

Asociación de los polimorfismos de la paraoxonasa 1 y la paraoxonasa 2 con el riesgo de infarto agudo de miocardio

Mònica Guxens^{a,b,c}, Marta Tomás^a, Roberto Elosua^{a,d}, Elena Aldasoro^e, Antonio Segura^f, Miquel Fiol^{g,h}, Joan Salaⁱ, Joan Vila^a, Maria Fullanaⁱ, Mariano Sentí^{a,k}, Gema Vega^f, Mónica de la Rica^e, Jaume Marrugat^{a,c} y los investigadores del estudio IBERICA

^aUnitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular. Institut Municipal d'Investigació Mèdica. Barcelona. España.

^bUnitat Docent de Medicina Preventiva i Salut Pública. IMAS-UPF-ASPB. Barcelona. España.

^cUniversitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra. Barcelona. España.

^dCIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). España.

^eDepartamento de Sanidad del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. Álava. España.

^fInstituto de Ciencias de la Salud. Consejería de Sanidad de Castilla-La Mancha. Talavera de la Reina. Toledo. España.

^gUnitat Coronària. Hospital Universitari Son Dureta. Palma de Mallorca. Mallorca. España.

^hCentro de Investigación en RED de Obesidad y Nutrición (CIBERObn). Instituto Carlos III. Madrid. España.

ⁱUnitat Coronària. Hospital Josep Trueta. Girona. España.

^jServei de Medicina Interna. Hospital Universitari Son Dureta. Palma de Mallorca. Mallorca.

^kDepartament de Ciències Experimentals i de la Salut. Universitat Pompeu Fabra. Barcelona. España.

Introducción y objetivos. La paraoxonasa 1 (PON1) y la paraoxonasa 2 (PON2) son enzimas antioxidantes cuyos polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* se han relacionado con el riesgo de infarto agudo de miocardio, con resultados discordantes. El objetivo de este estudio es determinar la asociación con el riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) de los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* y su interacción.

Métodos. Se realizó un estudio de casos y controles en el que se reclutó a 746 pacientes consecutivos con IAM y 1.796 controles libres de enfermedad cardiovascular seleccionados al azar de la misma población de la que provenían los casos, en 4 comunidades autónomas españolas entre 1999 y 2000. Se determinaron los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311*, además de los factores clásicos de riesgo cardiovascular. Se estimaron modelos de regresión logística para los análisis multivariables.

Resultados. Las *odds ratio* (OR) del genotipo QQ del polimorfismo *PON1-192* y el SS del *PON2-311* (presen-

tes en el 50 y el 66% de la población, respectivamente) de presentar un IAM fueron 1,26 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,02-1,55) y 1,25 (IC del 95%, 1,04-1,50), respectivamente, en comparación con los portadores de los alelos R y C. Además, para los sujetos que presentan ambos genotipos QQ y SS, la OR ajustada de tener un IAM se incrementó hasta 1,41 (IC del 95%, 1,13-1,76).

Conclusiones. Nuestros resultados indican que los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* son factores de riesgo de IAM independientes en nuestra población.

Palabras clave: Enfermedad coronaria. Genética. Antioxidante. Enzimas. Lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Association Between Paraoxonase-1 and Paraoxonase-2 Polymorphisms and the Risk of Acute Myocardial Infarction

Introduction and objectives. Two particular polymorphisms, namely *PON1-192* and *PON2-311*, in the genes encoding the antioxidant enzymes paraoxonase-1 (PON1) and paraoxonase-2 (PON2) have been associated with an increased risk of acute myocardial infarction (AMI). However, previous findings have been contradictory. The aim of this study was to investigate the association between the *PON1-192* and *PON2-311* polymorphisms and their interaction on AMI risk.

Methods. This case-control study involved 746 consecutive AMI patients and 1796 control subjects without cardiovascular disease, who were randomly selected from the same population from which the patients came. All participants were recruited between 1999 and 2000 from four Spanish autonomous regions. All were assessed for the presence of *PON1-192* and *PON2-311* and for classical cardiovascular risk factors. Multivariate analysis was carried out using logistic regression modeling.

La lista completa de los investigadores del estudio IBERICA está disponible en: http://www.regicor.org/inv_IBERICA_CC
Mònica Guxens y Marta Tomás han contribuido por igual a la realización de este trabajo.

Este estudio ha sido financiado por una subvención de AstraZéneca, subvenciones del Fondo de Investigación Sanitaria # FIS 96/0026-01 hasta 05, FIS 97/1270, FIS 98/1535, FIS C03/09, FIS C03/045, por la administración sanitaria de las siguientes comunidades autónomas españolas: Mallorca, Castilla-La Mancha, Cataluña (CIRIT/2001 SGR 00408) y País Vasco, por el CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP) y la Red HERACLES.

Correspondencia: Dr. J. Marrugat.
Unitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular. Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM).
Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB).
Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona. España.
Correo electrónico: jmarrugat@imim.es

Recibido el 28 de marzo de 2007.

Aceptado para su publicación el 9 de octubre de 2007.

Results. The odds ratios (OR) of AMI for patients with the *PON1-192* QQ and *PON2-311* SS genotypes (who comprised 50% and 66% of the population, respectively) were 1.26 (95% confidence interval [CI], 1.02–1.55) and 1.25 (95% CI, 1.04–1.50), respectively, compared with R and C allele carriers. Moreover, in patients with both QQ and SS genotypes, the adjusted OR of AMI increased to 1.41 (95% CI, 1.13–1.76).

Conclusions. Our results indicate that the *PON1-192* and *PON2-311* polymorphisms were independent risk factors of AMI in our population.

Key words: *Coronary disease. Genetics. Antioxidants. Enzymes. High-density lipoprotein (HDL).*

Full English text available from: www.revespcardiol.org

ABREVIATURAS

EC: enfermedad coronaria.
 HDL: lipoproteína de alta densidad.
 IAM: infarto agudo de miocardio.
 IC: intervalo de confianza.
 LDL: lipoproteína de baja densidad.
 OR: *odds ratio*.
 PON1: paraoxonasa 1.
 PON2: paraoxonasa 2.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad coronaria (EC) continúa siendo la causa principal de mortalidad y morbilidad en los países industrializados¹. El paradigma protector de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) ha sido ampliado, entre otros, debido a sus propiedades antioxidantes^{2,3}. La principal enzima antioxidante transportada por las partículas de HDL es la paraoxonasa 1 (PON1). La PON1 es miembro de una familia de proteínas que incluye también a la PON2 y la PON3⁴. La PON1 y la PON3 forman parte de las partículas de HDL, mientras que la PON2 se encuentra en una gran variedad de tejidos, como las células endoteliales, las células musculares lisas y los macrófagos. El mecanismo de acción de la familia de la PON aún está poco claro. La PON1 tiene una actividad esterasa hacia varios sustratos, mientras que la PON2 y la PON3 muestran una elevada actividad lactonasa^{5,6}. Se han propuesto, además, otras acciones biológicas de las enzimas PON: la fosfolipasa A2, que hidroliza el factor de activación de las plaquetas y la oxidación de los lípidos, y la participación en la hidrólisis e inactivación de la tiolactona. No obstante, el mecanismo principal de protección ligado a la PON1 transportada por el HDL parece ser el transporte inverso del colesterol y la prevención de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)⁶. Por otro lado, se ha observado una propiedad

antioxidante de las PON2 similar a la de la PON1 en la prevención de la oxidación de las LDL⁷. Varios estudios han centrado su interés en la sustitución del aminoácido de la posición 311 (serina→cisteína) en el gen *PON2*⁸ y el de la posición 192 (glutamina→arginina) en el gen *PON1*⁹ y su potencial efecto en la actividad de estas enzimas y en la susceptibilidad individual del riesgo de EC.

La relación entre los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* y el riesgo de EC no está bien establecida. Los resultados de los estudios previos son contradictorios^{2,10,11}. Aunque 3 metaanálisis han concluido que el alelo R del polimorfismo *PON1-192* tiene relación, débil pero significativa, con incremento del riesgo de EC, otros estudios llevados a cabo en Europa¹²⁻¹⁴, Estados Unidos¹⁵ y Japón¹⁶ mostraron una tendencia aumentada de EC en los individuos con genotipo QQ. Además, pocos estudios han evaluado la relación entre las variantes genéticas de la PON2 y la EC. Algunos trabajos, aunque no todos, mostraron que el alelo S del polimorfismo *PON2-311* estaba directamente relacionado con la EC, la demencia vascular y el infarto cerebral o las complicaciones microvasculares tempranas en los pacientes diabéticos^{17,18}. Pocos estudios han analizado el riesgo de EC atribuido a las variantes genéticas de la PON1 y la PON2 simultáneamente¹⁸⁻²².

El objetivo del presente estudio es determinar la relación entre los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* y su interacción con el infarto agudo de miocardio (IAM).

MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio de casos y controles de base poblacional, que incluye 4 regiones de España: Castilla-La Mancha, Girona, Mallorca y el País Vasco. Se han usado métodos idénticos para detectar los acontecimientos de IAM, para registrar las características demográficas y clínicas y para las determinaciones de laboratorio, que fueron centralizadas. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos; el comité ético local aprobó el estudio, que sigue la declaración de Helsinki.

Identificación de los casos

Para este estudio, se reclutó prospectivamente a 746 pacientes consecutivos (620 varones y 126 mujeres; media de edad, 60,0 ± 10,3 años) que habían sobrevivido a un primer IAM y habían sido admitidos a las unidades coronarias de referencia de las áreas de estudio entre los años 1999 y 2000. En este estudio se usaron los criterios de diagnóstico de IAM y definiciones estándar²³. Todos los sujetos eran caucásicos y con antepasados europeos.

Selección de los controles

Usando los datos del Censo Nacional, se seleccionó de forma aleatoria una muestra poblacional de 1.796 sujetos controles libres de enfermedad cardiovascular (1.508 varones y 288 mujeres; media de edad, 59,3 ± 10,4 años) de la población de la misma región de donde se habían recogido los casos y en el mismo período. La tasa de participación fue superior al 70%. La angina y el IAM se definieron a través de la historia clínica y el electrocardiograma. Se excluyó del estudio a los sujetos con enfermedad cerebrovascular, enfermedades no cardiovasculares de mal pronóstico a corto plazo, discapacidad mental o abuso de drogas.

Tamaño de muestra y poder estadístico

El poder estadístico es del 90% para detectar como estadísticamente significativa una *odds ratio* (OR) ≥ 1,35, aceptando un riesgo alfa de 0,05 en un contraste bilateral y definiendo un modelo genético dominante, con una prevalencia del genotipo homocigoto común del 60% en los controles, y una proporción entre controles y casos = 2,4.

Análisis de laboratorio

En los controles, las muestras de sangre fueron recogidas después de una noche en ayunas. En los casos de IAM, se obtuvo una muestra de sangre para aislar el ADN en las primeras horas posteriores a la llegada al hospital, y una segunda muestra biológica para obtener plasma y suero a los 6 meses después del acontecimiento coronario agudo de los que sobrevivieron a la fase aguda.

Todos los análisis se realizaron en un laboratorio centralizado. Los valores séricos de glucosa, colesterol total y triglicéridos se determinaron usando *kits* enzimáticos (Roche Diagnostic, Basilea, Suiza) adaptados a un autoanalizador Cobas Mira Plus (Hoffmann-La Roche, Basilea, Suiza). El colesterol de las HDL (cHDL) se determinó como el colesterol después de la precipitación de las lipoproteínas que contienen la apolipoproteína B con fosfotungstato-Mg⁺⁺ (Boehringer Mannheim, Alemania). El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se calculó con la fórmula de Friedewald²⁴.

Genotipificación

Se aisló el ADN genómico de las células blancas con el método de *salting-out*²⁵. Se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para genotipificar el polimorfismo *PON1-192* (rs662 en dbSNP) usando las secuencias derivadas de datos publicados²⁶. El ciclo de amplificación para genotipificar el polimorfismo *PON1-192* se llevó a cabo en un termociclador Perkin-

Elmer Cetus 2400 con una desnaturalización inicial de 4 min a 94 °C, seguida por 35 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min a 61 °C y 1 min a 72 °C, con una extensión final de 7 min a 72 °C. Después de la amplificación, los productos de la PCR se digerían con AlwI (4 h a 37 °C) y se separaban por electroforesis en un gel de agarosa al 3% a 60 V durante 75 min. Para genotipificar el polimorfismo *PON2-311* (rs7493 en dbSNP) se usó la PCR cuantitativa a tiempo real con una sonda TaqMan Assay-on-Demand (C_{8952817_10}, Applied Biosystems, Foster City, California, Estados Unidos).

Otras variables

La hipertensión se definió de acuerdo con la historia de hipertensión referida por el paciente. La diabetes fue definida como la glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dl o el uso de insulina o medicación hipoglucémica. Se clasificó a los sujetos como fumadores actuales si declaraban haber fumado cigarrillos durante el año previo. Se midieron el peso y la altura con el individuo descalzo y con poca ropa en una balanza y un tallímetro calibrados. El índice de masa corporal se calculó como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la estatura en metros. También se registró el uso de fármacos para el tratamiento de la dislipemia. Se calculó el gasto energético diario en actividad física en el tiempo libre durante el año previo con el Cuestionario de Actividad Física en el Tiempo Libre de Minnesota, que está validado para su uso en población española^{27,28} y se aplicó durante la estancia hospitalaria.

Análisis estadístico

Debido a la baja prevalencia de homocigotos RR (11%) y CC (5%) en los genotipos de *PON1-192* y *PON2-311*, respectivamente, se definió un modelo genético dominante. La diferencias en variables continuas entre los dos grupos de genotipos de *PON1-192* (como QQ respecto a portadores de R) o entre los dos grupos de genotipos de *PON2-311* (como SS respecto a portadores de C) y entre los pacientes con IAM y los controles se analizaron con la prueba de la t de Student o la U de Mann-Whitney, y con la prueba de la χ^2 para las variables categóricas.

La *odds ratio* (OR) del IAM ajustada por las variables de confusión para los genotipos de *PON1-192* y *PON2-311* se estimó con el análisis de la regresión logística condicional.

Se analizó la tendencia lineal con la prueba de la χ^2 para variables categóricas, y el ANOVA para las variables continuas estratificadas por los genotipos de *PON1-192* y *PON2-311*. El análisis del desequilibrio de ligamiento entre las dos variantes genéticas se realizó en el lenguaje estadístico R 2.1.1 con el paquete ha-

TABLA 1. Factores de riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM), genotipos de *paraoxonasa 1-192* y *paraoxonasa 2-311* en pacientes con IAM y sujetos control

	Pacientes con IAM	Controles	p
Basal, n	746	1.796	
Homocigotos QQ, %	52	47,2	0,026
Homocigotos SS, %	67,6	62,6	0,017
Mujeres, %	16,9	16	0,595
Edad (años), media ± DE	60 ± 10,3	59,3 ± 10,4	0,107
Diabetes, %	25,6	17,2	< 0,001
Hipertensión, %	43,9	33,1	0,003
Fumador actual, %	45,9	22,1	< 0,001
GEAF (kcal/día), mediana (intervalo intercuartílico)	224 (106-456)	291 (162-503)	< 0,001
A los 6 meses, n	548	1.780	
Colesterol total (mmol/l), media ± DE	5,26 ± 0,88	5,91 ± 1,11	< 0,001
cHDL (mmol/l), media ± DE	1,04 ± 0,28	1,27 ± 0,36	< 0,001
cLDL (mmol/l), media ± DE	2,79 ± 0,66	3,16 ± 0,78	< 0,001
Triglicéridos (mmol/l), mediana (intervalo intercuartílico)	1,36 (1,03-1,82)	1,27 (0,94-1,71)	0,001
Glucosa (mmol/l), media ± DE	6,27 ± 2,44	6,11 ± 1,67	0,267
IMC, media ± DE	27,2 ± 4,1	28 ± 4	< 0,001
Tratamiento dislipemia, %	70,2	13,1	< 0,001

cHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; DE: desviación estándar; GEAF: gasto energético en actividad física en el tiempo libre; IAM: infarto agudo de miocardio; IMC: índice de masa corporal.

plo.stats de R. Los demás análisis se realizaron usando SAS versión 8,2 (SAS Institute, Cary, N.C., Estados Unidos). Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La frecuencia del alelo R de *PON1-192* fue 0,32 en los controles y 0,29 en los casos y la frecuencia del alelo C de *PON2-311*, 0,21 en los controles y 0,19 en los casos. La proporción de diabetes, hipertensión y tabaquismo fue mayor en los casos que en los controles, y el gasto energético en actividad física en el tiempo libre fue menor (tabla 1). Seis meses después del acontecimiento, el índice de masa corporal y las concentraciones del colesterol total, cLDL y cHDL fueron significativamente menores y las de triglicéridos, mayores en pacientes con IAM que en los controles. La proporción de pacientes con tratamiento dislipémico fue mucho mayor entre los pacientes con IAM que en los controles. No se detectó desequilibrio de ligamiento entre los dos polimorfismos ($D' = 0,083$). Los genotipos QQ y SS se observaron con mayor frecuencia en los pacientes con IAM (tabla 1).

Los sujetos portadores del alelo R en el polimorfismo *PON1-192* presentaban una menor proporción de casos de IAM, un mayor porcentaje de mujeres, mayores concentraciones de cHDL y menores cifras de triglicéridos que los homocigotos QQ (tabla 2). Los sujetos portadores del alelo C en el polimorfismo *PON2-311* tenían una menor proporción de casos de IAM.

La OR bruta de presentar un IAM para el genotipo QQ del *PON1-192* era 1,21 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,02-1,44). Después de ajustar por cHDL y triglicéridos, la OR era 1,26 (IC del 95%, 1,02-1,55). La OR bruta de presentar un IAM para el genotipo SS del *PON2-311* era 1,25 (IC del 95%, 1,04-1,49). Después de ajustar por edad y sexo, OR = 1,25 (IC del 95%, 1,04-1,5). Ninguna de las interacciones de primer orden entre los polimorfismos *PON1-192* o *PON2-311* y diabetes, hipertensión, tabaquismo, índice de masa corporal, cHDL y gasto energético en actividad física en el tiempo libre respecto al riesgo de IAM fue estadísticamente significativa. La OR bruta para el IAM de individuos portadores de ambos genotipos QQ y SS era 1,38 (IC del 95%, 1,16-1,65). Después de ajustar por cHDL y triglicéridos, OR = 1,41 (IC del 95%, 1,13-1,76).

DISCUSIÓN

En este estudio de casos y controles realizado en una muestra grande y representativa de la población española, hemos observado que los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* están asociados de manera independiente con el riesgo de presentar un IAM en nuestra población.

Estudios previos ya han analizado el papel de los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* en el riesgo de EC. Tres metaanálisis recientes concluyeron que el alelo R del polimorfismo *PON1-192* tiene relación, débil pero significativa, con un aumento de riesgo de

TABLA 2. Factores de riesgo de infarto agudo de miocardio en los genotipos de *paraoxonasa 1-192* y *paraoxonasa 2-311*

	Genotipos de <i>PON1-192</i>			Genotipos de <i>PON2-311</i>		
	Homocigotos QQ	Portadores de R	p	Homocigotos SS	Portadores de C	p
Basal, n	1.235	1.307		1.628	914	
Pacientes con IAM, %	31,4	27,4	0,026	31	26,5	0,017
Mujeres, %	14,6	17,9	0,023	16	16,8	0,565
Edad (años), media ± DE	58,1 ± 10,5	59,9 ± 10,2	0,051	59,4 ± 10,3	60 ± 10,5	0,271
Diabetes, %	19	20	0,622	19,5	19,6	0,941
Hipertensión, %	39,8	35,2	0,191	37,9	36,8	0,759
Fumador actual, %	30	27	0,117	29,2	27,4	0,349
GEAF (kcal/día), mediana (intervalo intercuartílico)	260 (147-470)	291 (149-518)	0,072	272 (150-491)	287 (146-497)	0,818
A los 6 meses	1.125	1.204		1.478	850	
Colesterol total (mmol/l) media ± DE	5,72 ± 1,06	5,78 ± 1,11	0,280	5,75 ± 1,09	5,78 ± 1,11	0,671
cHDL (mmol/l), media ± DE	1,19 ± 0,34	1,24 ± 0,36	0,048	1,22 ± 0,36	1,22 ± 0,34	1,000
cLDL (mmol/l), media ± DE	3,05 ± 0,74	3,1 ± 0,8	0,200	3,1 ± 0,8	3,05 ± 0,74	0,201
Triglicéridos (mmol/l), mediana (intervalo intercuartílico)	1,29 (0,98-1,76)	1,28 (0,94-1,71)	0,048	1,27 (0,96-1,69)	1,30 (0,96-1,77)	0,157
Glucosa (mmol/l), media ± DE	6,22 ± 1,94	6,11 ± 1,67	0,147	6,11 ± 1,61	6,22 ± 2,11	0,230
IMC, media ± DE	27,9 ± 4,1	27,7 ± 4	0,479	27,7 ± 4,1	27,9 ± 4	0,356
Tratamiento dislipemia, %	31,8	28,4	0,352	31,9	26,8	0,172

cHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; DE: desviación estándar; GEAF gasto energético en actividad física en el tiempo libre; IAM: infarto agudo de miocardio; IMC: índice de masa corporal; *PON1-192*: *paraoxonasa 1-192*; *PON2-311*: *paraoxonasa 2-311*.

EC, a pesar de que muchos de los estudios incluidos en estos tres metaanálisis no alcanzaban significación estadística^{2,10,11}. Además, algunos de estos estudios incluidos en los metaanálisis mostraban una tendencia de asociación inversa, de modo que el genotipo QQ se asociaba con un mayor riesgo de EC¹²⁻¹⁶. Los resultados de nuestro estudio también indican que el genotipo QQ del polimorfismo *PON1-192* se asocia con una mayor susceptibilidad de presentar IAM. Hay varias razones que pueden explicar las diferencias entre nuestro estudio y las conclusiones de los metaanálisis. Los metaanálisis pueden estar afectados por varios sesgos, entre ellos el sesgo de publicación y la heterogeneidad entre los estudios que pueden limitar la validez de los resultados. Por otro lado, debemos tener en cuenta también otros posibles sesgos de selección, reclutamiento de poblaciones con diferentes etnias y diferencias en el criterio utilizado para las definiciones del fenotipo de interés entre los estudios. Aunque también hay discrepancias en lo que concierne a la asociación entre el polimorfismo *PON2-311* y la EC, la mayoría de los estudios muestran un incremento del riesgo de EC en los portadores del alelo S^{17,18}. El presente estudio se basa en una muestra grande y representativa de diversas regiones de un país étnicamente homogéneo, con protocolos de reclutamiento idénticos para cada región, y con controles representativos de la población de la que provienen los casos.

En el presente estudio, se ha analizado ambos genotipos en la misma muestra. Pocos estudios hasta la

fecha han considerado los dos genotipos para estimar el riesgo de EC¹⁸⁻²². Dos de ellos^{18,19} identificaron el alelo R del polimorfismo *PON1-192* como de elevado riesgo de EC en portadores del alelo C o S del polimorfismo *PON2-311* en población caucásica o de la India, respectivamente. Otro estudio²⁰ encontró una interacción entre el alelo C del polimorfismo *PON2-311* y el consumo de tabaco asociado al riesgo de IAM, mientras que otro trabajo²¹ no alcanzó significación estadística, probablemente debido a un modesto tamaño muestral. En el presente estudio, en nuestra población caucásica, los sujetos homocigotos por ambos alelos Q y S mostraron un riesgo incrementado de IAM al compararlos con los homocigotos de uno sólo de los polimorfismos. Se ha propuesto que el alelo S del polimorfismo *PON2-311* podría actuar sinérgicamente con los polimorfismos de la *PON1*, independientemente de otros factores de riesgo clásicos^{18,29}.

El papel antioxidante de la PON1 ha sido evaluado en estudios in vitro, y se ha demostrado su capacidad para prevenir la oxidación de las LDL, destruir los lipoperóxidos y promover el transporte inverso de colesterol de los macrófagos, pasos implicados en el desarrollo de la arteriosclerosis⁴. Estudios in vivo en animales han demostrado un mayor desarrollo de la arteriosclerosis en ratones *knock-out* para el gen *PON1*³⁰. En humanos, aún se está debatiendo si el alelo Q del polimorfismo *PON1-192* determina una mayor capacidad enzimática antioxidante que el alelo R^{31,32}.

La enzima PON2 —que se expresa, entre otros tejidos, en el endotelio humano y en las células musculares lisas aórticas— reduce la partícula de LDL oxidada cuando esta enzima se sobreexpresa en el interior celular⁶. Además, la expresión de la PON2 en los macrófagos aumenta en condiciones de estrés oxidativo³³. De esta manera, se ha señalado que la PON2 puede actuar como una respuesta antioxidante selectiva a escala celular y puede tener efecto antiaterogénico atenuando la formación de células espumosas y reduciendo el estrés oxidativo⁷.

Aún se desconoce qué alelos de los genes *PON1* y *PON2* son los que tienen mayor actividad para el sustrato fisiológico in vivo. Determinar esta cuestión es relevante para poder conocer los mecanismos que expliquen la relación entre los polimorfismos *PON1* y *PON2* y el riesgo de IAM.

Limitaciones

Una limitación de nuestro estudio es que sólo se reclutó a pacientes de IAM que llegaron al hospital vivos; por lo tanto, se debe tener en cuenta un posible sesgo de supervivencia. No obstante, esta limitación es inherente a todos los estudios con diseño de casos y controles. Otra limitación es que sólo estuvieron disponibles las determinaciones biológicas en suero de los pacientes que sobrevivieron al menos 6 meses desde la fecha del acontecimiento. Por otra parte, las demás variables de interés fueron recogidas cuando los pacientes estaban en el hospital.

La magnitud de las asociaciones presentadas en este estudio, aunque son estadísticamente significativas, son menores que las que corresponden a los factores de riesgo clásicos, como el consumo de tabaco, la diabetes, la hipertensión o el colesterol. Estos resultados son los que esperábamos en el contexto de una enfermedad compleja como es el IAM, donde múltiples genes y variantes genéticas pueden participar.

Por otro lado, este estudio podría tener algunas implicaciones clínicas: en primer lugar, nuestro estudio respalda el papel de la paraoxonasa en la patogenia de la aterosclerosis; en segundo lugar, confirmamos la asociación entre dos polimorfismos de los genes *PON1* y *PON2* como factores de riesgo independientes de IAM en nuestra población, y estos dos marcadores podrían utilizarse para identificar a los individuos con mayor riesgo de padecer IAM; y, finalmente, nuestros resultados sostienen una nueva potencial diana terapéutica. Se precisan más estudios con la finalidad de identificar las variantes genéticas causales.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que los polimorfismos *PON1-192* y *PON2-311* son factores de riesgo independientes de IAM en nuestra población.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997;349:1498-504.
- Tomás M, Latorre G, Sentí M, Marrugat J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57:557-69.
- Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837-47.
- Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brum Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol*. 2004;11:412-9.
- 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.
- Rosenblat M, Gaidukov L, Khersonsky O, Vaya J, Oren R, Tawfik DS, et al. The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein-associated serum paraoxonase-1 (PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J Biol Chem*. 2006;281:7657-65.
- 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;276:44444-9.
- 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.
- Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet*. 1993;52:598-608.
- Wheeler JG, Keavney BD, Watkins H, Collins R, Danesh J. Four paraoxonase gene polymorphisms in 11212 cases of coronary heart disease and 12786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet*. 2004;363:689-95.
- 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.
- 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.
- 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 recipients. *Kidney Int*. 1999;56:289-98.
- 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.
- 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.
- Suehiro T, Nakauchi Y, Yamamoto M, Arii K, Itoh H, Hamashige N, et al. Paraoxonase gene polymorphism in Japanese subjects with coronary heart disease. *Int J Cardiol*. 1996;57:69-73.
- Kao Y, Donaghue KC, Chan A, Bennetts BH, Knight J, Silink M. Paraoxonase gene cluster is a genetic marker for early microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2002;19:212-5.
- Sanghera DK, Aston CE, Saha N, Kamboh MI. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associa-

- ted with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet.* 1998;62:36-44.
19. Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, McNamara DM, Holubkov R, Sharaf BL, et al. Association between the severity of angiographic coronary artery disease and paraoxonase gene polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Am J Hum Genet.* 2003;72:13-22.
 20. Martinelli N, Girelli D, Olivieri O, Stranieri C, Trabetti E, Pizzolo FM, et al. Interaction between smoking and PON2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest.* 2004;34:14-20.
 21. Wang XY, Xue YM, Wen SJ, Zhang NL, Ji Z, Pan SY. [The association of paraoxonase 2 gene C311S variant with ischemic stroke in Chinese type 2 diabetes mellitus patients]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2003;20:215-9.
 22. Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whalley L, St Clair D, et al. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet.* 2006;7:28.
 23. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation.* 1994;90:583-612.
 24. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.
 25. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:1215.
 26. Humbert R, Adler DA, Distèche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993;3:73-6.
 27. Elosua R, Marrugat J, Molina L, Pons S, Pujol E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am J Epidemiol.* 1994;139:1197-209.
 28. Elosua R, Garcia M, Aguilar A, Molina L, Covas MI, Marrugat J. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish women. Investigators of the MARATDON Group. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:1431-7.
 29. Robertson KS, Hawe E, Miller GJ, Talmud PJ, Humphries SE. Human paraoxonase gene cluster polymorphisms as predictors of coronary heart disease risk in the prospective Northwick Park Heart Study II. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1639:203-12.
 30. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature.* 1998;394:284-7.
 31. 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.
 32. 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.
 33. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med.* 2004;37:1304-16.