

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۳ شماره ۱ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۰ صفحات ۱۷-۱۳

## سطح سرمی هموسیستئین، لیپوپروتئین با دانسیته پایین و فعالیت آنزیم پاراکسوناز در بیماران مبتلا به دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب

علیرضا جواد زاده: گروه چشم پزشکی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
امیر قربانی حق جو: مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: ghorbaniamir@hotmail.com

نادره رشتچی زاده: مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
الهام بحرینی: مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
سمیرا علیزاده: مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۸/۴/۳۱، پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۱

### چکیده

**زمینه و اهداف:** فاکتورهای متعددی در بروز بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب دخالت دارند؛ عدم تعادل در وضعیت اکسیداسیون و احیای بدن یکی از این عوامل می باشد. هدف مطالعه حاضر ارزیابی احتمال وجود هایپرهوموسیستئینی و کاهش فعالیت پاراکسوناز در بیماران مبتلا به دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب بود.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تحلیلی روی ۴۵ بیمار مبتلا به دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب مراجعه کننده به مرکز آموزشی-درمانی نیکوکاری تبریز و ۴۵ فرد سالم بعنوان شاهد انجام شد. فعالیت پاراکسوناز، هموسیستئین و LDL-C اکسیدشده با روش های اسپکتروفتومتری و ELISA مورد سنجش قرار گرفتند.

**یافته ها:** کاهش معنی داری در سطح فعالیت پاراکسوناز در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد وجود داشت ( $P < 0/05$ ). اختلاف معنی داری در سطوح هموسیستئین ( $P < 0/05$ ) و LDL-C اکسیدشده بین دو گروه مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه گیری:** سطوح افزایش یافته LDL-C اکسیدشده بعنوان شاخص استرس اکسیداتیو در بیماران دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب، ممکن است یکی از علل غلظت بالای هموسیستئین در این بیماران باشد. همینطور فعالیت پاراکسوناز برای پیشگیری از آسیب اکسیداتیو در این افراد کافی بنظر نمی رسد چرا که عوامل متعددی در بروز بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب دخالت دارند.

**کلید واژه ها:** بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب، هموسیستئین، پاراکسوناز، LDL-C اکسیدشده

### مقدمه

مرطوب یا نئوواسکولر رشد غیرطبیعی عروق مشیمیه ای جدید همراه با خونریزی و نشت سروز است. زخم ناشی از این عروق خونی باعث آسیب غیرقابل برگشت فتورسپتورها و در صورت عدم درمان، از دست رفتن سریع بینایی می شود (۳). عوامل ژنتیکی، استرس اکسیداتیو، ایسکمی، پیری اپیتلیوم پیگمانته شبکیه و التهاب ریسک فاکتورهای اصلی در بروز و پیدایش ARMD مرطوب هستند. با توجه به وابسته به سن بودن بیماری ARMD

بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولا ( Age related macular degeneration; ARMD) یکی از علل شایع نابینایی در بین سالمندان بالای ۵۰ سال است. در این بیماری ناحیه ماکولای شبکیه دچار تحلیل، آتروفی و در مواردی خونریزی می شود. ARMD بر دو نوع است: نوع خشک و نوع مرطوب (۱). هر چند نوع خشک شیوع بیشتری دارد اما نوع مرطوب عامل بیش از ۸۰٪ نابینایی در بین این جمعیت از بیماران می باشد (۲). مشخصه نوع

مرطوب و ARMD مرطوب و ۴۵ فرد سالم به عنوان شاهد بودند که بصورت تصادفی انتخاب شده بودند. از ورود افراد با سابقه دیابت، سکنه، نارسایی کلیوی و یا کبدی، فشار خون کنترل نشده و سیگاریها و نیز افرادی که سابقه مصرف فرآورده های آنتی اکسیدان را داشتند به مطالعه حاضر جلوگیری شد.

پس از تحمل ناشتایی شبانه، از تمامی افراد واجد شرایط ۱۰ میلی لیتر خون اخذ شد و پس از سانتریفوژ در دور پایین و جداسازی سریع سرم و پلاسما، آزمایشات اولیه از قبیل سنجش قند، اوره، کراتینین و فعالیت آمینوترانسفرازها (جهت اطمینان از عدم ورود افراد دیابتی و مبتلایان به نارسایی کلیه و یا کبدی به مطالعه حاضر) و همچنین سطح سرمی تری گلیسرید، کلسترول و HDL-C با استفاده از اتوآنالیزر و استفاده از کیت های تجارتي استاندارد (پارس آزمون) اندازه گیری شد. مقادیر LDL-C با معادله Friedewald سنجیده شد (۱۰). جهت انجام آزمایشات بعدی، باقیمانده نمونه ها در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. فعالیت آنزیم پاراکسوناز با روش Eckerson و سوبسترای پاراکسون اندازه گیری شد (۱۱). در این روش فعالیت پاراکسوناز با افزودن ۲۰ میکرولیتر سرم به ۷۰۰ میکرولیتر بافر اولیه [حاوی ۲ mM پاراکسون، ۲ mM CaCl<sub>2</sub> در ۱ mM بافر Tris-HCl (PH=۸)]، سپس سنجش میزان تولید پارا-آنترونیل بعنوان محصول با اسپکتروفتومتر در ثانیه های ۶۰ و ۱۲۰، در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و در طول موج ۴۱۲ nm اندازه گیری شد و مقادیر برحسب IU/mL گزارش گردید. فعالیت آریل استرازی نیز با استفاده از سوبسترای فنیل استات با افزودن ۱۰ میکرولیتر سرم به ۳ میلی لیتر بافر اولیه [حاوی ۲ mM فنیل استات، ۲ mM CaCl<sub>2</sub> در ۱ mM بافر Tris-HCl (PH=۸)] سپس سنجش میزان تولید فنیل بعنوان محصول با اسپکتروفتومتر در ثانیه های ۶۰ و ۱۲۰، در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و در طول موج ۲۷۰ nm اندازه گیری شد و مقادیر برحسب واحد U/ گزارش شد. میزان هموسیستئین تام پلاسما با استفاده از کیت شرکت AXIS و بروش ایموناسی آنزیمی اندازه گیری گردید. LDL-C اکسیدشده با استفاده از کیت Mercodia و بروش ایمونواسی انجام شد.

داده بدست آمده از مطالعه بوسیله روشهای آماری توصیفی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) و آزمون تی مستقل یا آزمون ناپارامتری یومان و تینی و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS.16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی گردید.

### یافته ها

بطور تصادفی ۲۸ زن و ۱۷ مرد در هر یک از دو گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. ویژگیهای بالینی افراد شرکت کننده در هر گروه در جدول ۱ آمده است. تفاوت معنی داری در توزیع سن و جنس بین گروه بیمار (متوسط سنی  $71 \pm 7$  سال) و گروه شاهد (متوسط سنی  $69 \pm 5$  سال)؛ ( $P > 0/05$ ) وجود نداشت. به استثنای میانگین های LDL-C ( $132 \pm 40$  mg/dl) در مقابل  $105 \pm 35$  mg/dl،

مرطوب و مطالعات قبلی مبنی بر افزایش تولید رادیکال های آزاد و فرآورده های حاصل از اکسیداسیون با افزایش سن، اهمیت بررسی استرس اکسیداتیو و تأثیر آن در تغییر ساختار ناحیه ماکولا اجتناب ناپذیر است (۴۰۵). هر چند تعداد فاکتورهای اکسیدان و آنتی اکسیدان داخلی زیاد و عموماً مرتبط با همدیگر می باشد، اما در مطالعه حاضر نقش هموسیستئین را بعنوان یک اکسیدان و آنزیم پاراکسوناز را بعنوان یک آنتی اکسیدان داخلی در بروز بیماری ARMD مرطوب مورد ارزیابی قرار دادیم؛ دو عاملی که امروزه در بروز بیماریهای عروقی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (۹-۵).

هموسیستئین اسید آمینه ای واسط در تبدیل متیونین به آرژینین است. هرگونه نقص در متابولیسم هموسیستئین خواه به دلیل نقص آنزیمی یا کمبود ویتامین های لازم، منجر به هیپرهوموسیستئینمی می شود (۶). افزایش غلظت هموسیستئین خون باعث افزایش انواع اکسیژن فعال بدلیل افزایش اتواکسیداسیون آن و نیز بالا رفتن یکی از متابولیت های آن یعنی هموسیستئین تیولاکتون می شود. هموسیستئین تیولاکتون با هموسیستئینیله کردن، پروتئین ها را مستعد اکسیداسیون و تخریب می نماید (۷).

پاراکسوناز متصل به HDL-C با هیدرولیز لیپیدهای پراکسیده بویژه در LDL-C و آترومها، و نیز با فعالیت هموسیستئین تیولاکتونازی در جلوگیری از هموسیستئینیله شدن پروتئین ها اثرات آنتی اکسیدانی خود را اعمال می کند. پاراکسوناز دارای پلی مورفیسم های متعددی است که فعالیت متفاوتی نسبت به بعضی از سوبسترهای سنتزی مثل پاراکسون نشان می دهند؛ اما فعالیت آریل استرازی پاراکسوناز نسبت به سوبسترای فنیل استات متأثر از پلی مورفیسمهای آن نمی باشد. بنابراین اندازه گیری فعالیت آریل استرازی می تواند تخمینی از وضعیت کمی آنزیم در بدن می باشد (۹). استرس اکسیداتیو بدلیل افزایش تولید پرواکسیدانها یا سطوح ناکافی آنتی اکسیدانها، نقش مهم و علت و معلولی در بروز انواع بیماریهای چشمی بویژه ARMD مرطوب دارد. ناحیه ماکولا بدلیل مقادیر بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای سلولی، موقعیت مستقیم آن در برابر نور و مصرف بالای اکسیژن بسیار مستعد استرس اکسیداتیو می باشد؛ بویژه زمانی که تولید عوامل اکسیدکننده بالا و عملکرد سیستم آنتی اکسیدان داخلی ناکافی باشد.

هدف مطالعه حاضر ارزیابی سطوح پلاسمایی هموسیستئین و فعالیت سرمی پاراکسوناز و ارزیابی استرس اکسیداتیو با سنجش LDL-C اکسیدشده در بیماران مبتلا به ARMD مرطوب در مقایسه با افراد سالم می باشد.

### مواد و روش ها

مطالعه تحلیلی حاضر در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تبریز انجام شد. افراد مورد مطالعه، از بین مراجعه کنندگان به کلینیک چشم پزشکی نیکوکاری تبریز و در محدوده سنی ۵۰ تا ۸۰ سال انتخاب شدند. گروههای مورد مطالعه شامل ۴۵ بیمار مبتلا به

تقریباً ۴۳/۹٪ بالاتر از گروه شاهد بود ( $U=14 \pm 52/2$ ) در مقابل ( $P=0/001$ ،  $U=11 \pm 37/8$ ).

### بحث

در مطالعه حاضر سطوح پلاسمایی هموسیستین در بیماران مبتلا به ARMD مرطوب مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه همانند نتایج بدست آمده از تحقیق K. Coral و همکاران بر روی بیماران ARMD مرطوب (۱۲)، افزایش معنی داری را در سطوح هموسیستین در بیماران ماکولای مرطوب نشان داد. همچنین در تحقیقی بر روی جامعه ایرانیان غلظت هموسیستین در بیماران قلبی در مقایسه با افراد سالم مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین هموسیستین بدست آمده از تحقیق ما در دو گروه بیمار ARMD مرطوب و سالم با محدوده‌های تعیین شده برای میانگین هموسیستین در جمعیت بیماران قلبی و سالم مطالعه ذکر شده (۱۳) قابل مقایسه است ( $11.51 \pm 4.63$  در مقابل  $15.56 \pm 6.77$ ).

و کلسترول ( $39 \pm 204$  mg/dl) در مقابل ( $P=0/001$ ،  $181 \pm 36$ ) و نیز Best corrected visual BCVA ( $P=0/005$ )، در مورد سایر پارامترهای بالینی و پایه اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ).

مطابق جدول ۲ میانگین فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز در گروه بیمار ( $50 \pm 7/3$  U/ml) به طور معنی داری از گروه شاهد ( $102 \pm 66/3$  U/ml) پایین تر بود ( $P=0/02$ )؛ ولی اختلاف معنی داری در فعالیت آریل استرازی بین گروه بیمار و کنترل (به ترتیب  $16 \pm 7/8$  U/ml و  $20 \pm 7/4$  U/ml) مشاهده نشد ( $P=0/3$ ). همچنین این جدول نشان می‌دهد که میانگین غلظت پلاسمایی هموسیستین بیماران تقریباً  $38/1$ ٪ بالاتر از گروه شاهد بود ( $15/4 \pm 7/2$  μM) در مقابل ( $10/7 \pm 7/3$  μM،  $P=0/001$ ) علاوه بر این میانگین سطوح پلاسمایی LDL-C اکسید شده نیز در بیماران

جدول ۱: اطلاعات بالینی بیماران دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب و گروه شاهد

متغیرها	بیمار	شاهد	P-value*
سن	۷۱±۷	۶۹±۵	۰/۱
BCVA	۰/۱±۰/۰۷	۱/۱۸±۰/۳۶	۰/۰۰۱**
Pesudophacia	۳۴	۲۹	-
اندیکس توده بدن ( $g/m^2$ )	۲۵/۳±۴	۲۷/۳±۶	۰/۱
فشار سیستولیک (mmHg)	۱۲۹/۸±۲۰	۱۲۴/۴±۷	۰/۱
فشار دیاستولیک (mmHg)	۷۷/۵±۱۰	۸۲/۵±۸	۰/۱
گلوکز (mg/dl)	۸۸±۱۳	۸۵/۲±۱۵	۰/۵
اوره (mg/dl)	۳۲/۳±۷	۳۴/۳±۶	۰/۱
کراتینین (mg/dl)	۱/۰±۰/۲	۱/۰۸±۰/۲	۰/۱
تری گلیسرید (mg/dl)	۱۴۴/۵±۶۴	۱۵۴±۴۹	۰/۱
کلسترول (mg/dl)	۲۰۴±۳۹	۱۸۱±۳۶	۰/۰۰۵
HDL-C (mg/dl)	۴۳/۱±۵	۴۴/۲±۶	۰/۳
LDL-C (mg/dl)	۱۳۲±۴۰	۱۰۵±۳۵	۰/۰۰۱

اعداد بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند.

BCVA = Best corrected visual acuity  
Independent-samples T-test\*  
Mann-Whitney U test\*\*

جدول ۲: متغیرهای اکسیدان و آنتی اکسیدان در بیماران دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب و گروه شاهد

متغیرها	بیمار	شاهد	P-value*
پاراکسوناز (U/ml)	۷۳/۷±۵۰	۱۰۲/۳±۶۶	۰/۰۲
آریل استراز (U/l)	۷۰/۸±۱۶	۷۴/۷±۲۰	۰/۳
LDL-C اکسید شده (U/l)	۵۲/۲±۱۴	۳۷/۸±۱۱	۰/۰۰۱
هموسیستین (μM)	۱۵/۴±۷/۲	۱۰/۷±۳/۷	۰/۰۰۱

اعداد بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند.

Independent-samples T test\*

اکسیدانی پاراکسوناز و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح LDL-C اکسید شده می‌شود.

نتایج مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۰ نشان داد که پاراکسوناز می‌تواند لاکتونهاى آروماتیک و آلیفاتیک متعددی را از جمله هموسیستئین تیولاکتون هیدرولیز کند. هرچند ارتباط بین فعالیت پاراکسونازی و هموسیستئین تیولاکتونازی این آنزیم دقیقاً مشخص نیست اما مشخص شده که اثرات آن روی پاراکسون بسیار مشابه هموسیستئین تیولاکتون است و با تخمین فعالیت پاراکسوناز هیدرولازی سرم به خوبی می‌توان فعالیت هموسیستئین تیولاکتون هیدرولازی را اندازه‌گیری کرد (۲۲). میزان اتصال هموسیستئین تیولاکتون به پروتئین‌ها ارتباط معکوسی با فعالیت پاراکسونازی داشته و سنجش میزان فعالیت پاراکسونازی در ارزیابی میزان هموسیستئین‌لاسیون پروتئین‌ها اهمیت دارد (۲۳).

بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب یک بیماری چند عاملی است و وجود طیف گسترده‌ای از عوامل احتمالی در ایجاد بیماری سبب شده است که مکانیسم دقیقی از تغییرات فیزیولوژیکی این بیماری در اختیار ما قرار نگیرد (۲۴). طبق نتایج تحقیقات سال‌های اخیر، سطوح بالای سرمی کاروتنوئیدها، ویتامین‌های C، E، بتا کاروتن و فلز روی با کاهش خطرات بیماری ماکولای مرطوب همراه است (۲۵،۲۶). علاوه بر این با توجه به اهمیت هموسیستئین تیولاکتون در آسیب‌های حاصل از هیپرهوموسیستئینی و نقش پاراکسوناز در خنثی‌سازی این ماده، بهتر است در مطالعه دیگری ارتباط بین هموسیستئین تیولاکتون و پاراکسوناز را با سنجش فعالیت هموسیستئین تیولاکتونازی در جهت کاهش هموسیستئین تیولاکتون مورد ارزیابی قرار داد.

### نتیجه‌گیری

بیماران دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب در مقایسه با افراد شاهد، بدلیل غلظت بالای هموسیستئین با افزایش تولید ROS مواجه هستند و بخاطر کاهش برداشت این عوامل ناشی از کاهش فعالیت پاراکسوناز بسیار مستعد استرس اکسیداتیو می‌باشند. هر چند به نظر می‌آید که استفاده از آنتی‌اکسیدانها می‌تواند در پیشگیری یا کاهش اثرات مخرب عوامل اکسیداتیو مؤثر باشد، اما مطالعات بیشتری لازم است تا نقش عوامل تغییر دهنده این فاکتورها را در پیشگیری و حتی درمان بیماری دژنراسانس وابسته به سن ماکولای مرطوب نشان دهد.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که حتی افزایش ملایم در هموسیستئین خون بعنوان یک عامل اکسیداتیو عمل می‌کند و با خطر بیماریهای عروقی همراه است (۱۴،۱۵). این مطالعات نتیجه مطالعه ما را مبنی بر وجود هیپرهوموسیستئینی در بیماران ARMD مرطوب تأیید می‌کنند. برای ارزیابی شدت آسیب اکسیداتیو و پیامد حاصل از افزایش غلظت هموسیستئین، سطوح پلاسمایی LDL-C اکسید شده اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله حاکی از افزایش غلظت این ماده در پلاسمای بیماران ARMD مرطوب نسبت به افراد شاهد بود. طبق مطالعات انجام شده، هموسیستئین بدلیل قابلیت اتواکسیداسیون، در غلظتهای بالا موجب افزایش تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) از قبیل آنیون سوپر اکسید (O<sup>-</sup>) و رادیکال هیدروکسیل (OH<sup>-</sup>) می‌شود (۱۶). عوامل ROS با اکسیداسیون ماکرومولکولها بویژه پارتیکل‌های لیپیدی و تجمع فرآورده‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مثل LDL-C اکسید شده، موجب آسیب عروق و آترواسکلروز می‌شود. همچنین تحقیقات نشان داده‌اند، هموسیستئین تیولاکتون با اتصال به آپولیپوپروتئین B-100 و هموسیستئینیله کردن آن، LDL را بسیار مستعد اکسیداسیون می‌کند (۱۷). LDL هموسیستئینیله توسط رسپتور scavenger ماکروفاژها در جدار عروق برداشت و موجب تجمع کلسترول در داخل این سلولها و تشکیل فوم سل‌ها می‌شود که هسته‌های اولیه آترواسکلروز می‌باشند. در مطالعه فوق فعالیت آنزیم پاراکسوناز در بیماران ماکولای مرطوب نسبت به گروه کنترل پایین تر بود. مطالعه انجام شده توسط Baskol و همکاران (۱۸) بر روی بیماران مبتلا به دژنراسانس وابسته به سن ماکولای یافته‌ها ما را تأیید می‌کند. اگرچه مکانیسم این کاهش فعالیت در بیماران ماکولای مرطوب مشخص نیست، اما افزایش سطح LDL-C اکسید شده ناشی از افزایش ROS می‌تواند کاهش فعالیت سرمی پاراکسوناز را توضیح دهد. چرا که مصرف پاراکسوناز برای جلوگیری از اکسیداسیون معمولاً منجر به تغییر در فعالیت سرمی پاراکسوناز می‌شود (۲۰-۱۹). گزارش شده است که بدنال هیدرولیز لیپیدهای پراکسیده، گروههای سولفیدریل پاراکسوناز با لیپیدهای اکسیده واکنش داده و آنزیم غیرفعال می‌شود (۲۰). احتمال دیگر برای کاهش فعالیت پاراکسوناز، هموسیستئینیله شدن این آنزیم یا دیگر پروتئینهای HDL مثل آپولیپو پروتئین A1 توسط هموسیستئین تیولاکتون می‌باشد (۲۱). بنابر این افزایش انواع اکسیژن فعال و نیز هموسیستئینیله شدن پروتئین‌ها منجر به کاهش فعالیت آنتی

### References:

1. De Jong PT. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; **355**(14): 1474-1485.
2. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ* 2004; **82**(11): 844-851.
3. Bourla DH, Young TA. Age-related macular degeneration: a practical approach to a challenging disease. *J Am Geriatr Soc* 2006; **54**(7): 1130-1135.

4. MacDonald IM. Genetic aspects of age-related macular degeneration. *Can J Ophthalmology* 2005; **40**(3): 288-292.
5. Judge S, Jang YM, Smith A, Hagen T, Leeuwenburgh C. Age-associated increases in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in cardiac interfibrillar mitochondria: implications for the mitochondrial theory of aging. *FASEB J* 2005; **19**(3): 419-421.
6. Jakubowski H. Protein homocysteinylation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocysteine levels. *FASEB J* 1999; **13**(5): 2277-2283.
7. Jakubowski H, Goldman E. Synthesis of homocysteine thiolactone by methionyl-TRNA synthetase in cultured mammalian cells. *FEBS Lett* 1993; **317**(3): 237-240.
8. Jarvik GP, Hatsukami TS, Carlson C, Richter RJ, Jampsa R. Paraoxonase activity, but not haplotype utilizing the linkage disequilibrium structure, predicts vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**(10): 1465-1471.
9. Nevin DN, Zambon A, Furlong CE, Richter RJ, Humbert R. Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; **16**(10): 1243-1249.
10. Fujimoto WY. Friedewald's LDL-cholesterol estimation formula in a Japanese American population. *Jpn Circ J* 1988; **52**(7): 604-606.
11. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; **35**(2): 214-227.
12. Coral K, Raman R, Rathi S, Rajesh M, Sulochana KN. Plasma homocysteine and total thiol content in patients with exudative age-related macular degeneration. *Eye* 2006; **20**(2): 203-207.
13. Ghaedi M, Haji Zeinali AM, Boroumand MA, Abbasi SH. Homocysteine level in CAD patients of Iranian population. *Iranian Cardiovascular Research Journal* 2007; **1**(2): 92-97.
14. Ray JG. Review: elevated homocysteine levels are modestly associated with increased ischemic heart disease and stroke risk. *ACP J Club* 2003; **138**(4): 78-84.
15. Homocysteine studies collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. *JAMA* 2002; **20**(16): 15-22.
16. Ciaccio M, Bivona G, Bellia C. Therapeutically approach to plasma homocysteine and cardiovascular risk reduction. *Ther Clin Risk Manag* 2008; **4**(1): 219-224.
17. Heuberger RA, Fisher AI, Jacques PF, Klein R, Klein B. Relation of blood homocysteine and its nutritional determinants to age-related maculopathy in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 2002; **76**(4): 897-902.
18. Baskol G, Karakucuk S, Oner AO, Baskol M, Kocer D. Serum paraoxonase 1 activity and lipid peroxidation levels in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmologica* 2006; **220**(1): 12-16.
19. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999; **26**(7-8): 892-904.
20. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paro SL. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; **101**(8): 1581-1590.
21. Jakubowski H. Protein homocysteinylation: a new mechanism of atherogenesis. *Postepy Hig ed Dosw* 2005; **59**(1): 392-404.
22. Jakubowski H, Ambrosius WT, Pratt JH. Genetic determinants of homocysteine thiolactonase activity in humans: implications for atherosclerosis. *FEBS Lett* 2001; **491**(11): 35-39.
23. Chwatko G, Jakubowski H. The determination of homocysteine-thiolactone in human plasma. *Anal Biochem* 2005; **337**(2): 271-277.
24. Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001; **108**(4): 697-704.
25. De32Smith W, Mitchell P, Leeder SR. Dietary fat and fish intake and age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol* 2000; **118**(5): 401-404.
26. Chong W, Wong T, Kreis A, Simpson J, Guymer R. Dietary antioxidants and primary prevention of age related macular degeneration: systematic review and meta-analysis 2007; **335**(7623): 755-763.