

50° Aniversario de Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Función e importancia clínica de la enzima lisil-oxidasa

Role and clinical significance of the lysyl oxidase enzyme

Funções e importância clínicas da enzima lisil-oxidase

▶ Alicia Beatriz Pomilio¹, Jorge Oscar Ciprian Ollivier², Arturo Alberto Vitale³

¹ Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Investigadora Superior de CONICET. Instituto de Biología y Medicina Molecular IBIMOL (UBA y CONICET).

² Doctor en Medicina, de la Facultad de Medicina, UBA. Médico. IBIMOL (UBA y CONICET).

³ Doctor en Ciencias Químicas, UBA. IBIMOL (UBA y CONICET).

- Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL; UBA y CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Junín 956, C1113AAD Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: abpomilio@sinectis.com.ar; pomilio@ffyb.uba.ar; aavitale@sinectis.com.ar; avitale@ffyb.uba.ar

- Área Hematología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Av. Córdoba 2351, C1120AAR Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Resumen

La lisil-oxidasa (LOX) es una quinoenzima que contiene cobre y lisil-tirosil-quinona como cofactor. Esta amino-oxidasa actúa en la catálisis de la desaminación oxidativa de residuos de lisina en los precursores del colágeno y de elastina. Anteriormente se ha informado sobre su biosíntesis, sus propiedades catalíticas y mecanismo de reacción, cofactores e inhibidores, así como la expresión y respuesta a diversos efectores celulares. En este trabajo se analizan las funciones e implicancias clínicas de LOX ya que sus niveles aumentan en muchas enfermedades fibróticas y en algunos tumores, con lo que promueven metástasis, mientras que la expresión de la enzima está disminuida en enfermedades que involucran un deterioro en el metabolismo del cobre. LOX tiene funciones paradójicas en cáncer puesto que actúa tanto en la supresión como en la promoción tumoral. Se plantea su rol en la aterogénesis y la disfunción endotelial, en trastornos oculares, fibrosis, enfermedades iatrogénicas, regeneración ósea y aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, entre otras. Se encaran los últimos avances referidos a la acción proangiogénica del cobre y las funciones de la proteína precursora de LOX, cuyos niveles de expresión están asociados con diversos tipos de cáncer.

Palabras clave: lisil-oxidasa * quinoenzima * amino-oxidasa * funciones * implicancias clínicas

Summary

Lysyl oxidase (LOX) is a copper-containing quinoenzyme, having lysyl-tyrosyl-quinone as cofactor. This amino oxidase catalyzes the oxidative deamination of lysine residues in collagen and elastin precursors. Its biosynthesis, catalytic properties and reaction mechanism, cofactors and inhibitors as well as expression and response to various cellular effectors have previously been reported. In the present paper, functions and clinical implications of LOX are analyzed, since LOX levels are increased in many fibrotic diseases, and in some tumors promoting metastasis, whereas the expression of the enzyme is decreased in diseases involving deterioration in copper metabolism. LOX shows paradoxical roles in cancer both suppressing and promoting tumors. The role of LOX in atherogenesis and endothelial dysfunction, eye disorders, fibrosis, iatrogenic



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

diseases, bone regeneration, and increased risk of cardiovascular disease, among others, are addressed. Recent developments related to the proangiogenic action of copper and functions of LOX precursor protein, whose expression levels are associated with various cancers, are discussed.

Key words: *lysyl oxidase * quinoenzime * amino-oxidase * roles * clinical significance*

Resumo

A lisil oxidase (LOX) é uma quinoenzima contendo cobre e lisil-tirosil-quinona como cofator. Esta amino oxidase atua na catálise da desaminação oxidativa de resíduos de lisina de precursores de colágeno e elastina. Anteriormente foi informado sobre sua biossíntese, suas propriedades catalíticas e mecanismo de reação, cofatores e inibidores, bem como a expressão e resposta a vários efetores celulares. Neste trabalho as funções e implicações clínicas de LOX são analisadas visto que seus níveis aumentam em muitas doenças fibróticas e em alguns tumores promovendo metástases, enquanto que a expressão da enzima está reduzida em doenças que envolvem deterioração no metabolismo do cobre. LOX tem funções paradoxais em câncer, uma vez que atua tanto na supressão quanto na promoção tumoral. Discute-se ser papel na aterogênese e disfunção endotelial, distúrbios oculares, fibrose, doenças iatrogênicas, regeneração óssea e aumento do risco de doença cardiovascular, dentre outras. São encarados os últimos avanços associados com a ação pró-angiogênica do cobre e as funções da proteína precursora de LOX, cujos níveis de expressão estão associadas com vários tipos de câncer.

Palavras-chave: *lisil-oxidase * quinoenzima * amino oxidase * funções * implicações clínicas*

Abreviaturas

Atox1: proteína de transporte de cobre Antioxidante-1; bFGF (*basic fibroblast growth factor*): factor de crecimiento básico de fibroblastos; β -APN: β -aminopropionitrilo; Blimp1 (*B lymphocyte-induced maturation protein 1*): proteína 1 de maduración inducida por linfocitos B; BMP-1 (*bone morphogenetic protein-1*): proteína morfogenética ósea-1; C3 (*complement component 3*): componente 3 del complemento; CA9 o CAIX (*carbonic anhydrase 9*): anhidrasa carbónica 9; gen *COL1A1* (*collagen type I $\alpha 1$*): gen del polipéptido $\alpha 1$ del colágeno tipo I; COX-2: ciclooxigenasa-2; dominio CRL (*cytokine receptor-like*): dominio tipo receptor de citoquina; EMT (*Epithelial Mesenchymal Transition*): transición epitelial mesenquimal; EST (*expressed sequence tag*): marcador de secuencia expresada; FAK (*Focal Adhesion Kinase*): quinasa de adhesión focal; FGF (*fibroblast growth factor*): factor de crecimiento de fibroblastos; FGF-2 (*fibroblast growth factor-2*) (sinónimos: FGF- β , bFGF): factor de crecimiento de fibroblastos-2; FXIIIa: Factor XIIIa; GM-CSF (*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*): factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; HCHWA-D (*hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis of the Dutch type*): hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés; HIF-1 (*hypoxia-inducible factor 1*): factor 1 inducible por hipoxia; hMSCs (*human mesenchymal stem cells*): células madre mesenquimales adherentes humanas; hOSE (*human ovarian surface epithelium*): epitelio de la superficie del ovario humano; HPL (*human placental lactogen*): hormona lactógeno placentario humano o somatomotropina coriónica humana (HCS); Hsp70 (*heat shock protein 70*): proteína de choque térmico de 70 kDa; IFN- γ : interferón *gamma*; IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*): factor de crecimiento tipo insulina-1; IL-1 α : interleuquina-1 α ; IL-4: interleuquina-4; IRF-1 (*interferon response factor-1*): factor de respuesta a interferón-1; LOX: lisil-oxidasa; LOXL (*LOX-like proteins*): proteínas tipo-LOX; LOX-PP (*lysyl oxidase propeptide*): propéptido de lisil-oxidasa; LOX-v2 (*LOX transcript variant 2*): variante del transcritpo de LOX 2; LTQ: lisil-tirosilquinona; MMP-2 (*matrix metalloproteases-2*): metaloproteasas de la matriz-2; MMP-9 (*matrix metalloproteases-9*): metaloproteasas de la matriz-9; MMTV (*mouse mammary tumor virus*): virus de tumor mamario en ratón; NF- κ B (*nuclear factor- κ B*): factor nuclear-*kappa*B; p38 MAPK (*p38 mitogen-activated protein kinase*): proteína-quinasa activada por el mitógeno p38; PDGF (*platelet-derived growth factor*): factor de crecimiento derivado de plaquetas; PDGFR β (*platelet-derived growth factor receptor β*): receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas; PDGF-BB: cadenas BB del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); PRF (*Platelet-rich fibrin*): fibrina rica en plaquetas; PI3K: fosfatidilinositol-3-quinasa; PTH (*parathyroid hormone*): hormona paratiroidea; Rac1 (*Ras-related C3 Botulinum Toxin Substrate 1*): sustrato 1 de la toxina botulínica C3 relacionado con Ras; RPTP- κ (*receptor-type protein tyrosine phosphatase kappa*): tirosina fosfatasa de proteína tipo receptor *kappa*; *rrg* (*ras rescision gene*): gen de rescisión ras; ARN i o ARNs (small interfering RNA): ARN interferente pequeño o ARN de silenciamiento; SNPs (*single nucleotide polymorphisms*): polimorfismos de nucleótido único; SRC [*v-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) viral oncogene homolog (avian) (SRC)*]: homólogo (aviar) del oncogén viral v-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2); dominios SRCR (SRCR: *scavenger receptor cysteine-rich*): dominios múltiples ricos en cisteína del receptor captador o scavenger; TG-2: transglutaminasa 2; TGF- β (*transforming growth factor- β*): factor de crecimiento transformante *beta*; TNF- α (*tumor necrosis factor-alpha*): factor de necrosis tumoral-*alfa*; VEGF (*vascular endothelial growth factor*): factor de crecimiento endotelial vascular.

Introducción

Las amino-oxidasas comprenden dos grupos de proteínas: flavoenzimas y quinoenzimas. La lisil-oxidasa (LOX) pertenece al grupo de las quinoenzimas, pues contiene cobre y lisil-tirosilquinona (LTQ) como cofactor (1)(2). Las amino-oxidasas como enzimas son de interés de este grupo de investigación que ha publicado anteriormente la cuantificación de monoamino-oxidasas plaquetaria y circulante en un grupo de pacientes esquizofrénicos (3) y la descripción de flavoproteínas con esta actividad (4).

La lisil-oxidasa (LOX, proteína-lisina 6-oxidasa; *EC* 1.4.3.13) es una amino-oxidasa cobre-dependiente, que oxida sustratos de aminas primarias a aldehídos reactivos. Estos aldehídos sufren reacciones químicas espontáneas con otros aldehídos derivados de LOX, o con residuos de lisina no modificados. Esto da como resultado la reticulación del colágeno y de la elastina, que es esencial para la estabilización de las fibrillas de colágeno y para la integridad y la elasticidad de la elastina madura. Se forman entrecruzamientos complejos en el colágeno (piridinolinas derivadas de tres residuos de lisina) y en la elastina (desmosinas derivadas de cuatro residuos de lisina) que difieren en su estructura (5).

Se ha reconocido tradicionalmente a LOX por la función de catálisis extracelular de la desaminación oxidativa de lisina o hidroxilisina, en la biogénesis de las matrices de tejido conectivo mediante el entrecruzamiento de las proteínas de la matriz extracelular, como colágenos y elastina (6)(7). Los colágenos son los componentes más abundantes de la matriz extracelular y muchos tipos de tejidos blandos como tendones, ligamentos y piel; también son abundantes en la córnea, cartílago, hueso, vasos sanguíneos, intestino y disco intervertebral. La elastina es otro componente importante de ciertos tejidos blandos, tales como paredes arteriales y ligamentos. Muchas otras moléculas, aunque menores en cantidad, funcionan como componentes esenciales de la matriz extracelular en los tejidos blandos. La matriz extracelular actúa como una barrera y separa diferentes tipos de células dentro de los tejidos; también proporciona soporte estructural y regula la comunicación intercelular. Los componentes básicos de los tejidos conectivos y de la matriz extracelular son: elastina, fibrilina, fibulinas, fibrinógeno, fibronectina, laminina, tenascinas y trombospondinas. Además de su estructura básica, bioquímica y fisiología, interesan por su rol en los trastornos que involucran tejidos blandos (8).

La importancia de la reticulación derivada de LOX se estableció a partir de estudios en animales en los que LOX fue inhibida ya sea por deficiencia nutricional de cobre o mediante suplementación de dietas con β -aminopropionitrilo (β -APN), un inhibidor de LOX. Esto causa latirismo, que se caracteriza por la formación y resistencia ósea deficiente, piel hiperextensible, liga-

mentos débiles y una mayor incidencia de aneurismas aórticos. Estas anomalías tienen una buena correlación con la disminución de la reticulación de colágeno y elastina (9).

Niveles reducidos de LOX se observan en la enfermedad de Menkes y en el síndrome del cuerno occipital, dos trastornos recesivos ligados al cromosoma X que se caracterizan por una mutación en el gen del transporte de cobre. Por lo tanto, LOX es también importante en la función neurológica (10).

Se trata de una enzima homodimérica (compuesta por dos subunidades idénticas) que tiene ubicación tanto intracelular como intranuclear (7). Más recientemente, se han atribuido diversas funciones biológicas a LOX con contribuciones a la angiogénesis, la proliferación celular y la diferenciación celular, así como supresión de tumores, progresión tumoral, senescencia celular, quimiotaxis y modificación de histonas. La desregulación de LOX se produce en varias patologías, como: fibrosis, cánceres primarios y metastásicos, y complicaciones de la diabetes en una variedad de tejidos (11-13).

LOX y las cuatro proteínas tipo LOX (LOXL, LOXL2, LOXL3 y LOXL4) contienen cada una un dominio de unión al cobre, Cu(2+), que es un motivo altamente conservado que posee cuatro histidinas, que es único para la familia LOX, residuos lisilo y tirosilo conservados que contribuyen a la formación del cofactor LTQ, que es único para la familia LOX, y un dominio similar al receptor de citoquina (dominio CRL) que tiene parte de la secuencia de los receptores de citoquinas de Clase 1. Una secuencia de aminoácidos altamente conservada en el extremo C-terminal parece ser suficiente para la actividad de amino-oxidasa, sugiriendo que cada miembro de la familia puede retener esta función. Cada proteína se diferencia principalmente en su secuencia N-terminal, que puede conferir funciones diferenciales a cada miembro de la familia. El procesamiento de las proteínas LOX mediante la proteína morfogenética ósea-1 (BMP-1), y posiblemente otros mecanismos, puede resultar en múltiples formas funcionales (7).

Las funciones novedosas específicas, tales como un posible rol en la adhesión celular y el control del crecimiento celular, están determinadas por otros dominios conservados, como el dominio CRL que es compartido por todas las LOXs y por dominios múltiples ricos en cisteína del receptor captador (SRCR) presentes en LOXL2 y LOXL3. Más aún, estas funciones pueden ser llevadas a cabo de un modo regulado temporal y espacialmente (7).

Si bien se han encontrado nuevas funciones biológicas de los miembros de la familia LOX y se continúa investigando al respecto, quedan aún por dilucidar los mecanismos involucrados, en particular aquellos independientes de su actividad catalítica enzimática.

También se intenta el desarrollo de inhibidores farmacológicos específicos de las isoformas, anticuerpos terapéuticos potenciales y comprender en particular la actividad de supresión de tumores, así como de promoción de metástasis. Siempre considerando a esta familia como diana en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos.

Cada LOX, con su expresión y localización individual específica en la célula y en el tejido, regulada por el desarrollo, brinda una variación estructural y funcional compleja para estas amino-oxidasas (14).

Los genes que codifican LOX y sus homólogos en humanos son: *LOX*, *LOXL1*, *LOXL2*, *LOXL3* y *LOXL4* (15). Hace más de veinte años fue clonado el gen *LOX* que codifica LOX, facilitando las investigaciones de la regulación de la expresión de la enzima en respuesta a diversos estímulos y en numerosos estados de enfermedad. También se han identificado y clonado los genes tipo LOX (*LOXL1-4*), sugiriendo la existencia de una familia multigénica.

En la búsqueda de más parálogos humanos de LOX, se identificaron varios clones con marcador de secuencia expresada (EST) que mostraron un patrón de *splice* exón-intrón alternativo de LOX. Estas ESTs correspondieron a la variante del transcrito de LOX 2 (*LOX-v2*) que se informó recientemente en GenBank (*accession no.* NM_001178102) (16). El polipéptido *LOX-v2* contiene los dominios característicos C-terminales de la familia LOX, pero no contiene la región N-terminal del pro péptido que se ha informado que tiene actividad supresora de tumores. *LOX-v2* mostró actividad de amino-oxidasa, que es inhibida por β -APN, hacia el colágeno y la elastina, pero presentó especificidad tisular distinta a la de LOX (16).

Recientemente este grupo de investigación ha informado el rol de LOX como amino-oxidasa en la catálisis de la desaminación oxidativa de residuos de lisina en los precursores del colágeno y de elastina, y la participación de los restantes miembros de esta familia génica: *LOXL1*, *LOXL2*, *LOXL3* y *LOXL4*, así como sus propiedades moleculares. Se analizaron su biosíntesis, sus propiedades catalíticas y el mecanismo de reacción, los cofactores e inhibidores y la expresión y respuesta a diversos efectores celulares (5).

En el presente trabajo se encara el análisis de las funciones e implicancias clínicas de la enzima prototípica LOX.

Funciones e implicancias clínicas de LOX

LOX oxida los residuos de peptidil-lisina e hidroxilisina en colágeno y los residuos de lisina en elastina para producir peptidil α -aminoaldehído- δ -semialdehído. Estos residuos de aldehído pueden condensarse espontáneamente con peptidilaldehídos vecinos o con grupos ϵ -amino de peptidil-lisina para formar entrecruza-

mientos covalentes que estabilizan e insolubilizan varios tipos de colágeno fibrilar y fibras de elastina (17). Esta reacción catalítica se puede inhibir irreversiblemente mediante β -APN, un inhibidor específico que se une al sitio activo de LOX (18). La semicarbazida es un inhibidor parcial de LOX (19), como lo es 2-mercaptopiridina-N-óxido, si bien actúa por un mecanismo diferente al de β -APN (20). Concentraciones patológicas de homocisteína también inhiben la actividad de LOX (21). A su vez, la actividad de LOX en la matriz extracelular puede ser coordinada por su interacción con fibronectina (22).

La inhibición de LOX produce latirismo que está bien documentado, pero las consecuencias sobre la fibrillogénesis del colágeno se han estudiado recientemente usando β -APN para inhibir LOX en constructos tipo tendón (preparados a partir de tenocitos humanos), que son un modelo experimental de la formación de fibrillas de colágeno mediada por células (23). Como era de esperar, β -APN inhibió la formación de entrecruzamientos en el colágeno, derivados de aldimina, y los constructos resultaron mecánicamente débiles. Un hallazgo inesperado fue que el tratamiento con β -APN llevó a fibrillas de colágeno estructuralmente anormales con perfiles irregulares y diámetros muy dispersos, que se parecieron a los observados en algunos fenotipos del síndrome de Ehlers-Danlos. Es importante destacar que el contenido total de colágeno se desarrolló normalmente y no hubo diferencia en la expresión del gen *COL1A1* del polipéptido $\alpha 1$ del colágeno tipo I. Las proteínas colágeno tipo V, decorina, fibromodulina y tenascina-X no se vieron afectadas por la inhibición de la reticulación, lo que sugiere que LOX regula la fibrillogénesis independientemente de estas moléculas (23).

Se ha vuelto cada vez más evidente que LOX puede tener otras funciones biológicas importantes, además de su papel en la catálisis de la reticulación covalente de colágenos y elastina en el entorno extracelular, determinando de esta manera las propiedades mecánicas de la matriz extracelular y los tejidos conectivos. La remodelación de la matriz extracelular es una característica común de diversos procesos patológicos. Por lo tanto, la desregulación de LOX podría ser la base de la aparición y progresión de múltiples patologías que afectan al tejido conectivo, tales como inflamación y enfermedades inflamatorias, procesos fibróticos, progresión y metástasis tumoral, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. Se conocen evidencias clínicas y experimentales que confirman el rol de LOX en la fisiopatología de esos procesos y señalan a esta enzima como una posible diana terapéutica (11-13) (24).

La naturaleza crítica de la actividad de la enzima LOX fue demostrada en el ratón *LOX knockout*, que expira inmediatamente después del nacimiento debido a la ruptura de la aorta y el diafragma por entrecruzamiento incompleto de la elastina (25). La administración local

de LOX causó la inhibición del desarrollo del aneurisma aórtico abdominal en un modelo de ratón (26).

LOX es crucial en el desarrollo cardiovascular, en el desarrollo del sistema respiratorio, en particular de las vías aéreas distales y proximales y la alveolarización en los pulmones (10). También desempeña un papel importante en el desarrollo del tejido conectivo y puede ser relevante en la función neurológica (10).

Se observaron alteraciones en la expresión de LOX en el desarrollo y el envejecimiento de la piel, así como en procesos fisiológicos y patológicos, como: curación de heridas, fibrosis, cicatrización hipertrófica, queloides y esclerodermia (27). Recientemente se han compilado resultados sobre la enfermedad *cutis laxa* o elastólisis y los once genes relacionados que codifican proteínas dentro de tres grupos, destacando las conexiones complejas entre el tráfico de membrana, metabolismo, ensamblaje de la matriz extracelular y la señalización del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) (28).

LOX también tiene un rol en la diferenciación celular. Su aumento puede afectar a la diferenciación osteoblástica a través de la formación de reticulación en la matriz de colágeno que los rodea (29). LOX también puede modular el crecimiento del cartílago (30).

Se observó disminución de la expresión de LOX en el prolapso de órganos pélvicos (31), en la vagina y cuello uterino de ratón preñado en comparación con tejidos no-preñados y después del parto (32), en la retinopatía diabética proliferativa y desprendimiento regmatógeno de retina (33) y en la aterosclerosis temprana (24). La inducción de LOX se informó en el tejido oral inflamado (34) y en atrofia gingival proveniente de hipofunción oclusal experimental (35), en la artritis reumatoide (36), en la enfermedad inflamatoria intestinal (37), en la rigidez hepática que precede a la fibrosis hepática (38), en la fibrosis hepática (39), pulmonar (40) (41), renal (42-44), de la submucosa oral (45) y cardíaca (46), en la fibrogénesis hepática crónica avanzada (47), en la esclerosis sistémica (48), en la esclerosis lateral amiotrófica (49), en el desarrollo de placas seniles en la hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D) (50), en la enfermedad de Alzheimer (50) y en la angiopatía amiloide cerebral (50) y en las reacciones del estroma en el cáncer.

Además del colágeno y elastina, se conocen otros sustratos de LOX. La oxidación de los residuos de lisina en el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) causó la reticulación covalente de sus monómeros para formar dímeros y oligómeros de orden superior, dando lugar a una reducida proliferación de fibroblastos en ratón (51). LOX también oxida al receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR β), lo que aumenta su afinidad de unión por las cadenas BB del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) y disminuye el *turnover* de la vía de transducción de la señal β del receptor de PDGF (52). PDGF-BB es un in-

ductor de la proliferación mitótica en los megacariocitos o células de la médula ósea responsables de la producción de plaquetas. La expresión de LOX también fue detectada en megacariocitos diploides-tetraploides, pero resultó escasa en megacariocitos poliploides; LOX aumentó un fenotipo fibrótico. La inhibición de LOX con β -APN redujo la unión de PDGF-BB a las células y la señalización aguas abajo, así como su efecto proliferativo sobre el linaje de megacariocitos. En los ratones GATA-1 (bajo), con bajos niveles del factor de transcripción GATA-1, hay un aumento en megacariocitos de baja ploidía, niveles aumentados de PDGF-BB, una extensa matriz de fibras y una alta expresión de LOX en sus megacariocitos. El tratamiento de estos ratones con β -APN mejoró significativamente el fenotipo fibrótico de médula ósea y el número de megacariocitos en el bazo. Por lo tanto, estos datos *in vitro* e *in vivo* apoyan un nuevo rol para LOX en la regulación de la expansión de megacariocitos mediante PDGF-BB y sugieren a LOX como una nueva diana terapéutica potencial para la mielofibrosis o fibrosis de médula ósea (53). LOX también ha resultado ser un biomarcador sérico de la fibrosis hepática en pacientes con obesidad severa y apnea obstructiva del sueño, ya que el estrés hipóxico de esta última aumenta la producción hepática de LOX (54). Sus niveles también se encontraron elevados en la piel y en el suero de pacientes con esclerosis sistémica y se correlacionaron con la fibrosis de piel (55).

LOX también interactúa con el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) maduro; ambos se colocan con la matriz ósea asociada a mineral, y LOX es capaz de suprimir la fosforilación de Smad3 inducida por TGF- β 1 (56).

Un alto nivel de TGF- β 1 acompaña a la fase inflamatoria de una lesión de la articulación de la rodilla (57). La sobre-expresión de la familia LOX en los fibroblastos de los ligamentos cruzado anterior y colateral medial de la rodilla está inducida por TGF- β 1 con incrementos significativos en los niveles de ARNm de LOX. La respuesta de las proteínas LOXs en las células del ligamento cruzado anterior fue relativamente más baja para TGF- β 1 en comparación con la de las células del ligamento colateral medial. La expresión diferencial y la actividad de LOXs podrían ayudar a explicar la diferencia intrínseca entre ambos ligamentos y podrían tener una capacidad potencial para tratar el ligamento cruzado anterior (57).

LOX tiene funciones de regulación de varios promotores de genes, como: colágeno III, elastina y ciclina D1 (58) (59). LOX oxida los residuos peptídicos de lisina en el colágeno, la elastina y la histona H1, lo cual es esencial para la estabilización de la matriz extracelular y del núcleo celular. También interactúa con las histonas H1 y H2 y puede ser capaz de modular el estado de condensación de la cromatina para afectar a la transcripción de otros genes (60). Se ha demostrado una unión

específica entre LOX y la histona H1, *in vitro*. Recientemente se investigó si LOX afectaría al promotor del virus de tumor mamario en ratón (MMTV) y su regulación de glucocorticoides, lo cual depende del estado de fosforilación de la histona H1, demostrándose que la sobre-expresión de LOX recombinante humana fue capaz de desencadenar la actividad de MMTV, tanto en presencia como en ausencia de glucocorticoides (61). LOX desamina los residuos de lisina de la histona H1, favoreciendo su desprendimiento del ADN diana con la consiguiente apertura de la estructura del promotor de MMTV a los factores de transcripción activantes (61).

LOX tiene efectos quimioinéticos y quimiotácticos sobre los monocitos de la sangre humana (62) y un efecto predominantemente quimiotáctico en células musculares lisas vasculares de rata y fibroblastos embrionarios de ratón (52). Se ha demostrado que regula la migración y la adhesión de células de cáncer de mama y la migración del astrocitoma a través de un mecanismo mediado por la quinasa de adhesión focal (FAK)/paxilina (63) (64). El mismo mecanismo puede también jugar un papel en la promoción de la proliferación y la migración de las células epiteliales de mama normal mediante la interacción de LOX y de la hormona lactógena placentario humano (HPL) o somatomatotropina coriónica humana (HCS), que es una hormona polipeptídica producida por la placenta, si bien HPL no es un sustrato de LOX (65). El dominio catalítico de LOX es capaz de interactuar con Snail-1 *in vitro*, un factor de transcripción esencial para la transición epitelio-mesenquimal (EMT) (66).

IL-4 es un regulador clave de la biodisponibilidad de progesterona durante la reparación post-ovulatoria de las células del epitelio de la superficie del ovario humano (hOSE), pero también IL-4 regula positivamente las transcripciones de ARNm de LOX e inhibe la expresión del ARNm de *COX-2* inducida por IL-1 α , un gen implicado en la degradación de la matriz extracelular, mostrando un rol adicional en la cicatrización de la herida post-ovulatoria (67). Evidentemente la acción de IL-1 α y de IL-4 en la cicatrización post-ovulatoria de las células hOSE está mediada por diferentes vías de transducción de señales. La vía de señalización p38 MAPK puede tener un posible beneficio terapéutico en los trastornos asociados con la inflamación de los ovarios, incluyendo el cáncer (67).

De acuerdo con lo mencionado, hasta el momento queda claro que LOX participa en cáncer, cicatrización de heridas, motilidad celular, quimiotaxis y diferenciación, reflejando así su notable diversidad funcional, incluyendo las patologías del sistema nervioso central. Sin embargo, también se han demostrado nuevos roles para LOX, como la capacidad de regular la transcripción génica, la motilidad/migración y la adhesión celular (68) (69).

Recientemente se han compilado los nuevos roles emergentes para estas proteínas en el desarrollo fenotípico de células progenitoras y en la angiogénesis

y aquellos que apuntan a las funciones enzimáticas y no enzimáticas para esta familia en el desarrollo y la homeostasis ósea y en la enfermedad. El gran interés en la familia LOX en el campo del cáncer pone de relieve la necesidad de comprender sus funciones en la homeostasis del tejido conectivo normal y anormal a nivel molecular y celular fundamental, incluyendo tejidos mineralizados (12) (13).

Por último, LOX juega un papel clave en el paso de compromiso de la formación de adipocitos o células grasas, a partir de células madre pluripotentes durante el desarrollo. Su ausencia puede conducir a defectos en TGF- β , superfamilia de proteínas que controla el crecimiento y la diferenciación celular (70).

Los microRNAs (miRNAs) parecen tener roles reguladores en muchos procesos biológicos asociados con la obesidad, incluyendo la diferenciación de adipocitos, la acción de la insulina y el metabolismo de las grasas. Se encuentran desregulados en el tejido adiposo obeso (71). Recientemente se demostró que existe una correlación negativa entre el nivel de expresión de *LOX* y la expresión de *miRNA-27* asociado a la obesidad, tanto en células C3H10T1/2 tratadas con BMP-4 como en tejidos adiposos subcutáneos humanos. Así, *miRNA-27* tiene un nuevo rol en la represión de compromiso de linaje adipogénico haciendo diana en *LOX* (72).

Recientemente, se utilizó la proteómica de perfiles para identificar a RhoGDI β , un inhibidor de la pequeña familia Rho de proteínas G, como un componente que regula el compromiso de las células madre mesenquimales C3H10T1/2 al linaje de los adipocitos o de las células del músculo liso en respuesta a BMP-4 (73). Es decir que RhoGDI β funciona como una nueva diana de señalización de BMP-4 que regula la adipogénesis y la miogénesis, ya que está notablemente subregulado en la adipogénesis y esto implica la proteína LOX asociada al citoesqueleto y en cambio, su exceso estimula el compromiso de las células del músculo liso mediante la supresión de la activación de Rac1 (73).

FUNCIONES PARADÓJICAS DE LOX EN CÁNCER

LOX puede tener múltiples funciones tanto extra- como intracelularmente, destacándose la expresión aberrante de *LOX* y la actividad observada en varios tejidos cancerosos y líneas celulares neoplásicas. Además, LOX tiene actividad intracelular e intranuclear (7) (11) (18).

Se ha descrito tanto la sub- como la sobre-regulación de LOX en tejidos tumorales y líneas celulares de cáncer, lo que sugiere un rol dual de LOX como supresor de tumores, así como gen promotor de metástasis (68) (69). El papel de LOX como supresor de tumores se ejemplifica mediante la inhibición de la actividad transformante del proto-oncogen ras (7) (11).

La primera evidencia directa de la actividad supresora de tumores de LOX se debe a Contente *et al.* (74),

quienes descubrieron que un gen putativo supresor de tumor llamado el gen de rescisión *ras* (*rrg*) estaba disminuido en gran medida en las células NIH 3T3 transformadas por LTR-cH-*ras* y re-expresado en células revertientes, a pesar de mantener altos niveles de expresión *ras* (74). El análisis de cADN de *rrg* reveló que se trataba de *LOX* (75) (76) y la expresión de *LOX* en células revertientes *ras*-transformadas fue confirmada por otros investigadores (77-79) y en otras líneas celulares. Hämäläinen *et al.* (80) demostraron que la baja actividad de *LOX* en varias líneas celulares humanas transformadas malignamente se debe a cantidades bajas del ARNm de *LOX* y a un nivel bajo de transcripción del gen correspondiente. El gen *LOX* también fue identificado como blanco para el factor de transcripción anti-oncogénico (IRF-1), el cual manifiesta actividad supresora de tumores y contribuye al desarrollo de tumores malignos hematopoyéticos humanos (81).

El gen *LOX* está localizado en el cromosoma 5q23.3-31.2 (82) (83), que es sabido que se suprime con gran frecuencia en muchos tipos diferentes de cáncer (84) (85).

En una línea celular (NRK-49F) normal no transformada de fibroblastos de riñón de rata, la subregulación de *LOX* fue capaz de inducir un fenotipo oncogénico acompañado por la activación de p21^{ras}, la fosforilación de c-jun y la regulación positiva de β -catenina y ciclina D1 (60) (86). La pérdida inicial de la expresión de *LOX* con la transformación *ras* se piensa que es debido a la metilación (87). En las células NIH 3T3 transformadas por *ras*, *LOX* fue capaz de inhibir parcialmente la actividad de la quinasa MEK, pero fue más potente contra PI3K y las quinasas Akt y bloqueó la localización de membrana de Akt y PDK1, previniendo la activación de NF- κ B (88).

Se observó que el nivel de expresión de ARNm de *LOX* se redujo en los tejidos de osteosarcoma humano en comparación con muestras de tejido normal (89). La sobreexpresión de *LOX* mediada por adenovirus aumentó la expresión de *LOX* en líneas celulares de osteosarcoma, tanto a nivel de proteína como de mRNA. El aumento de la expresión de *LOX* inhibió la proliferación y la migración de células del osteosarcoma humano y promovió su apoptosis. Los resultados indicaron que los efectos de *LOX* pueden ser mediados a través de la vía de señalización PI3K/AKT ya que las funciones mediadas por *LOX* pudieron ser bloqueadas por β -APN. Así se demuestra que *LOX* tiene un rol supresor tumoral en las células de osteosarcoma humano y podría en tal caso ser considerado como una diana terapéutica (89).

Se examinaron las evidencias existentes sobre la expresión del gen *LOX*, la regulación y la función en diversos tipos de células y tejidos de cáncer, así como la interacción celular entre el tumor y el estroma. También se analizaron los mecanismos putativos en los que *LOX* facilita la invasión y la metástasis del cáncer de mama (68).

Se conoce una mini-revisión sobre *LOX*, desde los conceptos básicos hasta el tratamiento del cáncer, donde se discuten las funciones fisiológicas y patológicas de *LOX* y su familia tipo-*LOX*, en relación con la prognosis de los tipos más importantes de cáncer (90). También se analiza la posibilidad de usar esta familia de proteínas como diana en nuevas terapias contra el cáncer (91).

En su conjunto, la literatura demuestra el rol cada vez más importante que *LOX* puede desempeñar en la regulación de la progresión del cáncer, incluyendo la metástasis, siendo por lo tanto una diana terapéutica atractiva (92).

Los experimentos moleculares que se están desarrollando tienen como objetivo la aplicación clínica y los resultados son, hasta el momento, alentadores (7).

La regulación de la expresión del gen *LOX* se ha descrito en diferentes tejidos y células de varias especies; múltiples mecanismos complejos regulan la expresión y la actividad de *LOX*. Muchos de estos efectores abarcan citoquinas y factores de crecimiento (7), como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF o FGF-2 o FGF- β), factor de crecimiento tipo insulina-1 (IGF-1), interferón *gamma* (IFN- γ) y factor de crecimiento transformante *beta* (TGF- β 1); hormonas y mediadores, como testosterona, progesterona y prostaglandina E₂; moléculas de señalización, tales como cAMP, factor-1 regulador de interferón (IRF1) y *ras*; y algunas sustancias (fármacos) como: adriamicina, bleomicina e hidralazina (7). Se han descrito desde entonces, efectores adicionales, como: hormona folículo estimulante, solución hiperosmótica, inhibidor de proteasa de leucocitos de secreción, interleuquina-1 α (IL1 α), condensado de humo de cigarrillo (93), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor de crecimiento tipo insulina con hialuronano 1 (IGF-1 con hialuronano) y PTH (hormona paratiroidea) (18) (24).

LOX contribuye a la regulación de la señalización de TGF- β en las células de cáncer de mama. TGF- β regula todas las etapas del desarrollo de la glándula mamaria, incluido el mantenimiento de la homeostasis tisular y la supresión de la tumorigénesis en las células epiteliales mamarias. Es destacable que la tumorigénesis mamaria convierte a TGF- β de un supresor de tumores en un promotor tumoral a través de mecanismos moleculares aún desconocidos. Los cambios en la señalización de integrina y la aptitud tisular promueven la adquisición de fenotipos malignos en las células epiteliales mamarias, en parte, a través de la actividad de *LOX*, que regula las reacciones desmoplásicas y las metástasis. TGF- β también regula las actividades del estroma reactivo tumoral y la metástasis de las células epiteliales mamarias. Recientemente se demostró que TGF- β 1 estimuló la síntesis y la secreción de *LOX* en

las células epiteliales mamarias normales y malignas *in vitro* y en tumores mamarios producidos en ratones (94). La capacidad de TGF- β 1 para activar Smad2/3 no fue afectada por la inactivación de LOX en las células epiteliales mamarias normales, mientras que la estimulación de p38 MAPK por TGF- β 1 fue mitigada por la inhibición de la actividad de LOX en las células epiteliales mamarias malignas o mediante la inducción de la degradación del peróxido de hidrógeno en ambos tipos de células. Con la inactivación de LOX se deterioró la transición epitelio-mesenquimal mediada por TGF- β 1 y la invasión en las células de cáncer de mama. De esta manera se identifica a LOX como un potencial mediador que acopla mecanotransducción a la señalización oncogénica por TGF- β 1 y sugiere que las medidas capaces de inactivar la función de LOX pueden ser eficaces para disminuir la progresión del cáncer de mama estimulado por TGF- β 1 (94).

La matriz extracelular desempeña un rol crítico en el desarrollo y la invasión de los tumores de mama primarios. LOX, que es una enzima remodelante de esta matriz, parece tener funciones en la promoción de la motilidad y la invasión de las células cancerosas. Se describió una mayor expresión de la proteína LOX en los tumores de mama en comparación con tejidos normales en pacientes asiáticos (64).

La deficiencia de oxígeno o hipoxia en el tejido tumoral se asocia con un fenotipo maligno, caracterizado por alta invasión, un mayor potencial metastásico y mal pronóstico. Las células cancerosas hipóxicas plantean un gran reto para el oncólogo pues son especialmente agresivas, metastásicas y más resistentes a la radioterapia y a otras formas de tratamiento que las bien oxigenadas (95). Las respuestas hipóxicas son principalmente mediadas por el factor inducible por hipoxia-1 α (HIF-1 α), que estimula la transcripción de ARNm de LOX (43) (96).

LOX y HIF-1 actúan en sinergia para la formación de tumores. LOX podría regular la expresión de HIF-1 para crear un circuito regulador auto-sincronizado. Se demostró recientemente que LOX, inducible por HIF-1, activa a HIF-1 a través de la vía de Akt en un bucle de regulación positiva y actúa en sinergia con HIF-1 para promover la formación de tumores (97), sugiriendo que la regulación mutua de HIF-1/LOX es un mecanismo fundamental en la adaptación de las células tumorales a la hipoxia.

En líneas celulares de carcinoma colorrectal humano se demostró que la inducción de LOX aumentó la expresión de HIF-1, mientras que el silenciamiento de LOX la redujo. Investigaciones mecanísticas revelaron que LOX activó la vía de señalización de PI3K-Akt, con lo que reguló la síntesis de la proteína HIF-1 α de una manera que requirió la producción de peróxido de hidrógeno mediada por LOX (97). También HIF-1 potenció la acción de LOX en el crecimiento tumoral *in vivo*.

Por lo tanto, la expresión de LOX está generalmen-

te sobre-regulada en tumores hipóxicos, siendo LOX responsable del crecimiento tumoral y de la metástasis en varios tipos de cáncer, como: melanoma (98), adenocarcinoma de pulmón en estadio temprano (99), cáncer colorrectal (100)(101), cáncer de mama (101-103), cáncer de pulmón de células no pequeñas (104), células UT-SCC-43B de carcinoma oral recurrente de células escamosas (105), cáncer de cuello uterino (106) (107), cáncer gástrico (108) y líneas celulares CNE2 y HONE1 de carcinoma nasofaríngeo (109). Los pacientes con tumores con alta expresión de LOX tienen mala supervivencia global. Recientemente, se demostró que la elevación de las proteínas LOX en la matriz extracelular se correlaciona con la enfermedad metastásica y es esencial para la metástasis inducida por hipoxia (96). La LOX secretada es responsable de las propiedades invasivas de las células cancerosas hipóxicas a través de la actividad de la quinasa de adhesión focal (FAK) y la adhesión célula-a-matriz (96) (110).

LOX desempeña papeles importantes en el desarrollo y la homeostasis de los tumores cerebrales primarios, tales como el glioma. Se demostró que dos polimorfismos en el gen LOX, -22G/C y 473G/A, están asociados con un aumento de la susceptibilidad al glioma, lo cual podría ser utilizado como factor pronóstico de esta malignidad (111).

Se demostró la participación de LOX en la metástasis del cáncer colorrectal (100). Los efectos mediados por LOX sobre la progresión del tumor se asociaron con la activación del homólogo (aviar) del oncogén viral v-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) (SRC) y estos efectos fueron inhibidos por dasatinib, que es un inhibidor de la activación de SRC. Estos resultados tienen el potencial de identificar a los pacientes con alta actividad de SRC, quienes pueden beneficiarse con el tratamiento con dasatinib (100). Recientemente se realizó un estudio de meta-análisis y de casos-controles de cáncer colorrectal observando asociación convincente del polimorfismo G473A (rs 1800449) de LOX con el riesgo de cáncer en asiáticos (112).

La expresión de LOX en la hipoxia puede ser modulada por el pH (113). El reclutamiento de HIF-1 α al promotor de LOX es potenciado por Notch, que también aumenta la expresión de Snail-1 (114). La transcripción del gen LOX también se ve afectada por el estado de metilación de su isla CpG (115).

La inhibición de LOX se ha demostrado que previene la progresión del tumor y la metástasis. Los inhibidores de la enzima LOX pueden ser útiles para el tratamiento de otras enfermedades fibróticas que involucren la remodelación de la matriz extracelular, como: enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (24).

En un modelo de roedor de cáncer de mama, una molécula pequeña o anticuerpo inhibidor de LOX anuló la metástasis, dando así la validación preclínica de esta enzima como diana terapéutica (116). El *knockdown*

de HIF-1 o de los miembros de la familia LOX inducidos por hipoxia redujeron la reticulación de colágeno, el reclutamiento de las células derivadas de médula ósea CD11b(+) y la formación de metástasis en los pulmones de ratones después de un trasplante ortotópico de células de cáncer de mama humano (117).

LOX secretada por las células hipóxicas de tumor de mama reticula al colágeno en la membrana basal y es esencial para el reclutamiento de células mieloides CD11b(+), las cuales a su vez se adhieren al colágeno reticulado y producen la metaloproteínasa de matriz-2 (MMP-2), que escinde el colágeno, aumentando la invasión de las células tumorales metastásicas. En contraste, la inhibición de LOX impide el reclutamiento de células CD11b+ y el crecimiento metastásico (110).

Se demostró que la metástasis de las células de cáncer de mama humano es atenuada por los inhibidores de LOX mediante la regulación negativa de FAK y la vía de señalización de paxilina (64). También se encontró que la adición de β -APN y magnolol, inhibieron sinérgicamente la migración y la invasión en la línea celular MDA-MB-231 de cáncer de mama, siendo el uso del magnolol como inhibidor de LOX una estrategia más deseable que β -APN para la terapia del cáncer de mama (64). Asimismo, el silenciamiento de la expresión génica de *LOX* mediante ARN de interferencia (ARNi) suprimió la metástasis del cáncer de mama. LOX mostró un rol importante en la invasión y metástasis del cáncer de mama mediante la regulación de la expresión de MMP-2 y MMP-9 que probablemente ejercieron efectos sinérgicos sobre la matriz extracelular. La expresión de ARNm de *LOX* y de proteína fue suprimida, y la expresión de MMP-2 y MMP-9 fue significativamente menor en el grupo de ARNi que en el grupo control. La proteína LOX se correlacionó positivamente con MMP-2 y MMP-9 (118).

El tratamiento de las células tumorales de cáncer de cuello uterino con el inhibidor β -APN de LOX, bloqueó los cambios morfológicos en las proteínas marcadoras de la transición epitelio-mesenquimal, inducidos por hipoxia, e inhibió la capacidad de invasión y migración de las células del carcinoma cervical *in vitro* (106).

LOX ha sido recientemente implicada en la angiogénesis tumoral, o formación de vasos sanguíneos, tanto *in vivo* como *in vitro*. Usando varios modelos de cáncer colorrectal, se demostró que la actividad de la enzima LOX que modifica la matriz extracelular es esencial para la estimulación de las células endoteliales *in vitro* y la angiogénesis *in vivo* (101). LOX aumenta la expresión y la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el cual entonces promueve la angiogénesis mediante la fosforilación de la proteínquinasa B, o Akt, a través de la estimulación del receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR β). Estos resultados se validaron en un modelo de cáncer de mama. Los inhibidores de LOX y de la señalización

de PDGFR β , Akt y VEGF pueden anular la angiogénesis impulsada por LOX y así disminuir la progresión de tumores sólidos (101).

Por lo tanto, los inhibidores de la enzima LOX pueden ser útiles en la prevención de la angiogénesis, la progresión y la metástasis tumoral, así como en el tratamiento de otra enfermedad fibrótica que implique la remodelación de la matriz extracelular, como enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (24).

Se indujo otro marcador de mal pronóstico, relacionado con la hipoxia, la anhidrasa carbónica 9 (CA9) en células HSC-3, tanto mediante la exposición hipóxica como en la invasión de estas células dentro del tejido, incluso en condiciones de normoxia (105).

Se sugirió recientemente que LOX es una supresora de varios tipos de tumores, como el de pulmón, de páncreas y cánceres gástricos, pero también en el carcinoma nasofaríngeo (109). LOX está fuertemente inducida ante la hipoxia en las líneas celulares CNE2 y HONE1 del carcinoma nasofaríngeo, pero no en C666-1, mientras HK1 y FaDu (cáncer de laringe) sólo expresaron bajo nivel de *LOX*. El análisis de metilación mostró que el promotor de LOX fue metilado en C666-1 y parcialmente metilado en HK1. Después de la desmetilación con 5-aza-2'-desoxicidina, la expresión de *LOX* se reactivó junto con el aumento de alelos no metilados. La sobreexpresión de *LOX* redujo la clonogenicidad celular, el crecimiento celular, la migración y la invasión de las células de carcinoma nasofaríngeo. El nivel de ARNm de *CA9* obviamente disminuyó en las células HK1 después de la transfección con LOX. Estos datos muestran que el silenciamiento o subregulación de LOX en el carcinoma nasofaríngeo se debió a la metilación de su promotor y ese silenciamiento provoca un fenotipo maligno y metastásico (109).

En las células que carecen de receptores TGF- β , una deficiencia que es característica del cáncer de pulmón, LOX se encuentra en altas concentraciones, que están asociadas con una gran extensión de la invasión del carcinoma en muestras obtenidas de adenocarcinomas de pulmón de origen quirúrgico (99).

El descubrimiento de los mecanismos que impiden el fenotipo agresivo y metastásico de los cánceres de mama humanos basales tipo triple-negativo podría proporcionar nuevas dianas para su terapia. La expresión de *GATA3*, regulador transcripcional maestro de la diferenciación luminal mamaria, inhibe las metástasis mediadas por LOX en la línea celular MDA-MB-231 (MB231) de estos cánceres, aunque el mecanismo de reducción de metástasis no se ha dilucidado. Recientemente se demostró que la expresión de *GATA3* causó la reducción muy marcada en la expresión de *LOX*, una promotora de metástasis, en parte, a través de la metilación del promotor de LOX (119). Esta podría ser una estrategia importante para el tratamiento de este tipo de cánceres.

LOX Y LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

La acumulación de evidencias sugiere un rol de LOX en la aterogénesis y la disfunción endotelial provocada por los factores de riesgo de aterosclerosis y las citoquinas pro-inflamatorias (120).

De hecho, citoquinas tales como TNF- α modulan la expresión vascular de LOX, disminuyendo su expresión y actividad en las células endoteliales a través de un mecanismo transcripcional que implica la activación del receptor-2 de TNF y de la proteínquinasa C. Por lo tanto, la subregulación de LOX parece estar asociada con la disfunción endotelial provocada por múltiples factores patológicos (120).

Hoy se sabe que LOX juega un rol crucial en el mantenimiento de la estabilidad de la matriz extracelular y podría participar en la remodelación vascular asociada con enfermedades cardiovasculares. Los estudios *in vitro* e *in vivo* muestran que la subregulación de LOX está asociada con la característica disfunción endotelial de las etapas tempranas del proceso aterosclerótico. Por el contrario, la sobre-regulación de esta enzima en las células vasculares podría inducir al engrosamiento neointimal en la aterosclerosis y la reestenosis (121). De hecho, LOX es quimiotáctica para las células y los monocitos del músculo liso vascular, se modula mediante el estímulo proliferativo en estas células y podría controlar otros procesos celulares, tales como la expresión génica y la transformación celular. Además, es concebible que la subregulación de LOX pueda ser la base de la inestabilidad de la placa y contribuir a la remodelación destructiva que tiene lugar durante el desarrollo del aneurisma.

En general, LOX desempeña un papel clave en la homeostasis vascular y, por lo tanto, surge como gen diana prometedor para el desarrollo de estrategias terapéuticas en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Existe evidencia experimental relacionada con el rol de LOX en los trastornos vasculares y los beneficios potenciales de controlar su expresión y función (121).

Asimismo, se ha demostrado que la deficiencia de LOX afecta a la reticulación de la elastina y del colágeno *in vivo*, resultando en la formación de tejido conectivo desorganizado. Kothapalli y Ramamurthi (122) demostraron la utilidad de administrar suplementos de péptidos LOX exógenamente en cultivos de células del músculo liso aórtico de rata adulta, ya que aumenta la síntesis de elastina de la matriz de una manera dependiente de la dosis. Sin embargo, los péptidos LOX no afectaron ni la proliferación de células del músculo liso, ni la síntesis del precursor de elastina (tropoelastina), ni la síntesis total de elastina. En general, los péptidos LOX tampoco afectaron las actividades de las metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9, a excepción de la supresión de la actividad de MMP-9 a una dosis superior de LOX, lo que sugiere que estas señales de péptidos LOX

se podrían usar de forma segura para aumentar la reticulación de tropoelastina en el rendimiento de las estructuras matriciales y de la matriz de elastina, dentro de constructos de ingeniería tisular.

En cuanto al rol de LOX en la fibrosis miocárdica, estudios experimentales y clínicos muestran que el exceso de LOX se asocia con un aumento del entrecruzamiento y de la rigidez del colágeno (tipo I y III) (123).

Debido a su naturaleza dinámica, la composición y la estructura de la red de colágeno del miocardio se pueden modificar de forma reversible para adaptarse a lesiones cardíacas transitorias. Pero si la lesión es persistente, se producen cambios irreversibles de la red que conducen a la fibrosis, en general con depósito intersticial y perivascular excesivo de fibras de colágeno tipo I y III. Cada vez es más evidente que la fibrosis miocárdica contribuye directamente a la remodelación miocárdica adversa y a las alteraciones resultantes de la anatomía y función ventricular izquierda presente en los principales tipos de enfermedades cardíacas.

La sobre-regulación y/o hiperactividad de LOX podrían ser la base de la fibrosis miocárdica y de la mecánica ventricular izquierda alterada y podrían contribuir al compromiso de la función ventricular izquierda en las enfermedades cardíacas (123). En pacientes hipertensos con insuficiencia cardíaca crónica en etapa C, es sólo la calidad del colágeno, expresado como grado de reticulación, y no la cantidad del mismo, que se asocia con las presiones elevadas de llenado del lado izquierdo. El excesivo grado de entrecruzamiento del colágeno, mediado por LOX, facilita el aumento de la rigidez ventricular izquierda provocando la elevación de la presión de llenado en estos pacientes (124). Por lo tanto, existen potenciales beneficios al controlar la expresión y función de LOX miocárdica.

Se demostró la asociación entre el polimorfismo, G473A (rs1800449), del gen LOX y una mayor susceptibilidad a enfermedades de las arterias coronarias (125). También se ha elegido como blanco al estrés oxidativo mitocondrial en la insuficiencia cardíaca (126).

La erosión y la ruptura de las capas superficiales de la placa aterosclerótica puede causar un ataque cardíaco y un accidente cerebrovascular. Se detectaron marcadas diferencias zonales en el colágeno I, III y elastina en las capas superficiales de la placa carotídea, indicativas de inestabilidad de la placa; también rigidez mecánica y debilitamiento de la capa fibrosa con cambios complementarios en la expresión génica de la matriz extracelular (127).

Se demostró, además, que una dieta alta en grasas, así como la hiperlipidemia, interrumpe la homeostasis de la resolución de la inflamación y promueve la aterosclerosis (128). Estos resultados subrayan la importancia de la dieta con ácidos grasos poliinsaturados esenciales y mediadores de lípidos derivados de LOX en combinación con agentes hipolipemiantes en la prevención

y el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas (128).

Recientemente, se estudió la fisiopatología de la acumulación de colágeno en la matriz extracelular durante la reestenosis arterial (129). La reestenosis es un proceso biológico de cicatrización que se produce como consecuencia de la lesión que sufre la pared arterial al implantar un *stent* intracoronario (130). Los eventos que contribuyen a la reestenosis después de las intervenciones coronarias son: agregación plaquetaria, infiltración inflamatoria celular, liberación de factores de crecimiento y acumulación de células musculares lisas y matriz extracelular. Los factores que regulan la síntesis y la degradación del colágeno, como varias LOX, citoquinas y factores de crecimiento, pueden ser blancos para las terapias dirigidas a la prevención de la reestenosis intra-*stent* (129).

LOX Y TRASTORNOS OCULARES

El queratocono es una enfermedad ocular caracterizada por el adelgazamiento progresivo y la protrusión de la córnea, lo que resulta en la pérdida de la agudeza visual. Es una enfermedad corneal progresiva bilateral no inflamatoria con herencia genética compleja y una causa común para trasplante de córnea en adultos jóvenes.

La asociación entre la acidez de las lágrimas y la distribución de cobre en la córnea ofrece nuevas oportunidades en el tratamiento patogénico del queratocono. Es por eso que se analizó la migración de compuestos de cobre en el estroma corneal (131), encontrándose que las condiciones bioquímicas de la periferia media de la córnea inhiben el movimiento de los iones cobre hacia el centro en pacientes con queratocono, debido a una mayor alcalinidad de las lágrimas. Una baja concentración de iones diclorocuprato en el centro de la córnea causa inactivación de LOX y promueve así el queratocono.

La variación en el gen *LOX* (SNPs rs10519694 y rs2956540 localizados en el intrón 4 de *LOX*; rs1800449 y rs2288393 situados en los transcritos I y II de *LOX*) se asocia con queratocono según estudios basados en familia y en casos y controles (132). Una exploración de la vinculación genómica en familias con queratocono identificó un *locus* en 5q23.2, superponiendo al gen que codifica *LOX*, la cual es también responsable del entrecruzamiento del colágeno en la córnea. Recientemente, se ha encontrado que la distribución de la enzima *LOX* disminuye en *ca.* 63% de las muestras con queratocono, mientras que la actividad de la enzima se reduce significativamente en un 38% (133). Por esta razón, el entrecruzamiento de colágeno corneal con luz ultravioleta de onda larga y riboflavina es un tratamiento nuevo y prometedor para el queratocono (132).

También se demostró que dos polimorfismos de *LOX* (-22 G/C y 473 G/A) estaban asociados con una mayor

susceptibilidad al desprendimiento regmatógeno de retina y a la vitreorretinopatía proliferativa y se advirtió una correlación potencial entre *LOX* y la inflamación ocular (134).

TGF- β induce los genes de *LOX* de la proteína de la matriz extracelular en las células humanas de la red trabecular, que es una red de tejidos esponjosos situados alrededor de la base de la córnea, cerca del cuerpo ciliar. La red trabecular juega un importante papel en el glaucoma, pues a través de ella fluye el humor acuoso hasta que finalmente es drenado al sistema venoso por el canal de Schlemm. La citoquina profibrótica TGF- β está asociada con el glaucoma y es importante en la regulación del metabolismo de la matriz extracelular en la red trabecular. Los cinco genes de *LOX* (*LOX*, *LOXLI-4*) se expresaron en las células humanas cultivadas de la red trabecular y fueron inducidos por las tres isoformas de TGF- β . Esta inducción de la expresión de *LOX* y *LOXL* fue bloqueada significativamente por los inhibidores de TGF- β , así como por inhibidores de la señalización canónica Smad2, -3, -4 y de las vías de señalización no-Smad JNK/AP-1 (135). Es decir, que ambas vías de señalización, Smad y no-Smad, participan en la inducción de *LOX* mediada por TGF- β .

LOX Y ENFERMEDADES IATROGÉNICAS

La terapia a largo plazo con *D*-penicilamina para el tratamiento de la enfermedad de Wilson puede inducir elastosis perforante serpiginosa, una enfermedad degenerativa de la piel muy rara, caracterizada por una eliminación transepidérmica de los agregados de fibras elásticas (136). La enfermedad iatrogénica depende de la capacidad de *D*-penicilamina de quelar cobre y provocar su agotamiento. *LOX* resulta fuertemente afectada por esta depleción. La unión directa de este fármaco a los precursores de colágeno también afecta el ensamblaje y la maduración de las fibras elásticas. La elastina anormal se acumula en la dermis media y produce una apariencia característica de la enfermedad, la cual es causa frecuente de errores diagnósticos. Recientemente se han descrito casos y la literatura de interés (136).

LOX Y LA REGENERACIÓN ÓSEA

Se ha estudiado recientemente cómo la topografía de una superficie de titanio de implantes afecta la biosíntesis de colágeno de las células adherentes (137). Para ello, se cultivaron células madre mesenquimales adherentes humanas (hMSCs) en pequeños discos de titanio, con superficies lisas y rugosas, evaluándose la fijación y la propagación de las células. Prolil-hidroxilasa, lisil-hidroxilasa y la mayoría de los niveles de ARNm de *LOX* fueron mayores en las células cultivadas en superficies rugosas. También el área mineralizada y el contenido de colágeno fueron mayores en la superficie

rugosa. En el modelo de cultivo celular, la topografía de la superficie rugosa modula positivamente la biosíntesis de colágeno, así como la acumulación y la expresión de los genes asociados con la reticulación del colágeno en estas células adherentes. De esta manera, se demostró que la biosíntesis alterada de la matriz extracelular, rica en colágeno, adyacente a los implantes endo-óseos puede influir en las propiedades biomecánicas de los mismos (137).

Se demostró recientemente que la fibrina rica en plaquetas (PRF) aumenta la adhesión, la proliferación y la expresión celular de las proteínas relacionadas con el colágeno de los osteoblastos humanos (138), todo lo cual promovería eficazmente la regeneración ósea. Sin embargo, los mecanismos subyacentes aún no se conocen completamente. PRF aumentó significativamente la proliferación de osteoblastos y la fosforilación de Akt en manera dependiente del tiempo. La proteína de choque térmico 47 (HSP47) y LOX, relacionadas con el colágeno, aumentaron significativamente debido a la estimulación con PRF (138).

Asimismo, recientemente se demostró en cultivos de osteoblastos que específicamente la fibronectina plasmática requiere un paso de reticulación mediada por la transglutaminasa Factor XIIIa (FXIIIa) para formar la matriz de los osteoblastos (139). La fibronectina circulante en el plasma, producida por los hepatocitos, es un componente principal de la matriz ósea, no-colagenosa, en la que se ha demostrado, *in vivo* en ratones, que controla la calidad biomecánica, así como la relación mineral a matriz en el hueso. La fibrilogénesis de fibronectina es un proceso que requiere generalmente la unión de fibronectina a integrinas celulares, así como tensión celular para alargar y ensamblar la molécula. La fibronectina es un sustrato de las transglutaminasas, en el hueso y en cultivos de osteoblastos, que son enzimas de reticulación de proteínas capaces de estabilizar estructuras macromoleculares. Los osteoblastos expresan dos transglutaminasas: transglutaminasa 2 (TG-2) y FXIIIa, y se demostró que esta última es la principal transglutaminasa activa durante la diferenciación de los osteoblastos, que regula tanto la cantidad como la calidad de la matriz de colágeno tipo I *in vitro*. La adición del FXIIIa preactivado exógeno a cultivos de osteoblastos promovió el ensamblaje de la fibronectina plasmática desde los medios dentro de la matriz. TG-2 exógena no tuvo efecto (139).

En cambio, TG-2 interviene en la fibrilogénesis corneal (140). Los fibroblastos corneales de embrión de pollo pueden producir una matriz extracelular *in vitro* que se asemeja al estroma corneal primario durante el desarrollo embrionario. Entre otros requisitos, son necesarios los enlaces cruzados entre los colágenos fibrilares, introducidos mediante TG-2 tisular, para el autoensamblaje de fibrillas uniformes, de diámetro pequeño, pero no para su apilamiento laminar. Este último de-

pende de entrecruzamientos derivados de lisil-aldehído introducidos por la actividad de LOX, que, a su vez, influye sólo débilmente en el diámetro de las fibrillas. Estos enlaces cruzados se introducen en las primeras etapas de la fibrilogénesis. Las enzimas son probablemente importantes para una correcta disposición de la matriz también durante la reparación de la córnea (140).

Recientemente se demostró que la serotonina interfiere negativamente en el ensamblaje de la fibronectina plasmática en la matriz extracelular en cultivos de osteoblastos, que a su vez tiene consecuencias importantes en el montaje y la mineralización de la matriz (141). La serotonina es un modulador negativo de la masa y la calidad ósea. Sus efectos negativos en el esqueleto están mediados vía sus receptores y el transportador en osteoblastos y osteoclastos; sin embargo, la serotonina también se puede incorporar covalentemente en las proteínas vía una reacción de serotonilación mediada por transglutaminasa, que a su vez puede alterar la función de la proteína. El tratamiento de cultivos de osteoblastos con serotonina resultó en una matriz de fibronectina plasmática discontinua y disposición alterada del colágeno tipo I, disminución de la fosfatasa alcalina y de la actividad de LOX, así como mineralización retrasada de los cultivos (141).

Cobre

El cobre (Cu), un micronutriente esencial, juega un papel fundamental en la inflamación, el control de la proliferación de las células endoteliales en el cáncer, en la angiogénesis y en la cicatrización de heridas; sin embargo, su mecanismo aún no está definido.

Recientemente se trató de determinar si la angioproliferación en ratas con hipertensión pulmonar arterial experimental y la proliferación de células endoteliales microvasculares pulmonares en humanos dependen de la acción proangiogénica del cobre (142), más teniendo en cuenta que la obliteración del lumen vascular por el crecimiento de células endoteliales es un sello distintivo de muchas formas de hipertensión arterial pulmonar grave. Una dieta empobrecida en cobre previno el desarrollo de la hipertensión arterial pulmonar grave experimental y la quelación del cobre con tetratiomolibdato la revirtió. La inhibición de la proliferación de células endoteliales por una estrategia de restricción de cobre podría ser explorada como un nuevo enfoque terapéutico en la hipertensión arterial pulmonar. Queda por determinar, sin embargo, si la toxicidad potencial para el ventrículo derecho se ve compensada por los efectos beneficiosos vasculares pulmonares del tratamiento antiangiogénico en pacientes con hipertensión arterial pulmonar (142).

La proteína de transporte de cobre Antioxidante-1 (Atox1) promueve la neovascularización inflamatoria

vía la función de chaperona y de factor de transcripción según estudios recientes (143). *Atox1* fue reconocida originalmente como una chaperona de cobre y recientemente descubierta como un factor de transcripción dependiente de cobre. La expresión de *Atox1* está sobre-regulada en pacientes y ratones con isquemia crítica de las extremidades. La microscopía intravital *in vivo*, la reconstitución de la médula ósea y la transferencia del gen *Atox1* en ratones *Atox1* (-/-) muestran que *Atox1* es esencial en las células endoteliales para la neovascularización y el reclutamiento de células inflamatorias que liberan VEGF y TNF- α . Los resultados demuestran un vínculo nuevo entre *Atox1* y NADPH oxidasa que participan en la neovascularización inflamatoria y sugieren a *Atox1* como una diana terapéutica potencial para el tratamiento de la enfermedad isquémica (143).

Funciones de LOX-PP

La actividad supresora de tumores de LOX se ha demostrado que depende del dominio de propeptido de 162 aminoácidos (18 kD) de la proteína precursora de LOX (LOX-PP), un dominio N-terminal liberado durante la escisión proteolítica de LOX madura, no de su actividad enzimática. Los niveles de expresión de LOX-PP están asociados con el cáncer de mama, de páncreas, de pulmón, de próstata y del sistema gastrointestinal.

LOX-PP inhibió la transformación *ras*, el crecimiento independiente del anclaje y la migración de los fibroblastos, en células de cáncer de pulmón y pancreático (144)(145) y en el fenotipo invasivo del cáncer de mama Her-2/neu (146). Además, se cree que inhibe la señalización *ras* a través de las vías Akt y ERK, la expresión y la actividad descendientemente de los efectores NF- κ B, Bcl-2 y ciclina D1, y EMT (145, 146). LOX-PP inhibe la proliferación celular primaria del músculo liso de aorta de rata, la síntesis de ADN, la expresión de ARNm de *MMP-9* y la activación de Erk1/Erk2 estimulada por TNF- α (147). Se ha descrito también que atenúa la activación de FAK estimulada por fibronectina y su activación aguas abajo de p130^{cas}, conduciendo a la inhibición de la migración celular estimulada por fibronectina (148).

El inhibidor LOX-PP de la señalización *ras* interactúa con Hsp70 y c-Raf para reducir la activación de Erk y el fenotipo transformado de las células de cáncer de mama. Se realizó un enfoque de copurificación por espectrometría de masa usando LOX-PP expresado ectópicamente en las células HEK293T y se identificó la proteína de *shock* térmico de 70 KDa (Hsp70), confirmando su interacción con LOX-PP. Se demostró que la interacción de LOX-PP con c-Raf disminuye descendientemente la activación de MEK y NF- κ B, la migración y el crecimiento independiente del anclaje y reduce su localización mitocondrial (149). Así, la interacción de

LOX-PP con Hsp70 y c-Raf inhibe un intermediario crítico en la señalización MEK inducida por *ras* y juega un rol importante en la función de este supresor tumoral.

Recientemente se demostró que LOX-PP interactúa con la tirosínfosfatasa RPTP- κ e inhibe la actividad transcripcional de β -catenina en las células de cáncer de pulmón (150). Por lo tanto, LOX-PP regula negativamente la señalización pro-oncogénica de β -catenina en estas células.

La proteína Blimp1 es un regulador patrón de la diferenciación de células B y controla la migración de las células germinales primordiales. Recientemente se observó la expresión aberrante de *Blimp1* en células de cáncer de mama como resultado de vía de señalización RelB de NF- κ B a Ras. A fin de abordar la cuestión de si la expresión inesperada de *Blimp1* se ve en otros tumores derivados del epitelio, recientemente se seleccionaron cinco líneas celulares de cáncer de pulmón, ya que suelen estar impulsados por la señalización Ras. Se detectó Blimp1 en las cinco líneas celulares y se demostró que promueve la migración y la invasión de estas células, siendo un mediador de la señalización Ras/Raf/AP-1; Blimp1 es inhibido por LOX-PP en el cáncer de pulmón (151). El interrogatorio de bases de datos de *microarrays* demostró elevada expresión del ARN de *BLIMP1* en el adenocarcinoma de pulmón, carcinomas ductales pancreáticos, tumores de cabeza y cuello, así como en glioblastomas. Se confirmó la participación de Ras y su quinasa descendente c-Raf usando estrategias mutantes y de ARNsi. A continuación se abordó el tema del mecanismo de activación de Blimp1 en cáncer de pulmón resultando ser por AP-1 (AP: *Activator Protein*; proteína activadora-1). Usando expresión *knockdown* y ectópica, se demostró el rol de la familia de AP-1 de los factores de transcripción. Se identificó el dominio de LOX-PP como un supresor tumoral, con capacidad para reducir la señalización *ras* en las células de cáncer de pulmón. LOX-PP redujo la expresión de Blimp1 mediante la unión a c-Raf y la inhibición de la activación de AP-1, atenuando de esta manera el fenotipo migratorio de las células de cáncer de pulmón (151).

Recientemente se investigó la expresión y la importancia clínica de LOX-PP en el carcinoma hepatocelular humano y los correspondientes tejidos adyacentes no cancerosos (152). Como resultado, se encontró la expresión reducida de LOX-PP en los tejidos de carcinoma hepatocelular, en comparación con la de los tejidos adyacentes no cancerosos y su expresión se asoció con el estadio del tumor y la metástasis distante. La proliferación de las células de carcinoma hepatocelular se redujo significativamente en el grupo LOX recombinante de adenovirus. Se observaron incrementos importantes en la tasa de apoptosis y detención del ciclo celular. Los niveles de expresión de MMP-2 y MMP-9 fueron atenuados en ese grupo, lo que sugiere que LOX-PP inhibe la migración de células del carcinoma hepatocelular vía la

subregulación de la expresión de las MMPs. Cuando la expresión de LOX-PP fue potenciada mediante un adenovirus que contenía LOX-PP, la expresión de p-ERK fue significativamente subregulada, lo que indica que LOX-PP inhibe la proliferación de células de carcinoma hepatocelular e induce su apoptosis probablemente a través de la subregulación de la vía MAPK/ERK (152).

Se demostró que LOX está subregulada por las oncoproteínas EWS/FLI1 y su dominio LOX-PP presenta actividad supresora tumoral en las células del sarcoma de Ewing (153). El sarcoma de Ewing es el segundo tumor óseo más frecuente en niños y adultos jóvenes; es impulsado por las proteínas oncogénicas de fusión (ej: EWS/FLI1) que actúan como factores aberrantes de transcripción que sobre-regulan y subregulan los genes diana, lo que lleva a la transformación celular. Por lo tanto, identificar estos genes diana y comprender su contribución a la tumorigénesis del sarcoma de Ewing es clave para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. LOX está subregulada por estas oncoproteínas y en consecuencia no está expresada en las células del sarcoma de Ewing y tumores primarios. La expresión de LOX-PP redujo la proliferación celular, la migración celular, el crecimiento independiente del anclaje en agar blando y la formación de tumores en ratones inmunodeficientes. Por el contrario, el dominio C-terminal de LOX, que contiene la actividad enzimática, tuvo efectos opuestos, lo que corrobora que la actividad supresora de tumores de LOX está mediada exclusivamente por su dominio de propéptido. Por último, se demostró que LOX-PP inhibe la vía de señalización ERK/MAPK, y que muchas vías implicadas en la progresión del ciclo celular fueron desreguladas significativamente por LOX-PP, proporcionando una explicación mecánica a la inhibición de la proliferación celular observada tras su expresión. Estos hallazgos sugieren que las estrategias terapéuticas basadas en la administración del propéptido de LOX o análogos funcionales podrían ser útiles para el tratamiento de este tipo de cáncer pediátrico devastador (153).

Conclusiones

La lisil-oxidasa (LOX) es una quinoenzima dependiente de cobre que tiene lisil-tirosil-quinona como cofactor. LOX no sólo participa en el entrecruzamiento de colágenos y elastina, sino que interviene también en la supresión tumoral y en la paradójica acción de promoción tumoral. Esta enzima desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la estabilidad de la matriz extracelular y en el remodelado vascular asociado con la aterogénesis, la disfunción endotelial, trastornos oculares, fibrosis, enfermedades iatrogénicas, regeneración ósea y aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, entre otras. Asimismo, los inhibidores de

esta enzima pueden ser útiles en la prevención de la progresión de tumores y de metástasis, así como en el tratamiento de enfermedades fibróticas que involucren la remodelación de la matriz extracelular, como: enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. Los últimos avances referidos a la acción proangiogénica del cobre y las funciones de la proteína precursora de LOX, cuyos niveles de expresión están asociados con diversos tipos de cáncer, abren un nuevo panorama en el conocimiento de esta enzima si bien aún quedan por dilucidar muchos aspectos referidos a su interacción con las vías de señalización y otras proteínas/polipéptidos activos.

Todos estos temas así se discuten en este trabajo mostrando la importancia de esta enzima como potencial diana terapéutica en varias patologías.

AGRADECIMIENTOS

Al CONICET y a la Universidad de Buenos Aires (Argentina) por apoyo económico; al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCYT, Argentina) por el acceso a la Biblioteca Electrónica Internacional. Prof. Dra. A.B. Pomilio es Investigadora Superior de CONICET.

CORRESPONDENCIA

Prof. Dra. ALICIA B. POMILIO
Instituto de Biología y Medicina Molecular IBIMOL
(UBA y CONICET)
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires
Junín 956
C1113AAD CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES,
Argentina
E-mail: pomilio@ffyb.uba.ar

Referencias bibliográficas

1. Stites TE, Mitchell AE, Rucker RB. Physiological importance of quinoenzymes and the O-quinone family of cofactors. *J Nutr* 2000; 130 (4): 719-27.
2. LARGERON M. Amine oxidases of the quinoproteins family: their implication in the metabolic oxidation of xenobiotics. *Pharm Fr* 2011; 69 (1): 53-61.
3. Vitale AA, Ciprian-Ollivier J, Vitale MG, Romero Esther, Pomilio AB. Estudio Clínico de marcadores de la hipermetilación indólica en las alteraciones de la percepción. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010; 44 (4): 627-42.
4. Pomilio AB, Ciprian Ollivier JO, Vitale AA. Flavoproteínas que actúan como amino-oxidases: Estructura, función e importancia clínica. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (2): 279-305.
5. Pomilio AB, Ciprian-Ollivier JO, Vitale AA. Lisil-oxidasa (LOX) y proteínas tipo LOX: Rol de amino-oxidases,

- propiedades moleculares y catalíticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (4): 645-60.
6. Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. *Matrix Biol* 1998; 16 (7): 387-98.
 7. Csiszar K. Lysyl oxidases: a novel multifunctional amine oxidase family. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001; 70: 1-32.
 8. Halper J, Kjaer M. Basic components of connective tissues and extracellular matrix: elastin, fibrillin, fibulins, fibrinogen, fibronectin, laminin, tenascins and thrombospondins. *Adv Exp Med Biol* 2014; 802: 31-47.
 9. Dawson DA, Rinaldi AC, Pösch G. Biochemical and toxicological evaluation of agent-cofactor reactivity as a mechanism of action for osteolathyrism. *Toxicology* 2002; 177 (2-3): 267-84.
 10. Mäki JM, Sormunen R, Lippo S, Kaarteenaho-Wiik R, Soininen R, Myllyharju J. Lysyl oxidase is essential for normal development and function of the respiratory system and for the integrity of elastic and collagen fibers in various tissues. *Am J Pathol* 2005; 167 (4): 927-36.
 11. Finney J, Moon HJ, Ronnebaum T, Lantz M, Mure M. Human copper-dependent amine oxidases. *Arch Biochem Biophys* 2014; 546: 19-32.
 12. Trackman PC. Lysyl oxidase isoforms and potential therapeutic opportunities for fibrosis and cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2016; 2016: 1-11.
 13. Trackman PC. Enzymatic and non-enzymatic functions of the lysyl oxidase family in bone. *Matrix Biol* 2016 bJan 6. pii: S0945-053X(16)30001-4. doi: 10.1016/j.matbio.2016.01.001. [Epub ahead of print].
 14. Molnar J, Fong KS, He QP, Hayashi K, Kim Y, Fong SF, *et al.* Structural and functional diversity of lysyl oxidase and the LOX-like proteins. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1647 (1-2): 220-4.
 15. Gene Pub Med: www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/. Luego buscar individualmente: *LOX*, *LOXL1*, *LOXL2*, *LOXL3* y *LOXL4*. Fecha de acceso: marzo 2016.
 16. Kim S, Park S, Kim Y. Alternative promoter activation leads to the expression of a novel human lysyl oxidase variant that functions as an amine oxidase. *Int J Mol Med* 2014; 34 (3): 894-9.
 17. Lucero HA, Kagan HM. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63 (19-20): 2304-16.
 18. Fong SFT, Fong KSK, Csiszar K. LOX (lysyl oxidase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 2010; 14 (1): 15-28. <http://AtlasGeneticsOncology.org/Genes/LOXID41191ch5q23.html>. Fecha de acceso: abril de 2016.
 19. Mercier N, El Hadri K, Osborne-Pellegrin M, Nehme J, Perret C, Labat C, *et al.* Modifications of arterial phenotype in response to amine oxidase inhibition by semicarbazide. *Hypertension* 2007; 50 (1): 234-41.
 20. Anderson C, Bartlett SJ, Gansner JM, Wilson D, He L, Gitlin JD, *et al.* Chemical genetics suggests a critical role for lysyl oxidase in zebrafish notochord morphogenesis. *Mol Biosyst* 2007; 3 (1): 51-9.
 21. Raposo B, Rodríguez C, Martínez-González J, Badimon L. High levels of homocysteine inhibit lysyl oxidase (LOX) and downregulate LOX expression in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2004; 177 (1): 1-8.
 22. Fogelgren B, Polgar N, Szauter KM, Ujfaludi Z, Laczko R, Fong KS, *et al.* Cellular fibronectin binds to lysyl oxidase with high affinity and is critical for its proteolytic activation. *J Biol Chem* 2005; 280 (26): 24690-7.
 23. Herchenhan A, Uhlenbrock F, Eliasson P, Weis M, Eyre D, Kadler KE, *et al.* Lysyl oxidase activity is required for ordered collagen fibrillogenesis by tendon cells. *J Biol Chem* 2015; 290 (26): 16440-50.
 24. Rodríguez C, Rodríguez-Sinovas A, Martínez-González J. Lysyl oxidase as a potential therapeutic target. *Drug News Perspect* 2008; 21 (4): 218-24.
 25. Hornstra IK, Birge S, Starcher B, Bailey AJ, Mecham RP, Shapiro SD. Lysyl oxidase is required for vascular and diaphragmatic development in mice. *J Biol Chem* 2003; 278 (16): 14387-93.
 26. Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, Furutani A, Hamano K, Matsuzaki M. Regression of abdominal aortic aneurysm by inhibition of c-Jun N-terminal kinase in mice. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1085: 74-81.
 27. Szauter KM, Cao T, Boyd CD, Csiszar K. Lysyl oxidase in development, aging and pathologies of the skin. *Pathol Biol (Paris)* 2005; 53 (7): 448-56.
 28. Urban Z, Davis EC. Cutis laxa: intersection of elastic fiber biogenesis, TGF β signaling, the secretory pathway and metabolism. *Matrix Biol* 2014; 33: 16-22.
 29. Kaku M, Mochida Y, Atsawasuwan P, Parisuthiman D, Yamauchi M. Post-translational modifications of collagen upon BMP-induced osteoblast differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359 (3): 463-8.
 30. Asanbaeva A, Masuda K, Thonar EJ, Klisch SM, Sah RL. Cartilage growth and remodeling: modulation of balance between proteoglycan and collagen network *in vitro* with *beta*-aminopropionitrile. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16 (1): 1-11.
 31. Klutke J, Ji Q, Campeau J, Starcher B, Felix JC, Stanczyk FZ, *et al.* Decreased endopelvic fascia elastin content in uterine prolapse. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87 (1): 111-5.
 32. Drewes PG, Yanagisawa H, Starcher B, Hornstra I, Csiszar K, Marinis SI, *et al.* Pelvic organ prolapse in fibulin-5 knockout mice: pregnancy-induced changes in elastic fiber homeostasis in mouse vagina. *Am J Pathol* 2007; 170 (2): 578-89.
 33. Coral K, Madhavan J, Pukhraj R, Angayarkanni N. High glucose induced differential expression of lysyl oxidase and its isoform in ARPE-19 cells. *Curr Eye Res* 2013; 38 (1): 194-203.
 34. Trackman PC, Graham RJ, Bittner HK, Carnes DL, Gilles JA, Graves DT. Inflammation-associated lysyl oxidase protein expression *in vivo*, and modulation by FGF-2 plus IGF-1. *Histochem Cell Biol* 1998; 110 (1): 9-14.

35. Ishida Y, Kanno Z, Soma K. Occlusal hypofunction induces atrophic changes in rat gingiva. *Angle Orthod* 2008; 78 (6): 1015-22.
36. Kaufmann J, Mueller A, Voigt A, Carl HD, Gursche A, Zacher J, *et al.* Hydroxypyridinium collagen crosslinks in serum, urine, synovial fluid and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis compared with osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42 (2): 314-20.
37. Rivera E, Flores I, Rivera E, Appleyard CB. Molecular profiling of a rat model of colitis: validation of known inflammatory genes and identification of novel disease-associated targets. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12 (10): 950-66.
38. Georges PC, Hui JJ, Gombos Z, McCormick ME, Wang AY, Uemura M, *et al.* Increased stiffness of the rat liver precedes matrix deposition: implications for fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293 (6): G1147-54.
39. Kagan HM. Lysyl oxidase: mechanism, regulation and relationship to liver fibrosis. *Pathol Res Pract* 1994; 190 (9-10): 910-9.
40. Peyrol S, Raccurt M, Gerard F, Gleyzal C, Grimaud JA, Sommer P. Lysyl oxidase gene expression in the stromal reaction to *in situ* and invasive ductal breast carcinoma. *Am J Pathol* 1997; 150 (2): 497-507.
41. Kral JB, Kuttke M, Schrottmaier WC, Birnecker B, Warszawska J, Wernig C, *et al.* Sustained PI3K Activation exacerbates BLM-induced Lung Fibrosis via activation of pro-inflammatory and pro-fibrotic pathways. *Sci Rep* 2016; 6: 23034.
42. Di Donato A, Ghiggeri GM, Di Duca M, Jivotenko E, Acinni R, Campolo J, *et al.* Lysyl oxidase expression and collagen cross-linking during chronic adriamycin nephropathy. *Nephron* 1997; 76 (2): 192-200.
43. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, Shrimanker N, Akai Y, Hohenstein B, *et al.* Hypoxia promotes fibrogenesis *in vivo* via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007; 117 (12): 3810-20.
44. Chen WC, Lin HH, Tang MJ. Matrix-stiffness-regulated inverse expression of Krüppel-like factor 5 and Krüppel-Like factor 4 in the pathogenesis of renal fibrosis. *Am J Pathol* 2015; 185 (9): 2468-81.
45. Tilakaratne WM, Klinikowski MF, Saku T, Peters TJ, Warnakulasuriya S. Oral submucous fibrosis: review on aetiology and pathogenesis. *Oral Oncol* 2006; 42 (6): 561-8.
46. Spurney CF, Knobloch S, Pistilli EE, Nagaraju K, Martin GR, Hoffman EP. Dystrophin-deficient cardiomyopathy in mouse: expression of Nox4 and Lox are associated with fibrosis and altered functional parameters in the heart. *Neuromuscul Disord* 2008; 18 (5): 371-81.
47. Iwasaki A, Sakai K, Moriya K, Sasaki T, Keene DR, Akhtar R, *et al.* Molecular mechanism responsible for fibronectin-controlled alterations in matrix stiffness in advanced chronic liver fibrogenesis. *J Biol Chem* 2016; 291 (1): 72-88.
48. Meyringer R, Neumann E, Judex M, Landthaler M, Kullmann F, Scholmerich J, *et al.* Analysis of gene expression patterns in systemic sclerosis fibroblasts using RNA arbitrarily primed-polymerase chain reaction for differential display. *J Rheumatol* 2007; 34 (4): 747-53.
49. Li PA, He Q, Cao T, Yong G, Szauter KM, Fong KS, *et al.* Up-regulation and altered distribution of lysyl oxidase in the central nervous system of mutant SOD1 transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res Mol Brain Res* 2004; 120 (2): 115-22.
50. Wilhelmus MM, Bol JG, van Duinen SG, Drukarch B. Extracellular matrix modulator lysyl oxidase colocalizes with amyloid-*beta* pathology in Alzheimer's disease and hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis-Dutch type. *Exp Gerontol* 2013; 48 (2): 109-14.
51. Li W, Nugent MA, Zhao Y, Chau AN, Li SJ, Chou IN, *et al.* Lysyl oxidase oxidizes basic fibroblast growth factor and inactivates its mitogenic potential. *J Cell Biochem* 2003; 88 (1): 152-64.
52. Lucero HA, Ravid K, Grimsby JL, Rich CB, DiCamillo SJ, Maki JM *et al.* Lysyl oxidase oxidizes cell membrane proteins and enhances the chemotactic response of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2008; 283 (35): 24103-17.
53. Eliades A, Papadantonakis N, Bhupatiraju A, Burridge KA, Johnston-Cox HA, Migliccio AR, *et al.* Control of megakaryocyte expansion and bone marrow fibrosis by lysyl oxidase. *J Biol Chem* 2011; 286 (31): 27630-8.
54. Mesarwi OA, Shin MK, Drager LF, Bevans-Fonti S, Jun JC, Putcha N, *et al.* Lysyl oxidase as a serum biomarker of liver fibrosis in patients with severe obesity and obstructive sleep apnea. *Sleep* 2015; 38 (10): 1583-91.
55. Rimar D, Rosner I, Nov Y, Slobodin G, Rozenbaum M, Halasz K, *et al.* Brief report: lysyl oxidase is a potential biomarker of fibrosis in systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66 (3): 726-30.
56. Atsawasuwan P, Mochida Y, Katafuchi M, Kaku M, Fong KS, Csiszar K, *et al.* Lysyl oxidase binds transforming growth factor-*beta* and regulates its signaling via amine oxidase activity. *J Biol Chem* 2008; 283 (49): 34229-40.
57. Xie J, Jiang J, Zhang Y, Xu C, Yin L, Wang C, *et al.* Up-regulation expressions of lysyl oxidase family in anterior cruciate ligament and medial collateral ligament fibroblasts induced by transforming growth factor-*beta* 1. *Int Orthop* 2012; 36 (1): 207-13.
58. Oleggini R, Gastaldo N, Di Donato A. Regulation of elastin promoter by lysyl oxidase and growth factors: cross control of lysyl oxidase on TGF-*beta*1 effects. *Matrix Biol* 2007; 26 (6): 494-505.
59. Lelievre E, Hinek A, Lupu F, Buquet C, Soncin F, Matot V. VE-statin/egfl7 regulates vascular elastogenesis by interacting with lysyl oxidases. *EMBO J* 2008; 27 (12): 1658-70.
60. Giampuzzi M, Oleggini R, Di Donato A. Demonstration of *in vitro* interaction between tumor suppressor lysyl oxidase and histones H1 and H2: definition of the

- regions involved. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1647 (1-2): 245-51.
61. Oleggini R, Di Donato A. Lysyl oxidase regulates MMTV promoter: indirect evidence of histone H1 involvement. *Biochem Cell Biol* 2011; 89 (6): 522-32.
 62. Lazarus HM, Cruikshank WW, Narasimhan N, Kagan HM, Center DM. Induction of human monocyte motility by lysyl oxidase. *Matrix Biol* 1995; 14 (9): 727-31.
 63. Laczko R, Szauter KM, Jansen MK, Hollosi P, Muranyi M, Molnar J, *et al.* Active lysyl oxidase (LOX) correlates with focal adhesion kinase (FAK)/paxillin activation and migration in invasive astrocytes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007; 33 (6): 631-43.
 64. Chen LC, Tu SH, Huang CS, Chen CS, Ho CT, Lin HW, *et al.* Human breast cancer cell metastasis is attenuated by lysyl oxidase inhibitors through down-regulation of focal adhesion kinase and the paxillin-signaling pathway. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134 (3): 989-1004.
 65. Polgar N, Fogelgren B, Shipley JM, Csiszar K. Lysyl oxidase interacts with hormone placental lactogen and synergistically promotes breast epithelial cell proliferation and migration. *J Biol Chem* 2007; 282 (5): 3262-72.
 66. Peinado H, Del Carmen Iglesias-de la Cruz M, Olmeda D, Csiszar K, Fong KS, Vega S, *et al.* A molecular role for lysyl oxidase-like 2 enzyme in snail regulation and tumor progression. *EMBO J* 2005; 24 (19): 3446-58.
 67. Papacleovoulou G, Critchley HO, Hillier SG, Mason JI. IL1 α and IL4 signalling in human ovarian surface epithelial cells. *J Endocrinol* 2011; 211 (3): 273-83.
 68. Payne SL, Hendrix MJ, Kirschmann DA. Paradoxical roles for lysyl oxidases in cancer - a prospect. *J Cell Biochem* 2007; 101 (6): 1338-54.
 69. Siddikuzzaman, Grace VM, Guruvayoorappan C. Lysyl oxidase: a potential target for cancer therapy. *Inflammopharmacology* 2011; 19 (3): 117-29.
 70. Huang HY, Chen SZ, Zhang WT, Wang SS, Liu Y, Li X, *et al.* Induction of EMT-like response by BMP4 via up-regulation of lysyl oxidase is required for adipocyte lineage commitment. *Stem Cell Res* 2013; 10 (3): 278-87.
 71. McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Curr Mol Med* 2011; 11 (4): 304-16.
 72. Chen SZ, Xu X, Ning LF, Jiang WY, Xing C, Tang QQ, *et al.* miR-27 impairs the adipogenic lineage commitment via targeting lysyl oxidase. *Obesity (Silver Spring)* 2015; 23 (12): 2445-53.
 73. Huang HY, Zhang WT, Jiang WY, Chen SZ, Liu Y, Ge X, *et al.* RhoGDI β inhibits bone morphogenetic protein 4 (BMP4)-induced adipocyte lineage commitment and favors smooth muscle-like cell differentiation. *J Biol Chem* 2015; 290 (17): 11119-29.
 74. Contente S, Kenyon K, Rimoldi D, Friedman RM. Expression of gene *rrg* is associated with reversion of NIH 3T3 transformed by LTR-c-H-ras. *Science* 1990; 249 (4970): 796-8.
 75. Kenyon K, Contente S, Trackman PC, Tang J, Kagan HM, Friedman RM. Lysyl oxidase and *rrg* messenger RNA. *Science* 1991; 253 (5021): 802.
 76. Mariani TJ, Trackman PC, Kagan HM, Eddy RL, Shows TB, Boyd CD, *et al.* The complete derived amino acid sequence of human lysyl oxidase and assignment of the gene to chromosome 5 (extensive sequence homology with the murine *ras* recision gene). *Matrix* 1992; 12 (3): 242-8.
 77. Krzyzosiak WJ, Shindo-Okada N, Teshima H, Nakajima K, Nishimura S. Isolation of genes specifically expressed in flat revertant cells derived from activated ras-transformed NIH 3T3 cells by treatment with azatyrosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89 (11): 4879-83.
 78. Hajnal A, Klemenz R, Schäfer R. Up-regulation of lysyl oxidase in spontaneous revertants of H-ras-transformed rat fibroblasts. *Cancer Res* 1993; 53 (19): 4670-5.
 79. Friedman RM, Yeh A, Gutman P, Contente S, Kenyon K. Reversion by deletion of transforming oncogene following interferon-*beta* and retinoic acid treatment. *J Interferon Cytokine Res* 1997; 17 (10): 647-51.
 80. Hämäläinen ER, Kempainen R, Kuivaniemi H, Tromp G, Vaheri A, Pihlajaniemi T, *et al.* Quantitative polymerase chain reaction of lysyl oxidase mRNA in malignantly transformed human cell lines demonstrates that their low lysyl oxidase activity is due to low quantities of its mRNA and low levels of transcription of the respective gene. *J Biol Chem* 1995; 270 (37): 21590-3.
 81. Tan RS, Taniguchi T, Harada H. Identification of the lysyl oxidase gene as target of the antioncogenic transcription factor, IRF-1, and its possible role in tumor suppression. *Cancer Res* 1996; 56 (10): 2417-21.
 82. Hämäläinen ER, Jones TA, Sheer D, Taskinen K, Pihlajaniemi T, Kivirikko KI. Molecular cloning of human lysyl oxidase and assignment of the gene to chromosome 5q23.3-31.2. *Genomics* 1991; 11 (3): 508-16.
 83. Hämäläinen ER, Kempainen R, Pihlajaniemi T, Kivirikko KI. Structure of the human lysyl oxidase gene. *Genomics* 1993; 17 (3): 544-8.
 84. Tamura G, Ogasawara S, Nishizuka S, Sakata K, Maesawa C, Suzuki Y, *et al.* Two distinct regions of deletion on the long arm of chromosome 5 in differentiated adenocarcinomas of the stomach. *Cancer Res* 1996; 56 (3): 612-5.
 85. Wieland I, Bohm M, Arden KC, Ammermuller T, Bogatz S, Viars CS, Rajewsky MF. Allelic deletion mapping on chromosome 5 in human carcinomas. *Oncogene* 1996; 12 (1): 97-102.
 86. Giampuzzi M, Oleggini R, Albanese C, Pestell R, Di Donato A. *beta*-Catenin signaling and regulation of cyclin D1 promoter in NRK-49F cells transformed by down-regulation of the tumor suppressor lysyl oxidase. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1745 (3): 370-81.
 87. Contente S, Kenyon K, Sriraman P, Subramanyan S, Friedman RM. Epigenetic inhibition of lysyl oxidase

- transcription after transformation by ras oncogene. *Mol Cell Biochem* 1999; 194 (1-2): 79-91.
88. Jeay S, Pianetti S, Kagan HM, Sonenshein GE. Lysyl oxidase inhibits ras-mediated transformation by preventing activation of NF- κ B. *Mol Cell Biol* 2003; 23 (7): 2251-63.
 89. Xu X, Wang B, Xu Y. Expression of lysyl oxidase in human osteosarcoma and its clinical significance: a tumor suppressive role of LOX in human osteosarcoma cells. *Int J Oncol* 2013; 43 (5): 1578-86.
 90. Nishioka T, Eustace A, West C. Lysyl oxidase: from basic science to future cancer treatment. *Cell Struct Funct* 2012; 37 (1): 75-80.
 91. Barker HE, Cox TR, Erler JT. The rationale for targeting the LOX family in cancer. *Nature Rev Cancer* 2012; 12 (8): 540-52.
 92. Perryman L, Erler JT. Lysyl oxidase in cancer research. *Future Oncol* 2014; 10 (9): 1709-17.
 93. Li W, Zhou J, Chen L, Luo Z, Zhao Y. Lysyl oxidase, a critical intra- and extra-cellular target in the lung for cigarette smoke pathogenesis. *Int J Environ Res Public Health* 2011; 8 (1): 161-84.
 94. Taylor MA, Amin JD, Kirschmann DA, Schiemann WP. Lysyl oxidase contributes to mechanotransduction-mediated regulation of transforming growth factor- β signaling in breast cancer cells. *Neoplasia* 2011; 13 (5): 406-18.
 95. Arvelo F, Cotte C. Hipoxia en la malignidad del cáncer. *Invest Clin* 2009; 50 (4): 529-46.
 96. Erler JT, Bennewith KL, Nicolau M, Dornhöfer N, Kong C, Le QT, *et al.* Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. *Nature* 2006; 440 (7088): 1222-6.
 97. Pez F, Dayan F, Durivault J, Kaniewski B, Aimond G, Le Provost GS, *et al.* The HIF-1-inducible lysyl oxidase activates HIF-1 *via* the Akt pathway in a positive regulation loop and synergizes with HIF-1 in promoting tumor cell growth. *Cancer Res* 2011; 71 (5): 1647-57.
 98. Kirschmann DA, Seftor EA, Fong SF, Nieva DR, Sullivan CM, Edwards EM, *et al.* A molecular role for lysyl oxidase in breast cancer invasion. *Cancer Res* 2002; 62 (15): 4478-83.
 99. Wilgus ML, Borczuk AC, Stoopler M, Ginsburg M, Gorenstein L, Sonett JR, *et al.* Lysyl oxidase: a lung adenocarcinoma biomarker of invasion and survival. *Cancer* 2011; 117 (10): 2186-91.
 100. Baker AM, Cox TR, Bird D, Lang G, Murray GI, Sun XF, *et al.* The role of lysyl oxidase in SRC-dependent proliferation and metastasis of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103 (5): 407-24.
 101. Baker AM, Bird D, Welti JC, Gourlaouen M, Lang G, Murray GI, *et al.* Lysyl oxidase plays a critical role in endothelial cell stimulation to drive tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2013; 73 (2): 583-94.
 102. El-Haibi CP, Bell GW, Zhang J, Collmann AY, Wood D, Scherber CM, *et al.* Critical role for lysyl oxidase in mesenchymal stem cell-driven breast cancer malignancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109 (43): 17460-5.
 103. Friesenhengst A, Pribitzer-Winner T, Schreiber M. Association of the G473A polymorphism and expression of lysyl oxidase with breast cancer risk and survival in European women: a hospital-based case-control study. *PLoS One* 2014; 9 (8): e105579.
 104. Shi W, Yang B, Li X, Sun S, Wang L, Jiao S. The effect of lysyl oxidase polymorphism on susceptibility and prognosis of nonsmall cell lung cancer. *Tumour Biology* 2012; 33 (6): 2379-83.
 105. Teppo S, Sundquist E, Vered M, Holappa H, Parkkiseniemi J, Rinaldi T, *et al.* The hypoxic tumor microenvironment regulates invasion of aggressive oral carcinoma cells. *Exp Cell Res* 2013; 319 (4): 376-89.
 106. Yang X, Li S, Li W, Chen J, Xiao X, Wang Y, *et al.* Inactivation of lysyl oxidase by β -aminopropionitrile inhibits hypoxia-induced invasion and migration of cervical cancer cells. *Oncol Rep* 2013; 29 (2): 541-8.
 107. Bu M, Li L, Zhang Y, Xu Y, An S, Hou F, *et al.* Lysyl oxidase genetic variants affect gene expression in cervical cancer. *DNA Cell Biol* 2014; 33 (11): 787-92.
 108. Zhang Q, Jin XS, Yang ZY, Wei M, Zhu XC, Wang P, *et al.* Upregulated expression of LOX is a novel independent prognostic marker of worse outcome in gastric cancer patients after curative surgery. *Oncol Lett* 2013; 5 (3): 896-902.
 109. Sung FL, Cui Y, Hui EP, Li L, Loh TK, Tao Q, *et al.* Silencing of hypoxia-inducible tumor suppressor lysyl oxidase gene by promoter methylation activates carbonic anhydrase IX in nasopharyngeal carcinoma. *Am J Cancer Res* 2014; 4 (6): 789-800.
 110. Erler JT, Bennewith KL, Cox TR, Lang G, Bird D, Koong A, *et al.* Hypoxia-induced lysyl oxidase is a critical mediator of bone marrow cell recruitment to form the premetastatic niche. *Cancer Cell* 2009; 15 (1): 35-44.
 111. Han S, Feng S, Yuan G, Dong T, Gao D, Liang, *et al.* Lysyl oxidase genetic variants and the prognosis of glioma. *APMIS* 2014; 122 (3): 200-5.
 112. Gao X, Zhang S, Zhu Z. Lysyl oxidase rs1800449 polymorphism and cancer risk among Asians: evidence from a meta-analysis and a case-control study of colorectal cancer. *Mol Genet Genomics* 2015; 290 (1): 23-8.
 113. Sorensen BS, Alsner J, Overgaard J, Horsman MR. Hypoxia induced expression of endogenous markers *in vitro* is highly influenced by pH. *Radiother Oncol* 2007; 83 (3): 362-6.
 114. Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, Poellinger L, Lendahl U. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105 (17): 6392-7.
 115. Kaneda A, Wakazono K, Tsukamoto T, Watanabe N, Yagi Y, Tatematsu M, *et al.* Lysyl oxidase is a tumor suppressor gene inactivated by methylation and loss of heterozygosity in human gastric cancers. *Cancer Res* 2004; 64 (18): 6410-5.

116. Erler JT, Giaccia AJ. Lysyl oxidase mediates hypoxic control of metastasis. *Cancer Res* 2006; 66 (21): 10238-41.
117. Wong CC, Gilkes DM, Zhang H, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (39): 16369-74.
118. Liu JL, Wei W, Tang W, Jiang Y, Yang HW, Li JT, *et al.* Silencing of lysyl oxidase gene expression by RNA interference suppresses metastasis of breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13 (7): 3507-11.
119. Chu IM, Michalowski AM, Hoenerhoff M, Szauder KM, Luger D, Sato M, *et al.* GATA3 inhibits lysyl oxidase-mediated metastases of human basal triple-negative breast cancer cells. *Oncogene* 2012; 31 (16): 2017-27.
120. Alcudia JF, Martínez-González J, Guadall A, González-Diez M, Badimon L, Rodríguez C. Lysyl oxidase and endothelial dysfunction: mechanisms of lysyl oxidase down-regulation by pro-inflammatory cytokines. *Front Biosci* 2008; 13: 2721-7.
121. Rodríguez C, Martínez-González J, Raposo B, Alcudia JF, Guadall A, Badimon L. Regulation of lysyl oxidase in vascular cells: lysyl oxidase as a new player in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 2008; 79 (1): 7-13.
122. Kothapalli CR, Ramamurthi A. Lysyl oxidase enhances elastin synthesis and matrix formation by vascular smooth muscle cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2009; 3 (8): 655-61.
123. López B, González A, Hermida N, Valencia F, de Teresa E, Díez J. Role of lysyl oxidase in myocardial fibrosis: from basic science to clinical aspects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299 (1): H1-9.
124. López B, Querejeta R, González A, Larman M, Díez J. Collagen cross-linking but not collagen amount associates with elevated filling pressures in hypertensive patients with stage C heart failure: potential role of lysyl oxidase. *Hypertension* 2012; 60 (3): 677-83.
125. Ma L, Song H, Zhang M, Zhang D. Lysyl oxidase G473A polymorphism is associated with increased risk of coronary artery diseases. *DNA Cell Biol* 2011; 30 (12): 1033-7.
126. Maack C, Böhm M. Targeting mitochondrial oxidative stress in heart failure throttling the afterburner. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58 (1): 83-6.
127. Korol RM, Canham PB, Liu L, Viswanathan K, Ferguson GG, Hammond RR, *et al.* Detection of altered extracellular matrix in surface layers of unstable carotid plaque: an optical spectroscopy, birefringence and microarray genetic analysis. *Photochem Photobiol* 2011; 87 (5): 1164-72.
128. Merched AJ, Serhan CN, Chan L. Nutrigenetic disruption of inflammation-resolution homeostasis and atherogenesis. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2011; 4 (1): 12-24.
129. Osherov AB, Gotha L, Cheema AN, Qiang B, Strauss BH. Proteins mediating collagen biosynthesis and accumulation in arterial repair: novel targets for anti-restenosis therapy. *Cardiovasc Res* 2011; 91 (1): 16-26.
130. Kortsarz LA, Saravia Toledo S, Otero OA, Sánchez JA, Solá MV. Reestenosis "muy tardía", sintomática, de un stent coronario. *Rev Argent Cardiol* 2007; 75 (6): 487-9.
131. Avetisov SE, Mamikonian VR, Novikov IA. [The role of tear acidity and Cu-cofactor of lysyl oxidase activity in the pathogenesis of keratoconus]. *Vestn Oftalmol* 2011; 127 (2): 3-8. Original en ruso. Version en inglés: http://www.mediasphera.ru/msph/en/oftal/Vestnik_Oftalmology_2011-2_003_EN.pdf. Fecha de acceso: abril de 2016.
132. Bykhovskaya Y, Li X, Epifantseva I, Haritunians T, Siscovick D, Aldave A, *et al.* Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53 (7): 4152-7.
133. Dudakova L, Jirsova K. The impairment of lysyl oxidase in keratoconus and in keratoconus-associated disorders. *J Neural Transm (Vienna)* 2013; 120 (6): 977-82.
134. Yu H, Li T, Zou X, Yuan L, Hu J, Xu Z, *et al.* Effects of lysyl oxidase genetic variants on the susceptibility to rhegmatogenous retinal detachment and proliferative vitreoretinopathy. *Inflammation* 2013; 36 (4): 839-44.
135. Sethi A, Mao W, Wordinger RJ, Clark AF. Transforming growth factor-beta induces extracellular matrix protein cross-linking lysyl oxidase (LOX) genes in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52 (8): 5240-50.
136. Atzori L, Pinna AL, Pau M, Aste N. D-penicillamine elastosis perforans serpiginosa: description of two cases and review of the literature. *Dermatol Online J* 2011; 17 (4): 3.
137. Mendonça DB, Miguez PA, Mendonça G, Yamauchi M, Aragão FJ, Cooper LF. Titanium surface topography affects collagen biosynthesis of adherent cells. *Bone* 2011; 49 (3): 463-72.
138. Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Aust Dent J* 2012; 57 (2): 207-212.
139. Cui C, Wang S, Myneni VD, Hitomi K, Kaartinen MT. Transglutaminase activity arising from Factor XIIIa is required for stabilization and conversion of plasma fibronectin into matrix in osteoblast cultures. *Bone* 2014; 59: 127-38.
140. Wang L, Uhlig PC, Eikenberry EF, Robenek H, Bruckner P, Hansen U. Lateral growth limitation of corneal fibrils and their lamellar stacking depend on covalent collagen cross-linking by transglutaminase-2 and lysyl oxidases, respectively. *J Biol Chem* 2014; 289 (2): 921-9.
141. Cui C, Kaartinen MT. Serotonin (5-HT) inhibits Factor XIII-A-mediated plasma fibronectin matrix assembly and crosslinking in osteoblast cultures via direct competition with transamidation. *Bone* 2015; 72: 43-52.

142. Bogaard HJ, Mizuno S, Guignabert C, Al Hussaini AA, Farkas D, Ruiter G, *et al.* Copper dependence of angioproliferation in pulmonary arterial hypertension in rats and humans. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 46 (5): 582-91.
143. Chen GF, Sudhahar V, Youn SW, Das A, Cho J, Kamiya T, *et al.* Copper transport protein Antioxidant-1 promotes inflammatory neovascularization via chaperone and transcription factor Function. *Sci Rep* 2015; 5: 14780.
144. Palamakumbura AH, Jeay S, Guo Y, Pischon N, Sommer P, Sonenshein GE, *et al.* The propeptide domain of lysyl oxidase induces phenotypic reversion of ras-transformed cells. *J Biol Chem* 2004; 279 (39): 40593-600.
145. Wu M, Min C, Wang X, Yu Z, Kirsch KH, Trackman PC, *et al.* Repression of BCL2 by the tumor suppressor activity of the lysyl oxidase propeptide inhibits transformed phenotype of lung and pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67 (13): 6278-85.
146. Min C, Kirsch KH, Zhao Y, Jeay S, Palamakumbura AH, Trackman PC, *et al.* The tumor suppressor activity of the lysyl oxidase propeptide reverses the invasive phenotype of Her-2/neu-driven breast cancer. *Cancer Res* 2007; 67 (3): 1105-12.
147. Hurtado PA, Vora S, Sume SS, Yang D, St Hilaire C, Guo Y, *et al.* Lysyl oxidase propeptide inhibits smooth muscle cell signaling and proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366 (1): 156-61.
148. Zhao Y, Min C, Vora SR, Trackman PC, Sonenshein GE, Kirsch KH. The lysyl oxidase pro-peptide attenuates fibronectin-mediated activation of focal adhesion kinase and p130Cas in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2009; 284 (3): 1385-93.
149. Sato S, Trackman PC, Mäki JM, Myllyharju J, Kirsch KH, Sonenshein GE. The Ras signaling inhibitor LOX-PP interacts with Hsp70 and c-Raf to reduce Erk activation and transformed phenotype of breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2011; 31 (13): 2683-95.
150. Sánchez-Morgan N, Kirsch KH, Trackman PC, Sonenshein GE. The lysyl oxidase propeptide interacts with the receptor-type protein tyrosine phosphatase *kappa* and inhibits β -catenin transcriptional activity in lung cancer cells. *Mol Cell Biol* 2011; 31 (16): 3286-97.
151. Yu Z, Sato S, Trackman PC, Kirsch KH, Sonenshein GE. Blimp1 activation by AP-1 in human lung cancer cells promotes a migratory phenotype and is inhibited by the lysyl oxidase propeptide. *PLoS One* 2012; 7 (3): e33287.
152. Zheng Y, Wang X, Wang H, Yan W, Zhang Q, Chang X. Expression of the lysyl oxidase propeptide in hepatocellular carcinoma and its clinical relevance. *Oncol Rep* 2014; 31 (4): 1669-76.
153. Agra N, Cidre F, García-García L, de la Parra J, Alonso J. Lysyl oxidase is downregulated by the EWS/FLI1 oncoprotein and its propeptide domain displays tumor suppressor activities in Ewing sarcoma cells. *PLoS One* 2013; 8 (6): e66281.

Recibido: 2 de abril de 2016

Aceptado: 6 de mayo de 2016