

# Aspectos biomédicos de las fosfolipasas A2 en la especie humana

Grégory Alfonso García Morán, MD\*<sup>†</sup>

Álvaro Andrés Gaitán\*\*

Ananías García Cardona, DDC<sup>††§</sup>

Dianney Clavijo Grimaldi, MD<sup>§§°</sup>

Ómar Ramón Mejía, MD<sup>§</sup>

Claudia Cobos, MD<sup>°°</sup>

Ciro Alfonso Casadiego, MD<sup>°</sup>

## Resumen

Las fosfolipasas son un grupo ubicuo y diverso de enzimas, descritas desde 1967, que inducen cambios en la composición membranal, activan la cascada inflamatoria y alteran las vías de señalización celular. Las fosfolipasas A2(PLA2) son enzimas responsables por la movilización de ácidos grasos, incluyendo el ácido araquidónico(AA), a partir de los fosfolípidos. Estas enzimas son clasificadas en las PLA2 citosólicas de alto peso molecular y las PLA2 secretorias de bajo peso molecular. El metabolismo del ácido araquidónico puede seguir su metabolismo a múltiples e interrelacionadas rutas, promoviendo la generación y la liberación de una amplia variedad de sustancias biológicamente activas. Las células inflamatorias son capaces de liberar ácido araquidónico, el cual puede ser metabolizado por ciclooxigenasas, lipooxigenasas y citocromos P450 mono-oxigenasas, entre otros destinos bioquímicos. Adicionalmente, varios receptores de superficie han sido identificados, como el PLA2R1. En este artículo resumimos la evidencia reciente de la actividad fundamental que las PLA2 juegan en escenarios biológicos y patobiológicos. [García GA, Gaitán AA, García A, Clavijo D, Mejía OR, Cobos C, Casadiego CA. Aspectos biomédicos de las fosfolipasas A2 en la especie humana. MedUNAB 2008;11:14-27]

**Palabras clave:** Fosfolipasa A2 (PLA2), inflamación, malformaciones cerebrales, síndrome metabólico, veneno herpético.

## Summary

Phospholipases are ubiquitous and diverse enzymes group that induce changes in membrane composition, activate the inflammatory cascade and alter cell signaling pathways. Phospholipases A(2) (PLA(2)s) are enzymes responsible for mobilization of fatty acids, including arachidonic acid (AA), from phospholipids. These enzymes are classified as high-molecular-weight cytosolic PLA(2)s (cPLA(2)s) and low-molecular-weight secretory PLA(2)s (sPLA(2)s). The metabolism of arachidonic acid may follow multiple, inter-related pathways, leading to the generation or release of a wide variety of biologically active substances. Inflammatory cells are capable of releasing arachidonic acid, which may be further metabolized by cyclooxygenase, lipoxygenase, and cytochrome P450 monooxygenase enzymes, among other biochemistry fates. In addition, several different types of surface receptors for PLA2 have been identified, like PLA2R1. In this article we summarize recent evidence of the fundamental activity that PLA2 plays in biologic and pathobiologic setting. [García GA, Gaitán AA, García A, Clavijo D, Mejía OR, Cobos C, Casadiego CA. Biomedical aspects of fosfolipasas A2 in humans. MedUNAB 2008;11:14-27]

**Key words:** Cerebral malformation, inflammation, metabolic syndrome, phospholipase A2 (PLA2), snake venom.

\* Profesor, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria Unisánitas, Bogotá, Colombia.

<sup>†</sup> Profesor, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

\*\* Estudiante, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria San Martín, Bogotá, Colombia; Research Scholar, UTHSCSA, USA.

<sup>††</sup> Profesor, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

<sup>§</sup> Profesor, Facultad de Rehabilitación, Terapia y Desarrollo Humano, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

<sup>§§</sup> Profesor, Fundación Universitaria Unisánitas, Bogotá, Colombia.

<sup>°</sup> Profesor, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

<sup>°°</sup> Centro de Estudios e Investigación en Salud, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia.

**Correspondencia:** Dr. Mejía, e-mail: mejiaomar@unbosque.edu.co o omejia@urosario.edu.co

Artículo recibido: 30 de abril de 2007; aceptado: 20 de diciembre de 2007.

## Introducción

Las enzimas que hidrolizan el puente *sn*2-éster de los glicerosfosfolípidos y que generan la liberación de ácidos grasos insaturados (mono- o poli-insaturados), como por ejemplo, el ácido araquidónico (limitando así la rata o tasa de biosíntesis de los lípidos autocoides, denominados como eicosanoides), se denominan como fosfolipasas A2 (PLA2). Ellas pertenecen a la familia de las fosfolipasas, a la superfamilia de las Lipasas y a la Megafamilia de las Hidrolasas.<sup>1</sup> En la nomenclatura propuesta por IUBMB (del inglés *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*), las PLA2 se cobijan bajo la clasificación EC 3.1.1.4.<sup>2</sup> El conocimiento de esta área ha provenido principalmente de la investigación biomédica en ácido araquidónico y prostaglandinas (PGs) y del estudio de biotoxinas herpetológicas (venenos de víboras). No tocaremos lo pertinente al papel de la PLA2 en coagulación y función plaquetaria, porque está abarcada vieja data en textos clásicos de bioquímica y hematología.

## Metodología

Dentro de nuestro grupo de investigación formativa nació la inquietud de profundizar en el conocimiento de estas enzimas, puesto que en diversos campos biomédicos había una explosión de información, y un desconocimiento rampante de este tópico. Decidimos hacer una revisión secundaria, motivado esto por dos factores: la gran cantidad de literatura de artículos de investigación en diversos y disímiles campos (del inglés *research article*), y el hecho de que ninguno de los autores se desempeñe como investigador de punta en la temática.

Para efectuar esta revisión se consultó la literatura científica médica humana, haciendo una búsqueda electrónica en la mayor base de información norteamericana PubMed (del inglés *National Library of Medicine database*)<sup>3</sup> y en la mayor base de información europea Embase (del inglés *The bibliographic database for biomedical and pharmacological information*), utilizando en ambos casos la matriz de búsqueda "*human phospholipase A2 review*". El límite temporal se condicionó a la presencia de literatura específica y pertinente en los últimos cinco años, para cada ítem relacionado al enfoque de esta revisión. Se seleccionaron las bibliografías más científicas, sustentadas y completas para cada campo y subcampo relacionado, y se tuvieron en cuenta algunas bibliográficas específicas anteriores al límite temporal, dado que mostraron ser significativas para el cuerpo teórico presentado.<sup>4</sup>

Otro criterio de selección fue los manuscritos de los autores que efectúan investigación de frontera en esta área. También se consultó el Banco de Genética y Genómica Humana MIM (del inglés *Mendelian Inheritance McKusick*) y el HUGO (del inglés *Human Genome Organization*).<sup>5</sup> A lo largo de la revisión se utilizarán las nomenclaturas aceptadas, y la codificación asignada por MIM y HUGO para nominar genes, proteínas y enfermedades.

## Escenciales en la diversidad de las PLA2

La temática de las PLA2 es fascinante y amplísima, y pobremente conocida, es por eso que sólo nos remitiremos a mencionar lo fundamental.

El primer autor que intentó realizar una clasificación fue Eduard A. Dennis, del Departamento de Química del Centro de Genética Molecular de la Escuela de Medicina de la Universidad de California, quien basado en la información disponible al año 1994, formó cuatro grupos: Grupo I donde está la enzima pancreática, y enzimas obtenidas de cobras y crótalos; Grupo II donde se encuentran la enzima sinovial, y enzimas derivadas del veneno de víboras y cazadoras de ratones; Grupo III donde se clasifican varias enzimas derivadas de lagartos y abejas; y Grupo IV donde están todas las enzimas citosólicas.<sup>6</sup> Gracias a los avances en biología celular y molecular, genética, genómica y proteómica, las PLA2 se han podido clasificar en la actualidad así:

De acuerdo a su localización celular y tisular en dos grandes tipos: las citosólicas y las secretorias.

De acuerdo a su dependencia de calcio en variedades calcio-dependientes y calcio-independientes.

Las variedades citosólicas calcio-dependientes (iPLA2 o cPLA2) corresponden en la clasificación general propuesta por la IUBMB al grupo IVA, y se han encontrado cuatro grandes tipos de miembros o isoenzimas en mamíferos: cPLA2alfa, cPLA2beta, cPLA2gamma y cPLA2delta. La cPLA2gamma es una forma anclada a membrana por medio de farnesilación, y corresponde en la especie humana a PLA2GC (o PLA2G5). Las variedades cPLA2alfa, cPLA2beta y cPLA2delta poseen característicamente un dominio C2, que les permite en presencia del calcio ser reclutadas a las membranas celulares, puesto que reconocen fosfolípidos. Esta última propiedad les hace blanco de inhibición competitiva por un grupo de proteínas que se denominan como Annexinas, las cuales reconocen y unen fosfolípidos en presencia de calcio.

cPLA2alfa también es muy particular porque ella es regulada por fosforilación, la cual resulta generalmente en activación. Tres sitios clave en la fosforilación de cPLA2alfa son un residuo de serina (ser505) fosforilado por diversas Serina/Treonina-Kinasas del tipo MAPKs (del inglés *mitogen-activated protein kinase*), otra serina (ser515) fosforilada por CaMKII (Calmodulina Kinasa II) y serina (ser727) fosforilado por MNK1 (del inglés *mitogen-activated protein kinase-interacting serine/threonine kinase 1*). cPLA2alfa también es regulada negativamente por la interacción directa de la proteína citoesquelética vimentina, miembros de la familia proteica S100 y miembros de la familia proteica de las Annexinas, y positivamente por la proteína PLIP (del inglés *PLA2-interacting protein*). PLIP es una proteína derivada del mismo gen codificante de TIP60/HTATIP (del inglés *HIV-1 TAT-interacting protein, 60-KD*), TIP60 es una histona-desacetilasa y una variedad

por corte y empalme alternativo del ARNm produce una proteína con actividad reguladora para la cPLA2alfa. Aún no hay claridad sobre el papel de sistemas de proteínas G triméricas, si la activación que ejercería es directa o indirecta.

Las variedades citosólicas calcio-independientes pertenecen al grupo VI y se conocen dos miembros, y por ende 2 genes: la variedad PLA2-GPVIA con 5 tipos distintos por corte y empalme alternativo (del inglés *splicing*) del ARNm, y la variedad PLA2-GPVIB con 2 tipos distintos de GPVIB por el mismo mecanismo.

Las variedades secretorias (sPLA2) en mamíferos corresponden a los grupos IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, V, X y XIIA, y de ellas, las pertenecientes a los grupos I, II, V y X son calcio dependientes. Las PLA2 de los grupos IIA, IID, IIE y V poseen una región carboxi-terminal con aminoácidos básicos que les permite interactuar con glicosaminoglicanos (GAG) del tipo heparán-sulfato y heparina, presentes en proteoglicanos (PG) como es el caso en especial de los *glypicanes*.<sup>7</sup> La genética y la genómica de estas enzimas, se presenta en la tabla 1.

## Funciones generales de las PLA2

Las sPLA2 están involucradas gracias a su actividad catalítica en:

Comunicación y señalización celular, puesto que liberan lípidos autocoides.<sup>8</sup>

Inmunidad innata, puesto que funcionan como citotoxinas frente a las membranas celulares de agentes patógenos o células neoplásicas. Así por ejemplo, algunas formas secretorias producidas por las células de Paneth del intestino poseen actividad microbicida.<sup>9,10</sup>

Fertilidad, por cuanto su detección ha sido determinada en el epitelio germinatriz seminífero, en los espermatozoides maduros y en la próstata (en especial, en lóbulo posterior y glándulas parauretrales). La actividad de la PLA2G7 es detectable en el semen humano, y esta enzima es un factor candidato para decapitación espermática, mientras que sus sustratos PAFs (factores activadores plaquetarios) son cualificados como candidatos para capacitación espermática. Así mismo, el acrosoma espermático posee diversas enzimas lisosomales, y entre ellas una PLA2 no caracterizada aún, la cual degrada en especial el 1-palmitoil-2-docosahexaenoil-*sn*-glicerol-3-fosfolina (PDPC), el cual es el principal fosfolípido del espermalema.<sup>11</sup> Los autocoides eicosanoides denominados como endocannabinoides (ver más abajo) son claves en el proceso de implantación placentaria.<sup>12</sup>

Permeabilidad cutánea, dado que las sPLA2 degradan lípidos polares en los estratos más exteriores epidérmicos, generando ácidos grasos, los cuales en conjunción con la ceramida, son los mayores impermeabilizadores del estrato córneo.<sup>13,14</sup>

Las iPLA2 calcio-independientes actúan en:

Remodelamiento membranal, dado que participa activamente en el mantenimiento y reciclaje fosfolipídico.

Comunicación y señalización celular, ya que está involucrada en la ruta de salvamento de calcio, la cual consiste en que cuando hay disminución franca de las concentraciones de calcio a nivel intracelular, se activa el flujo plasmalémico a través de canales y bombas de influjo.

Apoptosis, debido a que una variante de la PLA2VIA son clivadas por enzimas de muerte celular como las CASPASAs (del inglés *aspartate-specific cysteine protease*), tras lo cual son activadas y participan en el empaquetamiento de cuerpos apoptóticos. Adicionalmente, ya en la superficie de los cuerpos apoptóticos actúa sobre los fosfolípidos y se liberan secundariamente mediadores lipídicos autocoides que promueven una respuesta inmune tolerante.

Una variedad enzimática específica de PLA2VIB se encuentra en los peroxisomas, y podría estar involucrada en diversos procesos del metabolismo de lípidos en órganos como el hígado.<sup>15</sup>

Las iPLA2 calcio-dependientes: implicadas en particular en señalización intracelular.<sup>1,6,7</sup>

## PLA2 en comunicación y señalización celular

Su funcionalidad se remite clásicamente en particular a su papel como liberador del precursor ácido araquidónico desde fosfolípidos plasmalémicos para que éste sea tomado como sustrato para la biosíntesis de lípidos autocoides. Se debe aclarar que hoy se ha encontrado que las rutas de señalización no sólo se relacionan a la plasmalema (membrana celular) sino que incluso a membranas como la nuclear, y así mismo no sólo el ácido araquidónico es el único sustrato, también lo son en general muchos de los ácidos grasos poli-insaturados (AGPIs, del inglés PUFA: *Poly Unsaturated Fatty Acid*), así por ejemplo, puede ser utilizado por parte de:

- Las ciclooxigenasas (prostaglandinas, tromboxanos).<sup>8,16</sup>
- Las lipooxigenasas (leucotrienos).<sup>8,16,17</sup>
- La ruta biosintética de los endocannabinoides (ej.: anandamida)<sup>18</sup>
- La ruta de biosíntesis de los PAFs<sup>19</sup>
- La ruta de los citocromos (ej.: hetes-ácidos hidroxi-eicosatetraenoicos- y eets-ácidos eicosatetraenoicos).<sup>20,21</sup>
- La ruta de los endovaniloides (ej.: araquidonil-dopamina)<sup>22</sup>
- También por medio de mecanismos anaenzimáticos, es decir, en la ausencia de enzimas, se puede directamente ciclar los ácidos grasos y generar ciclamiento mediante radicales libres, donde los productos finales poseen actividades biológicas y se les llama isoprostanos.<sup>23</sup>

**Tabla 1.** Genética y genómica de las PLA2 de la especie humana

PLA2 miembro	Otros nombres	Localización cromosómica	Código MIM	Entidades nosológicas relacionadas
PLA2G1B	Polipéptido A de la PLA2 pancreática	12q23-24.1	172410	¿Síndrome metabólico?
PLA2G2A	Polipéptido B de la PLA2 de plaquetas y fluido sinovial, MOM1 ( <i>Modifier of Min-1, mouse, homolog</i> )	1p35	172411	Cáncer colo-rectal esporádico
PLA2G2C	PLA2G5	1p34-36.1	601192	No definido
PLA2G2D	SPLASH ( <i>Secretory-type, stroma-associated homolog</i> )	1p36.12	605630	No definido
PLA2G2E		1p36.13	No definido	No definido
PLA2G2F		1p35	No definido	No definido
PLA2G3	GIII-SPLA2	22q11.2-13.2	No definido	No definido
PLA2G4A	Citosólica calcio-dependiente, cPLA2alfa	1q25		No definido
PLA2G4B	Citosólica calcio-dependiente, cPLA2beta	15	606088	No definido
PLA2G4C	Citosólica calcio-independiente, cPLA2gamma	19	603602	No definido
PLA2G4D	Citosólica	15q14	No definido	No definido
PLA2G4E	FLJ45651	15q15.1	No definido	No definido
PLA2G4F	PLA2G4F/Z	15q15.1	No definido	No definido
PLA2G6A	iPLA2, PNPLA9, IPLA2-1	22q13.1	603604	Distrofia neuroaxonal infantil, neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro, Síndrome de Karak
PLA2G6B	PNPLA8, IPLA2G, IPLA2-2	7q31	No definido	No definido
PLA2G7 (variedad secretoria inflamatoria)	PAFAH1A (Factor activador de plaquetas) - Acetil-hidrolasa plasmática lipoproteína-asociada (LDL-PLA2)	6p21.2-p12	601690	Disminución en inflamación intestinal (Ej.: enterocolitis necrozante y enfermedad de Chron), aumento en enfermedad cardiovascular y sus complicaciones, deficiencia adquirida en lupus eritematoso sistémico y asma
PAFAH2	HSD-PLA2	1p34.3	602344	No definido
PAFAH1B1 (Subunidad alfa de PLA2G7 cerebral)	LIS1 (lisencefalia gen 1)	17p13.3	601545	Variedades fenotípicas de lisencefalia (ej: lisencefalia secuencia aislada, heterotopia subcortical laminar en banda)
PAFAH1B2 (Subunidad beta de PLA2G7 cerebral)		11q23	602508	No definido
PAFAH1B3 (Subunidad gamma de la PLA2G7 cerebral)		19q13.1	603074	No definido
PLA2G10	GXSPLA2 (PLA2 secretoria calcio-dependiente)	16p13.1-12	603603	No definido
PLA2G12A		4q25	No definido	No definido
PLA2G12B		10q22.1	No definido	No definido
PLA2 lisosomal	PRDX6 (peroxiredoxina 6), aiPLA2 (calcio independiente ácida) AOP2, KIAA0106, 1-Cys, NSGPx, PRX, , MGC46173, p29	1q24.1	602316	No definido
PNPLA1 ( <i>patatin-like phospholipase domain-containing protein 1</i> )		No definido	6p21.31	No definido
PNPLA2	PLA2 calcio independiente Zeta, desnutrina, TTS2 ( <i>transport-secretion protein 2</i> ), ATGL ( <i>adipose triglyceride lipase</i> )	11p15.5	609059	Enfermedad de depósito de lípidos neutros con miopatía
PNPLA3	PLA2 calcio independiente épsilon, Adiponitrina	22q13.31	609567	No definido
PNPLA4	PLA2 calcio independiente eta, GS2, DXS1283E	Xp22.3	300102	No definido
PNPLA5	GS2L	22q13.31	No definido	No definido
PNPLA6		19p13.2	No definido	No definido
PNPLA7		9q34.3	No definido	No definido
PNPLA10P	Pseudogén	Xq25		No definido
OC90 (Otoconin 90)	PLA2L, OMP-PLA2 ( <i>Otoconial matrix protein</i> )	8q24	601658	No definido
HHLA1 ( <i>Human endogenous retrovirus-h long terminal repeat-associating 1</i> )	PLA2L-HERV (Corte y empalme alternativo de un retrovirus endógeno humano)	8q24	604109	No definido



De tal manera que, mucha de la biología y patobiología de las PLA2 es indirecta y se deriva de la acción de los autocoides sobre receptores membranales y nucleares. Adicionalmente, los ácidos grasos libres liberados por la acción catalítica de PLA2 pueden actuar por medio de receptores:

- Receptores membranales del tipo serpentina asociados a sistemas de proteínas G trimérico GPR (del inglés *G protein-coupled receptor*) como GPR40 (ácidos grasos de cadena media), GPR41 (ácidos grasos de cadena corta), GPR43 (ácidos grasos de cadena corta) y GPR120 (ácidos grasos de cadena larga).<sup>24</sup>
- Receptores nucleares tales como los miembros de la familia PPAR (del inglés *peroxisome proliferator-activated receptor*).<sup>25</sup> En la figura 1 se esquematiza la gama biosintética descrita.

Al respecto de la localización final de estos lípidos autocoides, es pertinente aclarar que cuando se sintetizan a partir de fosfolípidos de la hojuela exterior de la membrana plasmática, ellos difunden a blancos celulares autocrinamente, paracrinamente o endocrinamente (ej.:PGE2), o pueden ser bombeados hacia el interior celular a través de transportadores ATP-dependientes del tipo ABC (del inglés *ATP-binding cassette*) llamados MDR (del inglés *multidrug resistance*). Por otro lado, cuando son sintetizados a partir de fosfolípidos de la hojuela interior de la plasmalema, los lípidos autocoides o actúan intracrinamente o son efluídos hacia el exterior también a través de los MDR.<sup>26,27</sup>

## Lisofosfolípidos como mediadores de comunicación celular

Aunque por mucho tiempo se le ha dado una trascendencia biológica a los AGPIs, con sus receptores membranales, receptores nucleares o como sustratos bases para la biosíntesis de eicosanoides, hoy resulta clave en la dinámica celular, tisular y sistémica, el rol que juega el otro producto lipídico, es decir, el liso-fosfolípido (LP). Estos LP, corresponden al mono-acil-glicerol-3-fosfato, conservan uno de los ácidos grasos, son de diversa naturaleza, y pobremente entendidos aún.

Se ha teorizado sobre la existencia de varios tipo de LP, y la evidencia de laboratorio actualmente ha demostrado tal existencia y amplitud de biomoléculas, tales como los derivados de las fosfatidil-colinas (LPC), de los fosfatilinositoles (LPI), lisoplasmalógenos y, así, sendamente para cada variedad de fosfolípido membranal, incluyendo los liso-esfingofosfolípidos como la esfingosina-1-fosfato.

Sin embargo, el conocimiento biológico y patobiológico es pobre para estas biomoléculas, excepto para las LPC.<sup>28</sup> Los LPC actúan por medio de dos receptores membranales: GPR4, GPR8 y GPR132. Igualmente, para el resto de LP se

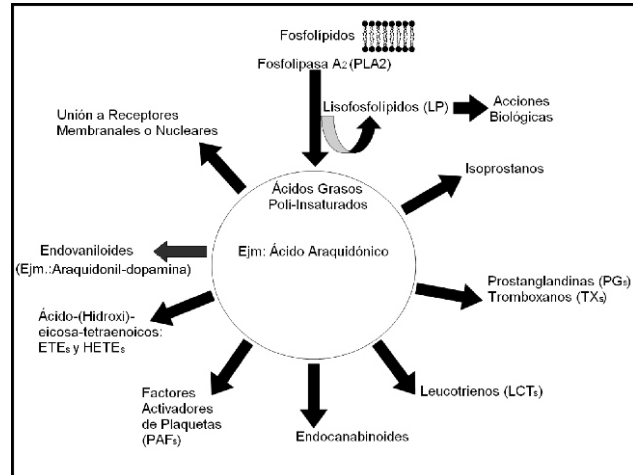


Figura 1. Señalización celular

ha encontrado que una familia de receptores serpentina plasmalémicos, tales como la familia EDG y GPR23 (receptor específico para el ácido 1-oleoil-lisofosfatídico).<sup>29,30</sup> En total para todas estas moléculas se conocen en la actualidad 15 receptores, cuya información pertinente a genética y genómica se encuentra depositada en la tabla 2.

Los LP son catabolizados para en esa forma ejercer un efecto transitorio, así se tiene por ejemplo, que los LPC son catabolizados por diversos mecanismos entre los que se incluyen 17 enzimas reconocidas en la actualidad en nuestra especie, que corresponden bioquímicamente a lisofosfolipasas (LPCAsas). Los productos finales, poseen actividades biológicas, así por ejemplo los productos finales de la acción de la enzima lisofosfolipasa D sérica, se comportan como MCC séricos, que evocan respuestas similares a las de un factor de crecimiento.<sup>31</sup> La lisofosfolipasa D pertenece a un grupo de enzimas de alta expresión en lesiones neoplásicas en especial metastásicas, por lo cual se les denomina como autotaxinas o AMF (del inglés *autocrine motility factor*). Normalmente la lisofosfolipasa D se expresa en el hígado, siendo este el principal órgano catabólico de LP. Las autotaxinas promueven tanto proliferación como migración celular.<sup>32</sup> La información pertinente a la genética y la genómica de las LPCAsas se encuentra en la tabla 3.

## PLA2 como un MCC del tipo citoquina

El término MCC se refiere a toda sustancia sintetizada por las células de un organismo o una organización multicelular con la finalidad de generar comunicación entre sus diversos componentes y en ese orden de ideas favorecer las respuestas orquestadas frente a estímulos de índole endógena o exógena, todo ello en aras de producir un proceso de homeostasis, situación que incluso incluye la morfogénesis. El término MCC equivale al de primer mensajero o ligando. Los MCC son de naturaleza variada si nos referimos a sustancias químicas o por decirlo en forma más adecuada “sustancias

**Tabla 2.** Genética y genómica de los receptores para LPC

Receptores membranales	Otros nombres	Localización cromosómica	Código MIM	Entidades nosológicas relacionadas
GPR3	ACCA ( <i>Adenylate cyclase constitutive activator</i> )	1p36.1-p34.3	600241	No definido
GPR4		19q13.2-q13.3	600551	No definido
GPR6		6q21-q22.1	600553	No definido
GPR8	OGR1 ( <i>Ovarian cancer G protein-coupled receptor 1</i> )	14q31	601404	No definido
GPR12		13q12	600752	No definido
GPR23	P2Y5L ( <i>receptor purinergic P2Y, g protein-coupled like</i> ), P2RY9	Xq13-q21.1	300086	No definido
GPR132	G2A ( <i>G2 accumulation protein</i> )	14q32.3	606167	No definido
EDG1 ( <i>Endothelial differentiation gene 1</i> )	S1P1 ( <i>S1P receptor 1</i> )	1p21	601974	No definido
EDG2	VZG1 ( <i>ventricular zone gene 1</i> ), LPA1	9q	602282	No definido
EDG3	S1P3	9q22.1-q22.2	601965	No definido
EDG4	LPA2	19p12	605110	No definido
EDG5	S1P2	19q13	605111	No definido
EDG6	S1P4	19p13.3	603751	No definido
EDG7	LPA3	1p31.1-p22.3	605106	No definido
EDG8	S1P5	19p13.2	605146	No definido

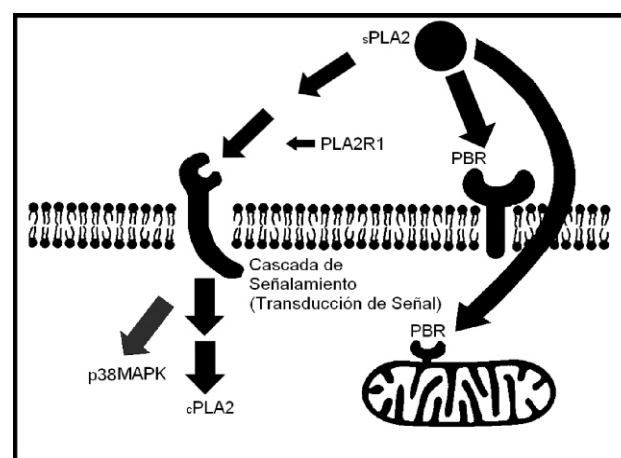
bioquímicas”, pero no todas son de naturaleza orgánica, es decir que posean carbono, siendo un ejemplo el óxido nítrico (NO).

Las sPLA2 IB y X tienen actividad funcional como MCC, puesto que poseen un receptor membranal celular, es decir en la plasmalema. El PLA2R1 (del inglés *Phospholipase A2 receptor 1*) es una proteína de 180KD, transmembranal del tipo I, cuyo gen codificante se encuentra en el cromosoma 2(2q23-q24). El PLA2R1 es miembro de la familia de las lectinas, proteínas que reconocen carbohidratos libres o en contextos glicolipídicos y glicoproteicos. El rastreo genético le hace pertenecer al subgrupo VI de lectinas, donde comparte familiaridad con miembros como la lectina DEC205 (en nomenclatura de antígenos hemato-inmunes, CD205) y MCR1 (del inglés *macrophage mannose receptor 1*), presente en células presentadoras de antígenos (APC) del tipo células dendríticas.

PLA2R1 tiene funciones accesorias, conclusiones tomadas a partir de que una versión soluble de este receptor se deriva a partir del clivamiento (corte proteolítico) desde la membrana celular, acción catalizada por metaloproteinasas, y otras versiones se derivan a partir del corte y empalme alternativo del ARNm. Estas versiones solubles actúan como inhibidores de las PLA2 mediante el mecanismo de señuelo, incluso se ha encontrado que la actividad catalítica es menguada. PLA2R1 tiene una cascada de señalización intracelular donde se han dilucidado componentes como la p38MAPK (del inglés *mitogen-activated protein kinase kinase*), e incluso, lejos de ser

curioso y no coincidente, las cPLA2. PLA2R1 también funciona como un receptor de aclaramiento (del inglés *clearance*) para las PLA2, en particular parece ser importante esto dada la expresión en macrófago retículo-endoteliales. Una amplia variedad de células expresan este receptor, en particular células de linaje hemato-inmune, y la gran mayoría de la evidencia muestra un rol activatorio, que culmina en proliferación celular, migración celular, liberación hormonal, producción de mediadores lipídicos y producción citoquinina.<sup>33</sup>

Finalmente a este respecto, no se puede olvidar que las PLA2 extracelulares junto con la protoporphirina IX, y las endozepinas DBI (del inglés *diazepam binding inhibitor*),

**Figura 2.** Cascada de señalización

**Tabla 3.** Genética y Genómica de las LPCAsas

Enzima catabolizante	Otros nombres	Localización cromosómica	Código MIM	Entidades nosológicas relacionadas
LYPLA1 ( <i>Lysophospholipase I</i> )		8	605599	
LYPLAL1 ( <i>LYPLA-like 1</i> )	Q96AV0	1q41	No definido	No definido
LYPLA2 (Lisofosfo-lipasa II)	APT2 (Acil-protein-thioesterasa), lecitinasas B, lisolecitinasas, phospholipase B.	1p36.12-p35 *Pseudogén en: 6p21.31, también denominado dJ570F3.6 o APT.	No definido	No definido
LYPLA3	LLPL ( <i>LCAT-like lysophospholipase</i> ), ACS ( <i>acylceramide synthase</i> ), LPLA2 ( <i>lysosomal phospholipase A2</i> )	16q22.1	609362	No definido
CLCP (Proteína de los cristales de Charcot-Robin-Leyden de los eosinófilos)	Galectina 10 *pseudogén en: 22q11.2	19q13.1	No definido	No definido
CEL (Carboxil-éster-lipasa)	Carboxil-éster hidrolasa, colesterol-esterasa, lisofosfolipasa, BSSL (lipasa estimulada por sales biliares), BSDL (lipasa dependiente de sales biliares) incluyendo la isoforma oncofetal, FAPP (fotoacinar pancreática proteína), CELL ( <i>Carboxyl-ester lipase-like</i> )	9q34.3	114840	MODY ( <i>Maturity-onset diabetes of the young</i> ) tipo VIII, con disfunción exocrina, de herencia autosómica dominante
ENPP1 ( <i>Ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase 1</i> )	PC-1 o PCA1 ( <i>Plasma Cell antigen-1</i> ), M6S1	6q22-q23	173335	Gen de susceptibilidad a diabetes mellitus tipo 2, obesidad y osificación del ligamento longitudinal posterior; calcificación arterial generalizada de presentación en la infancia
ENPP2	PDNP2 ( <i>phosphodiesterase /nucleotide pyrophosphatase 2</i> ), PDI-alfa, ATX (autotaxina), Lisofosfolipasa D	8q24.1	601060	No definido
ENPP3	PD-IBETA, gp130RB13-6, B10, CD203c	6q22	602182	No definido
ENPP4	NPP4, KIAA0879	6p11.2-p21.1	No definido	No definido
ENPP5		6p11.2-p21.1	No definido	No definido
ENPP6	MGC33971	4q35.1	No definido	No definido
ENPP7	alk-SMase	17q25.3	No definido	No definido
MGLL (Mono-glicérido-lipasa)	MGL, HUK5	3	609699	No definido
LGALS13 ( <i>Lectin, galactoside-binding, soluble, 13</i> )	GAL13 (galectina 13), PP13 (proteína placentaria 13)	19q13.1	608717	No definido
PSPLA1 ( <i>Phosphatidylserine-specific phospholipase a1-alpha</i> )		3q13.2-q13.3	607460	No definido
Lipasa H	MPAPLA1 ( <i>Membrane-associated phosphatidic acid-selective phospholipase A1</i> )	3q27-q28	607365	Hipotricosis total del tipo presente en descendientes de las etnias Mari y Chuvash

TTN (del inglés *triakontatetrapeptide*) y ODN (del inglés *octadecaneuropeptide*), son ligandos de los receptores periféricos para benzodiazepinas. Los receptores para benzodiazepinas se clasifican en dos grupos: receptores periféricos PBR (del inglés *peripheral-type benzodiazepine receptors*) y los centrales. Los PBR son abundantes en el sistema cardiovascular, plaquetas, eritrocitos, linfocitos, células mononucleares fagocíticas, endotelio, músculo estriado esquelético, músculo liso vascular y mastocitos.

Los PBR también se ubican subcelularmente en la mitocondria, donde se acoplan a diversas proteínas tales como IBP (del inglés *isoquinoline carboxamide binding protein*), las proteínas VDAC (del inglés *voltage-dependent anion channel*) VDAC1 y VDAC2, y ANT (del inglés *adenine nucleotide transporter*). El PBR mitocondrial regula tanto los procesos apoptosis endógena mediada por este organelo, como la biosíntesis esteroidea.<sup>34</sup> En la figura 2 se expone la cascada de señalización descrita.

## PLA2 y regulación maestra del metabolismo: desnutrina y adiponutrina

Recientemente se ha encontrado dos PLA2 que están involucradas en los procesos regulatorios del metabolismo lipídico: PNPLA2 (del inglés *patatin-like phospholipase domain-containing protein 2*) también denominada como PLA2 calcio independiente Zeta, desnutrina, TTS2 (del inglés *transport-secretion protein 2*) y ATGL (del inglés *adipose triglyceride lipase*); y la PNPLA3 (del inglés *patatin-like phospholipase domain-containing protein 3*), también denominada como PLA2 calcio independiente épsilon o adiponutrina.

Desnutrina y adiponutrina forman un formidable dúo antagonico, y todo parte del hecho de que el catabolismo lipídico de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo suplen los tejidos con ácidos grasos para su oxidación en periodos de deprivación. El catabolismo de triglicéridos hacia di-acil-gliceroles es garantizado por la lipasa hormono-sensible, y luego estos últimos son catabolizados por la desnutrina, enzima que es regulada por el estatus nutricional. La desnutrina también muestra una actividad adicional de acil-transacilasa.

La desnutrina y la adiponutrina son genéticamente inducidas por mecanismos alimentarios cruzados, así la desnutrina es transitoriamente inducida por ayuno y disminuye su concentración tras el proceso de re-alimentación; y la Adiponutrina por el contrario es inducida por la alimentación y disminuyen sus niveles en ayuno.<sup>35-38</sup>

Información relacionada a esto es cómo el síndrome metabólico durante la gestación, en forma de obesidad o de diabetes gestacional, son asociadas con resistencia a la insulina, y alta adiposidad neonatal, eso sí aclarando que aún no hay un *plenum* y total acuerdo al respecto del síndrome metabólico gestacional. Esta alta adiposidad neonatal se considera un tipo particular de condicionamiento con memoria metabólica, que será un factor de riesgo para que el nuevo ser desarrolle también síndrome metabólico. En ese orden de ideas el TNFA (factor de necrosis tumoral alfa) y la leptina están incrementadas en la placenta de neonatos con percentiles indicadores de sobrepeso u obesidad, y estos mediadores promueven la expresión de PLA2G2A y PLA2G5, lo que conlleva el aumento franco de ácidos poli-insaturados omega 3 a nivel placentario, que viajan a la economía fetal, y eso es asociado con alta adiposidad neonatal.<sup>39</sup>

## PLA2 y cáncer

En diversos cánceres que ha evidenciado la elevación sostenida y crónica de distintas isoenzimas sPLA2 y cPLA2. El mecanismo de promoción oncogénica es multifactorial, por cuanto se desencadena la liberación y síntesis de eicosanoides, muchos de los cuales actúan como

citoquinas y factores de crecimiento; y otros mecanismos están relacionados a la actividad citoquinica directa de las enzimas sPLA2 *per se*.<sup>40-42</sup> Un caso especial es el de PLA2G2A en cáncer colo-rectal esporádico, donde se ha detectado una mutación del tipo deleción heterocigota de dos pares de bases en la posición 1119 del exón 3, lo que corresponde al codón 48.<sup>43</sup>

Haapamaki *et al* en 1997 demostraron la expresión anómala de PLA2G2A en células de Paneth y células epiteliales columnares metaplásicas en mucosa colónica inflamada en pacientes con colitis ulcerativa, reconocido trastorno inflamatorio autoinmune que se socia como factor de riesgo para cáncer colónico.<sup>44</sup>

Gran parte del rol mutagénico de la hiperexpresión de PLA2 es la presencia de un metabolito aldehídico conocido como malondialdehído (MDA), el cual es una molécula mutagénica, y que es producto del metabolismo oxidativo implicado en la síntesis de eicosanoides.<sup>45</sup>

Curiosamente, la hiperexpresión de PLA2G2A es protectora en la historia natural del cáncer gástrico, lo que indica que la oncogénesis epitelial es bastante compleja, dependiendo el sitio anatómico.<sup>46</sup>

## PLA2 e inflamación

Clásicamente las cPLA2 han sido implicadas en la biosíntesis de lípidos autocoides eicosanoides, pero recordemos que fuera de ello, las sPLA2 también pueden promover este comportamiento celular. No debemos olvidar al respecto de la claridad previa que se hizo de la actividad citoquinica de estas enzimas. Las sPLA2 son moléculas que se pueden encontrar en sangre y fluidos biológicos, como parte de los mecanismos de respuesta inmune, tanto en las fases de iniciación como de amplificación de la respuesta, incluso en reacciones autoinmunes y alérgicas. Muchas de las sPLA2 son sintetizadas y liberadas por neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos T, monocitos, macrófagos y mastocitos. Las sPLA2 inducen degranulación de mastocitos y eosinófilos, y activan la capacidad exocítica también en macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos y células endoteliales.<sup>47,48</sup>

Un caso excepcional es el papel de la PLA2G1B pancreática, la cual tras daño inflamatorio pancreático, se libera a la sangre y promueve una respuesta inmune desbordada.<sup>49,50</sup>

## PLA2, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular

Un elemento particular a esta temática es la PLA2G7 secretoria inflamatoria mielóide, conocida clásicamente como la acetil-hidrolasa para los factores activadores



plaquetarios (PAF-AH), enzima que es producida por células inflamatorias de origen mieloide, y que se caracteriza por estar en estrecha asociación con lipoproteínas plasmáticas y lesiones ateroscleróticas altamente vulnerables. La PLA2G7 degrada tanto los PAFs, como ácidos grasos de cadena corta oxidados, a partir de la posición *sn2* de los fosfolípidos. El verdadero rol de la PLA2G7 en el síndrome metabólico, y en especial en el componente aterosclerótico, no es claro, dado que:

Por un lado la degradación de los PAF sería anti-inflamatoria y anti-aterogénica, puesto que los PAF son MCC con reconocida actividad pro-inflamatoria y pro-activadora inmune, de amplio espectro.

Por el otro lado, el producto del catabolismo de los PAF son los LPC, que junto a la degradación de fosfolípidos oxidados -con la consecuente liberación de ácidos grasos no esterificados modificados oxidativamente-, son potentes pro-inflamatorios y pro-aterogénicos.

En últimas, se ha estimado que el efecto final depende del rango y predominio de distribución de la PLA2G7 entre las OxLDL (lipoproteínas de baja densidad oxidadas) y las HDL (lipoproteínas de alta densidad).

Lo que sí es definitivo hoy es que la elevación de la PLA2G7 es un marcador de inflamación, y la experimentación ha demostrado que su inhibición dirigida y específica puede tener contundentes efectos anti-aterogénicos. Varios estudios como el Wpscops (del inglés *West of Scotland Coronary Prevention Study*), el Monica (del inglés *Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases*) y los RC (del inglés *Rotterdam cohorts*), han demostrado sobradamente que la PLA2G7 es un predictor independiente a largo plazo de enfermedad cardíaca coronaria y enfermedad cerebro vascular. El nexo entre inflamación y dislipidemia desde la panorámica de la PLA2G7 es aún bastante complejo, puesto que si bien la activación de PLA2G7 posee una finalidad de predominio proinflamatorio, ella al inicio del síndrome metabólico parece ser regulada en forma positiva en estados dislipidémicos, como una medida salvatoria para facilitar el aclaramiento de lípidos.<sup>51-53</sup>

## PLA2 e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana

Las sPLA2 tiene actividad microbicida directa contra el virus de la inmunodeficiencia humana, pero tal efecto es variable entre las distintas isoenzimas, en algunos casos siendo nula. La variedad más eficiente es la de la PLA2G10. El efecto "retroviricida" es dependiente de la actividad catalítica degradadora de los componentes lipídicos del cápside y de desestabilizar las interacciones lípido-proteína, alterando la topología proteica de anclaje frente a las células blanco.<sup>54</sup>

## Patobiología de los trastornos neuro-malformativos por fallos en la migración: PLA2 y otros genes

Las bases moleculares de diversos desórdenes de la migración neuronal han sido dilucidados en la actualidad, tales como el complejo LAP (lisencefalia\agiria\paquigiria), la heterotopia ventricular y el síndrome de Kallman. La heterotopia ventricular se caracteriza por la migración incompleta o en dirección errónea de células neurales, y es frecuente la existencia de nódulos subependimarios subventriculares como si fueran tubérculos, aunque hay francas diferencias neurohistopatológicas y neuroradiológicas, por cuanto estas células sí están maduramente diferenciadas en neuronas. El principal gen, cuyo daño es causante de heterotopia ventricular, es el que codifica para la proteína filamina A, el cual se localiza cromosómicamente en Xq28.

Al respecto del complejo LAP, primero hay que establecer que lo que vulgarmente podríamos denominar como cerebro liso no existe, por cuanto se acompaña de otros rasgos patonómicos tales como la agiria y la paquigiria. Por otra parte desde el punto de vista neurohistopatológico se reconocen varios tipos, pero bien entendidos e interpretados son:

Tipo I: Clásica de Bielschowsky.

Tipo II: Variante en empedrado (del inglés *cobblestone*), que son un conjunto de desórdenes de la integridad de la superficie pial, derivados de una displasia cortical que condiciona una obliteración del espacio subaracnoideo con tejido ectópico neuroglial, lo que macroscópicamente se manifiesta como meninges opacas y gruesas, y pondera el desarrollo de hidrocefalo:

- Distrofia muscular de Fukuyama: un gen identificado, FCMD (Fukutin).
- La enfermedad cerebro-músculo-ojo: dos genes identificados, POMGNT1 (proteína-O-manosa beta-1,2-N-acetilglucosaminil-transferasa) y FKRP (del inglés *Fukutin-related protein*).
- Síndrome de Walker-Warburg: 4 genes definidos, FCMD (Fukutin), POMT1 (proteína-O-manosiltransferasa 1), POMT2 (proteína-O-manosiltransferasa 2 putativa) y FKRP.
- Lisencefalia con genitales ambiguos: un gen ligado a X definido: ARX (del inglés *aristaless-related homeobox*). ARX es un gen maestro clave en el desarrollo de las interneuronas GABAérgicas inhibitorias (neuronas productoras del neurotransmisor ácido gamma-amino butírico), cuyo daño también se ha ligado también al síndrome de Partington (retardo mental sindromático con movimientos distónicos, ataxia y convulsiones), retardo mental ligado a X (tipos familiares MRX36, MRX43 y MRX54), epilepsia mioclónica con retardo mental y espasticidad, síndrome de espasmo infantil de West, y otros defectos como hidranencefalia con genitales

anormales y agenesia del cuerpo calloso con genitales anormales. En el síndrome de West también se ha encontrado genopatía del gen codificante de CDK5L (del inglés *cyclin-dependent kinase-like 5*), proteína que regula el quehacer del ciclo celular neuronal.

Tipo III: con displasia ósea, también denominado como FAS letal (del inglés *familial fetal akinesia sequence*), que tiene patrones neuropatológicos distintivos.

Dentro del tipo I de Bielchowsky, desde el punto de vista genotípico y fenotípico, se halla el síndrome de aneumomía segmentaria (también llamado síndrome de genes contiguos) denominada como síndrome de Miller-Dieker, una forma ligada al cromosoma X, la cual puede ser la forma clásica familiar o la forma de secuencia dismorfológica aislada. Otro trastorno relacionado es la forma asociada al síndrome cerebro-hepato-renal de Zellweger, la cual es una entidad de origen peroxisomal.<sup>55-60</sup>

El complejo LAP del tipo Miller-Dieker es una entidad del grupo de las neuromigraciones anómalas que se describió en 1963, con una incidencia en la población humana de 1:100,000, caracterizada por deleciones visibles o submicroscópicas (90% de los casos) de la región cromosómica 17p13.3. La mayoría de estas deleciones son de *novo* y las restantes son causados por rearrreglos cromosómicos provenientes de los padres. Este gen explica el 40% de los casos de liscencefalia en la especie humana.

En la región delecionada se ubican varios genes aún no especificados, excepto el gen codificante de la subunidad alfa (B1 o gen LIS1) de la PLA2G7 cerebral (isoforma 1B). La PLA2G7 cerebral está constituida por tres subunidades: alfa(B1), beta(B2) y gamma(B3), de las cuales beta y gamma son subunidades catalíticas, y la subunidad alfa es regulatoria. El problema se reduce prácticamente a un trastorno hemizigótico con dosis reducida del gen.

Se han identificado varios genes ligados a liscencefalia en humanos fuera de PLA2G7, y uno de ellos es el gen DCX, el cual está ligado al cromosoma X, que codifica una proteína denominada como *doublecortin*, la cual es una proteína homodimerizante al parecer asociada al citoesqueleto microtubular neuronal de células en migración. En la forma asociada al cromosoma X se evidencia adicionalmente algo que *grosso modo* se denomina como doble corteza pero que en realidad corresponde a una Heterotopia en banda subcortical laminar en particular en el sexo femenino. DCX estimula la polimerización del citoesqueleto microtubulínico en una forma aún a establecerse. Se ha reportado la interacción entre PLA2G7 y DCX. De todo esto se deriva obviamente el hecho de que el MCC autoicoide PAF juega un rol en la regulación del citoesqueleto microtubulínico en neuronas en desarrollo.

Los patonómicos mayores de esta entidad son el fenotipo de LAP con hallazgos neurohistopatológicos llamativos, como son la existencia de sólo cuatro capas neuronales y presencia de heterotopias de sustancias gris

subependimarias, con una consecuente inversión de la razón sustancia blanca: sustancia gris. En hombres, como tal se presenta la liscencefalia y en mujeres por obvias razones se ve la heterotopia laminar subcortical. La afección neurológica está dada por retardo mental severo, disminución franca de actividad motora y síndrome convulsivo. Se acompaña de hallazgos adicionales como microcefalia, frente prominente, depresiones bitemporales, nariz corta con narinas altas, labio superior prominente, micrognatia, implantación baja de orejas, y calcificación del *septum pellucidum* (hasta en el 50%).

Clínicamente las formas genopáticas de DCX afectan más la corteza frontal; las formas genopáticas de LIS1 afectan más la corteza parietal y occipital. La LAP aislada es lo que se denomina como secuencia liscencefalia (ILS), y también está ligada a este gen, donde los rasgos de malformaciones del macizo facial son menos expresivos y/o frecuentes, y se denota con cierta frecuencia las depresiones temporales y la micrognatia. Se ha descrito otra variante clinicopatológica denominada como el síndrome de Norman-Robert, producto del daño en el gen codificante de la *Reelin*, el cual se localiza cromosómicamente en 7q22.<sup>61,62</sup>

Finalmente, la genopatía del gen codificante de PLA2G6, está relacionada a la génesis de la distrofia neuroaxonal infantil, la neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro y el síndrome de Karak. El síndrome de Karak es un trastorno descubierto en una aldea del sur de Jordán, el cual se caracteriza por ataxia cerebelar de presentación temprana, distonía, espasticidad y declinamiento intelectual. La génesis patobiológica de los trastornos relacionados a PLA2G6 aún es elusiva, en particular a lo relacionado con el metabolismo del hierro en el cerebro.<sup>63,64</sup>

## PLA2 bacteriana, fúngica, protozoárica y viral

Tanto PLA2 secretada como unida a membrana han sido descubiertas y descritas en bacterias, hongos y protozoarios (ej.: *Trypanosoma brucei*). La transferencia lateral es una forma muy particular de adquirir genes por parte de patógenos bacterianos. Ello explica el descubrimiento y la descripción de PLA2 en ciertas cepas de bacterias (*ExoU* en *Pseudomonas aeruginosa* y *SlaA* en *Streptococcus* del grupo A). Cuando estos organismos colonizan e invaden un huésped, liberan diversas exotoxinas como las PLA2 *ExoU* y *SlaA*, las cuales incrementan la severidad de la enfermedad infecciosa, al alterar la respuesta inmune.

Un caso distinto son los hongos, los cuales como verdaderos eucariotas poseen genes codificantes de enzimas para su propio metabolismo, sin embargo durante estados infecciosos existen PLA2 de origen micótico que se liberan y desencadenan tres efectos: adquisición de nutrientes, invasión tisular y modulación de la respuesta inmune del huésped.<sup>65,67</sup>

Igualmente, las proteínas de la cápside de parvovirus (ej.: parvovirus B19), presentan actividad PLA2, por lo cual se sugiere que sean clasificadas dentro del grupo XIII de la clasificación internacional, y abren la puerta al entendimiento de novedosos mecanismos patogénicos en las infecciones virales.<sup>68</sup>

## Retrovirus endógenos humanos codificantes de PLA2

Quizás uno de los descubrimientos más impactantes fue el hecho de que el genoma de múltiples organismos superiores (casi todos los vertebrados) como nosotros, poseemos en nuestro genoma secuencias retrovirales endógenas, las cuales se les ha denominado como retrovirus endógenos humanos (HERVS). Los HERVS constituyen una amplia familia de elementos retrotransposables, que están involucrados en procesos de recombinación genética. La segunda sorpresa es que comparten un alto grado de similitud genética con retrovirus exógenos como los retrovirus de la inmunodeficiencia humana.

La tercera sorpresa es que se han encontrado elevados en inflamación, tanto en tejidos, como en sangre y en fluidos biológicos. Es así que la información actual es amplísima al respecto de su elevación y rol patogénico en inmunoglobulinopatías de células B, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central, enfermedad reumática autoinmunes e, incluso, en el síndrome de fatiga crónica. La mecánica no es totalmente entendida, pero el hallazgo es potencialmente definitivo: uno de estos HERVS ubicado en el cromosoma 8, el HHLA1 (del inglés *human endogenous retrovirus-H long terminal repeat-associating 1*) codifica una PLA2, que puede actuar como citoquina, y a su vez, desencadenar la biosíntesis de autocoides eicosanoides pro-inflamatorios.<sup>69-71</sup>

## PLA2 como citotoxinas en toxicología herpetológica y entomológica

Diversas enzimas (más de 15) del tipo PLA2 se han hallado en el veneno de víboras (vPLA2, del inglés *venom*), y fuera de estar involucrados en accidentes de mordedura ofídica, en los últimos años han aparecido en la trama de la

**Tabla 4.** Neurotoxinas herpéticas del tipo PLA2 y su clasificación según RM Kini.

Clase	Nombre	Especie	Subunidades
I	Ammodyttoxina A	<i>Vipera ammodytes ammodytes</i>	1
	Notexina II-5	<i>Notechis scutacus scutacus</i>	1
	Pseudexin A	<i>Pseudechis porphyriacus</i>	1
II	Crottoxina	Género <i>Crotalus</i>	2
III	Beta-Bungarotoxina	<i>Bungarus multicinctus</i>	2
IV	Taipotoxina	<i>Oxyuranus scutellas</i>	3
	Textilotoxina	<i>Pseudonaja textilis textilis</i>	5

farmacología y la terapéutica futura para varios trastornos. Muchas de estas PLA2 muestran actividad anticoagulante, y otras tantas muestran actividad pro-inflamatoria, neurotóxica y miotóxica. Los estudios en topología molecular sustentan que la actividad deviene de la interacción directa de las PLA2 con componentes proteicos de la cascada de la coagulación, tales como los complejos protrombinasa y *Tenase* (complejo Xasa).<sup>72-75</sup>

Las neurotoxinas son de actividad preponderantemente presináptica, facultando un bloqueo persistente de liberación de acetilcolina (Ach) en la placa neuromuscular, causando muerte por falla respiratoria. Las neurotoxinas PLA2 de acuerdo a su topología han sido clasificadas en cuatro clases (tabla 4).<sup>76</sup>

En el veneno de escorpiones y de abejas *Apis mellifera* también se encuentran toxinas del tipo PLA2. Así por ejemplo, en el escorpión mexicano *Anuroctonus phaiodactylus* se han detectado cinco distintas de estructura heterodimérica, denominadas como *Phaiodactylipina*.<sup>77</sup> En el veneno de las abejas existe la bv-sPLA2 (del inglés *bee venom*) y también se encuentra una molécula peptídica denominada melittina, el cual se cree es un activador de las PLA2 y un inductor de flujo de calcio, el cual puede inducir muerte en diferentes tipos celulares.<sup>78,79</sup>

## Inhibición de la cPLA2: antiinflaminas y receptores N-formil-péptido

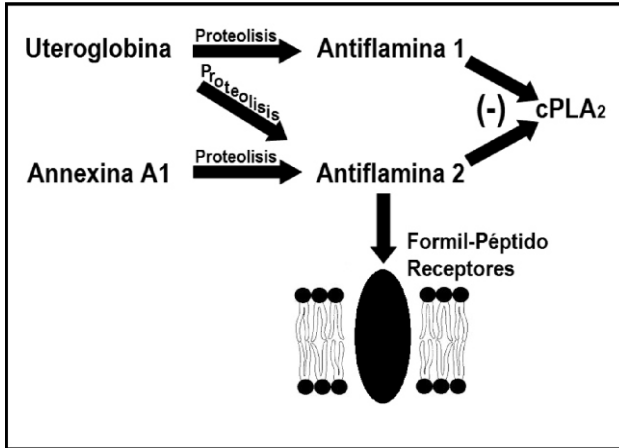
Con el advenimiento y formalización de la “peptidómica”, es decir el estudio de la genética, la genómica, estructura y función de péptidos o proteína pequeñas, se ha encontrado que una gran variedad de péptidos derivados a partir de la proteólisis de precursores proteicos más grandes, desempeñan roles funcionales inesperados.

Es así que unos péptidos denominados como antiinflaminas aparecen en la trama como reguladores negativos naturales de la actividad de las cPLA2. La antiinflamina 1 se deriva proteolíticamente desde la uteroglobina; la antiinflamina 2 se deriva también desde la uteroglobina pero desde la annexina A1. La annexina A1 y la antiinflamina 2 son adicionalmente ligandos naturales para receptores membranales denominados como los formil-péptido-receptores (figura 3).

Analizar esta temática es compleja y compromete:

- Las annexinas son proteínas cuyos genes son regulados positivamente por los glucocorticoides, y ellas directamente por medio de dos mecanismos inhiben la actividad de la cPLA2:
  - Inhibición directa de las cPLA2, como ya fue mencionado.
  - Competición por fosfolípidos de membrana.
- Los N-formil-péptido-receptores (FPR) son receptores activadores de la inmunidad innata y, ante todo, promotores de quimiotaxis. Estos FPR se liberan desde bacterias





**Figura 3.** Proceso de las antiinflaminas

invasoras. Resulta interesante que a partir de proteínas solubles secretables de defensa e inmuno-moduladoras como uteroglobina y annexina A1, se liberen por proteólisis péptidos que compiten con tales receptores, generando respuestas inmunomoduladoras.

Las antiinflaminas pueden también inhibir las enzimas transglutaminasas, pero aquí la patofisiología aún es elusiva, ya que normalmente estas enzimas son claves en los procesos apoptóticos anti-inflamatorios.<sup>80-83</sup> Los FPR conocidos en nuestra especie son FPR, FPRL1 y FPRL2. FPRL1 es también receptor para el antiinflamatorio lipídico autooide lipoxina A4; FPRL2 es receptor para el quimioatrayente F2L, el cual es un péptido acetilado de 21 aminoácidos derivado de la proteína HEBP1 (del inglés *HEME-binding protein 1*) y de su familiar HEBP2 (también denominada SOUL). F2L es un quimioatrayente para el linaje monocito-macrófago-célula dendrítica.<sup>84,85</sup>

## Inhibidores de las PLA2

Este campo farmacológico no ha evolucionado tan ampliamente como otros. En vieja data se ha encontrado que inhibidores de amplio espectro son las quininas (ej.: quinacrina o cloroquina), la araquidonil-trifluorometil-cetona, bromoenol-lactona, citidina 5-difosfo-aminas, y el complejo vitamínico E; igualmente se ha encontrado el papel indirecto que tienen los glucocorticoides gracias a que son inductores génicos de la familia de proteínas conocidas como “annexinas” (tales como lipocortinas, renocortinas y macrocortinas), las cuales competitivamente unen los fosfolípidos ricos en ácido araquidónico.<sup>16</sup>

Otras moléculas inhibitoras están dirigidas frente a otras enzimas en forma específica, tales como SB-480848, el cual es un inhibidor reversible de la PLA2G7, desarrollado por el laboratorio GlaxoSmithKline, y que se encuentra en Fase II de investigación para tratamiento potencial de la

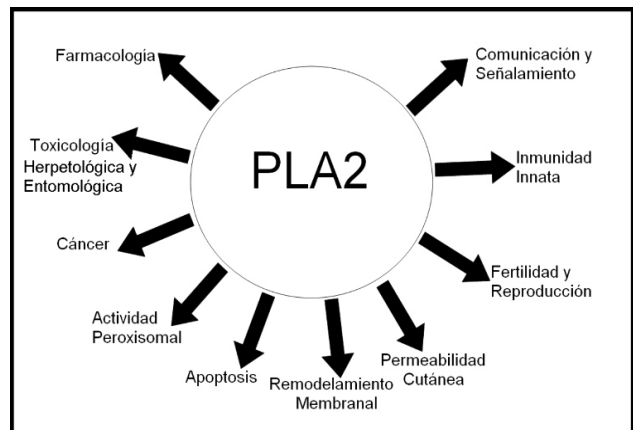
aterosclerosis.<sup>86, 87</sup> Otra molécula es IS-741 la cual es un inhibidor desarrollado por la casa farmacéutica *Ishihara Sankyo Kaisha & Sumitomo*, como un agente potencial para el tratamiento de respuesta inflamatoria sistémica secundaria a pancreatitis.<sup>88</sup>

En el estudio de inhibidores de las PLA2, varias moléculas han emergido como inhibidores, las cuales han sido encontradas en serpientes venenosas (víboras) y no venenosas, mamíferos e incluso en extractos vegetales. En el caso particular de los inhibidores hallados en sangre de serpientes, estos se han clasificado en tres grandes grupos: alfa, beta y gamma. Lo anterior se explica por qué las serpientes entre sí son enemigos naturales, y hay una necesidad de generar evolutivamente mecanismos de resistencia por presión selectiva tanto intra como inter-especie.

En mamíferos, la molécula DM64, la cual es una proteína antimiotóxica, pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, y es homóloga a la alfa-1B-glicoproteína. Otro inhibidor es DM43, el cual es un inhibidor de metalo-proteinasas, encontradas también en algunos mamíferos. En las plantas, una glicoproteína denominada WSG fue encontrada en la *Withania somnifera* (Ashwaganda), una planta medicinal cuyo extracto acuoso neutraliza la actividad de ciertas PLA2 provenientes de víboras, en particular de la *Naja naja*.<sup>72-75</sup>

Organismos marinos como los invertebrados que conocemos como esponjas poseen varias moléculas que exhiben actividad inhibitoria frente a las PLA2, tales como *cacospongionolide B* y *petrosaspongiolide M*, las cuales son representativos anti-inflamatorios en modelos experimentales de inflamación aguda y crónica.<sup>89</sup>

Dentro de los avances y búsqueda farmacológica, el desarrollo de inhibidores estructurales de la unión de las PLA2 a su receptor M, es un nuevo campo de acción, siendo el prototipo el análogo indol-“Me-Indoxam”, y similarmente Ecopladib, un inhibidor indólico de las cPLA2.<sup>81,90</sup>



**Figura 4.** Interacción de las PLA2 con diversas áreas temáticas



## Conclusión

Las PLA2 son un amplio grupo de enzimático, que ha demostrado actividad citoquinica, fuera de su clásica actividad en la iniciación de la biosíntesis de lípidos autocoides. Las PLA2 poseen un vasta expresión celular y tisular, y muestran roles diversificados en biología y patobiología. El conocimiento de su temática estructural y funcional, ha abierto un campo nuevo de investigación y prometedora fármaco-terapéutica.<sup>91-95</sup> En la figura 4 se resume la interacción de la temática de la PLA2 con los diversos campos científicos mencionados a lo largo de este artículo.

## Referencias

- Murakami M. Hot topics in phospholipase A2 field. *Biol Pharm Bull* 2004; 27:1179-82.
- IUMB. London: International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 1977-. Disponible en <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/jcfn/index.html#2>. [Fecha de acceso: 16 de diciembre del 2007].
- PubMed. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. [Fecha de acceso 16 de diciembre del 2007].
- EMBASE. Amsterdam: Elsevier B.V.; 1974- Disponible en: [http://www.info.embase.com/embase\\_com/](http://www.info.embase.com/embase_com/). [Fecha de acceso: 16 de diciembre del 2007].
- OMIM. Baltimore: Johns Hopkins University; 1966- Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim>; HUGO. Bethesda: National Library of Medicine and others (exp.: Celera Genomics and the Sanger Center); 1989-. Disponible en: <http://www.hugo-international.org/index.html> [fecha de acceso 16 de diciembre del 2007].
- Dennis EA. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J Biol Chem* 1994; 269:13057-60.
- Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1246-59.
- Cook JA. Eicosanoids. *Crit Care Med* 2005; 33(12 Suppl):S488-91.
- Muller CA, Autenrieth IB, Peschel A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:1297-307.
- Keshav S. Paneth cells: leukocyte-like mediators of innate immunity in the intestine. *J Leukoc Biol* 2006; 80:500-8.
- Zhu J, Massey JB, Mitchell-Leef D. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity affects sperm motility and serves as a decapacitation factor. *Fertil Steril* 2006; 85:391-4.
- Wang H, Dey SK. Lipid signaling in embryo implantation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2005; 77:84-102.
- Burke JR. Targeting phospholipase A2 for the treatment of inflammatory skin diseases. *Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2:1549-52.
- Maury E, Julie S, Charveron M et al. [Lipids and skin inflammation: role of phospholipases A2]. *Pathol Biol (Paris)* 2003; 51:248-52.
- Akiba S, Sato T. Cellular function of calcium-independent phospholipase A2. *Biol Pharm Bull* 2004; 27:1174-8.
- Khanapure SP, Garvey DS, Janero DR. Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr Top Med Chem* 2007; 7:311-40.
- Kuhn H, O'Donnell VB. Inflammation and immune regulation by 12/15-lipoxygenases. *Prog Lipid Res* 2006; 45:334-56.
- Smita K, Sushil Kumar V, Premendran JS. Anandamide: an update. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; 21:1-8.
- Stafforini DM, McIntyre TM, Zimmerman GA. Platelet-activating factor, a pleiotropic mediator of physiological and pathological processes. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; 40:643-72.
- Spector AA, Fang X, Snyder GD. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Prog Lipid Res* 2004; 43:55-90.
- Elbekai RH, El-Kadi AO. Cytochrome P450 enzymes: central players in cardiovascular health and disease. *Pharmacol Ther* 2006; 112:564-87.
- Van Der Stelt M, Di Marzo V. Endovanilloids. Putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels. *Eur J Biochem* 2004; 271:1827-34.
- Montuschi P, Barnes P, Roberts LJ 2nd. Insights into oxidative stress: the isoprostanes. *Curr Med Chem* 2007; 14:703-17.
- Milligan G, Stoddart LA, Brown AJ. G protein-coupled receptors for free fatty acids. *Cell Signal* 2006; 18:1360-5.
- Kostadinova R, Wahli W, Michalik L. PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation. *Curr Med Chem* 2005; 12:2995-3009.
- Glavinas H, Krajcsi P, Cserepes J. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity. *Curr Drug Deliv* 2004; 1:27-42.
- Sharom FJ. Shedding light on drug transport: structure and function of the P-glycoprotein multidrug transporter (ABCB1). *Biochem Cell Biol* 2006; 84:979-92.
- Birgbauer E, Chun J. New developments in the biological functions of lysophospholipids. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63:2695-701.
- Ishii I, Fukushima N, Ye X. Lysophospholipid receptors: signaling and biology. *Annu Rev Biochem* 2004; 73:321-54.
- Anliker B, Chun J. Cell surface receptors in lysophospholipid signaling. *Semin Cell Dev Biol* 2004; 15:457-65.
- Xie Y, Meier KE. Lysophospholipase D and its role in LPA production. *Cell Signal* 2004; 16:975-81.
- van Meeteren LA, Moolenaar WH. Regulation and biological activities of the autotaxin-LPA axis. *Prog Lipid Res* 2007; 46:145-60.
- Triggiani M, Granata F, Frattini A. Activation of human inflammatory cells by secreted phospholipases A2. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1289-300.
- Veenman L, Gavish M. The peripheral-type benzo-diazepine receptor and the cardiovascular system. Implications for drug development. *Pharmacol Ther* 2006; 110:503-24.
- Drevon CA. Fatty acids and expression of adipokines. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1740:287-92.
- Wolf G. The mechanism and regulation of fat mobilization from adipose tissue: desnutrin, a newly discovered lipolytic enzyme. *Nutr Rev* 2005; 63:166-70.
- Zechner R, Strauss JG, Haemmerle G. Lipolysis: pathway under construction. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16:333-40.
- Duncan RE, Ahmadian M, Jaworski K. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu Rev Nutr* 2007; 27:79-101.
- Varastehpour A, Radaelli T, Minium J. Activation of phospholipase A2 is associated with generation of placental lipid signals and fetal obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:248-55.
- Dragani TA. 10 years of mouse cancer modifier loci: human relevance. *Cancer Res* 2003; 63:3011-8.
- Laye JP, Gill JH. Phospholipase A2 expression in tumours: a target for therapeutic intervention? *Drug Discov Today* 2003; 8:710-6.
- Dong Q, Patel M, Scott KF. Oncogenic action of phospholipase A2 in prostate cancer. *Cancer Lett* 2006; 240:9-16.
- Nimmrich I, Friedl W, Kruse R. Loss of the PLA2G2A gene in a sporadic colorectal tumor of a patient with a PLA2G2A germline mutation and absence of PLA2G2A germline alterations in patients with FAP. *Hum Genet* 1997; 100:345-9.

44. Haapamaki MM, Gronroos JM, Nurmi H. Gene expression of group II phospholipase A2 in intestine in ulcerative colitis. *Gut* 1997; 40:95-101.
45. Nakanishi M, Rosenberg DW. Roles of cPLA2 $\alpha$  and arachidonic acid in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1335-43.
46. Leung SY, Chen X, Chu KM. Phospholipase A2 group IIA expression in gastric adenocarcinoma is associated with prolonged survival and less frequent metastasis. *Proc Nat Acad Sci USA* 2002; 99:16203-8.
47. Yedgar S, Cohen Y, Shoseyov D. Control of phospholipase A2 activities for the treatment of inflammatory conditions. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1373-82.
48. Levy R. The role of cytosolic phospholipase A2- $\alpha$  in regulation of phagocytic functions. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1323-34.
49. Friess H, Shrikhande S, Riesle E. Phospholipase A2 isoforms in acute pancreatitis. *Ann Surg* 2001; 233:204-12.
50. Bentrem DJ, Joehl RJ. Pancreas: healing response in critical illness. *Crit Care Med* 2003; 31(8 Suppl):S582-9.
51. Garza CA, Montori VM, McConnell JP. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc* 2007; 82:159-65.
52. Karasawa K. Clinical aspects of plasma platelet-activating factor-acetylhydrolase. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1359-72.
53. Sudhir K. Lipoprotein-associated phospholipase A2, vascular inflammation and cardiovascular risk prediction. *Vasc Health Risk Manag* 2006; 2:153-6.
54. Villarrubia VG, Costa LA, Diez RA. [Secreted phospholipases A2 (sPLA2): friends or foes? Are they actors in antibacterial and anti-HIV resistance?] *Med Clin (Barc)* 2004; 123:749-57.
55. Pilz D, Stoodley N, Golden JA. Neuronal migration, cerebral cortical development, and cerebral cortical anomalies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61:1-11.
56. Friocourt G, Poirier K, Rakic S. The role of ARX in cortical development. *Eur J Neurosci* 2006; 23:869-76.
57. Gressens P. Pathogenesis of migration disorders. *Curr Opin Neurol* 2006; 19:135-40.
58. Guerrini R, Marini C. Genetic malformations of cortical development. *Exp Brain Res* 2006; 173:322-33.
59. Kato M. A new paradigm for West syndrome based on molecular and cell biology. *Epilepsy Res* 2006; 70 (Suppl 1):S87-95.
60. Lian G, Sheen V. Cerebral developmental disorders. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18:614-20.
61. Reiner O, Coquelle FM. Missense mutations resulting in type 1 lissencephaly. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:425-34.
62. Vallee RB, Tsai JW. The cellular roles of the lissencephaly gene LIS1, and what they tell us about brain development. *Genes Dev* 2006; 20:1384-93.
63. Gregory A, Hayflick SJ. Neurodegeneration with brain iron accumulation. *Folia Neuropathol* 2005; 43:286-96.
64. Hayflick SJ. Neurodegeneration with brain iron accumulation: from genes to pathogenesis. *Semin Pediatr Neurol* 2006; 13:182-5.
65. Istivan TS, Coloe PJ. Phospholipase A in Gram-negative bacteria and its role in pathogenesis. *Microbiology* 2006; 152(Pt 5):1263-74.
66. Kohler GA, Brenot A, Haas-Stapleton E. Phospholipase A2 and phospholipase B activities in fungi. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761:1391-9.
67. Sitkiewicz I, Stockbauer KE, Musser JM. Secreted bacterial phospholipase A2 enzymes: better living through phospholipolysis. *Trends Microbiol* 2007; 15:63-9.
68. Lupescu A, Bock CT, Lang PA. Phospholipase A2 activity-dependent stimulation of Ca<sup>2+</sup> entry by human parvovirus B19 capsid protein VP1. *J Virol* 2006; 80:11370-80.
69. Kowalski PE, Mager DL. A human endogenous retrovirus suppresses translation of an associated fusion transcript, PLA2L. *J Virol* 1998; 72:6164-8.
70. Kowalski PE, Freeman JD, Mager DL. Intergenic splicing between a HERV-H endogenous retrovirus and two adjacent human genes. *Genomics* 1999; 57:371-9.
71. Colmegna I, Garry RF. Role of endogenous retroviruses in autoimmune diseases. *Infect Dis Clin North Am* 2006; 20:913-29.
72. Lizano S, Domont G, Perales J. Natural phospholipase A(2) myotoxin inhibitor proteins from snakes, mammals and plants. *Toxicon* 2003; 42:963-77.
73. Kini RM. Structure-function relationships and mechanism of anticoagulant phospholipase A2 enzymes from snake venoms. *Toxicon* 2005; 45:1147-61.
74. Teixeira CF, Landucci EC, Antunes E et al. Inflammatory effects of snake venom myotoxic phospholipases A2. *Toxicon* 2003; 42:947-62.
75. Marcussi S, Sant'Ana CD, Oliveira CZ et al. Snake venom phospholipase A2 inhibitors: medicinal chemistry and therapeutic potential. *Curr Top Med Chem* 2007; 7:743-56.
76. Rossetto O, Rigoni M, Montecucco C. Different mechanism of blockade of neuroexocytosis by presynaptic neurotoxins. *Toxicol Lett* 2004; 149:91-101.
77. Valdez-Cruz NA, Segovia L, Corona M. Sequence analysis and phylogenetic relationship of genes encoding heterodimeric phospholipases A2 from the venom of the scorpion *Anuroctonus phaiodactylus*. *Gene* 2007; 396:149-58.
78. Bollinger JG, Diraviyam K, Ghomashchi F. Interfacial binding of bee venom secreted phospholipase A2 to membranes occurs predominantly by a nonelectrostatic mechanism. *Biochemistry* 2004; 43:13293-304.
79. Chu ST, Cheng HH, Huang CJ. Phospholipase A2-independent Ca<sup>2+</sup> entry and subsequent apoptosis induced by melittin in human MG63 osteosarcoma cells. *Life Sci* 2007; 80:364-9.
80. Miele L. Antiflammins. Bioactive peptides derived from uteroglobin. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 923:128-40.
81. Moreno JJ. Antiflammin peptides in the regulation of inflammatory response. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 923:147-53.
82. Kamal AM, Hayhoe RP, Paramasivam A. Antiflammin-2 activates the human formyl-peptide receptor like 1. *ScientificWorldJournal* 2006; 6:1375-84.
83. Moreno JJ. Effects of antiflammins on transglutaminase and phospholipase A2 activation by transglutaminase. *Int Immunopharmacol* 2006; 6:300-3.
84. Migeotte I, Communi D, Parmentier M. Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17:501-19.
85. Rabiet MJ, Huet E, Boulay F. The N-formyl peptide receptors and the anaphylatoxin C5a receptors: An overview. *Biochimie* 2007; 89:1089-106.
86. White MC, McHowat J. The therapeutic potential of phospholipase A2 inhibitors in cardiovascular disease. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2007; 5:91-5.
87. Rotella DP. SB-480848. GlaxoSmithKline. *Curr Opin Investig Drugs* 2004; 5:348-51.
88. Bassi C. IS-741 (Ishihara Sangyo). *Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2:510-2.
89. Alcaraz MJ, Paya M. Marine sponge metabolites for the control of inflammatory diseases. *Curr Opin Investig Drugs* 2006; 7:974-9.
90. Boilard E, Rouault M, Surrel F, Le Calvez C, Bezzine S, Singer A, et al. Secreted phospholipase A2 inhibitors are also potent blockers of binding to the M-type receptor. *Biochemistry* 2006; 45:13203-18.
91. Lee KL, Foley MA, Chen L. Discovery of EcopladiB, an indole inhibitor of cytosolic phospholipase A2 $\alpha$ . *J Med Chem* 2007; 50:1380-400.