

Paraoxonasa-1 y arteriosclerosis: al disminuir la oxidación se reduce la respuesta inflamatoria

Jorge Joven y Jordi Camps

Centre de Recerca Biomèdica. Hospital Universitari de Sant Joan. Institut d'Investigacions Sanitàries Pere Virgili. Universitat Rovira i Virgili. Reus. España.

La relación entre la oxidación y los procesos inflamatorios en la fisiopatología de la arteriosclerosis es un paradigma relativamente reciente^{1,2} que ha impulsado notablemente los esfuerzos científicos para estudiar la enzima paraoxonasa-1 (PON1)³. Se trata de una hidrolasa con capacidad de degradar una amplia variedad de sustratos distintos. Considerando esta "promiscuidad"⁴, no es extraño que los primeros estudios sobre PON1 se realizaran en el campo de la toxicología, como mecanismo de defensa frente a diversos xenobióticos, y en especial su actividad esterasa, frente a organofosforados, ésteres alifáticos y carboxílicos y carbamatos. Su propia denominación vulgar, *paraoxonasa*, proviene precisamente de su capacidad de hidrolizar paraoxon, un insecticida organofosforado utilizado en las labores agrícolas. PON1 circula en el plasma unida, como una apoproteína, a las lipoproteínas de alta densidad (HDL), y se empezó a relacionar con la arteriosclerosis y la enfermedad cardiovascular por su capacidad de hidrolizar los fosfolípidos oxidados presentes en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), asociándose, por tanto, a los efectos beneficiosos o ateroprotectores de las HDL. Genéticamente, PON1 es una enzima diversa en la población y se han descrito numerosos polimorfismos, algunos de los cuales condicionan su actividad y su concentración plasmáticas: una sustitución Gln¹⁹² → Arg (Q¹⁹²R), otra sustitución Leu⁵⁵ → Met (L⁵⁵M) y una tercera sustitución C/T en la posición -107 del promotor. Algunos estudios han encontrado una asociación entre valores bajos de PON1 en suero o sus polimorfismos genéticos con

la enfermedad cardiovascular, pero ese hallazgo está lejos de ser considerado totalmente establecido y la polémica desatada es considerable; en ratones de experimentación, la sobreexpresión de PON1 reduce la posibilidad de desarrollar arteriosclerosis⁵.

Los estudios de tipo demográfico o epidemiológico pretenden descubrir diferencias en la frecuencia génica o en la concentración plasmática de PON1 en distintas áreas geográficas que prueben su posible relación con factores ambientales, nutricionales o de estilo de vida. El objetivo último consiste en conocer los determinantes genéticos y ambientales de PON1⁶⁻⁸ que puedan modificarse o prevenirse y así mejorar las posibilidades de mejorar la protección contra la enfermedad cardiovascular en grupos de población amplios. El trabajo de Garcés et al⁹ que se publica en el presente número de CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS aporta datos interesantes en este campo y llena un espacio dentro de la zona euromediterránea. Nos parece original y acertado que el estudio que comentamos esté realizado en niños ya que, con intenciones un tanto provocadoras, nos gusta definir la arteriosclerosis como una enfermedad pediátrica. Aunque las manifestaciones clínicas de este trastorno no aparecen en la inmensa mayoría de los casos hasta la edad adulta, no cabe duda de que las alteraciones bioquímicas e histológicas inherentes comienzan a presentarse en edades muy tempranas. Existen muy pocos datos sobre estas alteraciones en general, y sobre la PON1 en particular, en la población infantil, y los resultados aportados pueden considerarse pertinentes.

Hay, sin embargo, algunas dificultades, comunes a todos los investigadores, que han de considerarse. En primer lugar, la determinación en el laboratorio de la actividad PON1 es prácticamente artesanal; se han descrito diversos métodos pero no se

Correspondencia: Dr. J. Joven.
Centre de Recerca Biomèdica.
Hospital Universitari de Sant Joan.
Sant Joan, s/n. 43201 Reus. España.
Correo electrónico: jjoven@grupsgessa.cat

dispone de un método de referencia. Por tanto, las comparaciones entre laboratorios son muy arriesgadas y poco recomendables. Por ejemplo, en el método descrito por Mackness et al¹⁰, que es el utilizado por los autores, la actividad enzimática se mide a pH = 8,0 y a 25 °C, mientras que otros autores utilizamos pH = 10,5 y 37 °C¹¹; esto podría explicar las diferencias observadas entre la población de Garcés et al y la nuestra. Otra limitación es que estos ensayos utilizan frecuentemente paraoxon como sustrato. Este compuesto es un organofosforado altamente tóxico e inestable y, obviamente, no es el sustrato fisiológico de PON1, ya que esta enzima ya existía antes de inventarse los insecticidas. Son necesarias, pues, algunas modificaciones técnicas que permitan saber qué se está midiendo exactamente cuando se determina esta actividad enzimática y, por tanto, qué importancia puede tener realmente en el desarrollo de enfermedades. Algunos investigadores, muy convincentes, sugieren que la actividad fisiológica ancestral de la PON1 es la de lactonasa¹² y, por tanto, el uso de métodos analíticos que utilizan lactonas como sustratos podría ser muy superior en medicina. Los primeros datos obtenidos en nuestro laboratorio indican un futuro prometedor. Otra estrategia utilizada consiste en medir la concentración de la proteína PON1 junto con la actividad. Una vez más, la determinación es artesanal y los grupos involucrados hemos tenido que desarrollar los reactivos y métodos de análisis sin método de referencia ni patrones establecidos^{3,13}. Existe una buena correspondencia entre la actividad y la proteína circulante en la población general¹⁴, pero esta correlación se pierde cuando se estudian trastornos relacionados con estímulos oxidativos y a menudo actividades circulantes bajas se corresponden con concentraciones altas de proteína. Los motivos de este extraño comportamiento se están investigando actualmente, pero parece que la inhibición del centro activo de la enzima por parte de los lipoperóxidos, y las alteraciones estructurales de las HDL en algunas enfermedades podrían explicar estas discrepancias¹³.

La asociación entre oxidación e inflamación atraen la atención de un número creciente de investigadores. Las LDL oxidadas constituyen un potente inductor de moléculas favorecedoras de inflamación, tales como selectina P, VCAM, ICAM-1 y la proteína quimioattractiva de macrófagos (*monocyte chemoattractant protein-1* o MCP-1). Las partículas de HDL protegen las LDL de la oxidación a través de PON1 y la acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas¹⁵. Como existe una relación inversa entre el riesgo de presentar arteriosclerosis y la concen-

tración de HDL, la hipótesis evidente es que PON1 podría proteger del desarrollo de arteriosclerosis degradando los lípidos oxidados de las LDL y disminuyendo, por tanto, la respuesta inflamatoria. Esta hipótesis fue investigada in vitro por Mackness et al¹⁶, quienes demostraron que la incubación de células endoteliales en cultivo con LDL oxidada estimulaba la producción de MCP-1. Asimismo, si estas células se preincubaban con HDL o con PON1 purificada, la oxidación de LDL y la producción de MCP-1 se inhibían significativamente. Más recientemente, se ha publicado, en un modelo experimental de ratones con hiperlipidemia, que la sobreexpresión de PON3 (otra enzima del grupo de las paraoxonasas, con funciones similares a la PON1) disminuye el tamaño de la placa arteriosclerótica y la concentración plasmática de MCP-1¹⁷. Las implicaciones clínicas de la interacción entre PON1 y MCP-1 pueden ir incluso más allá, ya que estudios experimentales sugieren que MCP-1 interviene en el desarrollo de la obesidad y la acumulación de grasa en adipocitos y en la tolerancia a la glucosa^{17,18}.

Bienvenidos, pues, todos los datos aportados en este campo ya que abundan más las preguntas que las respuestas. El desarrollo de mejores métodos de ensayo, que midan funciones más fisiológicas de la enzima, el estudio de la interacción de los factores genéticos y ambientales en los valores de PON1, y la investigación de la interacción entre PON1 y MCP-1 en el desarrollo de arteriosclerosis, síndrome metabólico y alteraciones asociadas, constituyen las líneas actuales de investigación más promotoras en este campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gutiérrez J, Ballinger SW, Darley-Usmar VM, Landar A. Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res*. 2006;99:924-32.
2. Tardif JC. Antioxidants: the good, the bad and the ugly. *Can J Cardiol*. 2006;22 Suppl B:61B-5.
3. James RW. A long and winding road: defining the biological role and clinical importance of paraoxonases. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44:1052-9.
4. Rochu D, Chabrière E, Masson P. Human paraoxonase: a promising approach for pre-treatment and therapy of organophosphorous toxicity. *Toxicology*. 2007;233:47-59.
5. Camps J, Marsillach J, Joven J. Importancia clínico-biológica de las paraoxonasas. *Clin Invest Arterioscl*. 2007;19 Supl 4:20-5.
6. Jarvik GP, Tsai NT, McKinsty LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1329-33.
7. Ferré N, Camps J, Fernández-Ballart J, et al. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem*. 2003;49:1491-7.
8. Roest M, Van Himbergen TM, Barendrecht AB, Peeters PHM, van der Schouw YT, Voorbij HAM. Genetic and environmental determinants of the PON-1 phenotype. *Eur J Clin Invest* 2007;37: 187-96.

9. Garcés C, López-Simón L, Rubio R, Benavente M, Cano B, Viturro E, De Oya M. Análisis de la actividad paraoxonasa (PON1) y de los polimorfismos PON1 192 y PON1 55 en la población prepuberal del Estudio Cuatro Provincias. *Clin Invest Arterioscler*. 2007;19:287-92.
10. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1991;86:193-9.
11. Ferré N, Camps J, Prats E, et al. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem*. 2002;48:261-8.
12. Kershonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry*. 2005;44:6371-82.
13. Ferré N, Marsillach J, Camps J, et al. Paraoxonase-1 is associated with oxidative stress, fibrosis and FAS expression in chronic liver diseases. *J Hepatol*. 2006;45:51-9.
14. Ferré N, Camps J, Marsillach J, et al. Comparison of paraoxonase-1 measurements in serum and in lithium-heparin-anticoagulated plasma samples. *Clin Chem*. 2005;51:922-3.
15. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoproteins. *FEBS Lett*. 1991;286:152-4.
16. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;318:680-3.
17. Shih D, Xia YR, Wang XP, Wang SS, et al. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice. *Circ Res*. 2007;100:1200-7.
18. Rull A, Escolà-Gil JC, Julve J, et al. Deficiency in monocyte chemoattractant protein-1 modifies lipid and glucose metabolism. *Exp Mol Pathol*. En prensa. doi: 10.1016/j.yexmp.2007.03.003