



## Artículo original

# Caracterización polimórfica de la paraoxonasa-1 en el infarto cerebral aterotrombótico de una población mexicana: estudio piloto

Paraoxonase-1 polymorphisms and cerebral ischemic stroke: a pilot study in mexican patients

María Fernanda Martínez-Salazar<sup>1</sup>, María de la Luz Soriano-Martínez<sup>2</sup>, Alina Juantorena-Ugas<sup>2</sup>, Damianys Almenares-López<sup>3</sup>, Petra Yescas<sup>4</sup>, Marie-Catherine Boll<sup>5</sup> and Antonio Monroy-Noyola<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Neuroprotección, Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, México.

<sup>3</sup>División Ciencias Agropecuarias e Ingenierías, Universidad Popular de la Chontalpa, Cárdenas, Tabasco, México.

<sup>4</sup>Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, M.V.S. Ciudad de México. Mexico.

<sup>5</sup>Investigación Clínica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, M.V.S. Ciudad de México México.

Martínez-Salazar MF, Soriano-Martínez MDLM, Juantorena-Ugas A, Almenares-López D, Yescas P, Boll MC and Monroy-Noyola A. Paraoxonase-1 polymorphisms and cerebral ischemic stroke: a pilot study in mexican patients. *Colomb Med (Cali)*. 2018; 49(3): 223-227 DOI: [10.25100/cm.v49i3.2217](https://doi.org/10.25100/cm.v49i3.2217)

© 2018 Universidad del Valle. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original y la fuente se acreditan.

### Historia:

Recibido: 05 febrero 2016

Revisado: 20 junio 2018

Aceptado: 17 julio 2018

### Palabras clave:

Aterosclerosis Cerebral, infarto, arildialquifosfatasa, polimorfismos de nucleótidos únicos

### Keywords:

Atherosclerosis, stroke, arylalkylphosphatase, single nucleotide polymorphism

### Resumen

**Introducción:** La paraoxonasa-1 (PON1) sérica asociada a las HDL presenta dos polimorfismos comunes en las posiciones 192 y 55. Estos polimorfismos se consideran determinantes para la capacidad de las HDL de proteger a las LDL de su modificación oxidativa. En este contexto, el genotipo de PON1 se ha asociado con enfermedades cerebrovasculares, que incluyen el infarto cerebral.

**Objetivo:** Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de PON1-L55M y PON1-Q192R, así como las actividades enzimáticas de PON1 en sujetos con y sin infarto cerebral aterotrombótico.

**Métodos:** Se incluyeron 28 personas con infarto cerebral aterotrombótico y 29 sin infarto. Las genotipificaciones se realizaron mediante PCR-RFLP y las fenotipificaciones mediante la medición de las actividades paraoxonasa y arilesterasa en suero.

**Resultados:** Para el polimorfismo Q192R, las frecuencias alélicas (Q/R) fueron 0.46/0.54 y 0.48/0.52 ( $p=0.843$ ) para el grupo control y el grupo con infarto, respectivamente. Mientras que para el polimorfismo L55M, las frecuencias alélicas (L/M) fueron 0.81/0.19 para el grupo control y 0.78/0.22 para el grupo con infarto ( $p=0.610$ ). Los niveles de actividad paraoxonasa no fueron significativamente diferentes entre los grupos control y con infarto (450 vs. 348 UI/mL,  $p=0.093$ ). Mientras que los niveles de actividad arilesterasa fueron significativamente diferentes entre los grupos estudiados (90 vs. 70 UI/mL,  $p=0.001$ ), sin embargo, al ajustarla por regresión lineal múltiple, dejó de ser significativa.

**Conclusión:** Los polimorfismos Q192R y L55M, y la actividad paraoxonasa de la PON1 no son factores de riesgo para el infarto cerebral aterotrombótico en este estudio.

### Abstract

**Background:** The serum paraoxonase-1 (PON1) associated to HDL presents two common polymorphisms in the positions 192 and 55. These polymorphisms are considered determinant of the capacity of HDL to protect LDL from their oxidative modification. In this context, the PON1 genotype has been associated with cardiovascular diseases, including stroke.

**Objective:** To determine the allelic and genotypic frequencies of PON1 L55M and Q192R as well as the enzymatic activities of PON1 in subjects with and without atherothrombotic stroke.

**Methods:** There were included 28 people with atherothrombotic stroke and 29 without stroke. The genotyping was carried out by PCR-RFLP and the phenotyping by measurement of the activities of paraoxonase and arylesterase in serum.

**Results:** For the polymorphism Q192R, the allelic frequencies (Q/R) were 0.46/0.54 and 0.48/0.52 ( $p=0.843$ ) for the control group and the group with stroke, respectively. While for the polymorphism L55M, the allelic frequencies (L/M) were 0.81/0.19 for the control group, and 0.78/0.22 for the group with stroke ( $p=0.610$ ). The activity levels of paraoxonase were not significantly different between the control and stroke groups (450 vs. 348 UI/mL,  $p=0.093$ ). While the activity levels of arylesterase were significantly different between the studied groups (90 vs. 70 UI/mL,  $p=0.001$ ); however, upon adjustment by multiple linear regression, it was no longer significant.

**Conclusion:** The polymorphisms Q192R and L55M, and the paraoxonase activity of PON1 are not risk factors for atherothrombotic stroke according to the results of this study.

### Autor de correspondencia.

Antonio Monroy-Noyola. PhD. Laboratorio de Neuroprotección y Bioquímica Clínica Facultad de Farmacia. Universidad Autónoma del Estado de Morelos Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa. C.P. 62210 Cuernavaca Morelos. Tel +52 777 329 700 ext. 7089. E-mail: [amonroy@auem.mx](mailto:amonroy@auem.mx)

## Introducción

La enfermedad vascular cerebral (EVC) isquémica o infarto cerebral, es causada por la interrupción del flujo sanguíneo cerebral ocasionada por un trombo promovido por la aterosclerosis o la cardioembolia<sup>1</sup>. El infarto cerebral aterotrombótico es el subtipo más común de los infartos cerebrales, tiene una frecuencia aproximada del 37%<sup>2</sup> y es la consecuencia clínica de la enfermedad ateromatosa. Múltiples factores inducen la aterogénesis, principalmente lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas, las cuales desencadenan una respuesta inmunológica en la pared del vaso sanguíneo y participan en el desarrollo de la aterosclerosis<sup>3</sup>. El grado de oxidación de las LDL depende del balance de agentes oxidantes/antioxidantes y de la cantidad de LDL existente<sup>4</sup>. Por otro lado, se sabe que las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tienen un papel anti-aterosclerótico, ya que metabolizan moléculas de LDL oxidadas de la pared arterial, transportándolas al hígado para su eliminación<sup>5,6</sup>. Esta capacidad de la HDL es debida a la asociación de enzimas como la paraoxonasa 1 (PON1) y la acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas (PAF-AH) que disminuyen la peroxidación de las LDL<sup>4,7</sup>.

PON1 es una enzima de 355 aminoácidos, sintetizada en el hígado y secretada en la sangre, donde se encuentra unida a las HDL<sup>8,9</sup>. PON1 presenta, un polimorfismo en la posición 192 en la región codificante, que se caracteriza por una sustitución de una glutamina (Q) por una arginina (R) y otra en la posición 55, donde se evidencia un cambio de una leucina (L) por una metionina (M)<sup>10</sup>. El polimorfismo Q192R afecta la capacidad para hidrolizar los compuestos organofosforados como el paroxón<sup>11</sup>. Las dos aloenzimas del polimorfismo Q192R tienen afinidades y actividades catalíticas diferentes frente a varios sustratos<sup>12</sup>. Estos polimorfismos también modifican la capacidad de la PON1 para proteger *in vitro* a las LDLs de la oxidación.

A partir del efecto observado de los polimorfismos comunes de la PON1 sobre la protección por las HDL ante la modificación oxidativa de las LDL, se ha sugerido que los individuos homocigotos para Q y para M de la PON1 podrían ser menos susceptibles a desarrollar enfermedades de origen ateroesclerótico, y que individuos homocigotos para R y para L podrían ser más propensos a desarrollar dichas enfermedades<sup>13</sup>. La frecuente asociación del genotipo RR de PON1-192 con el riesgo de enfermedades cardiovasculares refleja una eficiencia disminuida en el metabolismo de lípidos oxidados y/o una menor estabilidad de esta aloenzima, comparada con el genotipo QQ<sup>14</sup>. En este contexto, los polimorfismos Q192R y L55M, así como la actividad enzimática de la PON1, se han considerado una herramienta que puede contribuir a la estimación del riesgo de padecer las enfermedades referidas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue investigar la relación de los polimorfismos genéticos de PON1 con la EVC isquémica, de etiología ateroesclerosa.

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio de casos y controles en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), de la Ciudad de México, durante el año 2005. Los participantes o familiares responsables, firmaron un consentimiento informado, contestaron un cuestionario (datos demográficos, clínicos y de estilos de vida) y proporcionaron una muestra de sangre venosa para análisis

bioquímicos y moleculares. Los casos fueron sujetos hospitalizados de 35 a 85 años de edad con diagnóstico reciente de EVC isquémica de tipo aterotrombótica en fase aguda. Los controles fueron sujetos entre 35 y 75 años que pasaron las pruebas establecidas para la donación de sangre del mismo hospital. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del INNN (No. 67/01).

Para los ensayos bioquímicos se empleó el autoanalizador Hitachi 912 (Roche, Basel, Switzerland). La determinación de colesterol total sérico (TC) y triglicéridos TG se realizó con CHOD-PAP, HDL-C con HDL-C plus 3ª generación y LDL-C con LDL-C 2ª generación, todas de Roche Diagnostic.

La actividad paraoxonasa se determinó en suero a través de modificaciones al método de Eckerson<sup>15</sup>, 20 µL de suero más 980 µL de amortiguador pH 8 (Tris 10 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, 2.6 M de NaCl µL, 1 mM de paraoxón), midiendo el producto de hidrólisis (p-nitrofenol) a una longitud de onda de 412 nm durante 5 min, (se utilizó un coeficiente de extinción molar de 17,100<sup>16</sup>). Para la actividad arilesterasa se utilizaron 2,995 µL de acetato de fenilo 1 mM en un amortiguador pH 8 (Tris 10 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM) y 5 µL de suero. La velocidad de hidrólisis se determinó midiendo el producto (fenol) a una longitud de onda de 270 nm, se monitoreó durante 3 min y se tomó el valor antes y después de la incubación. Se ajustó la absorbancia en base a su coeficiente de extinción molar de 1,310 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> <sup>15</sup>.

Para la determinación de los polimorfismos genéticos de PON1-Q192R y PON1-L55M, el DNA genómico se extrajo a partir de sangre completa mediante un Kit comercial (Aquapure™ Genomic DNA kit, Bio-rad Laboratories, Hercules, CA). La identificación de los genotipos de PON1 se realizó por PCR<sup>17</sup>, con posterior digestión de los productos amplificados con enzimas de restricción *BspPI*(Fermentas) para PON1-Q192R y *HinIII* (Fermentas) para PON1-L55M. Los fragmentos digeridos fueron separados por electroforesis y visualizados en geles de poliacrilamida al 7.5% y 20% para PON1-L55M (dos fragmentos de 126 y 44 pb) y PON1-Q192R (dos fragmentos de 66 y 33 pb), respectivamente. El personal de laboratorio llevó a cabo la genotipificación de las muestras en una prueba ciega que incluyó muestras control (identificadas previamente mediante secuenciación) y las muestras experimentales para su validación. La concordancia con las muestras control fue del 100%.

Las variables categóricas se compararon mediante Chi cuadrado. Las variables con distribución normal se compararon mediante t de Student o ANOVA, aquellas variables no normales se analizaron con la prueba U de Mann-Whitney y posteriormente se transformaron a valores logaritmos para realizar las pruebas de regresión. Se evaluaron las variables en una regresión lineal simple, aquellas con un valor de p menor o igual a 0.1, se incluyeron en un modelo saturado de regresión lineal múltiple, eliminando aquellas que perdían significancia estadística, se mantuvieron edad y sexo por ser potenciales confusoras. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS® versión 13, con una significancia estadística de 0.05.

## Resultados

En el presente trabajo se incluyeron 28 casos de infarto cerebral aterotrombótico y 29 controles. En la Tabla 1 se observa que la

**Tabla 1.** Características clínicas, antropométricas y frecuencias alélicas y genotípicas de los grupos de estudio.

	Controles (n= 28)	Casos (n= 29)	p*
Edad (años) †	48 (43-54.5)	61 (53-71.5)	0.001
Hombre/mujer	21/8	13/17	0.024
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) †	27.12±0.80	27.77±0.78	0.568
TG (mg/dL) †	31.02	23.41	0.073
C-Total (mg/dL) †	213.62±10.06	191.98±9.05	0.116
C-HDL (mg/dL) †	28.18	22.82	0.193
C-LDL (mg/dL) †	124.41±9.97	124.22±6.31	0.987
HTA, n (%)	2(6.9)	16(55.2)	< 0.001
DM, n (%)	0(0.0)	9(31.0)	0.001
Consumo de tabaco n (%)	2(6.9)	8(27.6)	0.037
Consumo de alcohol, n (%)	0(0.0)	8(28.6)	0.002
Genotipo PON1-L55M	Frequency (%)	Frequency (%)	
LL	66.7	69.0	0.282
LM	29.6	17.2	
MM	3.7	13.8	
Alelo L	81.5	77.6	0.610
Alelo M	18.5	22.4	
Genotipo PON1-Q192R			
QQ	21.4	27.6	0.786
QR	50.0	41.4	
RR	28.6	31.0	
Alelo Q	46.4	48.3	0.843
Alelo R	53.6	51.7	

†Las variables continuas están expresadas como la media ±error estándar o mediana (cuartil 25-cuartil 75).

\* Valor de la significancia para t de Student o Chi cuadrado.

Para triglicéridos (TG), colesterol de HDL (C-HDL) y colesterol de LDL (C-LDL) el valor de la significancia fue para U de Mann Whitney. C-Total: colesterol total.

edad, el sexo y el consumo de alcohol y tabaco fueron distintos entre casos y controles. Los parámetros clínicos de IMC, lípidos séricos (a excepción de triglicéridos) e hipercolesterolemia fueron similares entre ambos grupos.

Las frecuencias de las tres clases genotípicas correspondientes a los polimorfismos Q192R y L55M de la PON1 (Tabla 1) no fueron estadísticamente diferentes ( $p= 0.786$  y  $p= 0.282$ , respectivamente) entre el grupo control y de casos, posteriormente se compararon las distribuciones alélicas de Q/R para el polimorfismo Q192R y L/M para el polimorfismo L55M las cuales tampoco fueron diferentes entre ambos grupos.

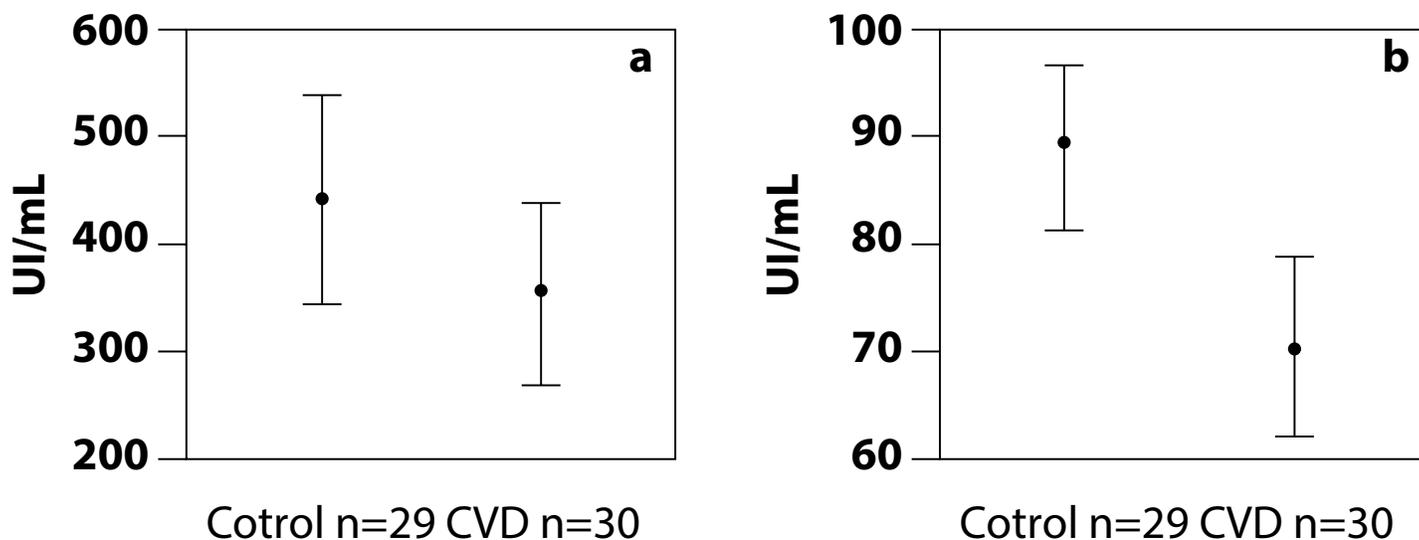
La actividad paraoxonasa de la PON1 fue mayor en el grupo control (450.27 UI/mL) en relación al grupo de casos (348.35 UI/mL), aunque no fue estadísticamente significativo ( $p= 0.093$ ). Situación similar a la actividad arilesterasa de la PON1, que fue mayor en el grupo control (89.96 UI/mL) en relación al grupo de casos (69.63 UI/mL), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0.001$ ) (Fig. 1).

En el análisis de regresión simple para la actividad paraoxonasa (Tabla 2), se observa que dicha actividad fue explicada por los niveles séricos de triglicéridos, por la actividad arilesterasa, por ambos polimorfismos y por el diagnóstico (casos vs controles). En el modelo de regresión múltiple se demostró que la edad, la actividad arilesterasa y el polimorfismo Q192R, fueron los factores que determinaron de manera significativa e independiente en un 78.5% la variación de la actividad paraoxonasa. También se encontró que el diagnóstico ( $p=0.85$  en el modelo saturado, dato no mostrado), no influyó en la actividad paraoxonasa de los sujetos de este estudio.

En relación a la actividad arilesterasa (Tabla 3), en el análisis de regresión simple, las variables de diagnóstico, edad, colesterol total, alcoholismo y el polimorfismo Q192R estuvieron relacionados con la actividad. En el análisis de regresión múltiple, la edad, el consumo de alcohol y el colesterol total (este último con una significancia marginal) determinaron de manera significativa e independiente la variación de la actividad arilesterasa, aunque sólo lo explicaron en un 27.6%. La diferencia estadística obtenida de la actividad arilesterasa entre controles y casos dejó de ser significativa al ajustarla durante la regresión lineal múltiple.

## Discusión

En la presente investigación, el análisis de la distribución alélica y de los genotipos correspondientes a los polimorfismos Q192R y L55M de la PON1 demostró una ausencia de riesgo por estos factores genéticos para la EVC aterotrombótica, similar a lo encontrado en otras poblaciones, aún con una muestra mayor, para el riesgo de enfermedad coronaria<sup>18</sup> e infarto cerebral<sup>19</sup>. Sin embargo, existen aún resultados contradictorios, ya que en un meta- análisis realizado se encontró que hay un pequeño



**Figura 1.** Actividades paraoxonasa y arilesterasa de la PON1 en suero. Las barras representan el intervalo de confianza al 95%.  $p= 0.093$  para paraoxonasa (a) y  $p= 0.001$  para arilesterasa (b), por t de Student.

**Tabla 2.** Análisis de regresión lineal para la actividad paraoxonasa.

Regresión simple	$\beta 1$	$r^2$ ajustado	$p$
Edad	-450.54	0.022	0.136
Sexo	-38.85	-0.011	0.532
IMC	9.41	0.008	0.232
TG*	201.54	0.035	0.096
C-Total	0.77	0.007	0.252
C-HDL	105.59	-0.018	0.731
C-LDL	-0.026	-0.022	0.975
Hipercolesterolemia	37.98	-0.013	0.594
HTA	-37.70	-0.012	0.576
DM	-51.78	-0.011	0.548
Tabaquismo	39.78	-0.014	0.630
Alcoholismo	28.01	-0.017	0.756
Estatinas	-36.63	-0.017	0.769
Diagnóstico*	-101.92	0.032	0.093
Actividad arilesterasa*	2.13	0.030	0.100
PON192*	232.72	0.563	< 0.0001
PON55*	-127.73	0.127	0.004
Regresión múltiple †	$\beta 1$	$r^2$ ajustado	$p$
Edad	-327.80		0.0370
Actividad arilesterasa	3.993	0.785	< 0.0001
PON192	271.43		< 0.0001

\*Variables con un valor  $p \leq 0.1$ .† variables estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).TG: triglicéridos, C-Total: colesterol total, C-HDL: colesterol de HDL, C-LDL: colesterol de LDL,  $\beta 1$ : valor de la pendiente y  $r^2$  ajustado: coeficiente de correlación.

incremento a padecer infarto cerebral en personas que presentan el alelo R del polimorfismo Q192R<sup>20</sup>. Posiblemente, aumentando el número de individuos en los grupos control y de casos se realizaría un óptimo análisis de la relación entre los polimorfismos de la PON1 y la EVC en nuestra población.

Respecto a la actividad de la PON1, en este estudio se demostró que los sujetos control y los sujetos con infarto no tuvieron diferencias en las actividades paraoxonasa y arilesterasa, por lo que el nivel de actividad de esta enzima no representó un riesgo para el infarto aterotrombótico. El análisis de regresión lineal permitió conocer que la edad es uno de los factores que influyen en los niveles de las actividades paraoxonasa y arilesterasa de la PON1. Mientras que el consumo de alcohol y los niveles de colesterol fueron factores que también tuvieron un efecto independiente de la edad sobre la actividad arilesterasa, lo cual sugiere considerar dichas variables en futuros estudios para confirmar su efecto sobre la actividad de PON, así como elucidar el mecanismo por el cual la disminuye.

La actividad arilesterasa se ha utilizado como una medida del nivel de PON1<sup>8,14,21</sup>, por lo tanto, la distribución homogénea que se encontró de las actividades arilesterasa entre los genotipos QQ, QR y RR sugiere una presencia similar de esta enzima y que las diferencias encontradas en la actividad paraoxonasa entre los subgrupos genotípicos no fueron dependientes de la cantidad de la PON1 sino del genotipo, como fue propuesto cuando se descubrió este polimorfismo por primera vez<sup>15</sup>.

Comparando nuestro grupo control con el grupo de referencia de un estudio realizado en el Reino Unido<sup>18</sup>, encontramos una diferencia notable entre las actividades paraoxonasa (450.27 vs. 214.6 UI/mL), presentando los sujetos mexicanos el promedio más alto de esta actividad. En este mismo cotejo, después de agrupar por genotipo se observó lo mismo, esto es, las actividades paraoxonasa en los sujetos control QQ, QR y RR (122.3, 463.9 y

**Tabla 3.** Análisis de regresión lineal para la actividad arilesterasa.

Regresión simple	$\beta 1$	$r^2$ ajustado	$p$
Edad*	-89.70	0.134	0.003
Sexo	-2.68	-0.014	0.669
IMC	-0.028	-0.019	0.970
TG	13.27	0.010	0.225
C-Total*	0.120	0.062	0.042
C-HDL	21.01	-0.008	0.433
C-LDL	0.092	0.012	0.214
Hipercolesterolemia	1.43	-0.017	0.841
HTA	-6.28	-0.002	0.353
DM	-5.12	-0.011	0.554
Tabaquismo	-9.66	0.007	0.242
Alcoholismo*	-26.41	0.173	0.001
Estatinas	-11.45	-0.002	0.354
Diagnóstico*	-20.33	0.175	0.001
PON192*	-9.08	0.064	0.032
PON55	2.57	-0.013	0.601
Regresión múltiple †	$\beta 1$	$r^2$ ajustado	$p$
Edad	-64.74		0.019
C-Total	0.103	0.276	0.051
Alcoholismo	-15.578		0.041

\*Variables con un valor  $p \leq 0.1$ .† variables estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).TG: triglicéridos, C - Total: colesterol total, C-HDL: colesterol de HDL, C-LDL: colesterol de LDL,  $\beta 1$ : valor de la pendiente y  $r^2$  ajustado: coeficiente de correlación.

695.1 UI/mL, respectivamente) fueron en promedio más altas que en los respectivos genotipos (116, 226 y 396.4 UI/mL) del grupo control del estudio en el Reino Unido<sup>18</sup> (los datos tomados fueron las medianas reportadas). Tal vez estas diferencias son explicadas por una exposición diferente entre ambas poblaciones a factores ambientales conocidos y a otros que aún no se conocen, los cuales regulan la expresión de la PON1 o estimulan o inhiben su actividad, habría que hacer una comparación entre ambos grupos control.

Una de las limitaciones de este trabajo fue el tamaño de muestra, así como también el hecho de que no fue posible evaluar el efecto de otras variables como hábitos alimentación, terapias medicamentosas o enfermedades concomitantes que podrían influir en las actividades arilesterasa y paraoxonasa de la PON-1.

## Conclusión

Los polimorfismos Q192R y L55M, las actividades paraoxonasa y arilesterasa de PON1 no son factores de riesgo para el infarto cerebral aterotrombótico en este estudio donde se incluyeron sujetos mexicanos.

### Agradecimientos:

Al Dr. Bert La Du y al Dr. Dragomir Draganov del Departamento de Farmacología de la Universidad de Michigan por su asesoría en las mediciones de PON-1.

### Financiación:

CONACYT scholarship with Registration number 188830. Stimulus granted 2003 / 2005 by The Miguel Alemán Foundation .

### Conflicto de interés:

Los autores no presentan conflictos de interés.

## Referencias

1. Bogousslavsky J, Castillo V. Clasificación de la enfermedad vascular cerebral. En: Barinagarrementeria F, Cantú C. (ed). *Enfermedad Vascular Cerebral*. McGraw-Hill Interamericana: México; 1998 p.1.
2. Mohr J. Lacunes. *Stroke*. 1982; 13: 3-11.
3. Berliner J, Navab M, Fogelman A, Frank S, Demer L, Edwards P, *et al*. Atherosclerosis: basic mechanisms oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation*. 1995; 91: 2488-96.
4. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo C, Lusis J. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16: 831- 42.
5. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochem Biophys Acta*. 1990; 1044: 275-83.
6. Smith L. Review of progress in sterol oxidations. *Lipids*. 1996; 31: 453-87.
7. Watson AD, Leitinger N, Navab M, Faull KF, Hörkkö S, Witztum JL, *et al*. Structural identification by mass spectrometry of oxidized phospholipids in minimally oxidized low density lipoprotein that induce monocyte/ endothelial interactions and evidence for their presence in vivo. *J Biol Chem*. 1997; 272:13597- 607.
8. La Du B. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med*. 1996; 2: 1186-87.
9. Primo-Parma L, Sorenson C, Teiber J, La Du B. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*. 1996; 33:498-509.
10. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du B. 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.
11. Costa LG, Li WF, Richter J, Shih DM, Lusis A, Furlong C. The role of paraoxonase (PON1) in the detoxication of organophosphates and its human polymorphism. *Chem Biol Interact*. 1999; 119-120: 429- 38.
12. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du B. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos*. 2000; 28:1335- 42.
13. Mackness B, Mackness M, Arrol S, Turkie, W, Durrington P. Effect 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.
14. Draganov D, La Du B. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn- Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2004; 369:78-88.
15. Eckerson H, Wyte M, La Du B. The human serum paraoxonase/ arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet*. 1983; 35:1126-38.
16. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du B. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos*. 1992; 19: 100- 106.
17. Humbert R, Adler D, Disteché M, Hassett C, Omiecinski J, Furlong C. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet*. 1993; 3:73-6.
18. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts H, 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- 57.
19. Huang Q, Liu Y-h, Yang Q-d, Xiao B, Ge L, Zhang N, *et al*. Human serum paraoxonase gene polymorphisms, Q192R and L55M, are not associated with the risk of cerebral infarction in Chinese Han population. *Neurol Res*. 2006; 28: 549- 54.
20. Dahabreh I, K itsios G, Kent D, Trikalinos T. Paraoxonase 1 polymorphisms and ischemic stroke risk: A systematic review and meta-analysis. *Gen Med*. 2010; 12, 606-15.
21. Nevin N, Zambon A, Furlong C, Richter J, Humbert R, Hokanson J, *et al*. Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16:1243- 49.