

Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması

Sevil Kurban¹, Zehra Akpınar², İdris Mehmetoğlu¹

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi ¹Biyokimya ve ²Nöroloji Anabilim Dalları, Konya

Amaç: Oksidatif stresin multiple skleroz (MS)'un patojenezinin önemli bir bileşeni olduğu ile ilgili gittikçe artan sayıda kanıt vardır. Paraoksonaz 1 (PON1) plazma yüksek-dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı bir antioksidan enzimdir. Onun düşük-dansiteli lipoprotein (LDL) ve HDL'yi oksidasyona karşı koruduğu ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı oksidatif stres ve MS hastalığı arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. **Yöntem:** Elli MS hastası (17E, 33K) ve 35 sağlıklı kontrolün (15E, 20K) serum PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ile total antioksidan durum (TAS) ve total oksidan durum (TOS) seviyeleri karşılaştırıldı. **Bulgular:** MS hastalarının TAS seviyeleri sağlıklı kontrollerden anlamlı derecede düşüktü ($p<0,05$). MS hastalarının TOS seviyeleri kontrollerden yüksek ve PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ise kontrollerden düşük olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. **Sonuç:** Çalışmamızda MS hastalarına ait TAS seviyelerinin kontrollere göre anlamlı derecede düşük olmasının sebebi bilinmemekle beraber, endojen antioksidanların MS'de artan oksidatif stres tarafından tüketilmiş olabileceği ve bu hastalara ilave antioksidan verilmesinin faydalı olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Multiple skleroz, paraoksonaz, arilesteraz, oksidatif stres

Investigation of serum paraoxonase and arylesterase activities and oxidative stress in patients with multiple sclerosis

Objective: There is increasing evidence that oxidative stress is an important component in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS). Paraoxonase 1 (PON1) is an antioxidant enzyme bound to plasma high-density lipoprotein (HDL). It has been shown to protect low-density lipoprotein (LDL) and HDL against oxidation and can reduce oxidative stress. The aim of this study was to investigate the relationship between oxidative stress and MS. **Methods:** We compared serum PON1 and arylesterase activities and total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) levels of 50 patients with MS (17M, 33F) and 35 age-matched healthy controls (15M, 20F). **Results:** TAS levels of MS patients were significantly lower than that of controls ($P<0.05$). TOS levels of MS patients were higher and PON1 and arylesterase activities of MS patients were lower, but not significantly, than those of controls. **Conclusion:** Although underlying mechanism of TAS levels of MS patients were significantly reduced compared to those of controls, it implies that endogenous antioxidants may have been exhausted by increased oxidative stress and we believe that additional antioxidant treatment might be beneficial for these patients.

Key words: Multiple sclerosis, paraoxonase, arylesterase, oxidative stress

Genel Tıp Derg 2010;20(1):13-17

Yazışma adresi: Yard.Doç.Dr.Sevil Kurban, Selçuk Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya
E-posta: svlkrbn@yahoo.com

Multipl skleroz (MS) genç erişkinlerde görülen, genellikle alevlenme ve düzelmelerle seyreden, santral sinir sistemi (SSS)'nin progressif, demiyelinizan ve otoimmün bir hastalığıdır. Hastalığın nedeni tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, etyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin

karmaşık etkileşimlerinin rol aldığı düşünülmektedir. Genetik olarak yatkın bir bireyde, bakteriyel ya da viral infeksiyon gibi çevresel etmenlerin MS'in başlangıcında ya da atakların tetiklenmesinde rol oynadığı kabul edilmektedir (1,2).

Oksidatif stresin MS'in patojenezinde ve inflamatuvar olaylarda rol oynadığı bilinmektedir (3-6). Oksidatif stresi oluşturan ve esas olarak makrofajlarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), MS ve deneysel otoimmün ensefalopatide demiyelinizasyon ve akson hasarından sorumlu bulunmuştur (3,4). ROS, hücrelere oldukça toksik olan peroksinitrit gibi ürünlere dönüşerek lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücrenin ana komponentlerinde hasarlanmaya, sonuç olarak ta nekroz veya apoptoz yolu ile hücre ölümüne sebep olurlar. Ayrıca, MS'de azalmış hücresel antioksidan savunma sistemi bu hasarın artmasına katkıda bulunabilir (3-6). MS'de oksidatif streste artma (5-9) ve antioksidanlarda azalma (7-11) olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir.

Paraoksonaz 1 (PON1, EC.3.1.8.1) ve arilesteraz aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan enzimlerdir. PON1 kolinesterazların güçlü inhibitörü olan paraoksonu hidroliz edebilen ve diğer organofosfat türlerini detoksifiye edebilen aridialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolazdır. Arilesteraz enzimi ise PON1 gibi organofosfatları detoksifiye edebilir ama onun gibi genetik polimorfizm göstermez. Her iki enzimin doğal substratı farklı olmasına rağmen PON1 enzimi arilesterazın substratı olan fenilasetatı hidroliz etme, böylece hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesi gösterme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, plazma yüksek-dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı, antioksidan bir enzim olan PON1'in düşük-dansiteli lipoprotein (LDL) ve HDL'yi serbest radikallerle oluşan oksidasyona karşı koruduğu ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (12-14). PON1 enziminin karaciğer, böbrek, ince barsak ve beyin başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunduğu, enzimin aktivitesinin genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiği belirtilmiştir. Genetik olarak PON1 enzim aktivitesini etkileyen, 192. ve 55. pozisyonundaki aminoasit farklılığından kaynaklanan iki yaygın polimorfizm bulunmaktadır. Diyet, gebelik, hormonlar ve sigara kullanımı serum PON1 düzeyini etkiler (13,15). Miyokard infarktüsü, ailesel

hiperkolesterolemi, koroner arter hastalığı ve diabetes mellitus gibi pek çok hastalıkta PON1 enziminin aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (12-15).

Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı engellemeye çalışan antioksidanların bir kısmı enzim, bir kısmı ise enzim olmayan moleküllerden oluşmuştur. Vücudun antioksidan/oksidan durumu antioksidan enzimlerin aktivitesi ve antioksidan/oksidan moleküllerin konsantrasyonu ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilebilmekle beraber, genel antioksidan/oksidan durumu total antioksidan durum (TAS) (16) ve total oksidan durumun (TOS) (17) ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilmektedir.

MS hastalarında PON1 aktivitesi ile ilgili yapılmış çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir (18,19). Bu yüzden bu çalışmada MS hastalığındaki PON1 ve arilesteraz enzim aktiviteleri ile bu hastalıktaki antioksidan/oksidan durum ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem

Çalışma grupları

Çalışma yaşları 20-53 arasında değişen (33,7±9,2) 50 MS hastası (17E, 33K) ve yaşları 21-54 arasında değişen (33,2±10,0) 35 sağlıklı kontrol (15E, 20K) üzerinde yapıldı. Hastalar Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim dalında tanı konan ve tedavi gören hastalar arasından seçildi. MS tanısı McDonald's kriterlerine (20) göre konuldu ve hasta özür lülük skoru, "expanded disability status scale" (EDSS)'ye (21) göre tek nörolog tarafından yapıldı. Çalışmaya alınan hastaların hepsi relapsing remitting formda ve remisyonunda idi.

Laboratuvar yöntemleri

Hasta ve kontrollerden 10-12 saatlik bir gece açlığından sonra sabah saat 8:00 ile 10:00 arasında kan örnekleri alındı. Kan pıhtılaştıktan hemen sonra 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum bekletilmeden total kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid seviyeleri rutin metodlarla, Synchron LX System (Beckman Coulter, Fullerton CA) cihazında ölçüldü. Düşük dansiteli lipoprotein Friedewald Formülü ile hesaplandı (22).

Serum PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ile TAS ve TOS seviyeleri çalışılana kadar -70 °C saklandı.

Çalışma için Etik Kurul onayı alındı ve gönüllülerden olur formu alınarak çalışma ile ilgili bilgilendirildiler.

Serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin ölçümü

Paraoksonaz 1 aktivitesi ölçümünde paraokson substrat olarak kullanıldı ve paraoksonun hidrolizi ile oluşan rengin 412 nm'de, 37°C absorbansı kaydedildi (23). PON1 aktivitesi bazal aktivite olarak ölçüldü sonuçlar U/L olarak verildi.

Fenilasetat, arilesteraz aktivitesini ölçmek için substrat olarak kullanıldı. Bir ünite arilesteraz aktivitesi bir dakikada oluşan µmol fenol olarak belirlendi ve sonuçlar kU/L olarak verildi (24).

Serum total antioksidan durum ölçümü

TAS 2,2'-azino-bis (3-etilbenz-thiazoline-6-sulfonik asid) (ABTS) radikalinin oluşturduğu karakteristik rengin ortama ilave edilen numunedeki antioksidanlar ile açılması esasına dayanan otomatik ölçüm metodu ile belirlendi (16). Sonuçlar mmol Trolox eşivalen/L olarak verildi.

Serum total oksidan durum ölçümü

TOS otomatik ölçüm metodu ile belirlendi (17). Örnekteki oksidanlar ferrous iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyona dönüştürürler. Ferrik iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülen rengin yoğunluğu örnekte bulunan oksidan moleküllerin total miktarı ile ilişkilidir. Ölçüm hidrojen peroksit (H₂O₂) ile kalibre edildi ve sonuçlar litrede mikromolar H₂O₂ eşivalanı (µmol H₂O₂ equiv./L) olarak verildi.

İstatistiksel analiz

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 16.0 paket programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırmasında normal dağılım gösteren değerler için bağımsız iki örnek t testi ve normal dağılım göstermeyen değerler için Wilcoxon sıra ortalaması testi kullanıldı. Bağlantı analizleri Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları kullanılarak belirlendi. Veriler ortalama değerleri ± standart sapma (SD) ile birlikte verildi. Testlerin tümünde p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Sağlıklı kontrollerin ve MS hastalarının klinik özellikleri ve lipid seviyeleri Tablo 1'de görülmektedir. Tablo 1'den görüldüğü gibi hasta ve kontrollerin yaş dağılımları, cinsiyetleri, vücut kitle indeksleri (VKİ) ve lipid seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktu.

Sağlıklı kontrollerin ve MS hastalarının PON1 ve arilesteraz enzim aktiviteleri ile TAS ve TOS seviyeleri Tablo 2'de görülmektedir. Tablo 2'de görüldüğü gibi MS hastalarının TOS seviyeleri kontrollerden yüksek ve PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ise kontrollerden düşük olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Fakat MS hastalarının TAS seviyeleri sağlıklı kontrollerden anlamlı düşüktü (p<0,05).

Ayrıca, MS hastalarının TOS ve TAS seviyeleri arasında negatif anlamlı bir korelasyon vardı (r=-0,311, p<0,05) (Tablo 3) (Şekil 1).

Tablo 1. Sağlıklı kontrollerin ve MS hastalarının klinik özellikleri ve lipid seviyeleri

	Kontrol grubu n=35	MS grubu n=50	p
Yaş	34,2 ± 10,0	33,7 ± 9,2	0,833
Cinsiyet (K/E)	20/15	33/17	0,503
VKİ (kg/m ²)	25,7 ± 4,4	24,8 ± 3,7	0,303
Hastalık süresi	-	5,3 ± 4,1	-
EDSS	-	2,6 ± 1,6	-
Total kolesterol (mg/dl)	180,1 ± 32,5	192,1 ± 36,7	0,833
Trigliserid (mg/dl)	111,7 ± 56,6	137,4 ± 60,3	0,132
HDL-kolesterol (mg/dl)	48,3 ± 19,9	46,1 ± 9,5	0,055
LDL-kolesterol (mg/dl)	108,0 ± 26,7	115,7 ± 38,1	0,499

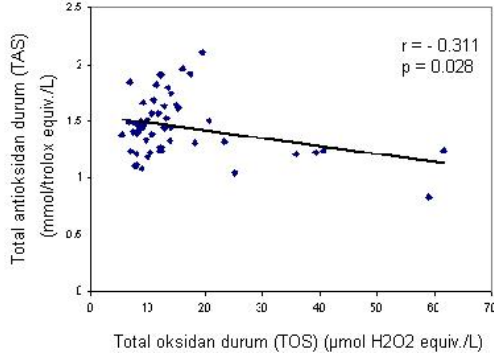
Tablo 2. Sağlıklı kontrollerin ve MS hastalarının PON1 ve arilesteraz enzim aktiviteleri ile TAS ve TOS seviyeleri

Parameterler	Kontrol grubu (n=35)	MS grubu (n=50)	p
PON1 (U/L)	260,0 ± 119,8	222,3 ± 135,8	0,114
Arilesteraz (kU/L)	187,0 ± 8,1	185,8 ± 6,7	0,555
TAS (mmol/trolox equiv./L)	1,6 ± 0,2	1,5 ± 0,3	0,040
TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv./L)	12,7 ± 6,3	15,4 ± 12,0	0,725

Tablo 3. MS hastalarının PON1 ve arilesteraz enzim aktiviteleri ile TAS ve TOS seviyeleri arasındaki korelasyon

Parametreler	TOS	TAS	Arilesteraz
PON1	-0,026	-0,174	0,155
Arilesteraz	0,015	-0,007	
TAS	-0,311*		

*P<0.05



Şekil 1. MS hastalarının TAS ve TOS seviyeleri arasındaki korelasyon

Tartışma ve sonuç

Bu çalışmada MS hastaları ile kontrol grubunun PON1 enzim aktiviteleri arasında anlamlı bir fark bulamadık. Bildiğimiz kadarıyla, literatürde bu konuda yapılmış iki çalışma olup birbirinden farklı bulgular elde edilmiştir. Nitekim, Jamroz-Wisniewska ve ark (18) 137 MS hastası ile 40 kontrol vakası üzerinde yaptıkları çalışmalarında her iki gruba ait PON1 değerleri arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bizim sonuçlarımız Jamroz-Wisniewska ve ark (18)'nin sonuçları ile uyumludur.

Öte yandan Ferreti ve ark (19) ise MS hastalarında paraoksonaz aktivitesini kontrollerinkinden anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Fakat, onlar hastalığın erken döneminde (ortalama hastalık süresi 3,1 yıl) olan 24 MS hastası üzerinde çalışmışlardır. Ayrıca, onların hasta grubunun yaş ortalaması kontrol grubunun yaş ortalamasından yüksektir (hasta grubunun yaş ortalaması 38,2 iken kontrol grubunun yaş ortalaması 31,5). Bu da onların MS grubunda paraoksonaz aktivitesini daha düşük bulmalarının bir nedeni olabilir. Çünkü paraoksonaz aktivitesinin yaşla azaldığı bilinmektedir (25).

MS hastalarında çeşitli oksidatif stres markırları çalışılmış ve genelde oksidatif stresin arttığı kaydedilmiştir (3-9). Gerçekten, MS hastalarında serum lipid peroksidasyonu (8), plazma floresan lipid peroksidasyon ürünleri (6), lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan kolesteril ester hidroperoksitleri (19), tiobarbitürik asit ürünleri (7), malondialdehid ve 4-hidroksialkenaller (5) ile konjuge dien (9) düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Fakat, literatürde MS hastalarında bütün bu oksidatif stres markırları yerine kullanılabilen TOS değerini ölçen herhangi bir çalışmaya rastlayamadık.

Oksidatif stress vücutta oksidanların fazla oluşumu, antioksidanların azalması veya her ikisinin kombinasyonu sonucu oluşur. Biz MS grubunda oksidan moleküllerin genel bir göstergesi olan TOS'u yüksek bulmakla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarındaki farkın anlamlı olmadığını gördük. Fakat MS hastalarında TAS seviyelerinin kontrollere göre anlamlı azaldığını gösterdik. Bunun, endojen antioksidanların MS hastalığında artan oksidanlar tarafından tüketilmesinin bir sonucu olabileceği kanaatindeyiz.

Pek çok çalışmada MS'de çeşitli antioksidan moleküllerin azaldığı gösterilmiştir. Besler ve ark (7,8) MS'de antioksidan vitaminlerin (alfa tokoferol, beta-karoten, retinol ve askorbik asit) ve antioksidan kapasitenin azaldığını ve MS'in tedavisi veya önlenmesinde antioksidan tedavinin düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Syburra ve Passi (10) ise MS'de E vitamini ve yağda çözünen endojen bir antioksidan olan ubikinonun plazma seviyelerinin kontrollerinkinden önemli oranda düşük olduğunu göstermişlerdir (10). Başka bir çalışmada serum E vitamini ve E vitamini/kolesterol oranının MS hastalarında düşük olduğu bulunmuştur (26). Bu çalışmaların sonuçları bizim MS'de TAS seviyelerinin düşük olduğu bulgumuzu desteklemektedir.

PON1'in primer etkisi lipoproteinleri oksidasyondan korumak olmakla birlikte enzim aktivitesinin oksidatif strese duyarlı olduğu ve oksidanlarla inaktive edildiği bildirilmiştir (27,28). Dolayısı ile, lipid peroksidasyon ürünleri de dahil olmak üzere oksidatif stresi artıran faktörler PON1 enzim aktivitesini düşürürler (27,28). Bizim çalışmamızda MS hastalarında oksidatif stres hafif artarken PON1 enzim aktivitesi azalmıştır. Fakat her iki gruba ait

bulgular arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sonuç olarak, çalışmamızda MS hastalarında TAS'ın sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu bulgunun sebebi bilinmemekle beraber, endojen antioksidanların MS'de oluşan oksidatif stres tarafından tüketilmesi sonucu azaldığı söylenebilir. Dolayısı ile, bu hastalara normal tedaviye ilave olarak antioksidan tedavinin de faydalı olabileceği kanaatindeyiz.

Kaynaklar

1. Hafler DA, Slavik JM, Anderson DE, O'Connor KC, De Jager P, Baecher-Allan C. Multiple sclerosis. *Immunol Rev* 2005;204:208-31.
2. İdman E. Multipl Skleroz'un immunopatogenezi. *Türkiye Klinikleri J Neur* 2004;2;171-176.
3. Gonsette RE. Neurodegeneration in multiple sclerosis: The role of oxidative stress and excitotoxicity. *J Neurol Sci* 2008;274:48-53.
4. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. *J Neurol* 2004;251:261-8.
5. Ortiz GG, Macías-Islas MA, Pacheco-Moisés FP, Cruz-Ramos JA, Sustersik S, Barba EA, et al. Oxidative stress is increased in serum from Mexican patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Dis Markers* 2009;26:35-9.
6. Koch M, Mostert J, Arutjunyan AV, Stepanov M, Teelken A, Heersema D, et al. Plasma lipid peroxidation and progression of disability in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2007;14:529-33.
7. Besler HT, Comoğlu S, Okçu Z. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Nutr Neurosci* 2002;5:215-20.
8. Besler HT, Comoğlu S. Lipoprotein oxidation, plasma total antioxidant capacity and homocysteine level in patients with multiple sclerosis. *Nutr Neurosci* 2003;6:189-96.
9. Koch M, Ramsaransing GS, Arutjunyan AV, Stepanov M, Teelken A, Heersema DJ, et al. Oxidative stress in serum and peripheral blood leukocytes in patients with different disease courses of multiple sclerosis. *J Neurol* 2006;253:483-7.
10. Syburra C, Passi S. Oxidative stress in patients with multiple sclerosis. *Ukr Biokhim Zh* 1999;71:112-5.
11. Koch M, Mostert J, Arutjunyan AV, Stepanov M, Teelken A, Heersema D, et al. Plasma lipid peroxidation and progression of disability in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2007;14:529-33.
12. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:69-76.
13. Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 2004;35:78-82.
14. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369:78-88.
15. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci (Lond)* 2004;107:435-47.
16. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37: 277-85.
17. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-11.
18. Jamroz-Wisniewska A, Beltowski J, Stelmasiak Z, Bartosik-Psujek H. Paraoxonase 1 activity in different types of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009;15:399-402.
19. Ferretti G, Bacchetti T, Principi F, Di Ludovico F, Viti B, Angeleri VA, et al. Increased levels of lipid hydroperoxides in plasma of patients with multiple sclerosis: a relationship with paraoxonase activity. *Mult Scler* 2005;11:677-82.
20. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001;50:121-7.
21. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33:1444-52.
22. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
23. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;35:1126-38.
24. Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (E.C.3.1.1.2.) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992;30:391-5.
25. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T Jr, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol* 2004;39:59-66.
26. HypJiménez-Jiménez FJ, de Bustos F, Molina JA, de Andrés C, Gasalla T, Ortí-Pareja M, et al. Cerebrospinal fluid levels of alpha-tocopherol in patients with multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 1998;249:65-7.
27. Nguyen SD, Sok DE. Oxidative inactivation of paraoxonase1, an antioxidant protein and its effect on antioxidant action. *Free Radic Res* 2003;37:1319-30.
28. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004;37:1304-16.