



DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ARILESTERASA DE LA ENZIMA PARAOXONASA SÉRICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL LIPÍDICO Y LA GLICEMIA

Marina M. Batista V.¹, Luis F. Loo D.², Ana E. Tejada³, Tomás A. Diez G.³

¹Laboratorio Clínico, Policlínica de Betania, Caja del Seguro Social, ²Laboratorio Clínico América, ³Departamento de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá.

RESUMEN

La enfermedad cardiovascular aterosclerótica es una de las complicaciones más comunes de la Diabetes Mellitus tipo 1 y 2. La paraoxonasa (PON1) es una enzima presente en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) con actividad antioxidante, por lo que se le atribuyen propiedades antiaterogénicas. El conocimiento del comportamiento de la actividad de la enzima PON1 en individuos que padecen de Diabetes Mellitus supondría importantes implicaciones en la predicción y tratamiento de enfermedades aterogénicas. El presente estudio muestra los resultados obtenidos con una muestra de 90 pacientes que padecen de Diabetes Mellitus tipo 2 y que acudieron a control en la Clínica Especializada de Diabetes del Hospital Santo Tomás. La actividad arilesterasa de la paraoxonasa fue mayor en los pacientes con diabetes que en el grupo control. Sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Aparentemente, la edad no influye en la actividad arilesterasa de PON1 en los pacientes con diabetes. Como era de esperar, la mayoría de estos pacientes presentaron perfiles lipídicos alterados. La correlación directa encontrada entre el colesterol-HDL (C-HDL) y la actividad arilesterasa de PON1 es débil ($r = 0.2$). Tanto en el grupo de pacientes con diabetes como en el grupo control se encontró una correlación inversa, pero débil, entre la glicemia y la actividad arilesterasa de PON1 ($r = -0.14$ y $r = -0.10$, respectivamente). Los resultados obtenidos en este estudio no permiten concluir si la actividad de la enzima paraoxonasa está alterada en individuos que padecen de Diabetes Mellitus tipo 2.

PALABRAS CLAVES

Paraoxonasa, PON1, Diabetes Mellitus tipo 2, Aterogénesis, Antioxidante.

ABSTRACT

Atherosclerotic heart disease is one of the most common complications in Diabetes Mellitus. Paraoxonase (PON1) is an enzyme bound to high density lipoproteins (HDL) that has antioxidant activity; therefore it is considered to possess antiatherogenic properties. The present study shows the results obtained with a sample of 90 Diabetes Mellitus type 2 patients who attended Clínica Especializada de Diabetes Mellitus at Hospital Santo Tomás for control. The arylesterase activity of paraoxonase was higher in the diabetic group than in the control group. However, the difference was statistically not significant ($p>0.05$). Apparently, the age has no influence on the arylesterase activity of PON1 in the diabetic group. As expected, most of these patients presented abnormal lipid concentration (dyslipidemia). The correlation found between HDL-cholesterol (C-HDL) and the arylesterase activity of PON1 is weak. We also found a weak negative correlation between the serum glucose and the arylesterase activity of PON1, not only in the diabetic group, but also in the control group. From these results altogether, we can not conclude that the activity of PON1 is altered in individuals suffering from Diabetes Mellitus type 2. However, a possible explanation of these results is discussed.

KEYWORDS

Paraoxonase, PON1, Diabetes mellitus type II, Atherogenesis, Antioxidant.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus se ha convertido en un problema grave de salud pública a nivel mundial debido a su carácter epidemiológico. Se estima que existen más de 143 millones de individuos con esta enfermedad y muchos de ellos no tienen conocimiento de su padecimiento. Una de las regiones más afectada por la diabetes es el continente americano al registrar un promedio de 30 millones de personas, es decir, casi una quinta parte del total de los casos mundiales (Barceló, 2001). En 1994, la Organización Panamericana de la Salud estimó que en América Latina y el Caribe existían 13 millones de personas afectadas con diabetes, y que para el año 2010 la cifra ascendería a más de 20 millones debido al envejecimiento de la población, cambios sociales y aumento de los factores de riesgo relacionados (Barceló, 2001). En el año 2006 y de acuerdo con las estadísticas de la Contraloría General de la República, la diabetes fue la cuarta causa de muerte en Panamá (Contraloría General de la República, 2006).

Como es bien conocido, la diabetes tipo 2 se caracteriza por deficiencias en la secreción y/o acción de la insulina, lo que provoca elevadas concentraciones de glucosa en sangre, hipertrigliceridemia, metabolismo oxidativo acelerado, concentraciones disminuidas de colesterol-HDL; todos estos son factores asociados a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, por lo que también aumenta el riesgo de muerte prematura. Un aspecto clave en la patología de la diabetes, en relación con el riesgo aterogénico, es la disminución de los niveles de colesterol-HDL.

Los sucesos clínicos que producen el proceso aterogénico están directamente relacionados con la oxidación de lípidos en las partículas LDL que quedan atrapadas en la matriz extracelular del espacio subendotelial. Estos lípidos oxidados activan un factor de transcripción tipo NFκB e induce la expresión de genes que contienen sitios de unión NFκB. Los productos proteicos de estos genes inician una respuesta inflamatoria que inicialmente conducen al desarrollo de la estría grasa. La progresión de la lesión está asociada con la activación de genes que inducen la calcificación arterial, lo cual cambia las características mecánicas de la pared arterial y predispone la ruptura de la placa en sitios de infiltración monocítica. La ruptura de la placa expone al flujo sanguíneo el factor tisular en la lesión, induciendo la trombosis. Aparentemente, existen potentes sistemas, determinados genéticamente, que previenen la oxidación de lípidos, inactivando biológicamente lípidos oxidados importantes, y/o modulando la respuesta inflamatoria a lípidos oxidados que podría explicar la susceptibilidad diferencial de individuos y poblaciones al desarrollo de la aterosclerosis (Berliner *et al.*, 1995).

Investigaciones preliminares sugieren que PON1 previene la oxidación del colesterol-LDL y preserva la función del colesterol-HDL. Tal como se mencionó anteriormente, la enfermedad aterosclerótica es un proceso inflamatorio y progresivo. En este sentido, se ha observado que PON1 presenta propiedades anti-inflamatorias en las células de la pared arterial, lo cual podría ser explicado en función de la capacidad que tiene de hidrolizar peróxidos lipídicos presentes en las lipoproteínas; aparentemente, estos lipoperóxidos son desencadenantes del proceso inflamatorio (Boemi *et al.*, 2004).

Muchos investigadores han demostrado que el efecto protector de las HDL es ejercido parcialmente por la presencia de la enzima paraoxonasa (PON1) (Tomás *et al.*, 2004; Ferreti *et al.*, 2001; Pérez, 2004; Singara *et al.*, 2001; Durrington *et al.*, 2001; Aviram *et al.*, 2000; Watson *et al.*, 1995). La PON1 sérica es una esterasa sintetizada por el tejido hepático que se encuentra unida a las HDL. Aparentemente, esta unión es un requerimiento absoluto para mantener la actividad biológica de la enzima. Además de la actividad de esterasa, PON1 es capaz de hidrolizar metabolitos de compuestos organofosforados tales como el paraoxón (actividad de paraoxonasa, de allí el nombre común de la enzima), diazoxón (actividad diazoxonasa) y de gases nerviosos como el sarín (actividad sarinasa) y somán (actividad somanasa). Esta enzima también ha recibido un intenso escrutinio investigativo debido a que, al ser una proteína polimórfica, la sensibilidad o la resistencia de un individuo frente a una intoxicación con un compuesto organofosforado, como el paratión (precursor del paraoxón), depende de la forma polimórfica y de los niveles plasmáticos de la enzima (Costa *et al.*, 2003).

El gen de PON1 presenta tres polimorfismos importantes: dos en la región codificadora, Q192R y L55M, y uno en la región promotora C-108T. Investigaciones recientes sugieren que el genotipo de cada individuo determina la actividad y los niveles de la enzima. Así, por ejemplo, el alelo R (posición polimórfica 192) se ha correlacionado con la enfermedad cardio-isquémica en estudios caso-control en algunas poblaciones. Esta asociación puede ser explicada por la observación de que la isoforma (192R) posee menos actividad hidrolítica sobre los peróxidos lipídicos que la isoforma 192Q (Mackness *et al.*, 1996). Por razones similares, los distintos polimorfismos son ahora considerados como factores determinantes de la predisposición a desarrollar algunas complicaciones de la Diabetes Mellitus (Ocaña, 2003).

Algunos investigadores han encontrado que la actividad PON1 está reducida en pacientes diabéticos tipo 2 (Ikeda *et al.*, 1998). Boemi *et al.* (2001) demostraron que la actividad de esta enzima está reducida a un grado que puede alterar la capacidad antioxidante *in vitro*, sugiriendo una asociación con el incremento del estrés oxidativo en diabéticos. El mecanismo por el cual la actividad de PON1 está reducida en la diabetes es pobremente entendido, pero podría asociarse a un aumento

de la concentración de glucosa en sangre. Una de las hipótesis que intentan explicar este hecho es la inactivación o inhibición de PON1 por glicosilación espontánea, lo que a su vez incrementaría la lipoperoxidación de las HDL. Ferreti *et al.* (2001) han demostrado que las HDL glicosiladas tienen una capacidad reducida de proteger contra la oxidación. La actividad de PON1 es también más baja en pacientes con síndrome metabólico, en el que los síntomas incluyen niveles elevados de glucosa en ayuno e incremento de la resistencia a la insulina (Deakin *et al.*, 2004). Sin embargo, otros investigadores han encontrado que la actividad de PON1 no se correlaciona con la concentración de HDL (Tomás *et al.*, 2004).

Debido a los resultados controversiales encontrados en la literatura acerca de la relación que existe entre las HDL, la actividad de PON1 y la Diabetes Mellitus, y en virtud de que esta enfermedad se ha convertido en un problema grave de salud pública y, más aún, debido a la falta de estudios publicados a nivel nacional, consideramos importante determinar la actividad de PON1 en pacientes diabéticos tipo 2 con el propósito de contribuir a elevar el nivel de comprensión de los efectos de esta enfermedad en la población panameña. Así, el conocimiento del comportamiento de la actividad de la enzima PON1 en individuos con Diabetes Mellitus tipo 2 supondría importantes implicaciones en la predicción y tratamiento de, por ejemplo, la enfermedad coronaria causada por lesiones ateroscleróticas y, por lo tanto, el diseño de terapias que estimulen la actividad de esta enzima para prevenir la formación de la placa ateromatosa.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos

El estudio fue realizado en 90 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 que asistían a la Clínica Especializada de Diabetes del Hospital Santo Tomás (63 de sexo femenino y 37 de sexo masculino) con edades que oscilaban entre 26 y 81 años, y 30 individuos sanos, estudiantes no fumadores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá (16 de sexo femenino y 14 de sexo masculino) que conformaron el grupo control y con edades comprendidas entre los 20 y 22 años. Se realizó un muestreo no probabilístico, por conveniencia (incidental). Más del 50% de los pacientes con diabetes presentaban edades

comprendidas entre los 54 a los 67 años. La distribución de los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 según grupos etáreos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Distribución de los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 por sexo según grupos etáreos.

Grupos etáreos (años)	Femenino		Masculino		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
26 - 32	3	5	2	7	5	6
33 - 39	3	5	1	4	4	4
40 - 46	4	6	2	7	6	7
47 - 53	14	22	1	4	15	17
54 - 60	13	21	8	30	21	23
61 - 67	21	33	8	30	29	32
68 - 74	5	8	4	15	9	10
75- 81	0	0	1	4	1	1
Total	63	100	27	100	90	100

El grupo control estuvo conformado por individuos jóvenes sanos no mayores de 22 años. De cada individuo en ayunas se extrajeron 5 mL de sangre que fueron colectados en tubos sin anticoagulante. Cada muestra fue debidamente rotulada y guardada inmediatamente en un recipiente refrigerado para mantenerlas y transportarlas al laboratorio. La determinación de la actividad arilesterasa de PON1 se realizó en un periodo posterior no mayor de 2 horas. El protocolo de investigación fue aprobado por el Departamento de Docencia e Investigación del Hospital Santo Tomás y para la toma de la muestra de sangre y el registro de información adicional se obtuvo el consentimiento informado de cada voluntario que participó en este estudio.

Actividad arilesterasa de PON1

Para medir la actividad de PON1, se utilizó el método en el cual se emplea el fenilacetato como sustrato (Rosenblat *et al.*, 2003). La velocidad de hidrólisis del fenilacetato fue determinada por duplicado midiendo la absorbancia del fenol durante 2 minutos de reacción, a una longitud de onda de 270 nm en un espectrofotómetro Shimatzu programado con el método cinético a 25°C. La mezcla de reacción

contenía 3 µL de sangre, CaCl₂ 0.9 mM, Tris-HCl 20 mM pH 8.0 y fenilacetato 10 mM, en un volumen total de 3 mL. El ensayo fue iniciado mediante la adición del sustrato. La hidrólisis no enzimática del fenilacetato fue sustraída de la velocidad total de hidrólisis ensayando una muestra blanco sin suero bajo las mismas condiciones analíticas. El coeficiente de extinción del fenol a 270 nm es de 1310 M⁻¹ cm⁻¹. Una unidad (U) de actividad arilesterasa de PON1 es igual a 1 µmol de fenilacetato hidrolizado min⁻¹ mL⁻¹.

Perfil lipídico mínimo y glicemia

La determinación del colesterol-HDL (C-HDL), colesterol total (C) y triglicéridos (TG) se llevó a cabo mediante la utilización de kits de Vitros (metodología de Química seca), Vitros Chol y Vitros Trig, respectivamente. En un aparato Johnson & Johnson Orthodiagnostic Vitros 250 se midieron las absorbancias correspondientes para C-HDL (670 nm) y C y TG (540 nm). Para la determinación de C-HDL, las VLDL y LDL fueron separadas del suero por precipitación usando dextransulfato (PM 50 000) y cloruro de magnesio. Las lipoproteínas precipitadas fueron removidas por centrifugación. La concentración del colesterol-LDL fue calculada utilizando la fórmula de Friedewald-Frederickson. Esta fórmula se utilizó puesto que los valores de TG en los sueros estudiados eran menores de 400 mg/dL.

De manera similar, la concentración de glucosa sanguínea fue medida mediante química seca, utilizando el kit Vitros para glucosa y midiendo la absorbancia a 670 nm. Rutinariamente y para incluir a un individuo en el estudio como paciente diabético tipo 2, la obtención de la muestra de sangre se realizó mediante punción capilar y el nivel de glucosa sanguínea se determinó con la ayuda de tira reactiva leída en un aparato Accu-Chek Active de Roche.

Análisis estadístico

Las medidas de tendencia central (promedio, mediana) y de dispersión (rango, desviación estándar) fueron obtenidas a través de la hoja de cálculo Excel. El grado de correlación de Pearson entre los diferentes parámetros bioquímicos medidos fue estimado con el programa EpiInfo 3.3.2.

RESULTADOS Y DISCUSION

La distribución de los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 según grupos etáreos se muestra en la Tabla 1. Se observó un predominio de pacientes diabéticos mayores de 40 años; sin embargo, también encontramos pacientes menores de 40 años, condición que también ha sido observada por otros investigadores, incluso en niños y adolescentes obesos y muy obesos (Drake *et al.*, 2002; Dabelea *et al.*, 1999).

También se observó un predominio de pacientes de sexo femenino que padecen la enfermedad, lo cual no es sorprendente pues la Diabetes Mellitus tipo 2 se desarrolla más frecuentemente en mujeres debido a la presencia de antecedentes de diabetes gestacional, hipertensión o trastornos en el metabolismo de lípidos, hechos que se corroboran con otras investigaciones (Fernández, 1999). Tal como se mencionó en la introducción, en el año 2006, la Diabetes Mellitus fue la cuarta causa de muerte en Panamá, con una prevalencia mayor en las mujeres (58.2%) que en los hombres (Contraloría General de la República, 2006).

Los resultados de la determinación de la actividad arilesterasa de PON1 del grupo de pacientes diabéticos y del grupo control se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Medias aritméticas de la actividad arilesterasa (U/mL) de PON1 de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 y del grupo control.

Medida estadística	Actividad Enzimática PON1 ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$)	
	Diabéticos tipo 2	Controles
Media	105 \pm 25	97 \pm 21
Mediana	102	98
Moda	95	98

La actividad arilesterasa de PON1 mostró una distribución unimodal en la población estudiada, tanto en los individuos controles como en los pacientes diabéticos (datos no mostrados). La media de la actividad

arilesterasa de PON1 en el suero de pacientes diabéticos fue de 105 ± 25 U/mL, con un intervalo de 37-149 U/mL, mientras que la media aritmética en los individuos controles fue de 97 ± 21 U/mL, con un intervalo de 61-135 U/mL. Debido a la ausencia de estudios de la actividad arilesterasa de PON1 en la población panameña, fue necesaria la inclusión de un grupo control o de referencia. Los valores obtenidos para el grupo de referencia se encuentran dentro del intervalo normal reportado por Furlong en un estudio realizado en California con mujeres de origen latino, correspondiente a 19.8-281.4 U/mL (Furlong *et al.*, 2006). En otro estudio de referencia llevado a cabo en una muestra de 153 individuos sanos, de ambos sexos, en la población panameña se encontró que la actividad arilesterasa de PON1 promedio es de 126.2 U/mL, con un intervalo de 48.1-229.6 U/mL (Tejada *et al.*, manuscrito en preparación). Al igual que para el grupo control, los valores obtenidos para el grupo de pacientes diabéticos se encuentran dentro de los intervalos de valores de los grupos de referencia.

Aunque la media aritmética de la actividad arilesterasa de PON1 en los pacientes diabéticos fue mayor que la observada en los individuos controles, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Resultados similares han sido observados por Rosenblat *et al.* (2008). Estos hallazgos difieren de otros publicados por investigadores que han encontrado valores por debajo del intervalo de referencia en individuos que padecen diabetes tipo 2 (Mackness, *et al.*, 2002; Boemi *et al.*, 2001; Ikeda *et al.*, 1998). Estos resultados controversiales pueden ser explicados mediante los resultados obtenidos por Rosemblat *et al.* (2008) en pacientes diabéticos, en donde más del 70% de la actividad de PON1 se encuentra libremente en suero y no asociada a las HDL. La PON1 fisiológicamente activa debe encontrarse unida a las HDL. Sin embargo, la determinación de la actividad de PON1 en nuestra investigación se realizó en suero y no en fracciones purificadas de lipoproteínas, por lo que existe la posibilidad de que la actividad arilesterasa de PON1 detectada no estuviera unida a las HDL de los pacientes diabéticos. Tal como se discutirá más adelante, la mayoría de los pacientes diabéticos presentaron perfiles lipídicos alterados.

Algunos investigadores han encontrado que PON1 tiende a unirse a partículas HDL de mayor tamaño tanto *in vivo* como *in vitro* (Deakin *et al.*, 2002). Esta observación nos permite inferir que la secreción y la unión de PON1 podrían estar comprometidas en ciertas enfermedades, como por ejemplo la diabetes, en las cuales prevalecen partículas HDL de tamaño reducido. Otros investigadores han observado que la adición de colesterol libre a partículas HDL reconstituidas disminuye, significativamente, la actividad de PON1 (Deakin *et al.*, 2002; Oda *et al.*, 2001; Sorenson *et al.*, 1999). Es bien conocido que el colesterol libre está localizado en la capa lipídica externa de las HDL, lo cual podría afectar adversamente la función de la lipoproteína. La relación HDL₂-colesterol/colesterol libre está sustancialmente reducida en pacientes diabéticos, lo cual a su vez podría provocar un ambiente desfavorable para la unión y/o actividad de PON1.

Otra posible explicación de los resultados aquí publicados podría ser el grado de glicosilación no enzimática de proteínas estructurales y circulantes, entre ellas las lipoproteínas, al cual están sometidos los individuos diabéticos debido a la hiperglicemia sostenida. Claramente, nuestros resultados demuestran que el grupo de diabéticos presentó un promedio de concentración de glucosa significativamente superior al grupo control, con valores fuera de los intervalos de referencia ($p < 0.05$), evidenciando un pobre control de su condición diabética (Tablas 3).

Tabla 3. Niveles de glicemia determinada en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 y en el grupo control.

Medición Estadística	Niveles de glicemia (mg/dL)	
	Diabéticos	Controles
Promedio	127	85
SD	38	7
Mediana	121	87
Rango	68 - 237	75 - 96

Algunos investigadores han sugerido que la glicosilación podría, no solamente reducir la actividad de PON1, sino también incrementar la lipoperoxidación en las HDL (Hedrick *et al.*, 2000; Ferreti, *et al.*, 2001). Estos mismos investigadores demostraron que la actividad y la

concentración de PON1 estaban disminuidas en sujetos sanos con niveles séricos elevados de glucosa en ayuno.

Alternativamente, la aparente actividad arilesterasa o nivel normal de PON1 podría deberse a los tratamientos anti-diabéticos, anti-lipídicos u otro tipo de medicación no tradicional a cual estuvieron sometidos los pacientes diabéticos, tal como sugieren los resultados de la determinación del perfil lipídico mínimo en los pacientes diabéticos que se muestran en las Tablas 4 y en los sujetos controles (datos no mostrados).

Tabla 4. Perfil lipídico del grupo de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.

Perfil lipídico mínimo		Promedio (mg/dL)	SD	Mediana (mg/dL)	Intervalos
Colesterol total		200	42	201	105-372
Triacilgliceroles		175	82	161	50-439
C-LDL		116	34	117	46-194
C-HDL	Total	47	17	43	23-109
	Femenino	50	19	45	23-109
	Masculino	39	9	38	27-56

Algunos pacientes presentaron niveles bajos de colesterol total (<200 mg/dL), triacilgliceroles (<150 mg/dL), colesterol-LDL (<100 mg/dL) y elevados niveles de colesterol-HDL (>60 mg/dL), condición que se logra, por ejemplo, mediante una dieta apropiada, ejercicio o medicamentos hipolipemiantes, tal como los que se prescriben para pacientes diabéticos. Si bien la mayoría de los pacientes presentaron un perfil lipídico mínimo anormal (dislipidemia secundaria), aquellos que presentaron niveles aceptables de lípidos en sangre pudieron haber comprometido o contaminado estadísticamente los resultados. Hedrick y colaboradores han reportado que la actividad de PON1 está 65% disminuida en sujetos hiperlipidémicos (Hedrick *et al.*, 2000). Sería interesante realizar estudios de la determinación de la actividad arilesterasa de PON1 en individuos diabéticos recién diagnosticados y que no hayan recibido ningún tipo de medicación.

En el grupo de pacientes diabéticos encontramos una débil correlación directa entre la concentración de colesterol-HDL y la actividad arilesterasa de PON1, con un coeficiente de correlación de Pearson igual a 0.2 (datos no mostrados). Sin embargo, en el grupo control la correlación directa fue mucho más débil, con un coeficiente de correlación de Pearson igual a 0.1 (datos no mostrados). En contraposición, algunos investigadores han sugerido que existe una fuerte correlación directa entre la concentración de colesterol-HDL y la actividad de PON1 (Manresa, *et al.*, 2004; Nus *et al.*, 2007)). Sin embargo, estudios recientes realizados por Pérez han demostrado que la subclase HDL₃ es mejor aceptor de la PON1 (Pérez, 2004). Esta observación hace difícil obtener conclusiones relacionadas con la concentración de colesterol-HDL y la actividad de PON1, puesto que la concentración de esta subclase de lipoproteína depende de factores genéticos, patológicos y ambientales difíciles de controlar.

El análisis de correlación entre la actividad arilesterasa de PON1 y la glicemia mostraron resultados interesantes. En el grupo de individuos diabéticos no se observó ninguna relación entre la actividad arilesterasa de PON1 y la glicemia. Por otro lado, en el grupo control observamos una débil correlación inversa entre estas dos variables, de tal forma que a medida que aumenta la glicemia, disminuye la actividad arilesterasa de PON1 ($r = -0.1$). Sin embargo, al eliminar aquellos valores de glicemia menores de 100 mg/dL obtenidos en el grupo de diabéticos, el mismo análisis de regresión simple mostró una relación inversa débil, similar a la encontrada en el grupo control, con un coeficiente de correlación de Pearson igual a -0.14.

CONCLUSIONES

Se observó un predominio de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 en sujetos mayores de 40 años y del sexo femenino. Los valores de actividad arilesterasa de PON1 en el suero de pacientes diabéticos se encuentran dentro del intervalo normal. La metodología utilizada en esta investigación no nos permite concluir si la actividad enzimática medida en los pacientes diabéticos se encuentra en moléculas de PON1 asociadas a las HDL, o si la actividad de PON1 estuvo influenciada por los medicamentos tomados. Los resultados obtenidos sugieren una pobre correlación directa entre la concentración de colesterol-HDL y la

actividad arilesterasa de PON1, pero una correlación débil inversa entre la glicemia y la actividad arilesterasa de esta enzima.

REFERENCIAS

Aviram, M., L. Dornfeld, M. Rosenblat, N. Volkova, M. Kaplan, R. Coleman, T. Hayek, D. Presser & B. Fuhrman. 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*; 71:1062-1076.

Barceló, A. 2001. La Diabetes en las Américas. Programa de Enfermedades No Transmisibles, División de Prevención y Control de Enfermedades (HCP/HCN) de la OPS. *Boletín Epidemiológico*, 22(2).

Berliner, J., M. Navab, A. Fogelman, J. Frank, L. Demer, P. Edwards, A. Watson, & A. Lusis. 1995. Atherosclerosis: Basis Mechanisms. Oxidation, Inflammation, and Genetics. *Circulation*, 91:2488-2496.

Boemi, M., I. Leviev, C. Sirolla, C. Pieri, M. Marra & R. James. 2001. Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atheroscler.*, 155:229–235.

Boemi, M., *et al.* 2004. Smoking is associated with reduced serum levels of the antioxidant enzyme paraoxonase in type 2 diabetic patients. *Diabetic Medical*, 21:423-427.

Contraloría General de la República. 2006. Estadísticas Vitales, Volumen III Defunciones: Año 2006. República de Panamá.

Costa, L., *et al.* 2003. Functional genomics of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: Effects on pesticide sensitivity, cardiovascular and drug metabolism. *Ann. Rev. Med.*, 54:371-392.

Dabelea, D., D. Pettitt, K. Jones & S. Arslanian. 1999. Type 2 Diabetes Mellitus in minority children and adolescents. An emerging problem. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 28:709-729.

Deakin, S. & R. James. 2004. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clinical Science*, 107:435–447.

Deakin, S., *et al.*, 2002. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J. Biol. Chem.*, 277:4301-4308.

Drake, A., A. Smith, P. Betts, E. Crowne & J. Shield. 2002. Type 2 diabetes in obese white children. *Archives of Diseases in Childhood*, 86:207-208.

Durrington, P., B. Mackness & M. Mackness. 2001. Paraoxonase and Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 21:473-480.

Fernández, I. 1999. Diabetes Mellitus tipo 2: Tratamiento. *Boletín terapéutico Andaluz*, 15:1-46.

Ferreti, G., *et al.*, 2001. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physiochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol.*, 38:163-169.

Furlong, C., *et al.* 2006. Paraoxonase polymorphisms, haplotypes, and enzyme activity in latino mothers and newborns. *Environmental Health Perspectives*, 114:985-991.

Hedrick, C., *et al.*, 2000. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia*, 43: 312-320.

Ikeda, Y., T. Suehiro, M. Inoue, Y. Nakauchi, T. Morita, K. Arai, H. Ito, Y. Kumon & K. Hashimoto. 1998. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Metabolism*, 47:598-602.

Mackness, B., P. Durrington, A. Boulton, D. Hine & M. Mackness. 2002. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur J. Clin. Invest.*, 32:259-264.

Mackness, B., P. Durrington & M. Mackness. 1996. Paraoxonase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*,16:831-833.

Manresa, J., *et al.*, 2004. Polimorfismo 192 del gen de la paraoxonasa-1, actividad física y lipoproteínas de alta densidad en la mujer. *Medicina Clínica*, 122:126-129.

Nus, M., *et al.*, 2007. Arylesterase activity and antioxidante status dependo n PON1-Q192R and PON1-L55M polymorphisms in subjects with increased risk of cardiovascular disease consuming Walnut-enriched meat. *The Journal of Nutrition*, 137:1783-1788.

Ocaña, A., *et al.* 2003. Factores genéticos de riesgo microvascular y macrovascular en la Diabetes Mellitus. *Avances en Diabetología*, 19:115-120.

Oda, M. *et al.* 2001. Cysteine substitution in apolipoproteína A-I primary structure modulate paraoxonase activity. *Biochem.*, 40:1710-1718.

Pérez, O. 2004. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención de la aterosclerosis? *Arch. Cardiol. Mex.*,74:53-67.

Rosenblat, M, O. Supir, & M. Aviram. Glucose inactivates paraoxonase 1 (PON1) and displaces it from high density lipoprotein (HDL) to a free PON1 form. In *Proteins and Cell Regulation*, Vol. 6 *The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism* (Chapter 1), Springer Netherlands, 2008.

Rosenblat, M., *et al.* 2003. Serum paraoxonase activity and extent of lipid peroxidation are not affected by increased level of human apolipoprotein A-I: studies in transgenic mice. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 40:9-16.

Singara, R. *et al.* 2001. Human ABCA1 BAC transgenic mice show increased HDL-C and ApoAI dependent efflux stimulated by an internal promoter containing LXREs in intron 1. *J. Biol. Chem.*, 276:33969-33979.

Sorenson, R., *et al.* 1999. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoproteína A-I stabilizes activity. *Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol.*, 19:2214-2225.

Tejada, A., T. Diez & C. Ramos, Manuscrito en preparación.

Tomás, M., G. Latorre, M. Sentí & J. Marrugat. 2004. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev. Esp. Cardiol.*, 57:557-569.

Watson, A., *et al.* 1995. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.*, 96:2882-2891.

Recibido septiembre de 2008, aceptado febrero de 2009.