

## BÖLÜM 5

# PARAOKSONAZ- 1 VE ATEROSKLEROTİK KALP HASTALIKLARI

Dr. Öğretim Üyesi Fatih AKSOY<sup>1</sup>

### GİRİŞ

Paraoksonaz (PON) multigen ailesi insan kromozomunda 7. kromozomda lokalizedir<sup>1</sup>. PON-1, PON-2 ve PON-3 olarak üç üyeden oluşmaktadır<sup>2</sup>. Hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip olan PON-1 kalsiyum bağımlı bir hidrolazdır<sup>3</sup>. Yapılan çalışmalarda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olan PON-1 'in HDL ile ilişkili olduğu ve oksidatif LDL'nin yıkıcı etkilerini azalttığı gösterilmiştir<sup>3</sup>. Ateroskleroz gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en önemli ölüm nedenidir<sup>4</sup>. Ateroskleroz sürecinde okside-LDL süreci ilerleten en önemli faktörlerdendir<sup>4</sup>. Serum HDL ile ilişkilendirilen PON-1'in KAH<sup>5</sup>, diyabetes mellitus<sup>6</sup>, böbrek yetmezliği<sup>7</sup> ve hiperkolesterolemi<sup>6</sup> riskini azalttığı gösterilmiştir.

### Paraoksonaz ailesi

Paraoksonoz enzim ailesi PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere üç enzim grubundan oluşmaktadır. İnsan kromozomunda PON ailesi kromozom üzerinde bulunan üç ayrı gen tarafından kodlanır<sup>8</sup>. Yapısal homolojiye bakıldığında PON-2 'nin ailenin en eski üyesi olduğu ve PON-1 ve PON-3 'ün gen duplilkasyonu

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD.

nu sonucu sentezlendiği düşünülmektedir<sup>8</sup>. Daha önce yapılan çalışmalarda PON-1'in böcek ilacı parathionunun toksik metaboliti olan paraoksonu hidrolize ettiği tespit edilmiştir<sup>2,9</sup>. Ancak PON-2 ve PON-3'ün ksenobiyotikleri yıkım etkisi bulunmamaktadır<sup>3</sup>. Paraoksonaz aktivitesinin yanı sıra PON1, tiolaktonları, doymamış alifatik esterleri, aromatik karboksilik esterleri ve karbamatları hidrolize edebilen laktonaz ve ester hidrolaz aktivitelere sahiptir<sup>10</sup>. PON ailesi üyelerinin tümünün HDL ve LDL' ye lipid peroksitlerine yıkma etkisine sahiptir<sup>3</sup>. İnsanlarda, PON1 ve PON3 temel olarak karaciğerde kan dolaşımına salgılanmakta ve enzimler çoğunlukla HDL' ye bağlı olarak bulunmaktadır<sup>1</sup>. PON-3 karaciğerin yanında böbreklerden de salınmaktadır<sup>11</sup>. Buna karşılık PON2, karaciğer, akciğer, plasenta, testis ve kalp gibi çeşitli organlarda eksprese edilir, ancak dolaşımında bulunmaz<sup>12</sup>.

### **Paraoksonaz-1 (PON1): Bir Antioksidan Enzim**

Paraoksonaz ailesinin en çok bilinen ve çalışılan üyesi olan PON1 (EC 3.1.8.1), bir arildialkilfosfataz olarak sınıflandırılmaktadır<sup>2</sup>. PON-1 geni insanlarda 7. Kromozomda (7q21.3-q22.1) lokalizedir<sup>13</sup>. PON1 transkripsiyonu, spesifik protein 1 (Sp1), protein kinaz C ve peroksizom proliferatör aktifleştirilen reseptörler (PPAR) ile düzenlenir<sup>14,15</sup>. Bağlanma bölgesi PON1 geninde bulunan Sp1, PON1'in pozitif düzenleyicisidir<sup>16</sup>. Yapılan çalışmada hepatik hücre dizelerinde Sp1 artışının PON-1 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Öte yandan eksikliği ise PON-1 transkripsiyonunda azalma ile sonuçlanmaktadır<sup>17</sup>. Ek olarak, protein kinaz C'nin özellikle zeta izoformu, Sp1'in PON1 DNA promotörüne bağlanma yoğunluğunu artırır, böylece transkripsiyonunda rol oynar<sup>14,17</sup>.

PON-1 kan dolaşımına salındığında önemli ölçüde HDL' e bağlı olarak bulunmaktadır<sup>18</sup>. HDL üzerinde PON-1'in hidrofo-bik N terminal bölgesi için bağlanma noktası bulunmaktadır<sup>19</sup>.

PON-1 bu bölgeye bağlanarak stabilize olur ve fonksiyonu için hidrofobik ortam oluşur<sup>20</sup>. Hidrofobik ortam PON-1'in enzimatik aktivitesi için gereklidir<sup>21</sup>. Diyabet gibi hastalıklar hidrofobik yapıyı bozarak enzimatik aktivitede azalmaya total olarak PON-1 aktivitesini kötüleştirir. PON-1/HDL apolipoprotein A-I (apoA-I) ve apolipoprotein J (ApoJ) ile de ilişkilidir<sup>22</sup>. ApoA-I, PON-1/HDL stabilizasyonunu artırırken klusterin olarak bilinen ApoJ ise PON-1 için sitoprotektif etki gösterir<sup>23</sup>.

PON-1 paraoksonaz aktivitesi ile bulunmasına rağmen, etki in vitro keşfedilmiş olup fizyolojik açıdan anlamı düşüktür. PON-1 asıl etkisi üç başlık altında sınıflandırılabilir: laktonaz, esteraz ve fosfotriaz, dolayısıyla farklı substratların katalizinden sorumludur<sup>24</sup>.

### **PON1 ve Glikoz Homeostazi**

PON-1 açlık kan glukoz seviyelerini, glikoz toleransını ve insülin duyarlılığını etkilediği için glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar<sup>25</sup>. PON-1'in kastaki glikoz taşıyıcı 4 (GLUT4) ekspresyonunu bir insülin reseptöründen bağımsız bir şekilde düzenlediği gösterilmiştir<sup>25</sup>. PON-1'in yokluğunda, glikolizin etkinliği ve Krebs döngüsü azalır ve bu nedenle bu iki yolda elde edilen enerji bozulur. Buna karşılık, pentoz fosfat yolu daha aktif hale gelir, bu da üretilen NADPH'nin artması anlamına gelir

## **PON1 VE ATEROSKLEROSİS GELİŞTİRME İLE BAĞLANAN HASTALIKLAR**

### **PON1 ve vasküler hastalıklar**

Ateroskleroz, intima düzeyinde lipid birikimi ve immün hücrelerin kombinasyonundan kaynaklanan enflamatuar bir hastalıktır. Aterosklerozu başlatan en önemli basamak endotel hasarı sonrasında LDL kolesterolün intimaya göçü, oksidasyonu ve sonrasında monositlerin migrasyonu ile köpük hücrelerinin oluşu-

modur. Bunlar daha sonra endoteldeki yağ çizgileri haline gelecek ve sonra ateromatöz plaklar oluşturacaktır<sup>26</sup>.

Enflamasyon ve oksidatif stres, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonuna yol açar. Monosit kemoatraktan protein-1'in (MCP-1) endotel hücrelerden salınması monositlerin göçüne yol açacaktır. Bunlar, okside olmuş LDL'yi (oxLDL) fagosite ederek, köpük hücreleri haline gelecek şekilde makrofajlarda farklılaşacaktır. PON1, oxLDL'yi hidrolize eder, LDL'ye geri döndürür ve aterosklerozun ilerlemesini inhibe ederek makrofajlardan kolesterol akışını arttırır<sup>27</sup>.

Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, PON-1'in aşırı ekspresyonunun, inflamasyon ve ateroskleroza karşı artan bir direnç oluşturduğunu ortaya koymuştur<sup>28</sup>. PON-1 ekspresyonu azaltılan fareler ise artmış inflamasyon ve lipoprotein oksidasyonuna maruz hale gelmiştir<sup>29</sup>. Ek olarak makrofajlardaki PON-1 etkisi azaltıldığında glutatyon konsantrasyonları azalmış, oksidatif stress belirteçleri artmış ve süreç okside LDL düzeyinin artışı ve köpük hücre oluşumu ile sonuçlanmıştır<sup>30,31</sup>. Plak oluşumundaki hücre içi ilk basamaklardan birisi okside LDL artışına bağlı olarak MCP-1 sekresyonunda upregulasyondur. PON-1 MCP-1 salgılanmasını azaltmaktadır. Bu etkisini endotelden MCP-1 salgılanmasını azaltarak ve MCP-1 oluşumunu artıran ve monositlerin endotel hücrelerine yapışmalarını sağlayan LDL-derived okside fosfolipit oluşumunu azaltarak yapar<sup>32</sup>. Ek olarak, makrofaj fosfolipidleri üzerine HDL ile ilişkili PON1 hidrolitik etkisi ile indüklenen lizofosfatidilkolin oluşumu, makrofajlara HDL bağlanmasını arttırır ve sonuç olarak kolesterol akışını arttırır<sup>33</sup>. Okside olan HDL ve LDL serbest oksijen radikalleri oluşumu (ROS) ile oksidasyonları sonucu ile inflamatuvar belirteçlere dönüşebilirler<sup>34</sup>. PON-1 sadece kendisi ve HDL ile kombinasyonu ROS'u çeren bakır iyonu ve serbest radikallerin desteklediği LDL oksidasyonuna karşı koruma sağlar<sup>35</sup>. Bu temel olarak okside

LDL yapısındaki peroksit fosfolipidleri hidrolize etme ve aterojenik lipit peroksitlerin etkilerini nötrleştirme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır<sup>35</sup>. Dahası, PON1 LDL'nin oksidasyonunu inhibe ettiği için, damar duvarındaki hücreler tarafından üretilen monosit kemoatraktan proteini 1 (MCP-1) gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin upregülasyonunu önler<sup>35</sup>. Sonuç olarak, PON1 LDL'nin pro-aterojenik özelliklerini azaltır, bu da hücre zarı bütünlüğünün ve kardiyovasküler komplikasyonların koruyucusu rolünü gösterir<sup>36</sup>. PON-1, makrofajlardan kolesterolün geriye transportunu artırarak HDL'nin anti aterojenik etkilerini artırır<sup>37</sup>. Kronik inflamasyon ve hastalıklar PON-1 aktivitesinde azalmaya yol açarak HDL yapısında değişikliğe yol açar sonuç olarak lipoproteinin işlev bozukluğu oluşturur ve bunun yanı sıra antioksidan ve antienflamatuvar kapasiteyi azaltır<sup>38</sup>. PON-1 aktivitesinin azalması sonrasında kolesterol akışı ve geriye kolesterol taşınımı bozulur. HDL'nin LDL'yi modüle etme ve onu daha fazla oksidasyondan koruma yeteneği azaldıkça, LDL plazma seviyeleri artar. Sonuç olarak, oksidan durumu da artar. Dolaşımdaki okside LDL'deki artış, MCP-1'in yükselmesine ve ayrıca ateroskleroz gelişimini destekleyen endotelial hücrenin aktivasyonuna neden olur<sup>32,39</sup>. Belirtilen durumlar kardiyovasküler hastalık gelişme riskini artırır ve buna bağlı komplikasyonların görülme sıklığını artırır<sup>40</sup>. Sonuç olarak PON-1 aterosklerozun başlangıcında gelişiminde ve önlenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Yapılan çalışmalarda okside serbest sulfidril gruplarının inhibisyonu ve okside fosfolipitler, okside kolesterol esterleri veya lizofosfatidilkolin gibi LDL oksidasyonu sonucu oluşan okside lipitler yoluyla okside LDL'nin PON-1 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir<sup>41</sup>. Bu bağlamda PON-1 okside LDL düzeyini azaltırken aynı zamanda okside LDL tarafından aktivitesi azaltılmaktadır. Ek olarak okside LDL PON-1'in arilesteraz aktivitesini de azaltmaktadır<sup>41</sup>. Prooksidan seviyeyi artıran metabolik hastalık-

lar ROS düzeylerini artırarak artmış oksidatif stress ile sonuçlanmakta ve PON1'in antioksidan etkisini ve biyoyararlanımını azaltmaktadır<sup>35,41</sup>.

## PON1 ve Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonunun bozulması, insülin direncinin oluşması veya her ikisinin de eşlik etmesi ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır<sup>42</sup>. Hastaların Tip 1 DM ve Tip 2 DM olmak üzere başlıca iki tipi vardır. Tip 1 DM' de pankreas B hücrelerine karşı otoimmün yanıt oluşarak insülin sekresyonunda bozulma ortaya çıkarken Tip 2 DM'de ön planda hiperglisemi insülin direnci görülmekle birlikte daha az sıklıkla B Hücre disfonksiyonu da görülebilmektedir<sup>43</sup>. Yapılan bir çok çalışmada Tip 1 ve Tip 2 DM 'da PON-1 aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir<sup>44,45</sup>.

Diabetes Mellitus hastalarında azalmış PON-1 aktivitesi saptanmış olup komplikasyonlar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>46</sup>. Bazı çalışmalarda ise PON-1 seviyesinde fark olmadığı ancak fonksiyonunun daha düşük olduğu saptanmıştır<sup>47</sup>. Diyabetik hastalarda PON-1 aktivitesindeki düşüşün en önemli nedeni hipergliseminin bir sonucu olarak nonenzimatik glikasyondur<sup>48</sup>. PON-1 aktivitesindeki azalışın bir diğer nedeni ise HDL partiküllerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklerden kaynaklanmaktadır. DM hastalarındaki HDL partikülleri, dislipidemi, hiperglisemi ve oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkan yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara duyarlıdır. Bu, HDL dağılımında küçülmeye trigliserit dağılımında ise genişlemeye yol açar<sup>49</sup>. Ayrıca diyabetes mellitus'ta PON-1/HDL yapısında değişiklikler oluşarak PON-1 için gerekli olan hidrofobik ortam bozulur ve aktivitesi azalır<sup>21</sup>. Ek olarak diyabette ortaya çıkan oksidatif stress, hiperlipidemi ce hiperglisemiye bağlı olarak HDL yapısı diyabetik hastalarda daha hassastır. Bu durum HDL'nin daha kü-

çük boyutlara indirgenmesine trigliseritlerin ise daha büyük hale gelmesine neden olur<sup>49</sup>.

Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda PON-1 aktivitesinin azaldığı gösterilse de PON-1 aktivitesinin diyabet gelişimine etkisi hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır<sup>48,50</sup>. Ek olarak diyabetik hastalarda PON-1 polimorfizmi ile bilgiler bulunmakla birlikte çelişki mevcuttur<sup>50</sup>. Yapılan bir çalışmada PON-1 polimorfizmi ile diyabetik komplikasyonlar arasında ilişki saptanmıştır<sup>51</sup>. PON-1 Diayabetes mellitus ilişkisini araştıran geniş çaplı araştırmalar gerekmektedir.

### **PON-1 ve renal hastalıklar**

Böbrekler metabolizmada ve üremik toksinlerin atılmasında çok önemli bir rol oynadığından, bozulmuş böbrek fonksiyonu ve bu moleküllerin birikmesi PON1'in aktivitesini önemli ölçüde etkileyebilir<sup>52</sup>. Yapılan çalışmalarda üremik toksinlerin oksidatif stresi ve inflmasyonu artırdığı ve sonuç olarak HDL yapı ve fonksiyonunu azalttığı, PON-1 aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir<sup>53</sup>. Bu hastalarda PON-1'in oksidasyon, glikasyon veya karbamilasyon ile modifikasyonu, aktivitesini önemli ölçüde azaltır ve HDL'den ayrışmasına neden olabilir<sup>54,55</sup>. Yapılan çalışmalarda da renal hastalarda PON-1 aktivitesinde azalma ve lipit profilinde bozulma saptanmıştır<sup>56,57</sup>. Böbrek hastalığı olan hastalarda aterosklerozun ilerlemesinde en önemli nedenlerinden biri yukarıda anlatılan sebeplerle PON-1'i aktivitesinde azalmaz.

### **PON-1 ve akciğer hastalıkları**

Daha önce belirtildiği gibi, kronik inflamatuvar durumlar HDL'nin yapısında ve fonksiyonunda, HDL'nin ateroprotektif rolünü, tehlikeye atacak şekilde önemli değişikliklere neden olabilir ve CVD gelişimi için yüksek risk olarak tanımlanır<sup>58</sup>. Bu gibi

durumlarda ateroskleroz riskinde artış, PON1'deki değişikliklere ve antioksidan özelliklerinin kaybına bağlıdır<sup>59</sup>. Kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA) olan hastalarda PON-1 aktivitesi düşük olarak bulunmuştur<sup>60</sup>. Diğer bir çalışmada ise daha ileri evre KOA formlarında PON1 aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiş ve KOA KA ilişkisi bu durum ile açıklanmıştır<sup>61</sup>. Ek olarak PON-1 Q192R gen polimorfizminin KOA'lı hastalarda daha sık olduğu gösterilmiştir<sup>62</sup>. Sarkoidoz hastalarında ise artan inflamatuvar cevap ile ilişkili olarak PON-1 aktivitesinde azalma ve inflamatuvar yanıtın bir göstergesi olan serum amiloid arasını da ters ilişki olduğu saptanmıştır<sup>63</sup>.

### **Diyet ve PON-1**

Diyet kompozisyonu PON-1 modülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Lipitten zengin diyet inflamasyon ve oksidatif stresi artırmaktadır. Diyet lipidlerinin artması, TNF- $\alpha$ , interlökin 1 ve interlökin 6 gibi ROS, lipid hidroperoksitlerin ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini artmasına neden olur<sup>11</sup>. Bu faktörler PON1 ekspresyonunda bir düşüşe ve dolayısıyla hepatik PON1 sekresyonunda azalmaya neden olur. Serum HDL-PON1 aktivitesinin yüksek yağlı diyetle azaldığı ve bunun ters kolesterol taşınımının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir<sup>64</sup>. Sukrozdaki yüksek diyet, sukrozun glukoz ve früktoza metabolize olması nedeniyle glukoz metabolizmasını etkiler<sup>65</sup>. Sukrozdaki yüksek diyet hipertansiyonu oluşturması nedeniyle dolaşımdaki VLDL düzeyini artırır<sup>66</sup>. Birçok çalışmada sukrozdaki zengin diyetin hem hiperlipidemi hem de oksidatif stresi artırarak PON-1 aktivitesinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir<sup>65,67</sup>. Ancak diğer bir çalışmada ise sukrozdaki zengin beslenmesinin PON-1 aktivitesini artırdığı gösterilmiştir<sup>68</sup>. Koroner arter hastalığına karşı en iyi koruyucu diyet olarak bilinen Akdeniz diyetinin beslenme sonrası PON-1 aktivitesini artırdığı gösterilmiştir<sup>69</sup>. Benzer sonuçlar ailesel hi-



perlipidemi olgularda omega-3 doymamış yağ asitlerinin kullanılması sonrası da elde edilmiştir<sup>70</sup>. Diğer bir çalışmada zeytinyağı tüketiminin PON-1 aktivitesinde artışa ve yaşa bağlı HDL düşüşünü azaltmaya neden olacağını göstermiştir<sup>71</sup>. Yapılan çalışmalarda statinler, fibratlar, probucol ezetimib gibi kolesterol düşürücü ilaçların, aspirinin, antidiyabetik ilaçların eplerenonun ve eritropoetin betanın PON-1 aktivitesini artırdığı gösterilmiştir<sup>72-82</sup>. Ayrıca diyetle antioksidan besinlerin eklenmesi aynı şekilde PON-1 aktivitesinde artışa yol açacaktır. Yapılan çalışmalarda vitamin C ve vitamin E'nin, yeşil çayın, Üzüm çekirdeği özünün, yaban mersininin, nar suyunun, hurmanın PON-1 aktivitesini artırdığı gösterilmiştir<sup>83-87</sup>.

Serum PON1 aktivitesini arttırmak için endojen PON-1 aktivitesini artıran yukarıda belirtilen statinler gibi ilaçlar ve besin özleri kullanılabilir veya eksojen olarak PON-1 kullanılabilir. Antihiperlipidemik ilaçların ve oral antidiyabetiklerin PON-1 aktivitesini artırıcı etkileri olsa da kronik dönemde kullanımları bazı yan etkilere yol açabilmekte ve sağlıklı bireylerde kullanımı geniş klinik araştırmalara gerek duymaktadır. Bununla beraber, diyet bileşenleri ve / veya takviyeleri büyük umut vaat eden bir alandır. Polifenoller veya benzer bileşikler içeren çeşitli meyvelerden elde edilen ekstraktların PON1 aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Diğer çeşitli antioksidanlar, benzer pozitif sonuçlar vermiştir<sup>88</sup>. Ancak mevcut etki PON-1 aktivitesinde % 50'den fazla artışa yol açmamaktadır. Sınırlı sayıda in vitro çalışmada, belirli ekspresyon sinyallerini ve transkripsiyon faktörlerini özel olarak hedefleyerek gen ekspresyonunun up-regülasyonunun mümkün olduğunu göstermiştir. PKC, p44 / 42 MAPK, Sp1, SREBP-2 ve Ah reseptörleri, PON1 ekspresyonunun artmasıyla ilişkilendirilen hedefler arasındadır, ancak bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır<sup>89</sup>. Eksojen PON-1 uygulaması ise hayvan deneyleri ile sınırlıdır<sup>90</sup>.

## SONUÇ

Aterosklerotik kalp hastalıkları toplumda önde gelen mortalite ve morbiditeye neden olan halk sağlığı problemidir. Aterosklerotik kalp hastalığı gelişimindeki en önemli nokta olan aterosklerotik plaklarının gerilemesindeki en önemli nokta HDL'dir. HDL ise aktivitesini PON-1 ile birlikte yapmaktadır. Metabolik bozuklukların işareti olan oksidatif stres ve inflamasyonun PON1 seviyeleri ve aktivitesi üzerinde derin bir etkisi vardır. Ayrıca, PON1 seviyeleri ve aktivitesi, kalp ve karaciğer hastalıkları olan bireylerde olduğu kadar, DM ve obezitede de önemli ölçüde bozulmaktadır. Oluşabilecek mortalite ve morbiditenin önlenmesinde ve aterosklerotik hastalıkların takibinde PON-1 iyi bir belirteç olarak değerlendirilebilir. Akdeniz diyeti gibi yaşam tarzı değişiklikleri PON-1 aktivitesinde iyileşmeye yol açarak hastalıkların yıkıcı etkilerini azaltabilir. Ayrıca verilen tedavilerin PON-1 düzeyine etkileri takip edilerek etkinlikleri araştırılabilir. Özetle, PON-1'in sağlıklı ve hasta bireylerde çalışma mekanizmasını ve işlevini çözmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bunlar aynı zamanda metabolik bozuklukların mortalite ve morbiditesini önlemek için PON1 seviyelerinin ve aktivitesinin yeni düzenleyicilerini keşfetmeye yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Mackness M, Mackness B. Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene*. 2015;567(1):12-21.
2. Furlong CE, Marsillach J, Jarvik GP, Costa LG. Paraoxonases-1,-2 and-3: what are their functions? *Chemico-biological interactions*. 2016;259:51-62.
3. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, Shih DM, Lusic AJ, Navab M, Fogelman AM. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2001;21(4):542-547.
4. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Michos ED, Buroker AB, Miedema MD, Goldberger ZD, Muñoz D, Hahn EJ, Smith SC. 2019 ACC/AHA gui-

- deline on the primary prevention of cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2019;26029.
5. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1999;19(2):330-335.
  6. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1991;86(2-3):193-199.
  7. Paragh G, Seres I, Balogh Z, Varga Z, Kárpáti I, Mátyus J, Újhelyi L, Kakuk G. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron*. 1998;80(2):166-170.
  8. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*. 1996;33(3):498-507.
  9. Dias CG, Batuca JR, Marinho AT, Caixas U, Monteiro EC, Antunes AM, Pereira SA. Quantification of the arylesterase activity of paraoxonase-1 in human blood. *Analytical Methods*. 2014;6(1):289-294.
  10. Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nature genetics*. 1996;14(3):334.
  11. Ferretti G, Bacchetti T. Effect of dietary lipids on paraoxonase-1 activity and gene expression. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2012;22(2):88-94.
  12. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(48):44444-44449.
  13. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Camper SA, La Du BN. The genetic mapping and gene structure of mouse paraoxonase/arylesterase. *Genomics*. 1995;30(3):431-438.
  14. Arii K, Suehiro T, Ikeda Y, Kumon Y, Inoue M, Inada S, Takata H, Ishibashi A, Hashimoto K, Terada Y. Role of protein kinase C in pitavastatin-induced human paraoxonase I expression in Huh7 cells. *Metabolism*. 2010;59(9):1287-1293.
  15. Moraes LA, Piqueras L, Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. *Pharmacology & therapeutics*. 2006;110(3):371-385.
  16. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxona-

- se-gene (PON1) expression. *The American journal of human genetics.* 2001;68(6):1428-1436.
17. Osaki F, Ikeda Y, Suehiro T, Ota K, Tsuzura S, Arii K, Kumon Y, Hashimoto K. Roles of Sp1 and protein kinase C in regulation of human serum paraoxonase 1 (PON1) gene transcription in HepG2 cells. *Atherosclerosis.* 2004;176(2):279-287.
  18. Moya C, Máñez S. Paraoxonases: metabolic role and pharmacological projection. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology.* 2018;391(4):349-359.
  19. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein AI stabilizes activity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 1999;19(9):2214-2225.
  20. Deakin S, Leviev I, Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G, James RW. 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.* 2002;277(6):4301-4308.
  21. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 1995;15(11):1812-1818.
  22. Park S, Mathis K, Lee I. The physiological roles of apolipoprotein J/clusterin in metabolic and cardiovascular diseases. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.* 2014;15(1):45-53.
  23. Seo JA, Kang M-C, Ciaraldi TP, Kim SS, Park KS, Choe C, Hwang WM, Lim DM, Farr O, Mantzoros C. Circulating ApoJ is closely associated with insulin resistance in human subjects. *Metabolism.* 2018;78:155-166.
  24. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *Journal of lipid research.* 2005;46(6):1239-1247.
  25. Koren-Gluzer M, Aviram M, Hayek T. Paraoxonase1 (PON1) reduces insulin resistance in mice fed a high-fat diet, and promotes GLUT4 overexpression in myocytes, via the IRS-1/Akt pathway. *Atherosclerosis.* 2013;229(1):71-78.
  26. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nature Reviews Immunology.* 2013;13(10):709.
  27. Tavori H, Aviram M, Khatib S, Musa R, Nitecki S, Hoffman A, Vaya J. Human carotid atherosclerotic plaque increases oxidative state of macrophages and low-density lipoproteins, whereas paraoxonase 1 (PON1) decreases such at-

- herogenic effects. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;46(5):607-615.
28. Tward A, Xia Y-R, Wang X-P, Shi Y-S, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*. 2002;106(4):484-490.
  29. Shih DM, Xia Y-R, Wang X-P, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder G, Cheroutre H, Faull KF, Berliner JA, Witztum JL. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(23):17527-17535.
  30. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003;34(6):774-784.
  31. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;37(9):1304-1316.
  32. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;318(3):680-683.
  33. Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis*. 2005;179(1):69-77.
  34. Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fogelman AM. Mechanisms of disease: proatherogenic HDL—an evolving field. *Nature Reviews Endocrinology*. 2006;2(9):504.
  35. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(6):2882-2891.
  36. Mackness B, Mackness M. Anti-inflammatory properties of paraoxonase-1 in atherosclerosis. *Paraoxonases in Inflammation, Infection, and Toxicology*: Springer; 2010. p 143-151.
  37. 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. *The Journal of clinical investigation*. 1998;101(8):1581-1590.
  38. Farbstein D, Levy AP. HDL dysfunction in diabetes: causes and possible treatments. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2012;10(3):353-361.
  39. Clay MA, Pyle DH, Rye K-A, Vadas MA, Gamble JR, Barter PJ. Time sequence of the inhibition of endothelial adhesion molecule expression by re-

- constituted high density lipoproteins. *Atherosclerosis*. 2001;157(1):23-29.
40. Kontush A. HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. *Cardiovascular research*. 2014;103(3):341-349.
  41. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;26(7-8):892-904.
  42. Rosenzweig JL, Bakris GL, Berglund LF, Hivert M-F, Horton ES, Kalyani RR, Murad MH, Vergès BL. Primary Prevention of ASCVD and T2DM in Patients at Metabolic Risk: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2019;104(9):3939-3985.
  43. Petersmann A, Nauck M, Müller-Wieland D, Kerner W, Müller UA, Landgraf R, Freckmann G, Heinemann L. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2018;126(07):406-410.
  44. Craciun EC, Leucuta DC, Rusu RL, David BA, Cret V, Dronca E. Paraoxonase-1 activities in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Acta Biochimica Polonica*. 2016;63(3):511-515.
  45. Letellier C, Durou M, Jouanolle A, Le Gall J, Poirier J, Ruelland A. Serum paraoxonase activity and paraoxonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. 2008.
  46. Wu D, Wu C, Zhong Y. The association between paraoxonase 1 activity and the susceptibilities of diabetes mellitus, diabetic macroangiopathy and diabetic microangiopathy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2018;22(9):4283-4291.
  47. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vascular health and risk management*. 2018;14:137.
  48. Crow JA, Meek EC, Wills RW, Chambers JE. A case-control study: The association of serum paraoxonase 1 activity and concentration with the development of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2018;34(3):e2967.
  49. Dullaart RP, Otvos JD, James RW. Serum paraoxonase-1 activity is more closely related to HDL particle concentration and large HDL particles than to HDL cholesterol in Type 2 diabetic and non-diabetic subjects. *Clinical biochemistry*. 2014;47(12):1022-1027.
  50. Kotur-Stevuljevic J, Vekic J, Stefanovic A, Zeljkovic A, Ninic A, Ivanisevic J, Miljkovic M, Sopic M, Munjas J, Mihajlovic M, Spasic S, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. Paraoxonase 1 and atherosclerosis-related diseases. *Biofactors*. 2019.

51. Luo JQ, Ren H, Liu MZ, Fang PF, Xiang DX. European versus Asian differences for the associations between paraoxonase-1 genetic polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2018;22(3):1720-1732.
52. Gugliucci A, Mehlhaff K, Kinugasa E, Ogata H, Hermo R, Schulze J, Kimura S. Paraoxonase-1 concentrations in end-stage renal disease patients increase after hemodialysis: correlation with low molecular AGE adduct clearance. *Clinica chimica acta*. 2007;377(1-2):213-220.
53. Florens N, Calzada C, Lyasko E, Juillard L, Soulage C. Modified lipids and lipoproteins in chronic kidney disease: a new class of uremic toxins. *Toxins*. 2016;8(12):376.
54. Mastorikou M, Mackness B, Liu Y, Mackness M. Glycation of paraoxonase-1 inhibits its activity and impairs the ability of high-density lipoprotein to metabolize membrane lipid hydroperoxides. *Diabetic medicine*. 2008;25(9):1049-1055.
55. Chang C-T, Lim Y-P, Lee C-W, Liao H-Y, Chen F-Y, Chang C-M, Tang F-Y, Yang C-Y, Chen C-J. PON-1 carbamylation is enhanced in HDL of uremia patients. *Journal of food and drug analysis*. 2019;27(2):542-550.
56. Stefanović A, Ristovski-Kornic D, Kotur-Stevuljević J, Spasojević-Kalimanovska V, Vekić J, Miljković M, Paripović D, Peco-Antić A, Jelić-Ivanović Z, Zeljković A. Alterations of HDL Particles in Children with End-Stage Renal Disease. *Journal of medical biochemistry*. 2017;36(4):358-365.
57. Miljkovic M, Stefanovic A, Simic-Ogrizovic S, Vekic J, Bogavac-Stanojevic N, Cerne D, Kocbek P, Marc J, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. Association of dyslipidemia, oxidative stress, and inflammation with redox status in VLDL, LDL, and HDL lipoproteins in patients with renal disease. *Angiology*. 2018;69(10):861-870.
58. Montecucco F, Favari E, Norata GD, Ronda N, Nofer JR, Vuilleumier N. Impact of systemic inflammation and autoimmune diseases on apoA-I and HDL plasma levels and functions. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:455-82.
59. Karlsson H, Kontush A, James RW. Functionality of HDL: antioxidation and detoxifying effects. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:207-28.
60. Okur HK, Pelin Z, Yuksel M, Yosunkaya S. Lipid peroxidation and paraoxonase activity in nocturnal cyclic and sustained intermittent hypoxia. *Sleep and Breathing*. 2013;17(1):365-371.
61. Torres-Ramos YD, Guzman-Grenfell AM, Montoya-Estrada A, Ramirez-Venegas A, Martinez R, Flores-Trujillo F, Ochoa-Cautino L, Hicks JJ. RBC membrane damage and decreased band 3 phospho-tyrosine phosphatase activity are markers of COPD progression. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2010;2(1):1385-93.
62. Gürbüz Ş, Yıldız M, Kara M, Kargün K, Gürger M, Ateşçelik M, Alataş ÖD.

- Paraoxonase-1 gene in patients with chronic obstructive pulmonary disease investigation Q192R and L55M polymorphisms. *World journal of emergency medicine*. 2015;6(3):201.
63. Ivanišević J, Kotur-Stevuljević J, Stefanović A, Spasić S, Vučinić Mihailović V, Videnović Ivanov J, Jelić-Ivanović Z. Association of serum amyloid A and oxidative stress with paraoxonase 1 in sarcoidosis patients. *European journal of clinical investigation*. 2016;46(5):418-424.
  64. Bonen A, Dohm GL, Van Loon LJ. Lipid metabolism, exercise and insulin action. *Essays in biochemistry*. 2006;42:47-59.
  65. Diniz YS, Rocha KK, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Novelli Filho JLV, Cicogna AC, Novelli EL. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *European journal of pharmacology*. 2006;543(1-3):151-157.
  66. Flatt J. Conversion of carbohydrate to fat in adipose tissue: an energy-yielding and, therefore, self-limiting process. *Journal of lipid research*. 1970;11(2):131-143.
  67. Busserolles J, Zimowska W, Rock E, Rayssiguier Y, Mazur A. Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. *Life sciences*. 2002;71(11):1303-1312.
  68. Macan M, Vrkić N, Lucić Vrdoljak A, Radić B, Bradamante V. Effects of high sucrose diet, gemfibrozil, and their combination on plasma paraoxonase 1 activity and lipid levels in rats. *Acta Biochimica Polonica*. 2010;57(3):321-6.
  69. Blum S, Aviram M, Ben-Amotz A, Levy Y. Effect of a Mediterranean meal on postprandial carotenoids, paraoxonase activity and C-reactive protein levels. *Annals of nutrition and metabolism*. 2006;50(1):20-24.
  70. Calabresi L, Villa B, Canavesi M, Sirtori CR, James RW, Bernini F, Franceschini G. An  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid concentrate increases plasma high-density lipoprotein 2 cholesterol and paraoxonase levels in patients with familial combined hyperlipidemia. *Metabolism*. 2004;53(2):153-158.
  71. Loued S, Berrougui H, Componova P, Ikhlef S, Helal O, Khalil A. Extra-virgin olive oil consumption reduces the age-related decrease in HDL and paraoxonase 1 anti-inflammatory activities. *British Journal of Nutrition*. 2013;110(7):1272-1284.
  72. Deakin S, Leviev I, Guernier S, James RW. Simvastatin modulates expression of the PON1 gene and increases serum paraoxonase: a role for sterol regulatory element-binding protein-2. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23(11):2083-2089.
  73. Kassai A, Illyés L, Mirdamadi HZ, Seres I, Kalmár T, Audikovszky M, Páragh G. The effect of atorvastatin therapy on lecithin: cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. *Clinical biochemistry*. 2007;40(1-2):1-5.



74. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis*. 1998;138(2):271-280.
75. Paragh G, Seres I, Harangi M, Erdei A, Audikovszky M, Debreczeni L, Kovácsay A, Illyés L, Pados G. Ciprofibrate increases paraoxonase activity in patients with metabolic syndrome. *British journal of clinical pharmacology*. 2006;61(6):694-701.
76. Hong S-c, Zhao S-p, Wu Z-h. Probuocol up-regulates paraoxonase 1 expression in hepatocytes of hypercholesterolemic rabbits. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2006;47(1):77-81.
77. Turfaner N, Uzun H, Balci H, Ercan MA, Karter YH, Caner M, Sipahioglu F, Genc H. Ezetimibe therapy and its influence on oxidative stress and fibrinolytic activity. *Southern medical journal*. 2010;103(5):428-433.
78. Blatter-Garin M, Kalix B, De Pree S, James R. Aspirin use is associated with higher serum concentrations of the anti-oxidant enzyme, paraoxonase-1. *Diabetologia*. 2003;46(4):594-595.
79. Van Wijk J, Coll B, Cabezas MC, Koning E, Camps J, Rabelink T, Mackness B, Joven J. Rosiglitazone modulates fasting and post-prandial paraoxonase 1 activity in type 2 diabetic patients. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2006;33(12):1134-1137.
80. Noll C, Messaoudi S, Milliez P, Samuel J-L, Delcayre C, Janel N. Eplerenone administration has beneficial effect on hepatic paraoxonase 1 activity in diabetic mice. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):26-27.
81. Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A, Marciniak A, Łowicka E, Beltowski J. The differentiating effect of glimepiride and glibenclamide on paraoxonase 1 and platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Life sciences*. 2010;87(3-4):126-132.
82. Marsillach J, Martínez-Vea A, Marcas L, Mackness B, Mackness M, Ferré N, Joven J, Camps J. ADMINISTRATION OF EXOGENOUS ERYTHROPOIETIN  $\beta$  AFFECTS LIPID PEROXIDATION AND SERUM PARAOXONASE-1 ACTIVITY AND CONCENTRATION IN PREDIALYSIS PATIENTS WITH CHRONIC RENAL DISEASE AND ANAEMIA. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2007;34(4):347-349.
83. Tsakiris S, Karikas GA, Parthimos T, Tsakiris T, Bakogiannis C, Schulpis KH. Alpha-tocopherol supplementation prevents the exercise-induced reduction of serum paraoxonase 1/arylesterase activities in healthy individuals. *European journal of clinical nutrition*. 2009;63(2):215.
84. Kunes JP, Cordero-Koning KS, Lee LH, Lynch SM. Vitamin C attenuates hypochlorite-mediated loss of paraoxonase-1 activity from human plasma. *Nutrition research*. 2009;29(2):114-122.
85. Tas S, Sarandol E, Ziyank S, Aslan K, Dirican M. Effects of green tea on se-

- rum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition research*. 2005;25(12):1061-1074.
86. KIRYICI A, Okudan N, Gökbel H, Belviranlı M. The effect of grape seed extracts on serum paraoxonase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food*. 2010;13(3):725-728.
87. Rock W, Rosenblat M, Borochoy-Neori H, Volkova N, Judeinstein S, Elias M, Aviram M. Effects of date (*Phoenix dactylifera* L., Medjool or Hallawi Variety) consumption by healthy subjects on serum glucose and lipid levels and on serum oxidative status: a pilot study. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57(17):8010-8017.
88. Costa LG, Giordano G, Furlong CE. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: the hunt goes on. *Biochem Pharmacol*. 2011;81(3):337-44.
89. Ahmad S, Carter JJ, Scott JE. A homogeneous cell-based assay for measurement of endogenous paraoxonase 1 activity. *Anal Biochem*. 2010;400(1):1-9.
90. Costa LG, Cole TB, Jarvik GP, Furlong CE. Functional genomic of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu Rev Med*. 2003;54:371-92.