

Correlación del polimorfismo Leu-Met 54 de la paraoxonasa 1 y la actividad enzimática con la enfermedad aterosclerótica

Mayor M.C. Esteban **Herrera-Tepatlán**,* Tte. Q.B. Jesús Gabriel **Silva-Escobedo**,*
M. en I.B.B. Serafín **Ramírez-Zamora**,** Cor. M.C. Ramón Arturo **Valdés-Espinosa***

Ciudad de México.

RESUMEN

Introducción. La aterosclerosis representa no sólo un problema nacional sino internacional, ya que sus consecuencias son la primera causa de muerte en la población adulta secundaria a la cardiopatía isquémica, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial periférica.

Objetivo. Investigar si existe correlación entre la expresión de la enfermedad aterosclerótica coronaria en el ser humano con la expresión e información genética contenida en el polimorfismo Leu-Met 54 de la paraoxonasa 1, enzima relacionada con la protección de las HDL a la oxidación y secundariamente de las LDL.

Método. En este estudio se incluyeron 30 pacientes, 12 sin enfermedad arterial coronaria y 18 con enfermedad coronaria demostradas por estudio hemodinámico. A todos los pacientes se les tomaron estudios de laboratorio (BH, QS, ES, PL), índice de masa corporal, factores de riesgo, así como determinación del polimorfismo de paraoxonasa 1 Leu-Met 54, y la actividad de la misma.

Resultados. Los pacientes con EAC son más añosos que los SEAC; el sexo masculino es el predominante en los EAC que además tiene el mayor número de factores de riesgo cardiovascular y enfermedades crónico degenerativas. El genotipo que predomina en los dos grupos es el LL. La actividad de la enzima PON1 es semejante en ambos grupos.

Conclusiones. La distribución genotípica en los grupos de estudio corresponde con la literatura científica que estudió el polimorfismo de PON1 y EAC. Sin embargo, estos estudios no mencionan factores de riesgo cardiovascular ni enfermedades crónico degenerativas en los pacientes como criterio de inclusión o exclusión, y estos factores podrían ser causa de nuestras variaciones en relación con la actividad y polimorfismo de PON1 con la manifestación de la aterosclerosis coronaria.

Palabras clave: aterosclerosis, polimorfismo Leu-Met 54, paraoxonasa, cardiopatía isquémica, cerebrovascular, enfermedad arterial periférica.

Leu-Met 54 polymorphism correlation of the paraoxonase 1 and the enzymatic activity with the atherosclerotic disease

SUMMARY

Background. Atherosclerosis represents not only a national problem but also an international one since its consequences are the first cause of death in adult population secondary to ischemic heart disease, cerebral vascular disease, and arterial peripheral disease.

Objective. To find out if there is a correlation between the expression of atherosclerotic coronary arterial disease in humans with the expression and genetic information within the polymorphism Leu-Met 54 of paraoxonase 1, the enzyme related to the protection of the HDL to the oxidation and secondarily of the LDL.

Method. A total of 30 patients were included; 12 without coronary arterial disease and 18 with coronary arterial disease confirmed by coronary angiography. Blood was drawn from all patients for HB chemistry, PL, also other factors like BMI, risk factors, as well as determination of the polymorphism of paraoxonase 1 Leu-Met 54 and its activity.

Results. Patients with EAC are older than the SEAC ones; males are predominant in EAC, which in turn has the highest number of cardiovascular risk factors and chronic degenerative diseases. LL is the predominant genotype for both groups. PON1 enzyme is similar in either group.

Conclusions. Genotypical distribution in the study groups corresponds with the scientific literature that studied the PON1 and EAC polymorphism. Nevertheless these studies did not mention any cardiovascular risk factors nor chronic degenerative diseases as an inclusion or exclusion criterion, so these factors could be the cause of our variations related to the PON1 activity and polymorphism as to the coronary atherosclerosis manifestation.

Key words: Atherosclerosis, polymorphism, Leu-Met 54, paraoxonase, ischemic cardiopathy, cerebrovascular, peripheric arterial disease.

* Laboratorio multidisciplinario de investigación de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad. ** Profesor Titular de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad e Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Correspondencia:

Mayor M.C. Esteban Herrera-Tepatlán

Av. Industria Militar # 1113 Ext. 2030 Lomas de Tecamachalco. C.P. 53960. Tecamachalco, Estado de Mexico.

Recibido: Agosto 21, 2004.

Aceptado: Diciembre 24, 2004.

Introducción

La aterosclerosis es una enfermedad de distribución mundial y ha sido considerada como un proceso fisiopatológico que afecta a todo el organismo. Está relacionada con factores de riesgo y enfermedades de afección sistémica que producen estrés oxidativo (diabetes, hipertensión arterial sistémica, disminución de los estrógenos en la mujer, elevación de la homocisteína, tabaquismo, hipercolesterolemia y factores protrombóticos, entre otros). Esto conduce a la oxidación de las lipoproteínas de baja intensidad (LDL), lo que provoca la formación de placas ateroscleróticas en el sistema vascular principalmente, en las arterias coronarias, cerebrales, renales y arterias periféricas manifestando de esta manera la cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular, lesión renal e insuficiencia arterial periférica, lo cual tiene consecuencias graves ya que esta enfermedad se considera entre las primeras causas de muerte en la edad adulta.

Este proceso es el resultado de alteraciones orgánicas que afectan la función endotelial y se refiere a las consecuencias citotóxicas de los radicales libres de oxígeno, ya que se puede definir como el estado de excesiva actividad de las especies reactivas de oxígeno (ROS), dando origen a un fenómeno en el cual se pierde el balance entre la producción de radicales libres (anión superóxido $[O_2^-]$, radical hidroxilo $[OH]$, peróxido de hidrógeno $[H_2O_2]$), y la habilidad del organismo para defenderse en contra de ellos; todo esto como consecuencia de los factores de riesgo mencionados anteriormente.¹ La producción vascular excesiva de O_2 además de disminuir la biodisponibilidad de óxido nítrico derivado del endotelio (NO), contribuye a la disfunción endotelial y a la aterosclerosis.²

La importancia del estrés oxidativo radica en las consecuencias que se derivan de la producción de radicales libres derivados del oxígeno, sin importar su origen y su acción sobre las LDL (oxidación) que conducirá a una respuesta inflamatoria permanente en el interior de la pared vascular, iniciando así la formación de placas ateroscleróticas y de la enfermedad sistémica conocida como aterosclerosis.

Es importante recordar que la oxidación de las lipoproteínas atrapadas en la pared arterial se lleva a cabo en dos fases: la primera (oxidación ligera) ocurre antes de que los monocitos sean atraídos al sitio de lesión. La segunda fase (oxidación final) comienza cuando los monocitos son atraídos hacia la lesión, convertidos en macrófagos contribuyendo con su enorme capacidad oxidativa, lo que posteriormente llevará a la acumulación de colesterol en el interior de los macrófagos semejando un citoplasma espumoso (motivo por el cual estas células han sido llamadas células espumosas) iniciando la formación de la placa aterosclerótica en la pared vascular.³

Enzima paraoxonasa

Definición y descripción

Dentro de los mecanismos antioxidantes naturales se encuentra la paraoxonasa (PON), cuya familia incluye por lo

menos a tres miembros: PON1, PON2 y PON3, la PON1 es la más asociada con la enfermedad aterosclerótica.⁴

La paraoxonasa-1 (PON1) es una proteína de 354 aminoácidos con una masa molecular de 43 kDa. En el suero humano está exclusivamente asociada a las HDL. La podemos encontrar en mamíferos, pero está ausente en otros animales como el pescado, aves e invertebrados.⁵ Se presenta ampliamente distribuida en tejidos como hígado, riñón e intestino.⁶

Se puede decir que la actividad antioxidante que posee esta enzima se debe a que presenta dos sitios activos: uno antioxidante dependiente de Cys283 y otro sitio dependiente de calcio.⁷

El nombre de paraoxonasa refleja su capacidad de hidrolizar al paraoxón, un metabolito del insecticida paratión.⁵

En un inicio fue clínicamente interesante por su capacidad de neutralizar elementos altamente tóxicos, como derivados exógenos (pesticidas y gases nerviosos). Recientemente, se ha sugerido que PON realiza un papel análogo al de los lípidos de protección de modificaciones tóxicas oxidativas, lo que constituye la principal modificación aterogénica en el suero de las LDL; un número creciente de datos apoya esta aseveración. En particular, estos datos han demostrado que el contenido de PON en las HDL es un determinante principal de la función antioxidante y, por consiguiente, de la capacidad antiinflamatoria de las lipoproteínas. Los factores que influyen en los niveles de PON, son de principal consideración para la eficacia de su función protectora.⁶

Bajo estrés oxidativo, no sólo las LDL son susceptibles para peroxidación de lípidos, todos los demás lípidos en suero, incluyendo a las HDL, son susceptibles también a la oxidación. En efecto, las HDL son las mayores portadoras de lípidos hidroperoxidados en el suero humano. Se menciona que la modificación oxidativa de las HDL presenta un daño en la capacidad de las lipoproteínas para promover el flujo de colesterol. Así, la inhibición de la oxidación de las HDL por PON puede conservar las funciones antiaterogénicas de las HDL en el transporte inverso de colesterol, así como la protección de la oxidación de las LDL.⁸

Polimorfismo y actividad de la paraoxonasa

Los genes de la PON parecen tener a la duplicación genética como precursor evolutivo porque muestran homología estructural considerable y están localizados en el cromosoma 7.⁵

Existen variaciones importantes interindividuales en las concentraciones de suero de PON que todavía no se han podido explicar totalmente, se han codificado las regiones de sus polimorfismos. Recientemente se ha demostrado una asociación de las concentraciones de suero con un polimorfismo en aminoácido 54 de la región 9 del gen que codifica a la PON. En estudios complementarios, se han observado diferencias de los niveles hepáticos de mRNA proveniente de los alelos de PON1 definido por la mutación L54M. Esto implica la expresión genética como una fuente principal de variaciones en el suero de la actividad y concentraciones de la PON.^{7,9}

Se ha mencionado que la actividad de PON1 está genéticamente determinada. Las investigaciones se han enfocado en la sustitución de un aminoácido en la posición 192 (Q a R), dando lugar a dos holoenzimas. Este polimorfismo en la actividad de PON1 es sustrato dependiente. Algunos sustratos, como paraoxón y fenitroxón, son hidrolizados más rápido por la holoenzima R, mientras que otros sustratos, como el acetato difenilo, son hidrolizados en el mismo rango por otras holoenzimas, y aun otros como diazoxón y los gases nerviosos como el soman y sarin, son hidrolizados más rápidamente por la holoenzima Q. Un segundo polimorfismo del gen que codifica PON1 está presente en el aminoácido en la posición 55 (L a M). Este polimorfismo también ha sido presentado por tener un efecto sobre la actividad de PON1. Aunque éste sea mucho más pequeño que el polimorfismo 192, esto es independiente del polimorfismo 192.⁸

Últimamente se ha mostrado que la holoenzima R de PON1 es menos eficiente para retardar la oxidación de las LDL que la holoenzima Q, debido a la hidrólisis disminuida de peróxidos de lípido por la holoenzima R. Esto ha sido confirmado por otros trabajos, los cuales indican que la eficacia de estas dos holoenzimas hacia la peroxidación de lípidos es opuesta a la de paraoxón, el sustrato que más comúnmente es usado en el estudio de la actividad de PON1. Estas conclusiones pueden explicar por qué en algunos estudios de casos y controles, el alelo R de la paraxonasa ha sido encontrado con una frecuencia aumentada en enfermedad cardíaca coronaria (CHD); se añaden a estas hipótesis que el polimorfismo PON1-192 podría ser un factor de riesgo para la aterosclerosis. Sin embargo, algunos estudios no han logrado encontrar tal relación, y mencionan que el alelo R ha sido el menos común en pacientes con enfermedad coronaria. Lamentablemente, la mayoría de estos estudios eran exclusivamente genéricos, sin las medidas de actividad PON1 o la masa.⁸

Se ha reportado que PON1 en las HDL pueden bloquear respuestas inflamatorias previniendo la oxidación de las LDL. Durante una reacción de fase aguda, hay una pérdida significativa de la actividad de PON1, así que considera el fracaso de las HDL para proteger a las LDL de la oxidación en pacientes con aterosclerosis coronaria, por lo que se propone que existe en suero una baja actividad de PON1. Hubo una disminución de la actividad en el suero de PON1 y de la concentración en infarto de miocardio dentro de las primeras dos horas de inicio de los síntomas; los valores de PON1 no se modificaron hasta 42 días después de que ocurrió el evento coronario, mucho después de que la fase aguda había ocurrido, por lo que se sugiere que una disminución en la actividad pudiera preceder a un acontecimiento coronario agudo y que tal disminución puede ser considerablemente más grande, independientemente de las diferencias del dominio de los polimorfismos de PON1 entre pacientes que desarrollan enfermedad coronaria e individuos control.⁸ Por lo tanto, se ha sugerido que en la enfermedad coronaria, el estado de PON1 (esto es, su actividad y concentración) sería más importante que su genotipo. Por lo que las determina-

ciones de estado de PON1 pueden ser un mejor indicador de enfermedad aterosclerótica que determinación de colesterol total o de HDL colesterol, es decir, funcionar como un nuevo marcador biológico de enfermedad.⁸

Método

Descripción del trabajo

- a) Se seleccionaron 30 pacientes, 18 con enfermedad arterial coronaria y 12 sin enfermedad arterial coronaria diagnosticados mediante coronariografía; se tomaron estudios de laboratorio (BH, QS, ES, PL), índice de masa corporal, igualmente se determinaron sus factores de riesgo y se les tomaron muestras de sangre para la extracción de material genético y determinación de la actividad de PON1.
- b) Se realizó la obtención de material genético (ADN genómico) de las muestras de sangre de los grupos de pacientes y controles, para la genotipificación de la PON1, mediante la técnica del fenol-cloroformo.
- c) Se realizó la amplificación del gen de la PON1, de los grupos de pacientes y controles, mediante la técnica de PCR.
- d) Se realizó la determinación del genotipo de la enzima paraoxonasa de los grupos de pacientes y controles, mediante la enzima restricción NcoI.
- e) Se determinó la actividad de la paraoxonasa 1 mediante el empleo de la técnica de espectrofotométrica.
- f) Se estableció la existencia de correlación entre los genotipos de PON1 obtenidos de los grupos de paciente y controles con la enfermedad aterosclerótica.
- g) Se estableció la existencia de correlación entre la actividad de PON1 obtenida de los grupos de pacientes y controles y la enfermedad aterosclerótica.

Criterios de inclusión y exclusión

1. Terminología operacional

Para la realización de este estudio se definió paciente con sintomatología coronaria aguda, es decir, el paciente que presentó dolor precordial y síntomas acompañantes como sudoración, sensación inminente de muerte, síncope (síndromes coronarios agudos), y se demostró cardiopatía isquémica aterosclerótica mediante coronariografía o enfermedad aterosclerótica generalizada.

2. Criterios de inclusión

- Grupo 1 (casos): pacientes que acepten entrar voluntariamente al estudio, de ambos sexos, de edades entre 35 y 80 años o más, con sintomatología coronaria aguda y cardiopatía isquémica aterosclerótica demostrada por coronariografía, o enfermedad aterosclerótica sistémica demostrada por cualquier otro tipo de estudio radiológico.

- Grupo 2 (controles): pacientes que acepten entrar voluntariamente al estudio, de edades entre 35 a 80 años o más sin enfermedad aterosclerótica coronaria demostrada por coronariografía.

3. Criterios de exclusión

- Grupo 1: Pacientes que no acepten entrar al estudio, presencia de enfermedad hepática o transfusión sanguínea reciente.
- Grupo 2: Que no acepten entrar al estudio, que presenten sintomatología coronaria aguda.

Identificación de genotipos

Finalmente se identificaron los alelos de la paraoxonasa según el patrón de bandas: cuando la C es reemplazada por A para generar un sitio de restricción para NcoI en el caso del alelo M. La transición T-A corresponde a la sustitución del aminoácido Leu-Met 54 del gen de PON1 creando un sitio de restricción para la enzima NcoI y produce dos bandas de 24 y 99 pb después de la digestión.¹⁰

Resultados

En el presente estudio se trabajó con un total de 30 pacientes de los cuales 10 fueron del sexo femenino y 20 del sexo masculino, con un promedio de edad para cada grupo de 58 y 67 años respectivamente.

Se clasificaron en dos grupos, el primer grupo de pacientes sin enfermedad arterial coronaria (SEAC) y el segundo grupo de pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC), la cual fue diagnosticada mediante el estudio de gabinete denominado coronariografía diagnóstica (CD) (Cuadros 1 y 2).

Estudios de gentotipificación de la enzima paraoxonasa 1

Simultáneo al diagnóstico clínico, de laboratorio y de gabinete de los pacientes de los dos grupos de estudio se llevó a cabo el análisis molecular de la paraoxonasa 1 (Figura 1). Para lo cual se tomaron muestras de sangre periférica para la obtención de leucocitos, con el fin de realizar la extracción del ADN de cada paciente.

Cuadro 1. Resultados de actividad y genotipo de PON1 en muestras de pacientes SEAC y enfermedades asociadas. * nmolas/hora/ml

No. ptes.	Edad	Sexo	IMC	DM	HTAS	IRC	Lesiones	* ACT PON1	Genotipo
1	60	M	26	Tipo 2	Pos.	Pos.	Sin lesiones	394.751	LL50
2	54	F	24.8	Tipo2	Neg.	Neg.	Sin lesiones	671.952	LL
5	59	M	29.8	Neg.	Pos.	Neg.	Sin lesiones	374.522	LL
6	59	M	28.3	Neg.	Pos.	Neg.	Sin lesiones	555.495	LL
10	68	M	25.6	Neg.	Pos.	Neg.	Sin lesiones	944.232	LL
12	49	F	22.9	Neg.	Neg.	Neg.	Sin lesiones	566.430	LL50
13	68	M	25.8	Neg.	Neg.	Neg.	Sin lesiones	611.810	LL
18	67	F	21.9	Neg.	Pos.	Neg.	Sin lesiones	146.528	LL
21	46	F	29.4	Neg.	Pos.	Neg.	Sin lesiones	63.423	LM
25	43	M	23	Neg.	Neg.	Neg.	Sin lesiones	106.616	LL
28	77	F	27.7	Tipo 2	Pos.	Neg.	Sin lesiones	540.733	LM
29	47	M	29.1	Neg.	Neg.	Neg.	Sin lesiones	535.265	LL

Cuadro 2 . Resultados de actividad y genotipo de PON1 de muestras de pacientes con EAC y enfermedades asociadas. * nmolas/hora/ml

No. Ptes	Edad	Sexo	IMC	DM	HTAS	IRC	Lesiones	ACT PON 1	Genotipo
3	73	M	30.07	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 80Y90%	566.976	LL
4	61	M	25.8	Neg.	Neg.	Neg.	Lesiones 40,75Y 95%	1318.753	LM 50
7	60	M	36.8	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 60 Y 80%	581.192	LL
8	48	M	28.06	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 100%	552.214	LM
9	74	F	22.63	Tipo 2	Neg.	Neg.	Lesiones 50,70Y 95%	320.394	LL
11	74	F	23.75	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 85%	655.549	LL 50
14	63	M	26.4	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 70 Y 90%	427.556	LM 50
15	76	M	25.41	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 60 Y 95%	596.501	LL
16	77	M	23.66	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 60,95 Y 100%	358.119	LL
17	80	M	23.38	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 70 Y 100%	139.967	LL
19	71	M	26.1	Neg.	Pos.	Neg.	Lesiones 100%	805.905	LL
20	74	M	26.4	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 50Y 100%	239.475	LM
22	54	M	24.09	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 50,80 Y 95%	99.508	LL
23	67	F	25.95	Tipo 2	Neg.	Neg.	Lesiones 60 Y 70%	247.676	LM
24	58	M	23.5	Tipo 2	Neg.	Neg.	Lesiones 100%	139.420	MM
26	76	F	25.31	Tipo 2	Pos.	Pos.	Lesiones 70,80Y98%	312.739	LL
27	75	F	27.55	Tipo 2	Pos.	Neg.	Lesiones 25,70 Y100%	616.184	LL
30	51	M	28.59	Neg.	Neg.	Neg.	Lesiones 80%	206.124	LL

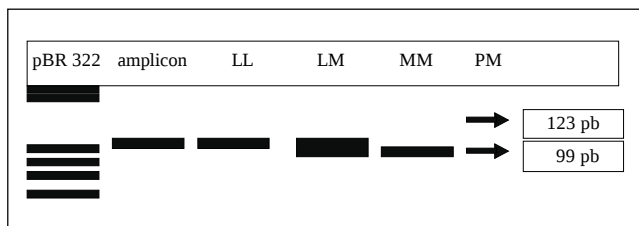


Figura 1. Genotificación de la paraoxonasa.

Cuadro 3. Distribución en la población general de polimorfismo PON1.

Genotipo	Bandas encontradas	Número de individuos
L/L	123 pb	22
L/M	123, 99 pb	7
M/M	99, 23 pb	1
TOTAL		30

La extracción del ADN se realizó mediante la técnica de fenol-cloroformo, empleando 200 µl de concentrado de leucocitos previamente centrifugado y separado de la sangre total con anticoagulante.

La extracción se realizó por duplicado y se corroboró su integridad mediante el corrimiento electroforético.

En cuanto a la realización de la PCR, ésta se realizó a las 30 muestras por duplicado, con sus respectivos blancos de reactivos y control de ADN. En el 100% de las muestras resultó la amplificación del gen de la PON1. Posterior a la amplificación del gen de PON1 se llevó a cabo la digestión del amplificado de 123 pb. con la enzima NcoI. Y posteriormente el corrimiento electroforético en agarosa 1000 para establecer los alelos y genotipos en ambos grupos de pacientes. Los resultados se muestran en el *cuadro 3*.

Conclusiones

En relación con los resultados obtenidos en el presente estudio, se determina lo siguiente:

1. Los pacientes con EAC son más añosos que aquellos SEAC.
2. El sexo predominante en el grupo de pacientes con EAC es masculino. En el grupo SEAC no existe predominancia de sexo.
3. Las enfermedades crónico degenerativas y el mayor número de factores de riesgo cardiovascular predominan en el grupo con EAC.
4. El análisis de resultados de estudios de laboratorio no arrojó diferencias significativas, ya que son parámetros muy variables a consecuencia de los tratamientos implementados para detener la progresión del cuadro clínico al ingreso de cada paciente al hospital y a la UCC. Sin em-

bargo, el único parámetro que presentó diferencias significativas fue lo referente a los niveles de triglicéridos.

5. El genotipo predominante en ambos grupos es el LL (83.3% SEAC y 66.6% con EAC).
6. El genotipo LM se presentó en el grupo SEAC en un 16.6% y 27.7% en el grupo con EAC, mientras que el MM que es el genotipo menos protector para EAC se presentó en un solo paciente con un porcentaje del 5.5% (aunque es sólo un paciente, éste se encuentra dentro de los pacientes con EAC, dato que corresponde con la literatura científica).
7. La actividad de la enzima PON1 es semejante en ambos grupos de estudio; sin embargo se observa en promedio una ligera disminución de la actividad de la enzima en el grupo con EAC sin llegar a ser esto estadísticamente significativo.

Aun cuando el genotipo de la PON1 tiene sus manifestaciones en el organismo como el efecto protector intrínseco de las HDL contra la aterosclerosis en especial en la EAC, se concluyó que los factores de riesgo cardiovasculares y las enfermedades crónico degenerativas son de gran relevancia para la manifestación de la enfermedad aterosclerótica. Como se menciona en la literatura mundial, estos factores de riesgo y enfermedades crónico degenerativas son fuente de estrés oxidativo, y alteran la actividad protectora intrínseca de oxidación sobre HDL, llevando por consiguiente a una oxidación de las LDL de manera inexorable que concluye con la manifestación de aterosclerosis sistémica, pero en especial en aquellos sitios de predilección como las arterias coronarias, las arterias renales y las arterias cerebrales.

Por otra parte y en lo que respecta a la correlación entre la EAC, la actividad enzimática y el polimorfismo de PON1, podemos concluir que la distribución genotípica en nuestros grupos de estudio sí corresponde con la literatura científica que estudió específicamente el polimorfismo de PON1 y EAC (Salone: LL 36%, LM 40% y MM 24%;¹⁰ Mackness LL 53%, LM 24% y MM 135; nuestro estudio; LL 66.6% , LM 27.7% y MM 5.5%¹¹). Sin embargo, estos estudios no mencionan la presencia de factores de riesgo cardiovascular ni enfermedades crónico degenerativas en los pacientes como criterios de inclusión o exclusión, pudiendo estos factores ser la causa de nuestras variaciones en relación con la actividad y polimorfismo de PON1 con la manifestación de la enfermedad aterosclerótica coronaria. Otra causa que pudiera contribuir a estas variaciones es nuestro número de pacientes y grupo étnico, ya que los estudios mencionados fueron realizados en otros países.

Referencias

1. Coyle Joseph T, Puttfarcken Pamela. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. Science 1993; 262: 689-695.
2. Dominic S Ng, Maguire Graham F, Wylie John, Ravandi Amir, Xuan Wanli, Ahmed Zakaria, *et al*. Oxidative stress is markedly elevated in cholesterol acyltransferase-deficient mice and is paradoxically reversed in the apolipoprotein e knock-out background in association with

a reduction in atherosclerosis. The Journal of Biological Chemistry 2002; 227(14): 1715-1720.

3. Berliner Judith A, Navab Mohamad, Fogelman Alan M. Atherosclerosis, basic mechanisms oxidation, inflammation, and genetics circulation 1995; 91(9): 2488-2496.

4. Draganev Dragomir L, Stetson Philip L, Watson Catherin E, Billecke Scott S, La Du Bert, Rabbit Serum. Paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protect low density lipoprotein against oxidation. The Journal of Biological Chemistry 2000; 275(43): 33435-33442.

5. Durrington P N, Mackness B, Mackness M I. Paraoxonase and atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21: 473-480.

6. Leviev Lia, James Richard W. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000; 20: 516-521.

7. Aviram Michael, Rosenblat Mira, Bisgaier Carlos L, Newton Roger S, Primo-parmo Sergio I, Du la Bert N. Paraoxonase ingibits high-density li-

poprotein oxidation and preserves its functions; a possible peroxidative role for paraoxonase. The J Clinic Inv 1998; 10(8): 1581-1590.

8. Mackness Barthi, Davies Gershan K, Turkies Wajdi, Lee Evelyn, Roberts David H, Hill Elizabeth, *et al.* Paraoxonase status in coronary heart disease. Are activity and concentration more important than genotype? Arterioscler Tromb Vasc Biol. 2001; 21: 1451-1457.

9. Sofya N Akhmedova, Andrey K Yakimovsky, Eugene I Schwartz. Paraoxonase 1 Met-Leu 54 polymorphism is associated with Parkinson's disease. Rev Journal Neurological Sciences 2001; 184: 179-182.

10. Salonen T Jukka, Rica Malin, Tomi-Pekka Toumainen, Kristiina Nyysönen, Timo A Lakka, Terho Lehtimäki. Polymorphism in high density lipoprotein paraoxonase gene and risk of acute myocardial infarction in men: Prospective nested case-control study. Vol. 319. BJM 1999; 487-489.

11. Aamir Ayub, Michael I Mackness, Sharon Arrol, Bharti Mackness, Jeetesh Patel, Paul N Durrington. Serum paraoxonase after myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999; 19: 330-335.