

# Faktory ovlivňující aktivitu a koncentraci antioxidantního enzymu paraoxonáza 1

Flekač M., Škrha J., Novotný Z.

3. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

## SOUHRN

Paraoxonáza 1 (PON1) hraje důležitou roli ve vzniku a rozvoji aterosklerotického postižení, diabetes mellitus a jeho komplikací. Bylo prokázáno, že u patologických stavů spojených s vystupňovanou tvorbou reaktivních forem kyslíku, jako jsou např. dyslipidémie, diabetes mellitus, kouření, různý stupeň inzulínové rezistence, je aktivita a/nebo koncentrace PON1 redukována. PON1 je kalcium dependentní esteráza vyskytující se v krvi lidí jako složka subfrakce lipoproteinů o vysoké hustotě, obsahujících apoA1. Fyziologickým substrátem PON1 jsou oxidované fosfolipidy, PON1 je schopna chránit LDL před oxidativním poškozením. Gen pro PON1 vykazuje řadu polymorfismů jak v kódující, tak v promotorové oblasti, které mohou být podle řady studií (ne však všech) jedním z rizikových faktorů rozvoje ICHS, diabetes mellitus a zejména jeho komplikací. V lidské populaci je velmi široké spektrum sérových koncentrací a aktivit PON1, podle některých studií jako odraz genotypu, podle jiných jako výsledek souhry jiných faktorů, zejména onemocnění, faktorů zevního prostředí (diety, fyzické aktivity, kouření, farmakoterapie apod.). Tento přehledný článek se zaměřuje na popis různých činitelů determinujících enzymové aktivity a koncentraci PON1, a to jak genetických, tak i zevního prostředí.

**Klíčová slova:** paraoxonáza, polymorfismus, enzymová aktivita, koncentrace PON1.

## SUMMARY

**Flekač M., Škrha J., Novotný Z.: Factors modulating activities and concentration of the antioxidant enzyme paraoxonase1**

Human serum paraoxonase (PON1) has been implicated to play an important role in cardiovascular disease and diabetes. Low PON1 activity and/or concentration has been shown in oxidative stress-associated processes such as dyslipidemia, diabetes mellitus, smoking, degree of insulin resistance. PON1 is a calcium-dependent esterase closely associated with the high-density lipoprotein (HDL) subfraction that contains apolipoprotein AI in human serum. Several lines of evidence are emerging that suggest that HDL can prevent oxidation of low-density lipoprotein (LDL) and that some oxidized LDL phospholipids are physiological substrates for serum PON1. The PON1 gene contains several polymorphisms in both the coding and the promoter regions. Many (but not all) studies in human populations have suggested that these polymorphisms may be a risk factor for CHD, diabetes and complications of DM. The serum concentration of PON1 across the general population is highly variable and there is a lot of studies focusing on the role of genotype and phenotype and whether polymorphisms (SNP) or the quantity and/or quality of the enzyme is most accurately associated with the risk of disease development. This review focuses on mechanisms which determine the serum PON1 status, including gene expression and genetic polymorphisms, protein secretion and association with HDL, pharmacological and environmental factors.

**Key words:** paraoxonase, polymorphisms, PON1 activity, concentration, modulating factors.

## Úvod

Paraoxonáza 1 (PON1) je glykoprotein tvořený 354 aminokyselinami, který je syntetizován v játrech a následně secernován do krve, kde je asociován s lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) [1]. PON1 byla identifikována jako první člen rodiny paraoxonáz, proto je z nich nejvíce prostudována. Skupina paraoxonáz zahrnuje ještě další dva členy, PON2 a PON3; všechny tři proteiny jsou kódovány geny lokalizovanými u člověka na dlouhém raménku 7. chromosomu [2]. Chemicky je zařazována do skupiny esteráz, na rozdíl od PON2 a PON3 je schopna hydrolyticky štěpit organofosfáty, např. paraoxon (podle kterého byla pojmenována), dále insekticidy parathion a chlorpyrifos a nervové jedy jako soman a sarin. Dále vykazuje laktonázovou aktivitu (stejně jako PON2 i 3), je tedy schopna hydrolyticky štěpit dihydrokumarin a jiné laktony [3], např. diuretikum spironolakton a inhibitory HMG-CoA reduktázy, statiny („statinázová aktivita“) a některé z fluorochinolonů, což může být – s ohledem na rozdílnou ak-

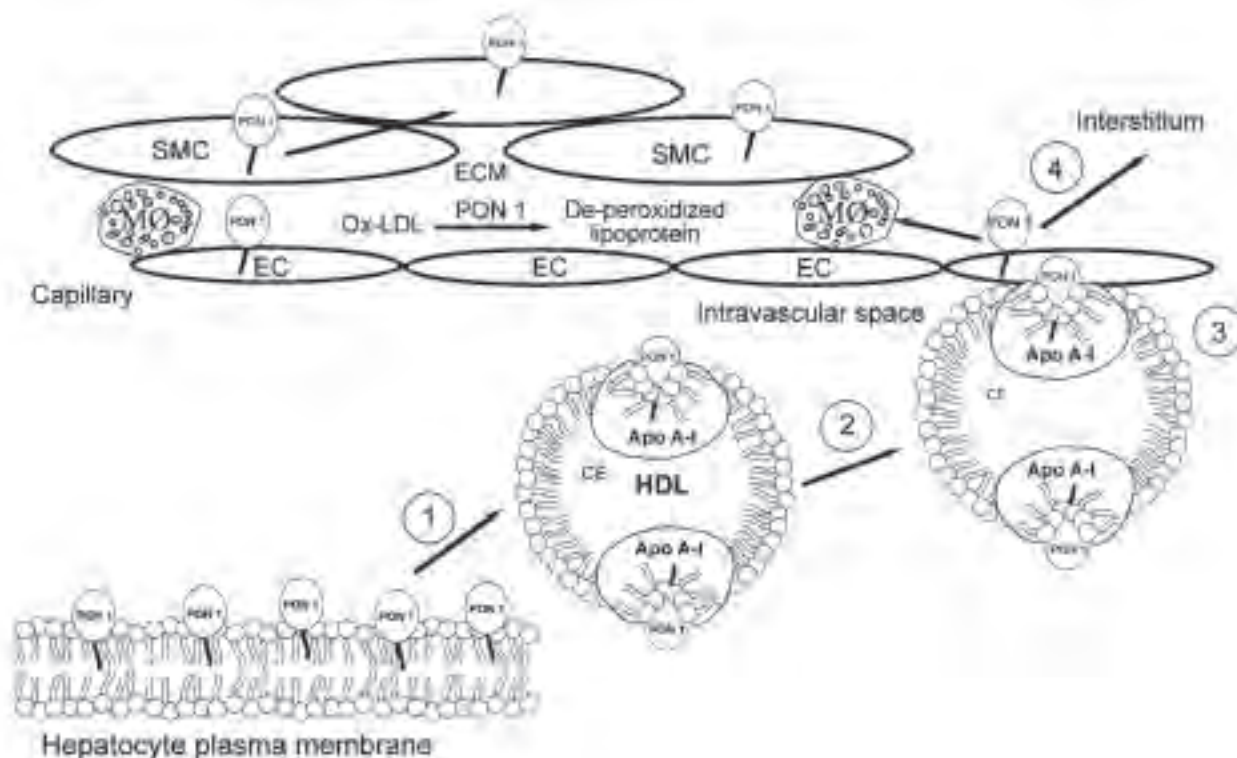
tivitu izoenzymů paraoxonázy (viz níže) a zejména široké spektrum sérových koncentrací a enzymové aktivity PON1 v populaci – do značné míry zodpovědné za variabilitu tkáňové koncentrace a eventuální riziko výskytu nežádoucích účinků těchto léků. Dále bylo *in vitro* opakovaně prokázáno, že PON1 inhibuje peroxidaci lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) a hydrolyticky štěpí oxidované fosfolipidy (jako fyziologické substráty), což jistě hraje významnou roli v procesu iniciace aterosklerózy [4]. Tato fakta dokládají četné studie na transgenických kmenech myši zbavených PON1, jejichž HDL nedokázaly zabránit oxidativnímu poškození LDL (vznik oxLDL) a jejichž makrofágy obsahovaly větší množství oxidovaných lipidů (oxLDL) v porovnání se zdravými kmeny myši. Tyto myši byly také více náchylné k otravě organofosfáty, intramuskulární aplikace paraoxonázy jim pak navrátila přirozenou míru odolnosti vůči otravě těmito jedy [5]. Hladiny enzymové aktivity a sérové koncentrace PON1 jsou v lidské populaci velmi variabilní (vykazuje negaussovské rozdělení), přičemž tyto parametry jsou velmi důležité z hlediska výše rizika

rozvoje aterosklerózy a jiných onemocnění, u nichž byla jako jeden z etiopatogenetických činitelů opakovaně prokázána vystupňovaná tvorba reaktivních forem kyslíku, např. při diabetes mellitus. Poznání faktorů, které mohou ovlivňovat aktivitu i koncentraci paraoxonázy (tzv. PON1 status), je proto důležité nejenom ve fázi prevence nemoci, ale i eventuálních terapeutických zásahů.

## PON1 a HDL

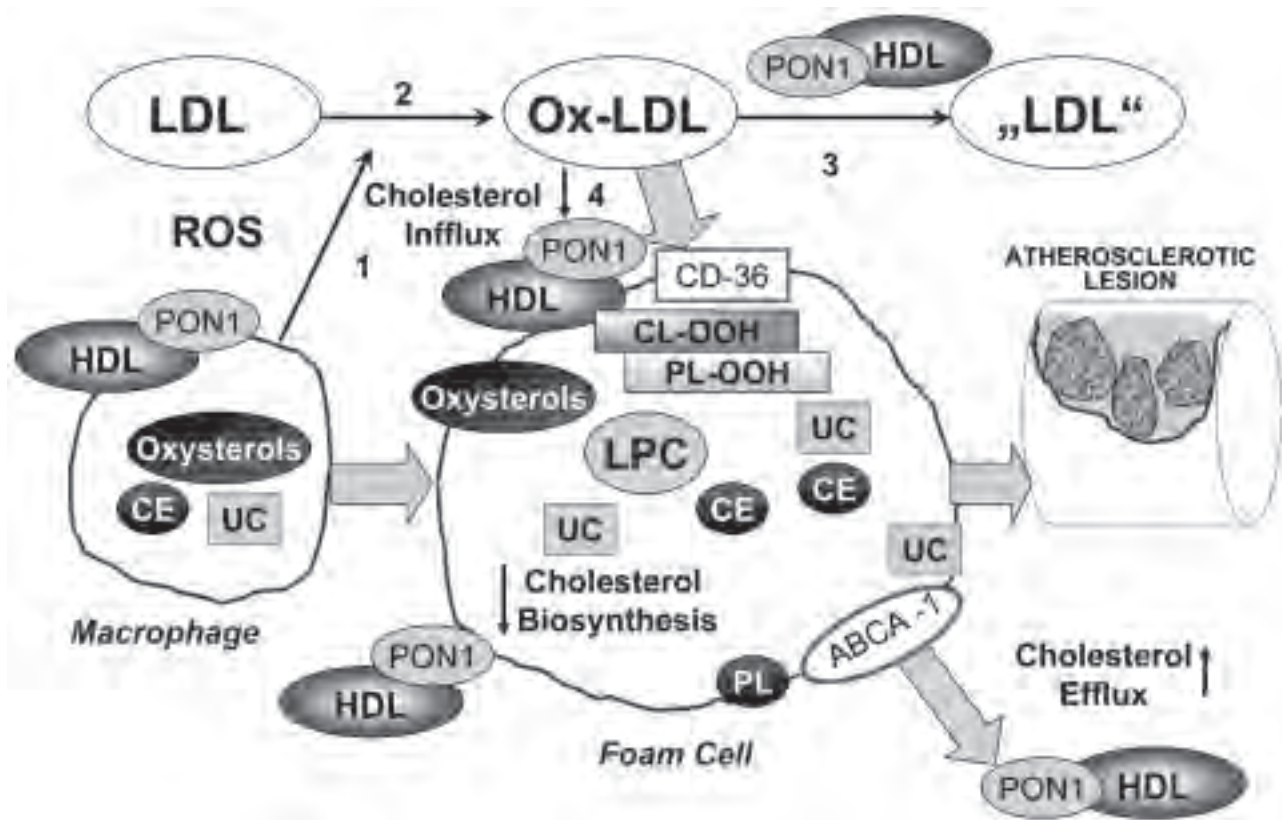
PON1 je syntetizována v hepatocytech a secernována do krve. Poznání mechanismu sekrece je důležité z důvodu možné modulace uvolňování enzymu exogenními faktory, což může do jisté míry ovlivnit hladinu enzymu v krvi. Bylo zjištěno, že pro sekreci PON1 do krve je důležitá přítomnost fyziologického akceptora, HDL (obr. 1). Přidání HDL do experimentálního modelu bez přítomnosti lipoproteinů stimulovalo, stejně tak jako aplikace fosfolipidů, sekreci PON1 z jaterních buněk [6]. Syntetizovaná PON1 je exprimována na vnější straně cytoplazmatické membrány hepatocytů a HDL ji po navázání se na receptor SR-B1 na povrchu buňky inkorporuje do molekuly vazbou s apoA1 [6]. Kromě schopnosti navázat HDL obsahující apoA1 a apoAII je SR-B1 schopna vázat k povrchu hepatocytů také mi-

cely obsahující fosfolipidy. Koncentrace HDL v krvi do značné míry ovlivňuje koncentraci PON1, jak bylo prokázáno u nemocí s nízkými HDL (např. mutace v genu pro apoA1, Tangierská nemoc apod.) [7]. PON1 je součástí HDL2 frakce lipoproteinů. V HDL je PON1 asociována s apoA1 nebo apoAII, v menší míře také s apoA a clusterinem. Avšak pro vazbu s fosfolipidy není apoA1 nepostradatelná, což potvrzují studie na myších modelech zbavených genu pro apoA1, kde byla demonstrována schopnost paraoxonázy asociovat se i s HDL bez přítomnosti příslušného apoproteinu [6]. V těchto případech má však paraoxonáza výrazně redukovanou aktivitu, stejně tak v situaci, kdy je součástí komplexu s fosfolipidy. Tato zjištění vysvětlují přítomnost PON1 v krvi u HDL deficitních vrozených poruch, samozřejmě s výrazně redukovanou aktivitou. Je tedy zřejmé, že PON1 nevyžaduje přítomnost apoA1 k vazbě na lipoproteiny, ale jejich přítomnost je nutná k udržení optimální aktivity a stability enzymu. Pro vazbu s HDL je ovšem esenciální N-terminální hydrofobní signální sekvence molekuly paraoxonázy, jež je její součástí ve formě secernované jaterními buňkami. Bylo prokázáno, že u mutantních molekul PON1 zbavených N-terminální signální sekvence ještě před exkrecí enzymu z buňky, nedošlo k navázání na HDL. Tvorba pěnových buněk, jež je známkou časného stadia aterosklerotické-



**Fig. 1.** Model of PON1 secretion, association with HDL and transport to places of lipid damage

(1) HDL is transiently bound to the cell surface via a receptor. (2) PON1 anchored in the cell membrane via its hydrophobic N-terminus is transferred to HDL under non-equilibrium conditions where it is stabilised by apoA-I. (3) PON1 enters the intravascular space with HDL. (4) Under more static conditions favouring diffusion, PON1 could transfer to phospholipids in plasma membranes, possibly during receptor mediated recruitment of cholesterol from endothelial or smooth muscle cells. (5) PON1 may therefore have access to the interstitium and areas of LDL accumulation and oxidative damage where it could protect against adverse effects of oxidation. The retained hydrophobic N-terminal signal peptide is represented by a thick black line. EC, endothelial cell; SMC, smooth muscle cell; MF, macrophage; ECM, extracellular matrix; Ox-LDL, oxidised LDL. This Figure was adapted from R. C. Sorenson, C. L. Bisgaier, M. Aviram, C. Hsu, S. Billecke and B. N. La Du, Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity [19].



**Fig. 2.** PON1 can inhibit foam cell formation due to various mechanisms

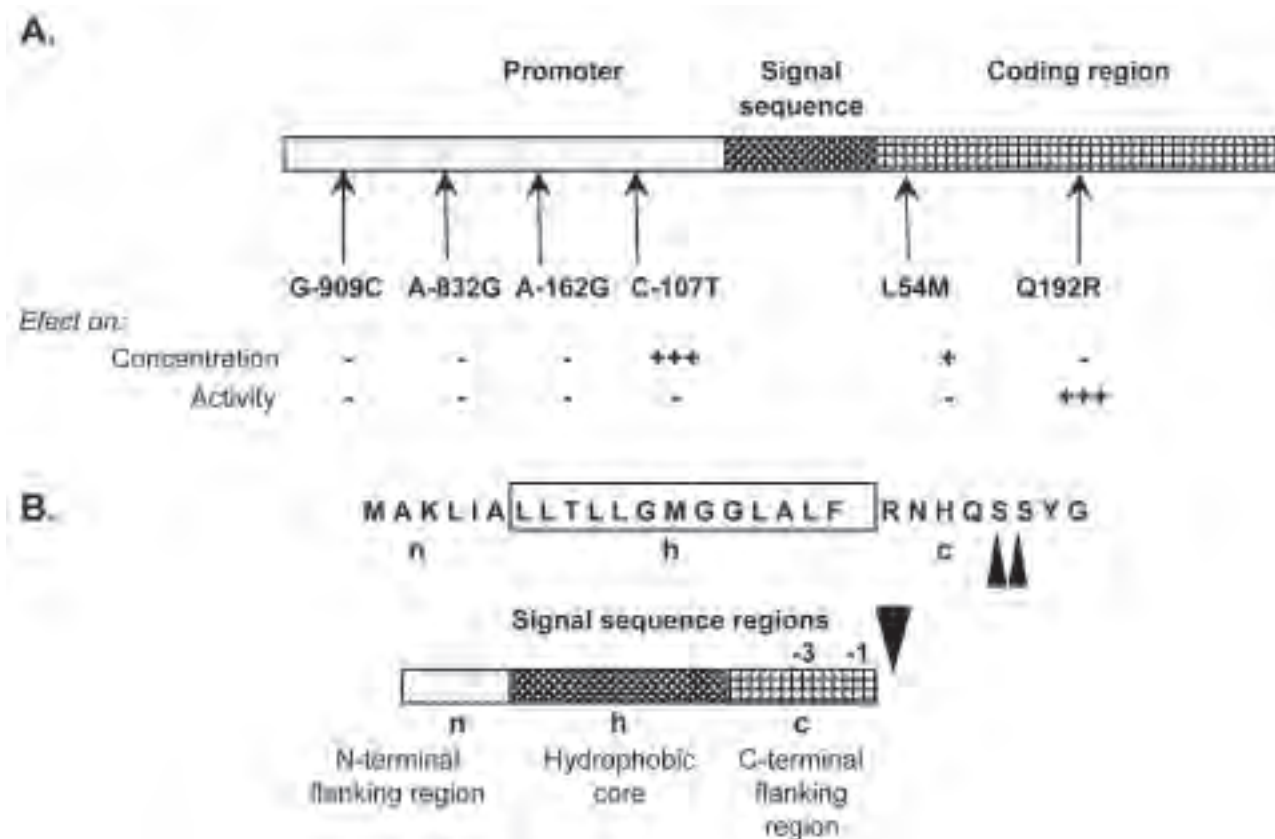
(1) hydrolysis of oxidates lipids in macrophages, (2) reduction of macrophages mediated oxidation of LDL, (3) reduction of ox-LDL by hydrolysis of lipoperoxides in LDL, (4) reduction of ox-LDL cell intake caused by interaction PON1 with CD-36 receptor, (5) inhibition of intracellular cholesterol biosynthesis, (6) increase of efflux by interaction with ABCA-1 (ATP binding cassette transporter) [21].

ho poškození cévní stěny, je do značné míry závislá na vztahu mezi mírou příjmu a výdeje cholesterolu z makrofágů. Řada experimentů ukázala, že paraoxonáza 1 je schopna zpomalovat tvorbu pěnových buněk několika mechanismy, které zahrnují inhibici syntézy cholesterolu [8], vycitávání oxidovaných LDL (ox LDL) přes scavengerový receptor CD 36 [9] s následným hydrolytickým štěpením oxLDL paraoxonázou a také jako součást molekuly HDL, interakcí HDL s receptory na povrchu buněk cévní stěny, zejména membrány makrofágů transformujících se v pěnové buňky, a to prostřednictvím SR-B1 [10] a ATP- vázajícím se s ABCA-1 receptorem [11] – obrázek 2.

## PON1 a genotyp

Jak již bylo uvedeno, gen pro PON1 je uložen na dlouhém raménku 7. chromosomu a je součástí multigenové rodiny paraoxonáz. Všechny tři geny (PON1, 2, 3) vykazují asi 70% shodu v nukleotidové sekvenci genu a asi 60% shodu v aminokyselinovém pořadí příslušného enzymu. Fylogeneticky nejmladším členem je právě PON1, nejstarším se zdá být PON2. Expres mRNA pro PON1 je omezena na hepatocyty, PON3 je syntetizována navíc i v ledvinách [12], PON2 je však široce distribuována v buňkách většiny tkání včetně endoteliálních buněk a hladkých svalových buněk arteriální stěny. PON1 i PON3 jsou detekovatelné v krvi, PON1 jako součást HDL, PON2 je lokalizována výhradně intra-

celulárně. V kódující oblasti genu pro PON1 jsou nejvíce studované polymorfismy (SNP – single nucleotide polymorphism) v pozici 55 a 192 (obr. 3). V kodonu 55 jde o substituci aminokyseliny leucinu methioninem, v kodonu 192 glutaminu argininem. V obou případech byl opakovaně prokázán vliv na enzymovou aktivitu proti různým substrátům. Např. paraoxon je hydrolyticky štěpen asi 6krát rychleji izoenzymem PON1 RR než PON1 QQ, zatímco homozygotní jedinci pro glutamin (QQ) štěpí účinněji soman, sarin nebo diazoxon. U některých substrátů nebyla ovšem závislost katalytické aktivity na genotypu PON1 pozorována, např. u fenylacetátu nebo dihydrokumarinu. Bylo prokázáno, že významný vliv Q192R polymorfismu na aktivitu je způsoben tím, že záměna popsáných aminokyselin se odrazí ve struktuře enzymu v místě esenciálním pro uplatňování hydrolytické aktivity vůči zmiňovaným substrátům. PON1 R izoenzym má také výrazně alterovanou schopnost zabránit oxidaci LDL, zatímco PON1 Q izoenzym vykazoval *in vitro* větší míru protekce [13]. Polymorfismus kodonu 55 neovlivňuje interakci paraoxonázy se zmíněnými substráty takovým způsobem jako Q192R, je asociován v případě M 55 izoformy s celkově sníženou paraoxonázovou aktivitou séra (a anti-oxidační schopností) a nižší koncentrací enzymu [14]. Výsledky řady studií podporuje i krystalografická analýza L 55 izoformy, která ukazuje na klíčový význam aminokyseliny leucinu v procesu uspořádání enzymu do terciární struktury. Rozdíl ve schopnosti jednotlivých forem PON1 z hlediska antioxidačního působení



**Fig. 3.** A representation of the human PON1 gene

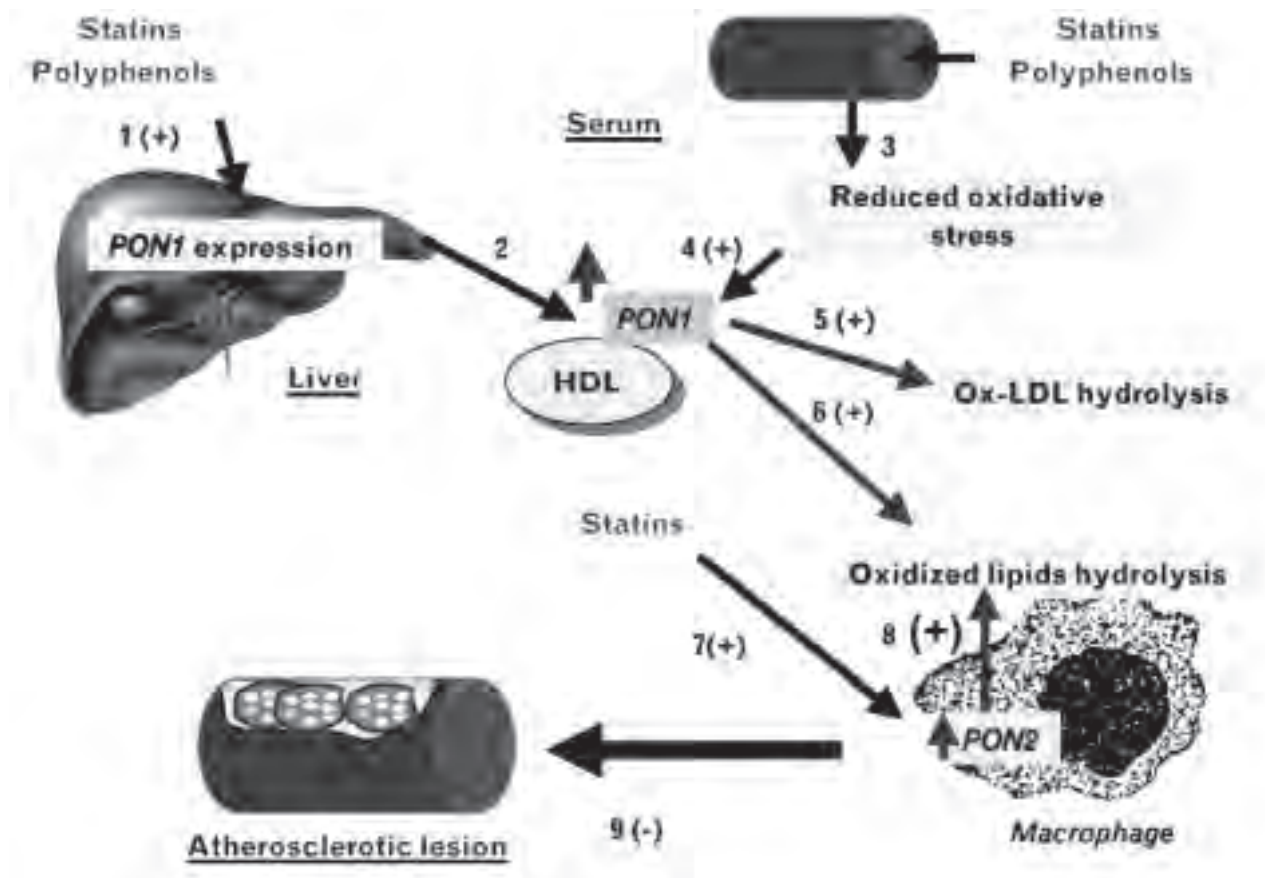
(A) Polymorphic sites in the promoter and coding regions and their effects on concentration and activity (\*independent of the effect on concentration). (B) Amino acid sequence of the N-terminal region of the PON1 peptide and schematic representation of signal sequence structure. The box indicates the amino acids constituting the hydrophobic core of the signal sequence. The bold letters indicate amino acids positioned 3 from the theoretical cleavage sites (indicated by arrows) [34].

jsou předmětem řady studií zaměřených na asociaci SNP s rizikem rozvoje ischemické choroby srdeční (ICHS), jejichž výsledky ovšem nejsou konzistentní. Většina z nich prokázala asociaci mezi RR, respektive MM a ICHS, jiné žádnou neshledaly (většinou se jedná o studie s velmi malým počtem pacientů a kontrol, odlišnými metodami stanovování genotypu, rozdílnou biochemickou a klinickou charakteristikou skupin pacientů apod.) [15]. Řada studií byla provedena u pacientů s diabetes mellitus 1. i 2. typu, kde byla u obou typů zjištěna ve všech studiích celkově snížená paraoxonázová aktivita i koncentrace v porovnání se zdravou populací [16, 17]; efekt genotypu na aktivitu u těchto pacientů nebyl jednoznačně prokázán. Byl shledán vztah polymorfismu kodonu 55 ke zvýšené glykémii nalačno, dysfunkci beta buněk Langerhansových ostrůvků a míře inzulinové rezistence u zdravých osob bez diabetu [18]. Mechanismus, který je zodpovědný za sníženou paraoxonázovou aktivitu diabetiků (pakliže abstrahujeme od možného vlivu genotypu, a to nejenom SNP PON1), je možno vysvětlit zvýšenou hladinou glukózy v krvi a následnou glykací, respektive glyoxidací, které jednak přímo inaktivují enzym, jednak zvyšují lipoperoxidaci v HDL. Kromě výše zmiňovaných polymorfismů v kódující oblasti genu je popisováno velké množství SNP v promotorové oblasti genu s různou mírou vlivu na expresi. Jsou to následující polymorfismy: -907G/C, -824 A/G, -162 A/G, -126 C/G, -107 C/T (viz obr. 1).

Nejdůležitější součástí promotoru je asi 200 bp dlouhá sekvence (mj. obsahující místa -107 a -182 SNP). Dokládá to studie aktivity PON v případě delece této části promotoru, kdy došlo k úplnému potlačení jeho aktivity. SNP -107C/T je lokalizován v místě předpokládané vazby transkripčních faktorů Sp1 a Sp3. Byla prokázána rozdílná afinita Sp1 transkripčního faktoru v případě TT genotypu oproti zbývajícím dvěma. Důležitost Sp1 pro expresi genu dokládá studie s transfekcí plazmidu exprimujícího Sp1 do promotoru PON1, která významně zvýšila jeho aktivitu promotoru, a tím i koncentraci enzymu v krvi. SNP -162 A/G je umístěn v oblasti vazby promotoru s nukleárním faktorem 1, s vysokofinitní variantou AA a formou GG s nízkou afinitou.

## PON1 a farmakoterapie

V současné době proběhla řada studií zaměřených na efekt léků na regulaci genové exprese PON1, zejména ze skupiny hypolipidemik. Je prokázáno, že fibráty zvyšují hladinu HDL-cholesterolu. Avšak studie, kde byla navíc měřena aktivita a koncentrace PON1, měly rozdílné výsledky: v některých se zvyšovala exprese, v jiných se PON1 aktivita a koncentrace neměnily, ani při zvýšení HDL-cholesterolu a apoA1 [20]. Vztah ke genotypu nebyl doposud doložen. Inhibitory HMG-CoA reduktázy, statiny, zvyšovaly ve většině experimentů



**Fig. 4.** The effect of statins and polyphenols on paraoxonases

In the liver, statins upregulate paraoxonase-1 (PON1) expression (1), which results in serum HDL-associated PON1 activity (2). In serum statins and polyphenols act as antioxidants and reduce serum oxidative stress (3), leading to an increase in serum HDL-associated PON1 (4). The increased serum PON1 activity enhances the hydrolysis of oxidized lipids in oxidized LDL (ox-LDL) (5) and also in macrophages (6). Statins were also shown to upregulate PON2 expression in macrophages (7), thus stimulating the hydrolysis of intracellular oxidized lipids (8). All the above effects of statins and polyphenols contribute to the attenuation of atherosclerotic lesion formation (9) [35].

PON1 aktivitu a koncentraci zvýšením exprese genu (obr. 4.), přičemž aktivace byla závislá na koncové oblasti promotorové sekvence, obsahující mj. oblast –107C/T SNP. V této oblasti se nachází vazebné místo pro transkripční faktor SREBP2, který je schopen vazby na PON1 v kombinaci s Sp1 [22]. Méně studií dokládá snížení aktivity po aplikaci statinu. Tyto rozdílné výsledky by bylo možno vysvětlit rozdíly v užitých buněčných liniích (HepG2, HuH-7 a další) a eventuálně sekvencí (polymorfismy) použitého promotoru.

## PON1 a faktory vnějšího prostředí

Jak ukazují výsledky řady studií, zejména na králičích modelech či transgenních kmenech myší, redukuje dieta s vysokým obsahem trans-nenasycených mastných kyselin PON1 aktivitu [23], zatímco příjem mastných kyselin olivového oleje (zejména kyseliny olejové) PON1 aktivitu zvyšuje [24]. *In vitro* bylo zjištěno, že paraoxonáza je velmi citlivá na oxidativní poškození, což se promítá do redukce enzymové aktivity. Tato zjištění potvrzují pozorování u zdravých mužů, kteří se stravovali dietou bohatou na přepálené tuky (vysoký obsah oxidovaných lipidů a oxLDL) [25]. Ochranný efekt

mají antioxidanty polyfenoly quercetin a glabridin, *in vivo* se ukázala prospěšnou konzumace pomerančové šťávy (bohatá na polyfenoly), polyfenoly červeného vína, ale i malé dávky jakéhokoliv alkoholu (pravděpodobně nejen polyfenoly vína jsou nositeli antioxidantních schopností alkoholických nápojů). Moderovaný příjem alkoholu zvyšoval u jedinců koncentraci HDL-cholesterolu a apoA1 (a zřejmě tím i PON1 v séru), což je jistě jeden z činitelů snižujících kardiovaskulární riziko [26]. Klinické studie se zvýšeným příjmem vitaminů C a E měly zcela nepřesvědčivé výsledky, většinou PON1 aktivitu nezvyšovaly. Molekulární mechanismus pozitivního účinku polyfenolů je popsán na quercetinu, který se naváže na AhR (aryl hydrocarbon receptor), což je ligandem aktivovaný transkripční faktor vážící se na XRE (xenobiotic responsive element) – podobnou sekvenci promotorové oblasti PON1 genu, jehož expresi následně zvyšuje [27]. Další faktorem vnějšího prostředí je vliv kouření, PON1 aktivita i koncentrace jsou významně sníženy u kuřáků cigaret v porovnání s nekuřáky, zajímavé bylo zjištění, že aktivita PON1 u exkuřáků se významně nelišila od této u nekuřáků, což ukazuje na reverzibilitu poškození PON1 látkami cigaretového kouře. Podobně zajímavý je fakt, že kuřáci, kteří současně přijímají moderované dávky al-

koholu nebo pravidelně cvičí [28], mají PON1 status stejný jako nekuřáci.

Existuje řada studií, které se zaměřily na vztah věku a aktivity PON1, ale výsledky těchto šetření jsou velmi nekonzistentní, např. studie zkoumající vztah polymorfismu Q192R k rychlosti úbytku enzymové aktivity poskytují zcela opačné výsledky [29, 30]. Shodné je zjištění růstu PON1 koncentrace po narození, asi během prvních 15 měsíců, poté zůstává u zdravých jedinců v průběhu života nezměněna s mírným poklesem ve vysokém věku. Fyziologicky se snižuje PON1 aktivita v těhotenství (zatím nejasným mechanismem), v akutní fázi zánětu. Snižování PON1 statusu při zánětu dokládají studie na myších, kde aplikace LPS (lipopolysacharidu), cytokinů TNF (tumor necrosis factor) a IL-1 (interleukin-1) působí pokles PON1, způsobený down-regulací exprese mRNA hepatocytů [31].

## PON1 a onemocnění

PON1 aktivita je redukována různými patogenetickými mechanismy u nemocných s ICHS, diabetes mellitus 1. a 2. typu a jejich komplikacích, jak již bylo zmíněno výše, ale i u jiných onemocnění, kde tvorba reaktivních forem kyslíku hraje jednu z klíčových rolí v mechanismu vzniku, zejména u nemocných Parkinsonovou nemocí (PN), Alzheimerovou demencí (AD) či schizoafektivní psychotickou poruchou. Řada asocičních studií prokázala vztah mezi polymorfismy PON1 a neurodegenerativním onemocněním, kdy Q alela byla častěji zastoupena nejen u nemocných s PN, ale i u nemocných postižených AD [32], ačkoliv řada zjištění není konzistentních.

Vystupňovaný oxidační stres u pacientů s chronickým ledvinovým selháním je zodpovědný za redukcii PON1, zejména u pacientů léčených hemodialýzou (HD) či peritoneální dialýzou, což z části vysvětluje rychlejší progresi procesu aterosklerotického poškození u nemocných, zejména léčených HD [33]. Po transplantaci ledviny se úroveň PON1 aktivity vrací do hodnot zdravé populace. Nepřekvapivý je nález redukované PON1 koncentrace u chronických hepatálních afekcí (jediné místo syntézy PON1 v těle), zejména cirhózy jater a chronické hepatitidy a primárních HDL deficientních syndromů (např. Tangierská nemoc).

## Závěr

Paraoxonáza 1 tedy hraje důležitou úlohu v ochraně před poškozením reaktivními kyslíkovými radikály, zejména u nemocí, u nichž byl opakovaně prokázán vystupňovaný oxidační stres, jako jsou ICHS, diabetes mellitus a některá neurodegenerativní onemocnění. Podrobné poznání faktorů modulujících jak aktivitu, tak koncentraci enzymu na molekulární úrovni s sebou nese možnost cíleného využití jak v terapii, tak zejména prevenci některých onemocnění. Výše uvedené výsledky řady pozorování také dokládají nezanedbatelný význam úpravy životního stylu, dietních návyků v prevenci těchto

chorob. V současné době již probíhají *in vitro* pokusy o syntézu různých mutantů PON1, které by vykazovaly vysokou afinitu k oxidovaným lipidům nebo vyšší hydrolytickou aktivitu proti organofosfátům. Ochrana před otravou organofosfátovými insekticidy či nervovými jedy a redukce rizika rozvoje kardiovaskulárních onemocnění či např. cévních komplikací diabetu jsou příkladem využití těchto rekombinantů PON1 v budoucnosti.

## Literatura

1. **Hassett, C., Richter, R. J., Humbert, R. et al.** Characterisation of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry*, 1991, 30, p. 10141–10149.
2. **Primo-Parmo, S. L., Sorenson, R. C., Teiber, J., La Du, B. N.** The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*, 1996, 33, p. 498–507.
3. **Jakubowski, H.** Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein *n*-homocysteinylation. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, p. 3957–3962.
4. **Mackness, M. I., Arrol, S., Abbot, C., Durrington, P. N.** Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, 1993, 104, p. 129–135.
5. **Shih, D. M., Gu, L., Xia, Y.-R. et al.** Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature (London)*, 1998, 394, p. 284–287.
6. **Deakin, S., Leviev, I., Gomaschi, M., Calabresi, L., Franceschini, G., James, R. W.** Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, p. 4301–4308.
7. **James, R. W., Blatter-Garin, M. C., Calabresi, L. et al.** Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis*, 1998, 139, p. 77–82.
8. **Rozenberg, O., Shih, D. M., Aviram, M.** Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: a possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000, 23, p. 461–467.
9. **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 paraoxonase. *Atherosclerosis*, 2002, 161, p. 307–316.
10. **Francone, O. L.** SR-BI, a new player in an old game. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003, 23, p. 1486–1487.
11. **Wang, N., Tall, A. R.** Regulation and mechanism of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular cholesterol efflux. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003, 23, p. 1178–1184.
12. **Reddy, S. T., Wadleigh, D. J., Grijalva, V. et al.** Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, p. 542–547.

13. **Mackness, B. M., Mackness, M. I., Arrol, S., Turkie, W., Durrington, P. N.** Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett.*, 1998, 423, p. 57–60.
14. **Blatter Garin, M. C., James, R. W., Dussoix, P. et al.** Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J. Clin. Invest.*, 1997, 99, p. 62–66.
15. **Wheeler, J. G., Keavney, B. D., Watkins, H., Collins, R., Danesh, J.** Four paraoxonase gene polymorphisms in 11 212 cases of coronary heart disease and 12 786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet*, 2004, 363, p. 689–695.
16. **Mackness, B., Durrington, P. N., Boulton, A. J., Hine, D., Mackness, M. I.** Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2002, 32, p. 259–265.
17. **Agachan, B., Yilmaz, H., Karaali, Z., Isbir, T.** Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Cell. Biochem. Funct.*, 2004, 22, p. 163–168.
18. **Barbieri, M., Bonafe, M., Marfella, R. et al.** LL-paraoxonase genotype is associated with a more severe degree of homeostasis model assessment IR in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87, p. 222–225.
19. **Sorenson, R. C., Bisgaier, Ch. L., Aviram, M., Hsu, C., Billecke, S., La Du, B. N.** Human serum paraoxonase/aryl-esterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 19, 9, p. 2214–2225.
20. **Durrington, P. N., Mackness, M. I., Bhatnagar, D. et al.** Effects of two different fibric acid derivatives on lipoproteins, cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type IIb hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis*, 1998, 138, p. 217–225.
21. **Aviram, M., Rosenblat, M.** Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, 37, p. 1304–1316.
22. **Scharnagl, H., Schinker, R., Gierens, H., Nauck, M., Wieland, H., Marz, W.** Effect of atorvastatin, simvastatin and lovastatin on the metabolism of cholesterol and triacylglycerides in HepG2 cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, 62, p. 1545–1555.
23. **Mackness, M., Bouiller, A., Hennuyer, N. et al.** Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000, 269, p. 232–236.
24. **Wallace, A. J., Sutherland, W. H., Mann, J. I., Williams, S. M.** The effect of meals rich in thermally stressed olive and safflower oils on postprandial serum paraoxonase activity in patients with diabetes. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2001, 55, p. 951–958.
25. **Sutherland, W. H., Walker, R. J., de Jong, S. A., van Rij, A. M., Phillips, V., Walker, H. L.** Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999, 19, p. 1340–1347.
26. **Van der Gaag, M. S., van Tol, A., Scheek, L. M. et al.** Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis*, 1999, 147, p. 405–410.
27. **Gouedard, C., Barouki, R., Morel, Y.** Dietary polyphenols increase paraoxonase 1 gene expression by an aryl hydrocarbon receptor-dependant mechanism. *Mol. Cell. Biol.*, 2004, 24, p. 5209–5222.
28. **Senti, M., Tomas, M., Anglada, R. et al.** Interrelationship of smoking, paraoxonase activity, and leisure time physical activity: a population based study. *Eur. J. Intern. Med.*, 14, 1003, p. 178–184.
29. **Xia, Y., Gueguen, R., Vincent-Viry, M., Siest, G., Visvikis, S.** Effect of six candidate genes on early aging in a French population. *Aging Clin. Exp. Res.*, 2003, 15, p. 111–116.
30. **Bonafe, M., Marchegiani, F., Cardelli, M. et al.** Genetic analysis of paraoxonase (PON1) locus reveals an increased frequency of Arg192 allele in centenarians. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2002, 10, p. 292–296.
31. **Feingold, K. R., Memon, R. A., Moser, A. H., Grunfeld, C.** Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis*, 1998, 139, p. 307–315.
32. **Scacchi, R., Gambina, G., Martini, M. C., Broggio, E., Vi-lardo, T., Corbo, R. M.** Different pattern of association of paraoxonase Gln192→Arg polymorphism with sporadic late-onset Alzheimer's disease and coronary artery disease. *Neurosci. Lett.*, 2003, 339, p. 17–20.
33. **Dantoine, T. F., Debord, J., Charmes, J. P. et al.** Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1998, 9, p. 2082–2088.
34. **James, R. W., Deakin, S. P.** The importance of high density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability and activity. *Free Radic Biol Med.*, 2004, 37, 12 p. 1986–1994.
35. **Aviram, M., Rosenblat, M.** Paraoxonases and cardiovascular diseases, pharmacological and nutritional influences. *Current Opinion in Lipidology*, 2005, 16, p. 393–399.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 002620807.

Do redakce došlo 27. 10. 2005.

Adresa pro korespondenci:  
MUDr. Milan Flekač  
3. interní klinika VFN  
U Nemocnice 1  
120 00 Praha 2  
e-mail: milan.flekač@seznam.cz