chemistry and Technology**, 3, 2, 146–150, (2019).
- [24] Dilek, E.B., Küfrelioğlu, Ö.İ., and Beydemir, Ş., Impacts of some antibiotics on human serum paraoxonase 1 activity, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 28, 4, 758–764, (2013).
- [25] Türkeş, C., Söyüt, H., and Beydemir, Ş., Human serum paraoxonase-1 (hPON1): In vitro inhibition effects of moxifloxacin hydrochloride, levofloxacin hemihydrate, cefepime hydrochloride, cefotaxime sodium and ceftizoxime

- sodium, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 30, 4, 622–628, (2015).
- [26] Kockar, F., Sinan, S., Yildirim, H., and Arslan, O., Differential effects of some antibiotics on paraoxonase enzyme activity on human hepatoma cells (HepG2) in vitro, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 25, 5, 715–719, (2010).
- [27] Sinan, S., Kockar, F., Gencer, N., Yildirim, H., and Arslan, O., Amphenicol and macrolide derived antibiotics inhibit paraoxonase enzyme activity in human serum and human hepatoma cells (HepG2) in vitro., **Biochemistry. Biokhimiia**, 71, 1, 46–50, (2006).
- [28] Sinan, S., Kockar, F., Gencer, N., Yildirim, H., and Arslan, O., Effects of some antibiotics on paraoxonase from human serum in vitro and from mouse serum and liver in vivo., **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 29, 8, 1559–1563, (2006).
- [29] Kosaka, T., Yamaguchi, M., Motomura, T., and Mizuno, K., Investigation of the relationship between atherosclerosis and paraoxonase or homocysteine thiolactonase activity in patients with type 2 diabetes mellitus using a commercially available assay, **Clinica Chimica Acta**, 359, 1–2, 156–162, (2005).
- [30] Ergün, A., Yüksel, H., Arslan, M., and Arslan, O., Investigation of the effects of some drugs on sheep Paraoxonase-1, **Bahkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 25, 2, 483–488, (2023).
- [31] Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, **Nature**, 227, 5259, 680–685, (1970).
- [32] Renz, N., Trampuz, A., and Zimmerli, W., Controversy about the Role of Rifampin in Biofilm Infections: Is It Justified?, **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, 10, 2, (2021).
- [33] Szczuka, E., Grabska, K., and Kaznowski, A., In Vitro Activity of Rifampicin Combined with Daptomycin or Tigecycline on Staphylococcus haemolyticus Biofilms., **Current Microbiology**, 71, 2, 184–189, (2015).
- [34] Sato, Y., Hatayama, N., Tanzawa, S., Kimura, Y., Wakabayashi, Y., et al., Staphylococcus haemolyticus attenuates the antibacterial effect of teicoplanin via aggregates and biofilms., **Microbial Pathogenesis**, 180, 106152, (2023).
- [35] Camps, J., Iftimie, S., García-Heredia, A., Castro, A., and Joven, J., Paraoxonases and infectious diseases, **Clinical Biochemistry**, 50, 13–14, 804–811, (2017).
- [36] Chen, F., Gao, Y., Chen, X., Yu, Z., and Li, X., Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection, **International Journal of Molecular Sciences**, 14, 9, 17477–17500, (2013).
- [37] Chun, C.K., Ozer, E.A., Welsh, M.J., Zabner, J., and Greenberg, E.P., Inactivation of a Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing signal by human airway epithelia, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 101, 10, 3587–3590, (2004).
- [38] Genç, N. and Arslan, O., Purification human PON1Q192 and PON1R192 isoenzymes by hydrophobic interaction chromatography and investigation of the inhibition by metals, **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 877, 3, 134–140, (2009).