

Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis

Marta Tomás^a, Glòria Latorre^a, Mariano Sentí^{a,b} y Jaume Marrugat^{a,c}

^aUnitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular. Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM). Barcelona.

^bUniversitat Pompeu Fabra. Barcelona.

^cUniversitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

La causa individual que mayor morbimortalidad produce en los países industrializados es la enfermedad coronaria. La lipoproteína de alta densidad (HDL) es uno de los factores protectores independientes más importantes del proceso arterioscleroso subyacente en esta enfermedad. La paraoxonasa 1 (PON1), una enzima presente en esta lipoproteína, le confiere propiedades antioxidantes. *In vitro*, la PON1 hidroliza una gran variedad de sustratos endógenos o exógenos, algunos de ellos claramente implicados en la progresión de la arteriosclerosis. En modelos animales se ha demostrado la estrecha relación entre el déficit de PON1 y el desarrollo acelerado de arteriosclerosis. Asimismo, la actividad de la PON1 se encuentra reducida en enfermedades con elevado estrés oxidativo, como la enfermedad coronaria, las dislipoproteinemias, procesos inflamatorios, la diabetes y ciertas neuropatías. La actividad enzimática disminuida de PON1 se asocia a distintas enfermedades relacionadas con la arteriosclerosis. La variante genética de la PON1 más estudiada es la *PON1-192*, cuyo alelo R se asocia a una elevada actividad paraoxonasa que varía desde el 24,8% en los italianos al 78,9% en los indios cayapa ecuatorianos. Asimismo, un metaanálisis de los estudios que abordan la relación de la enfermedad coronaria con este alelo de la PON1 muestra que es un factor de riesgo independiente para la enfermedad, con una *odds ratio* (OR) de 1,18 (intervalo de confianza (IC) del 95%, 1,10-1,27). La enzima PON1 añade un nuevo paradigma cualitativo a la ya conocida capacidad de transporte inverso de colesterol asociada a valores plasmáticos elevados de HDL.

Palabras clave: *Paraoxonasa. Arteriosclerosis. Antioxidantes. Estrés oxidativo.*

The Antioxidant Function of High Density Lipoproteins: A New Paradigm in Atherosclerosis

The one disease associated with the greatest morbidity and mortality in industrialized countries is coronary heart disease (CHD). High density lipoprotein (HDL) is one of the most important independent protective factors for the arteriosclerosis which underlies CHD. Paraoxonase1 (PON1) is an enzyme that confers antioxidant properties to HDL. *In vitro*, PON1 hydrolyzes a large variety of endogenous or exogenous substrates, some of which are clearly involved in the progression of arteriosclerosis. A close relationship between PON1 deficiency and accelerated progression of arteriosclerosis has been found in animal models. Moreover, PON1 activity is reduced in high oxidative stress diseases such as CHD, dyslipoproteinemias, inflammatory processes, diabetes and certain neuropathies. Reduced PON1 enzyme activity is associated with several arteriosclerosis-related diseases. The most thoroughly studied genetic variant of PON1 is *PON1-192*, in which the R allele is associated with elevated paraoxonase activity. This allele, present in 24.8% of the Italian population, is found in up to 78.9% of the population of Ecuadorian Cayapa Indians. A metaanalysis of studies on the relationship between CHD and the R allele showed the latter to be an independent risk factor for this disease, with an odds ratio of 1.18 (95% confidence interval, 1.10-1.27). The PON1 enzyme is a potentially useful new qualitative indicator in addition to the well known reverse cholesterol transport capacity associated with high plasma levels of HDL.

Key words: *Paraoxonase. Arteriosclerosis. Antioxidants. Oxidative stress.*

Full English text available at: www.revespcardiol.org

Esta revisión fue financiada en parte con la beca FIS 99/0013/01, la beca FEDER 1FD97/0626, la beca FIS G03/45 de la Red Temática de Grupos HERACLES concedida por el Instituto de Salud Carlos III y con la beca FIS C03/01 de la Red Temática de Centros RECAVA concedida por el Fondo de Investigación Sanitaria.

Correspondencia: Dr. J. Marrugat.
Unitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular.
Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM).
Dr. Aiguader, 80. 08003 Barcelona. España.
Correo electrónico: jmarrugat@imim.es

La lipoproteína de alta densidad (HDL) es uno de los factores protectores más importantes de la arteriosclerosis identificados hasta el momento. Esta función protectora de la HDL se ha atribuido tradicionalmente a su participación activa en el transporte inverso de colesterol. Desde 1975, numerosos estudios de cohorte y

ABREVIATURAS

apo: apolipoproteína.
 HDL: lipoproteína de alta densidad.
 HF: hipercolesterolemia familiar.
 HMG-CoA: 3-hidroximetilglutaril-coenzima A.
 IAM: infarto agudo de miocardio.
 IL: interleucina.
 LDL: lipoproteína de baja densidad.
 ARNm: ácido ribonucleico mensajero.
 PON: paraoxonasa.
 TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.
 TNF: factor de necrosis tumoral.

ensayos clínicos han confirmado la relación entre una concentración baja de colesterol de las HDL y un mayor riesgo de enfermedad coronaria¹⁻⁵. En animales de experimentación, la concentración de HDL se correlaciona inversamente con el desarrollo de arteriosclerosis. Además, se ha observado que la lesión arteriosclerótica tiende a regresar en cuanto aumenta la concentración de HDL o de sus apolipoproteínas (apo) *in vivo*⁶⁻⁸. Por otra parte, ciertas enfermedades de base genética que cursan con HDL anormalmente disminuidas, como mutaciones en el gen *apoAI*, la enfermedad de Tangier o la enfermedad de ojo de pez (*fish-eye disease*), con frecuencia se asocian a arteriosclerosis y cardiopatía isquémica prematuras⁹⁻¹². Recientemente se ha conseguido incrementar la concentración de colesterol de las HDL inhibiendo de forma artificial la proteína transferidora de ésteres de colesterol. Sin embargo, el efecto de este aumento sobre el riesgo de enfermedad coronaria es aún desconocido¹³.

En términos de riesgo cardiovascular, la «paradoja francesa» se definió como la coexistencia de una ingesta rica en grasas saturadas y de baja mortalidad por enfermedad coronaria. A pesar de que la enfermedad coronaria afecta a más de 68.000 personas cada año y se cobra la vida de más del 40% de ellas, en España se ha constatado también la coincidencia de una baja incidencia de infarto agudo de miocardio (IAM) y una elevada prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos^{14,15}. Por este motivo tiene sentido el estudio de los factores que permitan explicar esta sorprendente situación, entre los cuales destacan las HDL y sus características. Las importantes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las HDL descubiertas en la última década pueden contribuir a una modificación sustancial del paradigma sobre los mecanismos preventivos de la arteriosclerosis.

En España, la concentración de HDL es similar o ligeramente mayor que en países con mayor incidencia de enfermedad coronaria como los del norte de Europa, Estados Unidos o Australia¹⁶. En este sentido, la

cantidad absoluta de HDL no parece ser un factor determinante de las diferencias geográficas que existen en la incidencia de la enfermedad¹⁶. La partícula de HDL en nuestro medio podría tener, por otro lado, aspectos cualitativos específicos que otorgarían a las HDL una mayor capacidad antioxidante y, por lo tanto, mayor protección frente a la cardiopatía isquémica¹⁶. La paraoxonasa 1 (PON1), estrechamente unida a la partícula de HDL, es la enzima de su función antioxidante y su actividad enzimática está intensamente regulada por factores ambientales como la dieta, la actividad física y ciertos fármacos, y también por factores genéticos, especialmente por ciertos polimorfismos genéticos situados en el propio gen *PON1*¹⁷⁻¹⁹. La capacidad antioxidante de la PON1 y la variabilidad de su actividad, medida con el sustrato paraoxón en función de diversos factores, hacen que su estudio sea de enorme interés en el contexto de las enfermedades derivadas de la arteriosclerosis.

PROPIEDADES Y CARACTERÍSTICAS DE LA PARAOXONASA 1

La PON1 se sintetiza en el hígado de los mamíferos, circula por la sangre unida a las apo A-I y apo J de las HDL, y su expresión se inhibe por estímulos proaterogénicos²⁰⁻²³. Existen otras dos proteínas de la misma familia con una probable función antioxidante, la PON2 y la PON3, con una expresión intracelular ubicua para la PON2, mientras que la PON3 posee una función antioxidante constitutiva basal y se une fundamentalmente a la HDL^{22,24-26}. En esta revisión nos centraremos en la PON1, cuya relación con patologías diversas, junto con factores ambientales y genéticos, ha sido la más intensamente estudiada de las tres.

La PON1 presenta diversas actividades enzimáticas (tabla 1), de las cuales destacaremos la actividad antioxidante y la actividad paraoxonasa, es decir, la que resulta de su determinación con el pesticida paraoxón como sustrato.

Actividad paraoxonasa (sustrato paraoxón)

La PON1 se identificó inicialmente en el campo de la toxicología puesto que era capaz de hidrolizar organofosfatos sintéticos como pesticidas (p. ej., paraoxón, metabolitos oxones de clorpirifós y de diazinón) o gases nerviosos (p. ej., sarín y somán)²⁷. El paraoxón es un metabolito tóxico producido en el hígado a partir del paratión, que es un compuesto relativamente inocuo²⁸. Si el paraoxón pasa al torrente sanguíneo, se hidroliza e inactiva por la PON1 de las HDL en los mamíferos. No sucede así en aves, peces e insectos que, en general, carecen de PON1 y se intoxican con facilidad por estos compuestos²⁹.

Conviene resaltar que la actividad paraoxonasa se encuentra disminuida en pacientes con enfermedades

TABLA 1. Actividades enzimáticas de la paraoxonasa 1: sustratos clasificados según su naturaleza, nombre de la actividad enzimática, su dependencia de la concentración de Ca²⁺, la presencia de la cisteína 283, y los polimorfismos PON1-192 y PON1-55

Sustratos	Actividades enzimáticas	Ca ²⁺	Cys 283	PON1-192	PON1-55
Organofosfatos	–	–	–	–	–
Paraoxón	Actividad paraoxonasa	Sí	No	R > Q	L > M
Oxón de clorpirifós	–	–	–	R = Q	–
Diazoxón	–	Sí	No	R < Q	–
Sarín	–	–	–	R < Q	–
Somán	–	–	–	R < Q	–
Arilésteres	Actividad arilesterasa	–	–	–	–
Fenilacetato	–	Sí	No	R = Q	L = M
2-naftilacetato	–	–	–	R = Q	–
Lactonas	Actividad lactonasa	Sí	Sí	–	–
Estatinas	–	–	–	R = Q	–
Tiolactona de homocisteína	–	–	–	R > Q	L > M
Protección de LDL frente a la oxidación	Actividad antioxidante	No	Sí	¿R < Q?	¿L < M?
Peróxidos/hidroperóxidos de fosfolípidos y ésteres de colesterol	–	–	–	–	–
H ₂ O ₂	–	–	–	–	–
PAF	Actividad PAF-acetilhidrolasa	–	–	–	–

PAF: factor activador de las plaquetas.

relacionadas con la arteriosclerosis, como el IAM, la diabetes mellitus o la hipercolesterolemia familiar (HF)³⁰⁻³³. Se ha descrito que la actividad de la PON1 con el sustrato paraoxón se correlaciona intensamente con la concentración de la proteína³⁴. Por otra parte, a pesar de la fuerte vinculación de la enzima con la partícula de HDL, no siempre se ha observado que la concentración de HDL y la actividad paraoxonasa se correlacionen entre sí³⁵.

Otras actividades enzimáticas de la paraoxonasa 1: arilesterasa (sustrato fenilacetato) y lactonasa (sustrato lactonas)

La PON1 puede hidrolizar arilésteres como el fenilacetato a través de su actividad arilesterasa, que también es, al parecer, representativa de la concentración de proteína^{34,36,37}. También posee la capacidad de hidrolizar más de 30 moléculas de tipo lactona, entre las que se encuentran moléculas endógenas, como tiolactonas de homocisteína y gammalactonas de glucocorticoides, y moléculas exógenas, como las estatinas^{38,39}.

Actividad antioxidante

La PON1 confiere las propiedades antioxidantes de las HDL y representa probablemente el mecanismo principal de inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de las propias HDL, procesos directamente involucrados en las fases iniciales de la arteriosclerosis, como puede observarse en la figura 1⁴⁰⁻⁴³. *In vitro*, la PON1 neutraliza peróxido de hidrógeno y lípidos peroxidados libres o presentes en lesiones ateroscleróticas o en LDL parcialmente oxidadas^{42,44-46}. Por otra parte, aunque no existe un acuer-

do unánime, la PON1 podría activar la acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas, una enzima que hidroliza este factor de reconocido efecto proinflamatorio, lo que conferiría a la PON1 propiedades antiinflamatorias^{47,48}.

Las evidencias experimentales de la función antioxidante de la PON1 se apoyan en estudios realizados en ratones doble *knock-out* para *PON1/apoE* que han demostrado *in vivo* que la PON1 es eficaz para inhibir la oxidación de las LDL y lipoproteínas de densidad intermedia, partículas de probado efecto aterogénico⁴⁹. Ratones *knock-out* para *PON1* sometidos a dietas aterogénicas ricas en grasas y colesterol desarrollan más aterosclerosis que los silvestres y sus HDL son incapaces de contrarrestar la oxidación de LDL, por lo que estas últimas y las propias HDL son más fácilmente oxidables¹⁸. Los animales sin el gen *PON1* presentan un estado oxidativo mayor^{50,51}. Por el contrario, los ratones que sobreexpresan PON1 muestran una menor formación de hidroperóxidos lipídicos⁵². Además, si se inyecta PON1 humana en ratones *knock-out* para la *apoE* que desarrollan arteriosclerosis de forma acelerada, los peróxidos lipídicos contenidos en los macrófagos peritoneales disminuyen significativamente⁵³.

Factores que regulan las actividades enzimáticas de la paraoxonasa 1

Los peróxidos lipídicos inhiben las actividades paraoxonasa, arilesterasa y antioxidante de la enzima PON1 debido probablemente, a sus interacciones con un grupo sulfuro de la enzima^{54,55}. Una consecuencia importante de lo mencionado es que, si existe oxidación de las HDL, ésta se acompaña de una disminución de la actividad paraoxonasa y, en consecuencia, de una re-

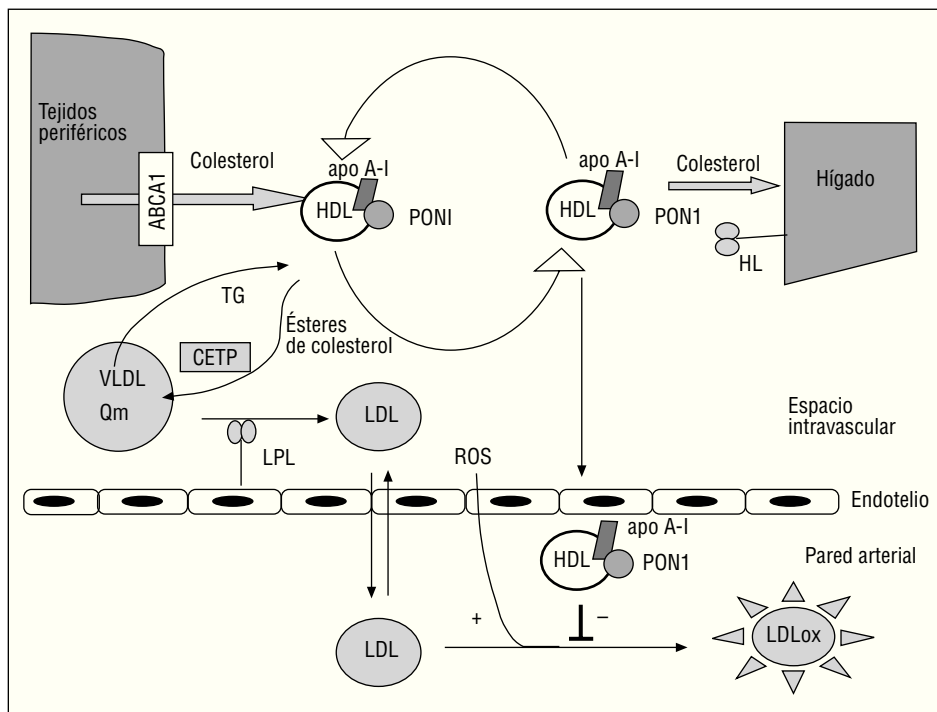


Fig. 1. Papel antioxidante de la paraoxonasa 1 en el proceso de formación de la placa arteriosclerótica. ABCA1: *ATP-binding cassette A1*; apo A-I: apolipoproteína A-I; CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDLox: LDL oxidada; HL: lipasa hepática; LDL: lipoproteína de baja densidad; LPL: lipoproteinlipasa; PON1: paraoxonasa 1; Qm: quilomicrón; ROS: especies reactivas de oxígeno; TG: triglicéridos; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.

ducción de la protección que ejerce la enzima frente a la oxidación de LDL⁵⁶.

Además de los peróxidos lipídicos, determinados aminoácidos de la proteína (como la cisteína en la posición 283 de la proteína), la concentración plasmática de Ca²⁺ y las variantes genéticas en zona codificante *PON1-192*, *PON1-55* y en zona promotora *PON1(-107)* originan la variación observada en las actividades enzimáticas de la PON1^{38,54}. En la figura 2 se presenta la frecuencia mundial del alelo R del polimorfismo *PON1-192*.

PARAOXONASA 1 Y ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA ARTERIOSCLEROSIS

Las enfermedades relacionadas con la arteriosclerosis y también algunos factores ambientales están relacionados en buena medida con la actividad de la PON1. Por otra parte, la PON1 es una enzima inducible, ya que diversos estímulos modifican su expresión²². En lo que concierne a la asociación de ciertos polimorfismos genéticos del gen *PON1* con la enfermedad coronaria, los resultados publicados hasta ahora son claramente dispares. Tal es el caso del polimorfismo *PON1-192*. Como complemento a esta revisión, hemos llevado a cabo un metaanálisis (fig. 3) cuyo resultado principal indica que el alelo R del polimorfismo *PON1-192* se asocia débil pero significativamente a la presencia de enfermedad coronaria en el conjunto de estudios que han abordado el tema, incluidos (fig. 3a) o no (fig 3b) los que analizan determinados sub-

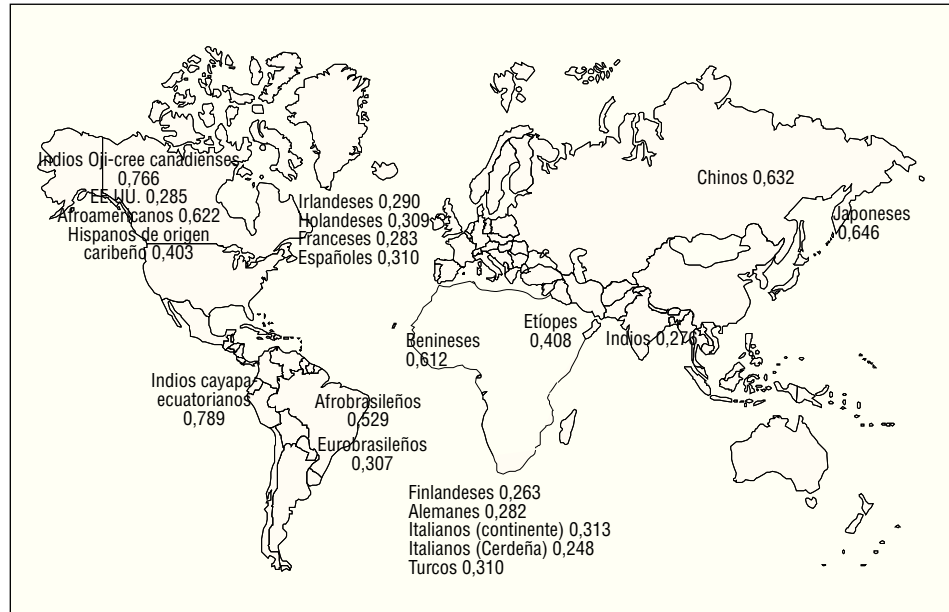
grupos de enfermos, como individuos diabéticos, con HF o de una franja de edad determinada. En este sentido, para predecir el riesgo de enfermedad coronaria parece lógico analizar los genotipos de *PON1*, además de su actividad o concentración^{19,57,58}. Sin embargo, hasta ahora son escasos los estudios que han analizado polimorfismos de *PON1* junto con su actividad paraoxonasa o arilesterasa⁵⁹⁻⁶². No obstante, algunas observaciones sugieren que la variabilidad interindividual de la actividad de la PON1 en individuos sanos parece deberse fundamentalmente a factores independientes del genotipo⁶³.

Enfermedad coronaria, inflamación y paraoxonasa 1

Está bien establecido que la arteriosclerosis y sus manifestaciones a menudo se asocian a concentraciones disminuidas de HDL, lipoproteínas donde se localiza la PON1. Actualmente sabemos que la concentración baja de HDL suele ir acompañada de una actividad o concentración de PON1 disminuidas, como sucede en la enfermedad de Tangier y la *fish-eye disease*^{64,65}.

En las lesiones ateroscleróticas se han hallado componentes celulares relacionados con la inflamación. En algunos estudios se ha observado una relación entre la incidencia de aterosclerosis y la presencia de ciertos agentes infecciosos como *Chlamydia pneumoniae* y Citomegalovirus, y entidades como la bronquitis crónica⁶⁶⁻⁶⁹. Ciertas moléculas implicadas en la fase aguda de la respuesta inflamatoria como la interleucina

Fig. 2. Distribución mundial de la frecuencia del alelo R del polimorfismo *PON1-192* de la paraoxonasa 1. Adaptada de Scacchi et al¹⁵⁹ con permiso (© 2003 Wayne State University Press, Detroit, Michigan 48201-1309). Datos sobre población española adaptados de Senti et al¹³⁴.



(IL)-1, IL-6, endotoxina y fosfolípidos oxidados disminuyen la expresión de PON1 y de su actividad paraoxonasa^{70,71}. De forma similar, se ha descrito que las citocinas proinflamatorias como la IL-1 β , el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa y la IL-6 regulan de forma coordinada la transcripción de PON1 en los hepatocitos⁷². En ratones sometidos a dieta aterogénica a corto plazo, la formación de complejos inmunitarios contra la apo A-I oxidada puede ser un mecanismo para la eliminación de HDL oxidadas y la consecuente disminución de la actividad paraoxonasa, sin disminuir la cantidad de su ARNm⁷³.

En pacientes intervenidos con cirugía cardíaca, se ha observado que durante la fase aguda hay una disminución de la actividad paraoxonasa y una pérdida concomitante de las propiedades antioxidantes de las HDL⁷⁴. También se ha observado una actividad paraoxonasa reducida en los sujetos portadores de autoanticuerpos antifosfolípidicos, en los infectados por el virus de la influenza y en los pacientes con artritis reumatoide, en los que la mortalidad por enfermedad coronaria parece estar aumentada⁷⁵⁻⁷⁷.

La actividad paraoxonasa disminuye después de un IAM, se mantiene reducida desde 2 h hasta aproximadamente 40 días después del evento, y puede incluso hallarse disminuida poco tiempo antes del comienzo de los síntomas^{30,32,78}. La actividad arilesterasa sérica, que decae en la insuficiencia cardíaca, se eleva de nuevo después del tratamiento adecuado⁷⁹. Enfermedades estrechamente asociadas a la arteriosclerosis, como la HF, el síndrome metabólico y el IAM, también se asocian a actividad paraoxonasa reducida como se observa en algunos de los estudios de la figura 4^{31,33,80,81}. Sin embargo, hasta que no se disponga de un ensayo analítico basado en la hidrólisis de peróxido

lipídico y se conozca con exactitud el sustrato fisiológico de la PON1, podría tener sentido determinar la actividad paraoxonasa, diazoxonasa o la concentración de PON1 en todos los estudios epidemiológicos que aborden la relación de la PON1 con la enfermedad coronaria^{34,59}.

Los individuos incluidos en el quintil superior de actividad paraoxonasa muestran un menor riesgo de enfermedad coronaria que los del quintil inferior, y esta diferencia es particularmente evidente en pacientes estudiados en relación con la prevención secundaria de enfermedad coronaria⁸². La concentración y la actividad paraoxonasa de pacientes con enfermedad coronaria están reducidas hasta en un 50%, independientemente del genotipo de *PON1-192* o *PON1-55*^{59,83}. Además, algunos de estos pacientes tienen valores normales de HDL, aunque se ha sugerido que estas HDL protegen insuficientemente frente a la migración de monocitos en la placa aterosclerótica⁸⁴. Asimismo, se ha observado que la concentración de PON1 tiende a ser menor en poblaciones cuya prevalencia de enfermedad coronaria es superior⁶². Al respecto, cabe resaltar que la concentración de PON1 predice la enfermedad coronaria de forma similar a otros parámetros, como la razón apo J/actividad paraoxonasa o la razón colesterol total/colesterol de las HDL^{59,84}.

Se han descrito ciertas particularidades en pacientes que presentan afecciones crónicas frecuentemente asociadas a enfermedad coronaria. Por ejemplo, los pacientes trasplantados renales con o sin enfermedad coronaria poseen actividad paraoxonasa y arilesterasa similarmente disminuidas⁶¹. En cambio, los diabéticos con enfermedad coronaria presentan actividades de PON1 superiores a las de los diabéticos sin ella³⁷.

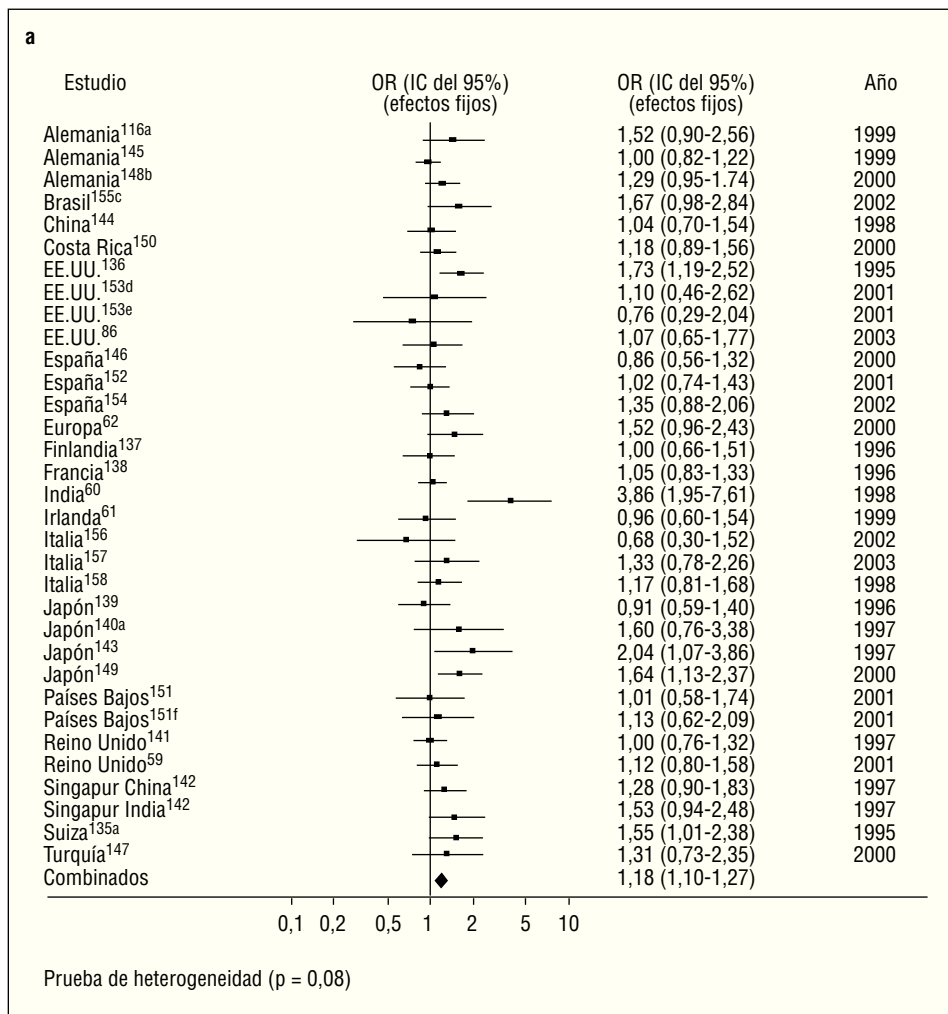


Fig. 3a. Metaanálisis de la asociación del alelo R del polimorfismo *PONI-192* de la paraoxonasa 1 con la presencia de enfermedad coronaria en 33 estudios (a) y sólo 25 estudios (b) sin pacientes con diabetes, límites de edad, intervenciones prospectivas o controles con hipercolesterolemia familiar.
^aDiabéticos; ^bedad < 62 años; ^cedad < 45 años; ^destudio prospectivo con placebo; ^eestudio prospectivo con tratamiento con fluvastatina; ^fhipercolesterolemia familiar; OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confianza

Algunos autores consideran que la actividad paraoxonasa predice mejor el riesgo de enfermedad coronaria que los genotipos *PONI-(-107)*, *PONI-55* o *PONI-192* considerados aisladamente. Sin embargo, hay que considerar que los niveles de actividad enzimática se superponen considerablemente entre los distintos genotipos de un mismo polimorfismo^{57,59,85,86}.

Hipercolesterolemia familiar y paraoxonasa 1

La HF, en su forma heterocigota, presenta una prevalencia poblacional del 0,2% y se caracteriza por un número reducido de receptores de LDL debido a mutaciones en el gen de dicho receptor. La mayoría de los pacientes con HF presentan hiperlipidemia tipo IIa o, en menor medida, el fenotipo IIb, según la clasificación de Fredrickson de las hiperlipidemias adaptada por la Organización Mundial de la Salud⁸⁷. A menudo, los pacientes afectados presentan arteriosclerosis precoz^{88,89}. En la HF se ha observado que la actividad paraoxonasa representa del 50 al 80% de la de los individuos no afectados, aunque no haya diferencias en la

concentración de HDL^{31,90}. Una situación similar acontece si se reproduce el fenotipo hipercolesterolémico en modelos animales sometidos a dietas ricas en grasas saturadas, que muestran una disminución importante de la actividad paraoxonasa, sin cambios apreciables del colesterol de las HDL⁹¹.

Se ha observado un aumento significativo de la actividad paraoxonasa en pacientes afectados de HF después de tratamiento con estatinas^{31,92,93}. En este efecto podrían intervenir aspectos relacionados con la transcripción, puesto que la simvastatina podría aumentar unas 2,5 veces la actividad transcripcional del promotor del gen *PONI* por un mecanismo dependiente de mevalonato, un producto metabólico de la 3-hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa⁹⁴.

Las estatinas son fármacos hipolipemiantes que inhiben la HMG-CoA reductasa, enzima clave de la biosíntesis intracelular de colesterol. En general, las estatinas promueven una disminución del colesterol total y el de las LDL y dan lugar a cambios variables de la concentración de HDL, tanto en prevención primaria

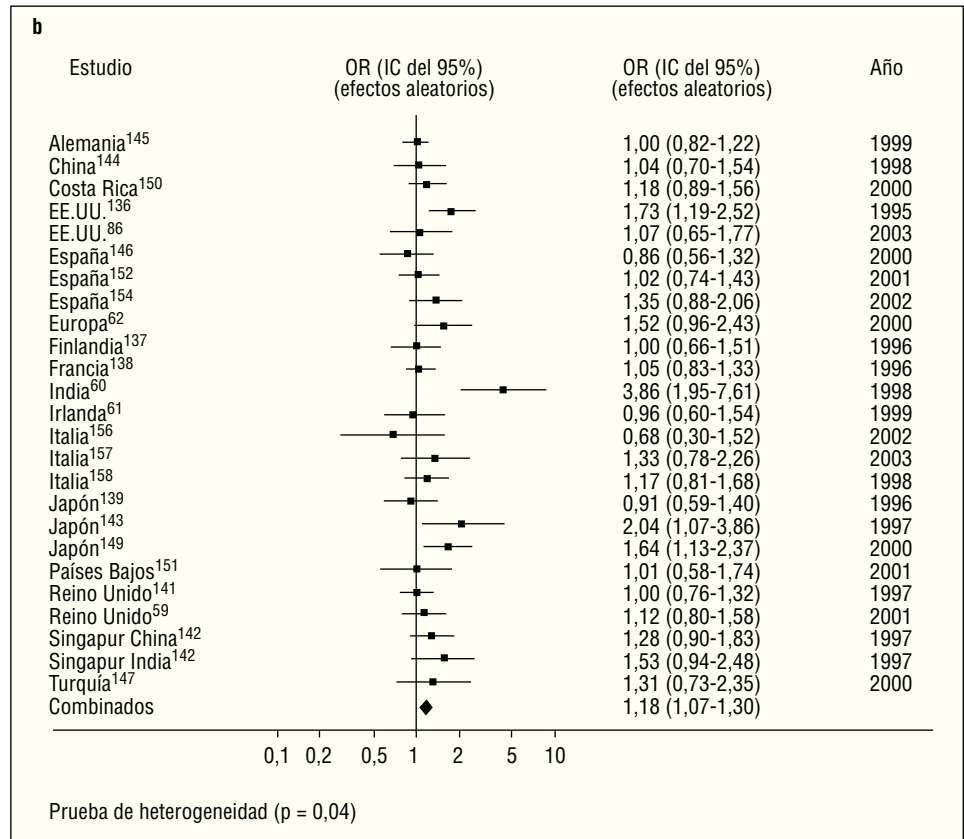


Fig. 3b.

como secundaria⁹⁵⁻⁹⁸. Al igual que otras estatinas, además de modificar el perfil lipídico, la simvastatina podría tener efectos pleiotrópicos no directamente relacionados con los lípidos, previniendo o revirtiendo la aterosclerosis mediante diversos mecanismos⁹⁹. La simvastatina en particular podría actuar como antioxidante *per se*, como indicarían experimentos *in vitro* y *ex vivo*. Al añadir simvastatina a un medio que contiene LDL y HDL, la formación de dienos conjugados, producto de la oxidación de los ácidos grasos, disminuye. De manera similar, las LDL y HDL de pacientes tratados con simvastatina se oxidan menos en ensayos *ex vivo*⁹⁵. La PON1 puede hidrolizar las estatinas, que contienen anillos lactónicos³⁸. Algunos derivados de la atorvastatina inhiben *in vitro* la oxidación de las LDL y HDL y preservan la actividad paraoxonasa¹⁰⁰. Este último efecto no se ha observado con la fluvastatina, cuya administración se asocia a una reducción de las actividades paraoxonasa, arilesterasa y lactonasa de la PON1, si bien también reduce el estrés oxidativo en ratas¹⁰¹.

Otro tipo de fármacos hipolipemiantes ampliamente utilizados son los fibratos, cuyo efecto farmacológico principal consiste en la disminución de la concentración de triglicéridos y el aumento de la del colesterol de las HDL. Aunque se han descrito algunos efectos secundarios graves, en pacientes con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia puede estar indicada la aso-

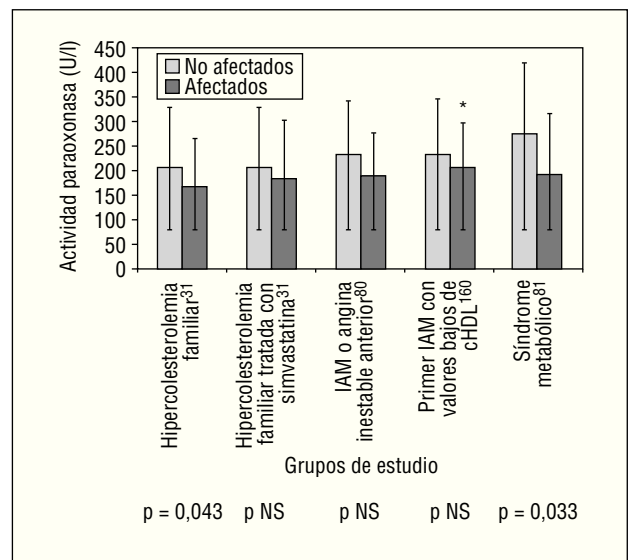


Fig. 4. Actividad paraoxonasa (media ± desviación estándar) de pacientes con hipercolesterolemia familiar antes y después del tratamiento con simvastatina, pacientes estables con historia de infarto de miocardio o angina inestable, pacientes a los 6 meses de un primer infarto de miocardio con valores reducidos de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad y pacientes con síndrome metabólico en comparación con controles sanos.

cHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; IAM: infarto agudo de miocardio; p: significación estadística de la comparación entre cada grupo de pacientes y los controles; NS: comparación estadísticamente no significativa.

*Mediana y rango intercuartil.

ciación de estatinas con fibratos⁸⁹. Numerosos ensayos clínicos han confirmado que los fibratos pueden retrasar la progresión de la aterosclerosis y la morbimortalidad cardiovascular a través de su efecto hipolipemiante y posiblemente también a causa de propiedades pleiotrópicas de naturaleza antiinflamatoria, antioxidante y de mejora de la función endotelial¹⁰².

No hay un acuerdo unánime con respecto al efecto de los fibratos en la actividad paraoxonasa. A pesar de que inicialmente se refirió que el gemfibrozilo incrementaba la actividad paraoxonasa, esta observación no ha podido repetirse en estudios posteriores con gemfibrozilo, bezofibrato, ciprofibrato o fenofibrato¹⁰³⁻¹⁰⁶. No obstante, otras observaciones han sugerido que el gemfibrozilo preserva la actividad paraoxonasa e inhibe la oxidación de LDL y HDL *in vitro*^{100,107}.

Diabetes mellitus y paraoxonasa 1

La diabetes mellitus tipo 1 se asocia a un elevado nivel de estrés oxidativo y una alta susceptibilidad a la enfermedad coronaria, así como a una disminución de la concentración de PON1 y de la actividad paraoxonasa¹⁰⁸. Se ha descrito que un 67% de los diabéticos tipo 1 tienen valores bajos de actividad paraoxonasa, independientemente del colesterol de las HDL, en contraposición al 50% hallado en población sana⁹⁰.

La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza por una glucemia elevada, hipertrigliceridemia, presencia de metabolismo oxidativo acelerado, concentraciones disminuidas de colesterol de las HDL, alta prevalencia de obesidad y aterosclerosis acelerada¹⁰⁹⁻¹¹¹. La diabetes tipo 2 se asocia a accidentes cardiovasculares probablemente relacionados con valores bajos de colesterol de las HDL, más que con concentraciones elevadas del de las LDL¹¹². Con todo, los diabéticos tipo 2 presentan valores de actividad paraoxonasa y de la razón actividad paraoxonasa/colesterol de las HDL menores que controles sanos¹¹³⁻¹¹⁵. Un dato llamativo es que en estos pacientes la correlación entre la actividad paraoxonasa y el colesterol de las HDL desaparece¹¹⁵. Además, los pacientes diabéticos que presentan complicaciones tales como enfermedad coronaria, retinopatía o neuropatía^{37,114,116} poseen valores de actividad paraoxonasa menores que los diabéticos sin complicaciones^{90,113,117}. En nuestro laboratorio hemos observado recientemente que la actividad paraoxonasa disminuye a medida que se incrementa el número de alteraciones metabólicas propias del síndrome plurimetabólico, y esta disminución se acompaña de concentraciones progresivamente altas de peróxidos lipídicos⁸¹. Los individuos con baja tolerancia a la glucosa o los diabéticos recién diagnosticados presentan valores normales de la actividad enzimática, aunque ya muestran un exceso de LDL oxidada¹¹⁸. Al parecer, la actividad paraoxonasa disminuye a medida que progresa la diabetes y se halla especialmente baja en estadios avanzados de

la enfermedad. En la obesidad asociada a concentraciones elevadas de leptina se observa una disminución de las actividades paraoxonasa, arilesterasa y lactonasa de la PON1 y un incremento del estrés oxidativo, factores que podrían explicar, al menos en parte, la relación entre obesidad y aterosclerosis en los hiperleptinémicos¹¹⁹. En pacientes diabéticos sometidos a hemodiálisis se han observado valores menores de actividad paraoxonasa y de colesterol de las HDL con respecto a pacientes hemodializados no diabéticos¹²⁰.

In vitro, las concentraciones elevadas de glucosa reducen la capacidad antioxidante de las HDL, en parte debido a que la actividad paraoxonasa y la razón actividad paraoxonasa/colesterol de las HDL se hallan disminuidas, observándose a la vez un aumento de marcadores de oxidación¹¹⁷. En ratas con diabetes inducida por estreptozocina, la actividad paraoxonasa sérica disminuye progresivamente con el tiempo¹²¹.

Enfermedades neurológicas y paraoxonasa 1

La mayoría de los compuestos organofosforados son neurotoxinas y la exposición crónica a ellos puede ocasionar neuropatías y efectos neuropsiquiátricos¹²². Se ha sugerido que el efecto desintoxicante de la PON1 respecto estos compuestos y los peróxidos lipídicos podría ser un elemento clave en la susceptibilidad del desarrollo de enfermedades neurológicas, como la enfermedad de Alzheimer o de Parkinson¹²³.

Resulta llamativa la observación de que los granjeros que para la desinfección de sus ovejas usan un organofosfato cuyo metabolito es el diazoxón pueden acabar enfermando si la actividad de la PON1 hidrolítica de diazoxón está disminuida¹²⁴. Se han observado niveles bajos de actividad de la PON1 en soldados que participaron en la guerra del Golfo Pérsico, algunos de los cuales presentaban efectos neurotóxicos^{125,126}.

Insuficiencia renal y paraoxonasa 1

La insuficiencia renal crónica se asocia generalmente a dislipemia, a estrés oxidativo elevado, probablemente debido a actividades enzimáticas antioxidantes insuficientes de superóxido dismutasa, catalasa y PON1, y a un elevado riesgo de enfermedad coronaria¹²⁷⁻¹²⁹. La actividad paraoxonasa, arilesterasa y los valores de colesterol de las HDL están disminuidos en pacientes sometidos a hemodiálisis o con uremia, pero no sucede así con la razón actividad paraoxonasa/colesterol de las HDL o la razón actividad paraoxonasa/apo A-I en diabéticos con nefropatía^{113,129-132}. El trasplante renal parece restablecer a la normalidad los niveles de actividad paraoxonasa, y puede incluso aumentar la actividad arilesterasa^{61,133}.

CONCLUSIONES

Al conocido mecanismo protector de la arteriosclerosis y de la enfermedad coronaria atribuido a las HDL por su participación en el transporte inverso del colesterol, se ha añadido en los últimos años el descubrimiento de una función antioxidante sobre las LDL. Esta característica adicional de las HDL podría ser decisiva, puesto que ejerce su acción previniendo o atenuando la formación de la placa de ateroma. En este sentido, el paradigma protector de las HDL se ha ampliado sustancialmente, y parece que no sólo la cantidad de HDL es importante, sino que deben incluirse aspectos cualitativos antioxidantes de esta partícula. La presencia de la enzima antioxidante PON1 en las partículas de HDL, que condiciona su capacidad de frenar el proceso oxidativo de las LDL en el espacio subendotelial, consolida esta hipótesis. Si consideramos que la capacidad antioxidante de las HDL parece depender casi exclusivamente de la PON1, parece plenamente justificado buscar qué factores permiten incrementar su actividad. Este hallazgo tendría seguramente implicaciones clínicas importantes, y posiblemente contribuiría a explicar parte de la paradoja del sur de Europa, según la cual España posee tasas de mortalidad e incidencia de infarto de miocardio más bajas que las que le corresponderían por su prevalencia de factores de riesgo.

BIBLIOGRAFÍA

- Miller GJ, Miller NE. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* 1975;1:16-9.
- Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977;62:707-14.
- Rhoads GG, Gulbrandsen CL, Kagan A. Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. *N Engl J Med* 1976;294:293-8.
- The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984;251:351-64.
- Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989;79:8-15.
- Miyazaki A, Sakuma S, Morikawa W, Takiue T, Miale F, Terano T, et al. Intravenous injection of rabbit apolipoprotein A-I inhibits the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1882-8.
- Badimon JJ, Badimon L, Fuster V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1990;85:1234-41.
- Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, et al. Effect of recombinant apo A-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290:2292-300.
- Srivastava N. ATP binding cassette transporter A1—key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. *Mol Cell Biochem* 2002;237:155-64.
- Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frohlich J, Assmann G, Kastelein J. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997;38:191-205.
- Ordovas JM, Cassidy DK, Civeira F, Bisgaier CL, Schaefer EJ. Familial apolipoprotein A-I, C-III, and A-IV deficiency and premature atherosclerosis due to deletion of a gene complex on chromosome 11. *J Biol Chem* 1989;264:16339-42.
- Matsunaga T, Hiasa Y, Yanagi H, Maeda T, Hattori N, Yamakawa K, et al. Apolipoprotein A-I deficiency due to a codon 84 nonsense mutation of the apolipoprotein A-I gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:2793-7.
- Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, et al. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med* 2004;350:1505-15.
- Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España: estimación del número de casos y de las tendencias entre 1997 y 2005. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:337-46.
- Masià R, Pena A, Marrugat J, Sala J, Vila J, Pavesi M, et al. High prevalence of cardiovascular risk factors in Gerona, Spain, a province with low myocardial infarction incidence. *J Epidemiol Community Health* 1998;52:707-15.
- Sentí M, Masià R, Pena A, Elosua R, Aubó C, Bosch M, et al. Determinantes antropométricos y dietéticos de la concentración sérica del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad en un estudio de base poblacional. El estudio REGICOR. *Rev Esp Cardiol* 1998;51:979-87.
- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-80.
- Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li W, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998;394:284-7.
- Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effects 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;423:57-60.
- Mackness MI. Possible medical significance of human serum paraoxonase. En: Reiner E, Aldridge WN, Hoskin FC, editors. *Enzymes hydrolysing organophosphorus compounds*. UK: Ellis-Horwood, 1989; p. 202-13.
- Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993;211:871-9.
- Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, 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;21:542-7.
- Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordan-Starck TC, Harmony JA. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 1994;33:832-9.
- 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;33:498-507.
- Mochizuki H, Scherer SW, Xi T, Nickle DC, Majer M, Huizenga JJ, et al. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence. *Gene* 1998;213:149-57.
- Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, et al. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2001;276:4444-9.

27. 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. *Nat Genet* 1996;14:334-6.
28. La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W, editor. *Pharmacogenetics of drug metabolism*. New York: Pergamon Press, 1992.
29. Brealey CJ, Walker CH, Bladwin BC. A-esterase activities in relation to the differential toxicity of pirimiphos-methyl to birds and mammals. *Pestic Sci* 1980;11:546-54.
30. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:330-5.
31. Tomás M, Senti M, García-Farías F, Vila J, Torrents A, Covas M, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2113-9.
32. McElveen J, Mackness NI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986;32:671-3.
33. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, et al. Serum paraoxonase (PON1) 55 AND 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341-9.
34. Blatter Garin MC, Abbott C, Messmer S, Mackness M, Durrington P, Pometta D, et al. Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations. *Biochem J* 1994;304:549-54.
35. Rantala M, Silaste ML, Tuominen A, Kaikkonen J, Salonen JT, Alftan G, et al. Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women. *J Nutr* 2002;132:3012-7.
36. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;35:1126-38.
37. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel 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;99:62-6.
38. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, et al. Human serum paraoxonase (pon1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000;28:1335-42.
39. Biggadike K, Angell RM, Burgess CM, Farrell RM, Hancock AP, Harker AJ, et al. Selective plasma hydrolysis of glucocorticoid gamma-lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: an ideal plasma inactivation mechanism. *J Med Chem* 2000;43:19-21.
40. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein [published erratum appears in *FEBS Lett* 1991 Nov 4;292(1-2):307]. *FEBS Lett* 1991;286:152-4.
41. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
42. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parro SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101:1581-90.
43. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96.
44. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, et al. Human Serum Paraoxonases (PON1) Q and R Selectively Decrease Lipid Peroxides in Human Coronary and Carotid Atherosclerotic Lesions: PON1 Esterase and Peroxidase-Like Activities. *Circulation* 2000;101:2510-7.
45. Watson AD, Subbanagounder G, Welsbie DS, Faull KF, Navab M, Jung ME et al. Structural identification of a novel pro-inflammatory epoxyisoprostane phospholipid in mildly oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1999;274:24787-98.
46. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;96:2882-91.
47. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001;354:1-7.
48. Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipid hydrolase of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2003;278:3937-47.
49. Shih DM, Xia YR, Wang XP, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder G, et al. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem* 2000;275:17527-35.
50. 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 Radic Biol Med* 2003;34:774-84.
51. Rozenberg O, Shih DM, Aviram M. Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:461-7.
52. Oda MN, Bielicki JK, Ho TT, Berger T, Rubin EM, Forte TM. Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect on high-density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:921-7.
53. 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 of paraoxonase. *Atherosclerosis* 2002;161:307-16.
54. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1617-24.
55. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, et al. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999;26:892-904.
56. Jaouad L, Milochévitch C, Khalil A. PON1 paraoxonase activity is reduced during HDL oxidation and is an indicator of HDL antioxidant capacity. *Free Radic Res* 2003;37:77-83.
57. Brophy VH, Jarvik GP, Richter RJ, Rozek LS, Schellenberg GD, Furlong CE. Analysis of paraoxonase (PON1) L55M status requires both genotype and phenotype. *Pharmacogenetics* 2000;10:453-60.
58. Furlong CE, Cole TB, Jarvik GP, Costa LG. Pharmacogenomic considerations of the paraoxonase polymorphisms. *Pharmacogenomics* 2002;3:341-8.
59. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1451-7.
60. Pati N, Pati U. Paraoxonase gene polymorphism and coronary artery disease in Indian subjects. *Int J Cardiol* 1998;66:165-8.
61. Hasselwander O, Savage DA, McMaster D, Loughrey CM, McNamee PT, Middleton D, et al. Paraoxonase polymorphisms are not associated with cardiovascular risk in renal transplant recipient. *Kidney International* 1999;56:289-98.
62. Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, et al. Paraoxonase activity in two healthy popula-

- tions with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2000;30:4-10.
63. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hengele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:69-76.
 64. Mackness MI, Walker CH, Carlson LA. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem* 1987;33:587-8.
 65. Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clerc M. Absence of «A»-esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem* 1989;22:475-8.
 66. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.
 67. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96:4095-103.
 68. Britt WJ. Vaccines against human cytomegalovirus: time to test. *Trends Microbiol* 1996;4:34-8.
 69. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Symptoms of chronic bronchitis and the risk of coronary disease. *Lancet* 1996;348:567-72.
 70. Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Fogelman AM. Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001;276:1923-9.
 71. Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998;139:307-15.
 72. Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y, Hashimoto K. Human paraoxonase-1 gene expression by HepG2 cells is downregulated by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but is upregulated by interleukin-6. *Life Sci* 2003;73:2807-15.
 73. Hedrick CC, Hassan K, Hough GP, Yoo JH, Simzar S, Quinto CR, et al. Short-term feeding of atherogenic diet to mice results in reduction of HDL and paraoxonase that may be mediated by an immune mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1946-52.
 74. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995;96:2758-67.
 75. Lambert M, Boullier A, Hachulla E, Fruchart JC, Teissier E, Hatron PY, et al. Paraoxonase activity is dramatically decreased in patients positive for anticardiolipin antibodies. *Lupus* 2000;9:299-300.
 76. Tillett HE, Smith JW, Gooch CD. Excess deaths attributable to influenza in England and Wales: age at death and certified cause. *Int J Epidemiol* 1983;12:344-52.
 77. Tanimoto N, Kumon Y, Suehiro T, Ohkubo S, Ikeda Y, Nishiya K, et al. Serum paraoxonase activity decreases in rheumatoid arthritis. *Life Sci* 2003;72:2877-85.
 78. Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJ, Mackness MI. Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin Sci (Colch)* 2000;98:355-63.
 79. Xie XM, Zhao SP. Congestive heart failure and paraoxonase. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2002;27:157-8.
 80. Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel CM, Fitó M, Tomás M, Sentí M, et al. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2003;168:99-106.
 81. Sentí M, Tomás M, Fitó M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5422-6.
 82. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003;107:2775-9.
 83. Karakaya A, Ibis S, Kural T, Kose SK, Karakaya AE. Serum paraoxonase activity and phenotype distribution in Turkish subjects with coronary heart disease and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Chem Biol Interact* 1999;118:193-200.
 84. Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, Castellani LW, et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997;99:2005-19.
 85. Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH, Hatsukami TS, Richter RJ, Schellenberg GD, et al. Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1(192) or PON1(55) genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2441-7.
 86. Jarvik GP, Hatsukami TS, Carlson C, Richter RJ, Jampsa R, Brophy VH, et al. Paraoxonase activity, but not haplotype utilizing the linkage disequilibrium structure, predicts vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1465-71.
 87. Rubiés-Prat J. Temas actuales. Hiperlipidemias y arteriosclerosis. Barcelona: Espaxs, 1992; p. 148-51.
 88. Gotto AM Jr. Alteraciones de los lípidos y lipoproteínas. Primer de Cardiología preventiva. Barcelona: Medical Trends, SL, 1996; p. 96-9.
 89. Banegas Banegas JR, Casasnovas Lenguas JA, Gil López E, Maiques Galan A, Mata López P, Pérez Jiménez F, et al. Prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares. Control de la colesteroemia en España, 2000. Un instrumento para la prevención cardiovascular. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2000; p. 20-7.
 90. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Isihola M, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-9.
 91. Boullier A, Hennuyer N, Tailleux A, Furman C, Duverger N, Caillaud JM, et al. Increased levels of high-density lipoprotein cholesterol are ineffective in inhibiting the development of immune responses to oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis in transgenic rabbits expressing human apolipoprotein (apo) A-I with severe hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)* 2001;100:343-55.
 92. Leviev I, James R. Simvastatin increases plasma levels of the antioxidants enzyme paraoxonase by *PON1* gene activation. *Atherosclerosis* 2000;151:41.
 93. Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1329-33.
 94. 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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:2083-9.
 95. Girona J, La Ville AE, Sola R, Plana N, Masana L. Simvastatin decreases aldehyde production derived from lipoprotein oxidation. *Am J Cardiol* 1999;83:846-51.
 96. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360:7-22.
 97. Pedersen TR, Olsson AG, Faergeman O, Kjekshus J, Wedel H, Berg K, et al. Lipoprotein changes and reduction in the incidence of major coronary heart disease events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Circulation* 1998;97:1453-60.
 98. Lagrost L, Athias A, Lemort N, Richard JL, Desrumaux C, Chatenet-Duchene L, et al. Plasma lipoprotein distribution and lipid transfer activities in patients with type IIb hyperlipidemia treated with simvastatin. *Atherosclerosis* 1999;143:415-25.
 99. Kwak B, Mulhaupt F, Veillard N, Pelli G, Mach F. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin inhibits IFN-gamma induced MHC class II expression in human vascular endothelial cells. *Swiss Med Wkly* 2001;131:41-6.
 100. 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;138:271-80.
 101. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Differential effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on plasma paraoxonase 1 activity in the rat. *Pol J Pharmacol* 2002;54:661-71.

102. Elisaf M. Effects of fibrates on serum metabolic parameters. *Curr Med Res Opin* 2002;18:269-76.
103. Paragh G, Balogh Z, Seres I, Harangi M, Boda J, Kovacs P. Effect of gemfibrozil on HDL-Associated serum paraoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidaemia. *Clinical Drug Investigation* 2000;19:277-82.
104. Balogh Z, Seres I, Harangi M, Kovacs P, Kakuk G, Paragh G. Gemfibrozil increases paraoxonase activity in type 2 diabetic patients. A new hypothesis of the beneficial action of fibrates? *Diabetes Metab* 2001;27:604-10.
105. Durrington PN, Mackness MI, Bhatnagar D, Julier K, Prais H, Arrol S, 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;138:217-25.
106. Turay J, Grniakova V, Valka J. Changes in paraoxonase and apolipoprotein A-I, B, C-III and E in subjects with combined familiar hyperlipoproteinemia treated with ciprofibrate. *Drugs Exp Clin Res* 2000;26:83-8.
107. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, Bairaktari E, Chapman MJ, Elisaf M, et al. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 2003;44:927-34.
108. Mackness B, Durrington PN, Boulton AJ, Hine D, Mackness MI. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur J Clin Invest* 2002;32:259-64.
109. Malin R, Rantalaiho V, Huang XH, Wirta O, Pasternack A, Leinonen JS, et al. Association between M/L55-polymorphism of paraoxonase enzyme and oxidative DNA damage in patients with type 2 diabetes mellitus and in control subjects. *Hum Genet* 1999;105:179-80.
110. Syvanne M, Ahola M, Lahdenpera S, Kahri J, Kuusi T, Virtanen KS, et al. High density lipoprotein subfractions in non-insulin-dependent diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Lipid Res* 1995;36:573-82.
111. Tkac I, Kimball BP, Lewis G, Uffelman K, Steiner G. The severity of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus is related to the number of circulating triglyceride-rich lipoprotein particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3633-8.
112. Cao H, Girard-Globa A, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon and is unaffected by the Q-R genetic polymorphism. *J Lipid Res* 1999;40:133-9.
113. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arii K, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998;47:598-602.
114. 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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1812-8.
115. Sakai T, Matsuura B, Onji M. Serum paraoxonase activity and genotype distribution in Japanese patients with diabetes mellitus. *Intern Med* 1998;37:581-4.
116. Pfohl M, Koch M, Enderle MD, Kühn R, Füllhase J, Karsch KR, et al. Paraoxonase 192 Gln/Arg gene polymorphism, coronary artery disease, and myocardial infarction in type 2 diabetes. *Diabetes* 1999;48:623-7.
117. Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia* 2000;43:312-20.
118. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Graessler J. Lack of association between serum paraoxonase 1 activities and increased oxidized low-density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1711-6.
119. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. *Atherosclerosis* 2003;170:21-9.
120. Zhang B, Eto S, Fan P, Bian C, Shimoji E, Saito T, et al. Paraoxonase (Pon1) Q192R polymorphism and serum Pon1 activity in diabetic patients on maintenance hemodialysis. *Clin Nephrol* 2003;60:257-65.
121. Patel BN, Mackness MI, Harty DW, Arrol S, Boot-Handford RP, Durrington PN. Serum esterase activities and hyperlipidaemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Biochem Biophys Acta* 1990;1035:113-6.
122. Haley RW, Marshall WW, McDonald GG, Daugherty MA, Petty F, Fleckenstein JL. Brain abnormalities in Gulf War syndrome: evaluation with 1H MR spectroscopy. *Radiology* 2000;215:807-17.
123. Paragh G, Balla P, Katona E, Seres I, Egerhazi A, Degrell I. Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002;252:63-7.
124. Cherry N, Mackness M, Durrington P, Povey A, Dippnall M, Smith T, et al. Paraoxonase (PON1) polymorphisms in farmers attributing ill health to sheep dip. *Lancet* 2002;359:763-4.
125. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Low paraoxonase in Persian Gulf War veterans self-reporting Gulf War syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:729-33.
126. Hotopf M, Mackness MI, Nikolauou V, Collier DA, Curtis C, David A, et al. Paraoxonase in Persian Gulf War veterans. *J Occup Environ Med* 2003;45:668-75.
127. Trznadel K, Pawlicki L, Kedziora J, Luciak M, Blaszczyk J, Buczynski A. Superoxide anion generation, erythrocytes superoxide dismutase activity, and lipid peroxidation during hemoperfusion and hemodialysis in chronic uremic patients. *Free Radic Biol Med* 1989;6:393-7.
128. Ak G, Ozgonul M, Sozmen EY, Aslan SL, Sozmen B. Renal cortical thickness and PON1 activity both decrease in chronic renal failure. *J Nephrol* 2002;15:144-9.
129. Itahara T, Suehiro T, Ikeda Y, Inoue M, Nakamura T, Kumon Y, et al. Serum paraoxonase and arylesterase activities in hemodialysis patients. *J Atheroscler Thromb* 2000;7:152-8.
130. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G, Battaglia P, et al. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO J* 2003;49:295-9.
131. Schiavon R, Battaglia P, De Fanti E, Fasolin A, Biasioli S, Targa L, et al. HDL3-related decreased serum paraoxonase (PON) activity in uremic patients: comparison with the PON1 allele polymorphism. *Clin Chim Acta* 2002;324:39.
132. Juretic D, Tadijanovic M, Rekec B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J* 2001;42:146-50.
133. Dantoine TF, Debord J, Charmes JP, Merle L, Marquet P, Lachat G et al. Decrease of serum paraoxonase activity in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2082-8.
134. Sentí M, Tomás M, Elosua R, Sala J, Masià R, Marrugat J. The paraoxonase-1 codon 192 polymorphism is associated with fasting total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations only in postmenopausal women. The REGICOR study. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:677-83.
135. Ruiz J, Blanche H, James RW, Garin MC, Vaisse C, Charpentier G, et al. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995;346:869-72.
136. Serrato M, Marian AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995;96:3005-8.
137. Antikainen M, Murtomaki S, Syvanne M, Pahlman R, Tahvanainen E, Jauhiainen M, et al. The Gln-Arg191 polymorphism of the human paraoxonase gene (HUMPONA) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns. *J Clin Invest* 1996;98:883-5.
138. Herrmann SM, Blanc H, Poirier O, Arveiler D, Luc G, Evans A, et al. The Gln/Arg polymorphism of human paraoxonase (PON 192) is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study. *Atherosclerosis* 1996;126:299-303.

139. Suehiro T, Nakauchi Y, Yamamoto M, Arai K, Itoh H, Hamashi-ge N, et al. Paraoxonase gene polymorphism in Japanese subjects with coronary heart disease. *Int J Cardiol* 1996;57:69-73.
140. Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (Gln 192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2257-60.
141. Rice GI, Ossei-Gerning N, Stickland MH, Grant PJ. The paraoxonase Gln-Arg 192 polymorphism in subjects with ischaemic heart disease. *Coron Artery Dis* 1997;8:677-82.
142. Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1067-73.
143. Zama T, Murata M, Matsubara Y, Kawano K, Aoki N, Yoshino H, et al. A 192Arg variant of the human paraoxonase (HUMPO-NA) gene polymorphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3565-9.
144. Ko YL, Ko YS, Wang SM, Hsu LA, Chang CJ, Chu PH, et al. The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene is not associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis* 1998;141:259-64.
145. Cascorbi I, Laule M, Mrozikiewicz PM, Mrozikiewicz A, Andel C, Baumann G, et al. Mutations in the human paraoxonase 1 gene: frequencies, allelic linkages, and association with coronary artery disease. *Pharmacogenetics* 1999;9:755-61.
146. Aubó C, Sentí M, Marrugat J, Tomás M, Vila J, Sala J, et al. Risk of myocardial infarction associated with Gln/Arg 192 polymorphism in the human paraoxonase gene and diabetes mellitus. The REGICOR Investigators. *Eur Heart J* 2000;21:33-8.
147. Aynacioglu AS, Kepekci Y. The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in turkish patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2000;74:33-7.
148. Gardemann A, Philipp M, Hess K, Katz N, Tillmanns H, Haber-bosch W. The paraoxonase leu-Met54 and gln-Arg191 gene polymorphisms are not associated with the risk of coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;152:421-31.
149. Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, et al. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 2000;149:435-42.
150. Sen-Banerjee S, Siles X, Campos H. Tobacco smoking modifies association between gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene and risk of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2120-6.
151. Leus FR, Zwart M, Kastelein JJ, Voorbij HA. PON(2) gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis* 2001;154:641-9.
152. Senti M, Tomas M, Vila J, Marrugat J, Elosua R, Sala J, et al. Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase1 gene: the REGICOR study. *Atherosclerosis* 2001;156:443-9.
153. Turban S, Fuentes F, Ferlic L, Brugada R, Gotto AM, Ballantyne CM, et al. A prospective study of paraoxonase gene Q/R192 polymorphism and severity, progression and regression of coronary atherosclerosis, plasma lipid levels, clinical events and response to fluvastatin. *Atherosclerosis* 2001;154:633-40.
154. Ferre N, Tous M, Paul A, Zamora A, Vendrell JJ, Bardaji A, et al. Paraoxonase Gln-Arg(192) and Leu-Met(55) gene polymorphisms and enzyme activity in a population with a low rate of coronary heart disease. *Clin Biochem* 2002;35:197-203.
155. Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, Siqueira LH, Loscalzo J. Paraoxonase 192 Gln->Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. *Stroke* 2002;33:1459-64.
156. Zuliani G, Cherubini A, Volpato S, Palmieri E, Mecocci P, De Rango P, et al. Genetic factors associated with the absence of atherosclerosis in octogenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002;57:M611-5.
157. Fortunato G, Rubba P, Panico S, Trono D, Tinto N, Mazzaccara C, et al. A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003;167:141-8.
158. Ombres D, Pannitteri G, Montali A, Candeloro A, Seccareccia F, Campagna F, et al. The gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene is not associated with coronary artery disease in italian patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1611-6.
159. Scacchi R, Gambina G, Martini MC, Broggio E, Vilardo T, Corbo RM. Different pattern of association of paraoxonase Gln192->Arg polymorphism with sporadic late-onset Alzheimer's disease and coronary artery disease. *Neurosci Lett* 2003;339:17-20.
160. Sentí M, Tomás M, Marrugat J, Elosua R. Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:415-20.