



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana
ISSN: 0325-2957
actabioq@fbpba.org.ar
Federación Bioquímica de la Provincia de
Buenos Aires
Argentina

Pomilio, Alicia Beatriz; Ciprian Ollivier, Jorge Oscar; Vitale, Arturo Alberto
Lisil-oxidasa (LOX) y proteínas tipo LOX: rol de amino-oxidasas, propiedades moleculares y catalíticas
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 47, núm. 4, 2013, pp. 645-660
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53530579003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Lisil-oxidasa (LOX) y proteínas tipo LOX: rol de amino-oxidasas, propiedades moleculares y catalíticas*

Lysyl oxidase (LOX) and LOX-like proteins: role of amino-oxidases, molecular and catalytic properties

Lisil-oxidase (LOX) e proteínas tipo LOX: papel da amino-oxidasas, propriedades moleculares e catalíticas

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

¹ Doctora de la Universidad de Buenos Aires, Investigadora Superior de CONICET. Directora del Área de Bioquímica Estructural y Espectroscopia RMN de IBIMOL [ex PRALIB (UBA y CONICET)]

² Médico. Doctorado en la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. [IBIMOL, ex PRALIB (UBA y CONICET)]

³ Doctor en Ciencias Químicas, UBA; Investigador Independiente de CONICET. [IBIMOL, ex PRALIB (UBA y CONICET)]

* Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular [IBIMOL, ex PRALIB (UBA y CONICET)], Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Universidad de Buenos Aires (UBA), Junín 956, C1113AAD Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. E-mail: pomilio@ffy.uba.ar

Todos los autores contribuyeron de igual manera a este trabajo.

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)

Resumen

Las amino-oxidasas pertenecen a dos grupos de proteínas: flavoenzimas y quinoenzimas. La lisil-oxidasa (LOX) es una quinoenzima que contiene cobre y lisil-tirosil-quinona como cofactor. Los niveles de LOX aumentan en muchas enfermedades fibróticas y en algunos tumores promoviendo metástasis, mientras que la expresión de la enzima está disminuida en enfermedades que involucran un deterioro en el metabolismo del cobre. Se discute 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 analizan su biosíntesis, sus propiedades catalíticas y mecanismo de reacción, cofactores e inhibidores y la expresión y respuesta a diversos efectores celulares.

Palabras clave: lisil-oxidasa * quinoenzima * amino-oxidasa * lisil-oxidasa homólogos 1 a 4 * propiedades catalíticas * cofactores e inhibidores * mecanismo de acción

Summary

Amino-oxidases belong to two groups of proteins: flavoenzymes and quinoenzymes. Lysyl oxidase (LOX) is a copper-containing quinoenzyme, having lysyl-tyrosyl-quinone as cofactor. LOX levels are increased in many fibrotic diseases, and in some tumors promoting metastasis, while the enzyme expression is decreased in diseases that involve deterioration in copper metabolism. The role of LOX as amino oxidase in catalyzing the oxidative deamination of lysine residues in precursors of collagen and elastin is discussed, as well as the participation of other members of this gene family: LOXL1, LOXL2, LOXL3, and LOXL4, and their molecular properties. The

biosynthesis, catalytic properties and reaction mechanism, cofactors and inhibitors, and the expression and response to various cellular effectors are analyzed.

Keywords: *lysyl oxidase * quinoenzima * amino-oxidase * lysyl-oxidase like 1 to 4 * catalytic properties * cofactors and inhibitors * action mechanism*

Resumo

As amina oxidases pertencem a dois grupos de proteínas: flavoenzimas e quinoenzimas. A lisil-oxidase (LOX) é uma quinoenzima contendo cobre e lisil-tirosil-quinona como cofator. Os níveis da enzima LOX aumentam em muitas doenças fibróticas e em alguns tumores promovendo metástase, enquanto que a expressão da enzima está reduzida em doenças que envolvem a deterioração no metabolismo do cobre. Discute-se o papel de LOX como amina oxidase na catálise a desaminação oxidativa de resíduos de lisina de precursores de colágeno e de elastina, e a participação dos outros membros desta família gênica: LOXL1, LOXL2, LOXL3 e LOXL4, bem como as suas propriedades moleculares. A sua biossíntese, as suas propriedades catalíticas e mecanismo de reação, cofatores e inibidores e a expressão e resposta a diversos efetores celulares são analisados.

Palavras-chave: *lisil-oxidase * quinoenzima * amina oxidase * lisil-oxidase homólogos 1-4 * propriedades catalíticas * cofatores e inibidores * mecanismo de ação*

ABREVIATURAS: bFGF (*basic fibroblast growth factor*): factor de crecimiento básico de fibroblastos; β -APN: β -aminopropionitrilo; BMP-1 (*bone morphogenetic protein-1*): proteína morfogenética ósea-1; CRL (*cytokine receptor-like*): tipo receptor de citoquina; CSC (*cancer stem cells*): células madre del cáncer; Egr-1 (*early growth response gene-1*): gen de respuesta de crecimiento temprano-1; EMT (*Epithelial Mesenchymal Transition*): transición epitelio-mesenchimal; FGF-2 (*fibroblast growth factor-2*) o FGF- β o bFGF: factor de crecimiento de fibroblastos-2; FSH (*follicle stimulating hormone*): hormona folículoestimulante; GM-CSF (*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*): factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; HIF-1 (*hypoxia-inducible factor 1*): factor 1 inducible por hipoxia; IFN- γ : interferón *gamma*; IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*): factor de crecimiento tipo insulina-1; IL-1 α : interleuquina-1 α ; IL-6: interleuquina-6; IRF-1 (*interferon response factor-1*): factor de respuesta a interferón-1; LOX: lisil-oxidasa; LOXL (*LOX-like proteins*): proteínas tipo-LOX; LTQ: lisil-tirosil-quinona; mTLD (*mammalian tollid*): toloide de mamífero; mTLL-1 (*mammalian tollid-like 1*): toloide de mamífero tipo 1; mTLL-2 (*mammalian tollid-like 2*): toloide de mamífero tipo 2; PCP: procolágeno C-proteinasa; PDGF (*platelet-derived growth factor*): factor de crecimiento derivado de plaquetas; PGE₂: prostaglandina E₂; PTH (*parathyroid hormone*): hormona paratiroidea; SRCR (*scavenger receptor cysteine-rich*): receptor captador rico en cisteína; SLPI (*secretory leukocyte protease inhibitor*): inhibidor de la secreción de proteasa de leucocitos; TGF- β (*transforming growth factor- β*): factor de crecimiento transformante *beta*; TNF- α (*tumor necrosis factor-alpha*): factor de necrosis tumoral-*alfa*.

1. Introducción

El presente trabajo se refiere a la familia génica de las lisil-oxidasas (LOXs), que son quinoenzimas con actividad de amino-oxidasas (1), las cuales son de interés de este grupo de investigación que ha publicado anteriormente la cuantificación de las monoamino-oxidasas (MAOs) plaquetaria y circulante en un grupo de pacientes psicóticos (2) y la descripción de flavoproteínas con esta actividad (3).

La lisil-oxidasa (LOX, proteína-lisina 6-oxidasa; EC 1.4.3.13) es una amino-oxidasa cobre-dependiente, que desempeña un papel decisivo, iniciado con la catálisis de la desaminación oxidativa de lisina y/o hidroxilisina, en la biogénesis de las matrices de tejido conectivo mediante el entrecruzamiento de las proteínas de la matriz extracelular, como: colágeno y elastina (4). Su inhibición puede causar latirismo, mientras que su sobrerregulación en las células tumorales puede promover la metástasis del tumor existente, haciendo que

se vuelva maligno (5). Los niveles de LOX aumentan en muchas enfermedades fibróticas (6) (7), mientras que su expresión está disminuida en enfermedades que involucran un deterioro en el metabolismo del cobre (8-10). Desde hace tiempo se conoce la función del cobre como cofactor de enzimas metabólicas importantes, como: citocromo c oxidasa, superóxido dismutasa, LOX, dopamina- β -hidroxilasa y otras (11). En los últimos años, se ha demostrado además que el cobre participa en el metabolismo lipídico, la defensa antimicrobiana, la actividad neuronal, la resistencia de células tumorales a fármacos quimioterapéuticos basados en platino, la transducción de señales mediada por quinasas y otros procesos celulares esenciales, si bien aún no se ha establecido el mecanismo exacto. No obstante, queda claro que muchos eventos reguladores y de señalización están asociados con cambios en la localización intracelular y en la abundancia de los transportadores de cobre, así como con la distinta compartimentación del cobre (11).

Se han descrito muchas de sus propiedades físico-químicas, su cofactor de carbonilo y su mecanismo catalítico. Los genes que codifican LOX y sus homólogos en humanos son: *LOX*, *LOXL1*, *LOXL2*, *LOXL3* y *LOXL4* (12). 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*, sugiriendo la existencia de una familia multi-génica (13-16). Se ha vuelto cada vez más evidente que LOX puede tener otras funciones biológicas importantes, además de su papel en el entrecruzamiento de la elastina y del colágeno en la matriz extracelular (17-19).

Recientemente se ha publicado 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, las proteínas tipo-LOX (LOXL), en relación con la prognosis de los tipos más importantes de cáncer (20). La mayoría de los estudios llegaron a la misma conclusión: una mayor expresión de LOX o LOXL está asociada con una mala prognosis. Asimismo, una reciente compilación (21) discute la función de los miembros de esta familia en la remodelación del microambiente tumoral y sus roles paradójicos en la tumorigénesis y metástasis. También se analiza la posibilidad de usar esta familia de proteínas como diana en nuevas terapias contra el cáncer (21).

Los experimentos moleculares, que se están desarrollando, tienen como objetivo la aplicación clínica y los resultados son, hasta el momento, alentadores. La supresión de la actividad de LOX (o de LOXL) causó menor motilidad celular en gel de colágeno y, además, resultó exitosa en la reducción de metástasis en ratones. LOX y LOXL2 están regulados por la hipoxia, un factor importante en el fracaso del tratamiento del cáncer (20).

Estudios recientes han demostrado que los miembros de la familia LOX también están involucrados en la regulación del fenómeno llamado transición epitelio-mesenquimal (EMT), que puede afectar el movimiento celular y la invasión de células cancerosas. La sobreexpresión de LOX por las células cancerosas promovió sus fenotipos agresivos, como: resistencia a anoikis (o apoptosis inducida por la falta de adhesión correcta célula/matriz extracelular), así como aumento de la motilidad y de la invasión (22). Más aún, LOX permitió que las células cancerosas hicieran metástasis ósea, lo que sugiere que juega un papel importante en la regulación de la ecotaxia (*homing*) de las células cancerosas y/o la colonización del esqueleto. Además, LOX causó una fuerte inducción de EMT en las células de cáncer, principalmente por inducir la expresión del factor de transcripción Twist. Recientemente, se investigó si LOX desempeña roles similares en el control de los fenotipos de las células madre del cáncer (CSC), demostrándose que EMT y los fenotipos

de CSC estaban estrechamente relacionados, pues se encontró que las células que sufrieron EMT estaban enriquecidas para fenotipos CSC y las CSCs presentes en las células de cáncer primarias o establecidas mostraron características de EMT (22) (23).

2. Rol de LOX como amino-oxidasa: desaminación oxidativa

LOX cataliza la desaminación oxidativa de residuos de lisina (Fig. 1) en los precursores del colágeno y de la elastina dando lugar a la formación de aldehídos, como los residuos de alisina (24) (25). Los residuos de alisina (aldehídos) son muy reactivos y sufren reacciones químicas espontáneas, no-enzimáticas, con otras unidades de aldehído derivadas de la acción de LOX, o con unidades de lisina sin modificar, para formar una reticulación de base de Schiff (Fig. 2). LOX también cataliza la desaminación oxidativa de residuos de hidroxilisina para producir hidroxialisina. Todo esto causa entrecruzamiento del colágeno y la elastina, que es esencial para la estabilización de las fibrillas de colágeno y para la integridad y elasticidad de la elastina madura. Se forman enlaces cruzados complejos en el colágeno (piridinolinas derivadas de tres unidades de lisina) y en la elastina (desmosinas derivadas de cuatro unidades de lisina) (Fig. 2) que difieren en su estructura (26).

La elastina es la proteína principal de los tejidos que requieren elasticidad, como: arterias, pulmones, vejiga, piel y ligamentos elásticos y cartílago. Está compuesta por la proteína soluble tropoelastina de ~ 65 kDa que contiene principalmente glicina, valina y alanina modificada y residuos de prolina. La tropoelastina se entrecruza altamente para formar un complejo insoluble. El más común de los entrecruzamientos entre las cadenas de elastina es el resultado de la conversión mediante LOX de los grupos amino de la lisina en aldehídos reactivos. Esto causa la formación espontánea de entrecruzamientos de desmosina (catión piridinio 1,3,4,5-tetrasustituido) (Fig. 2) e isodesmosina (catión piridinio 1,2,3,5-tetrasustituido) (27). Estos dos aminoácidos son responsables del entrecruzamiento de las fibras y, por ende, del funcionamiento especial de la elastina de volver a su configuración original después de la distensión.

El colágeno, en forma de fibrillas alargadas, se encuentra principalmente en los tejidos fibrosos tales como: tendones, ligamentos y piel, y también es abundante en la córnea, cartílago, hueso, vasos sanguíneos, intestino y disco intervertebral. El fibroblasto es la célula más común que crea colágeno. El colágeno está compuesto por una triple hélice, la cual generalmente consiste de dos cadenas idénticas (α_1) y una cadena adicional que difiere ligeramente en su composición química (α_2). La composición de aminoácidos del co-

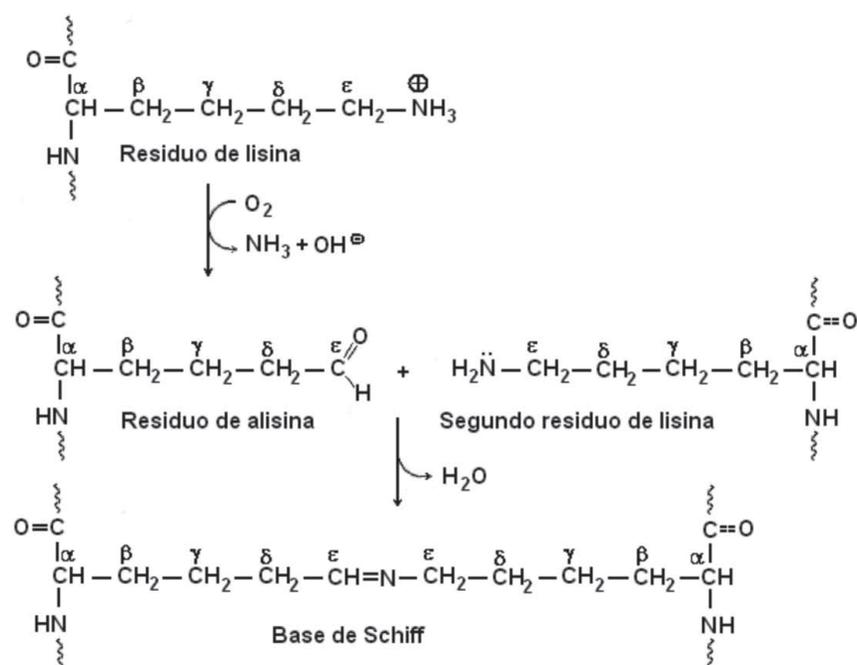


Figura 1. Desaminación oxidativa de residuos de lisina catalizada por LOX.

lágono es atípica para las proteínas, en particular con respecto a su alto contenido en hidroxiprolina. Los motivos más comunes en la secuencia de aminoácidos del colágeno son glicina-prolina-X y glicina-X-hidroxiprolina, donde X es cualquier aminoácido distinto de glicina, prolina o hidroxiprolina.

El precursor del colágeno, llamado procolágeno, tiene una estructura con glicina y prolina como sus componentes principales. La conversión implica una hidroxilación de los residuos de prolina y lisina en ciertos puntos en las cadenas polipeptídicas, convirtiéndolos en hidroxiprolina e hidroxilisina. Esta reacción de hidroxilación es catalizada por las enzimas: prolil-4-hidroxilasa y lisil-hidroxilasa y requiere vitamina C como cofactor. Esta reacción organiza las cadenas en la conformación necesaria para formar una triple hélice. A continuación se produce la glicosilación de las hidroxilisinas, pero no de las hidroxiprolinas, con monómeros de glucosa o galactosa. El propéptido hidroxilado y glicosilado gira hacia la izquierda muy fuertemente y entonces tres propéptidos formarán una triple hélice. Es importante recordar que esta molécula, conocida ahora como *procolágeno* está compuesta de una parte retorcida (centro) y dos cabos sueltos en cualquier extremo (27) (28).

En el aparato de Golgi, el procolágeno pasa por la última modificación post-traduccional antes de ser secretado fuera de la célula, que consiste en el agregado de oligosacáridos y, a continuación, se empaqueta en una vesícula secretora destinada al espacio extracelular. Una vez fuera de la célula, las *peptidasas del colágeno* que

son enzimas unidas a membrana, quitan los “extremos sueltos” de la molécula de procolágeno. Lo que queda es conocido como *tropocolágeno*, sobre el cual actuará LOX produciendo la desaminación oxidativa de lisinas e hidroxilisinas dando alisinas e hidroxialisinas con grupos aldehído, que eventualmente sufren condensación aldólica que provee un enlace covalente entre las moléculas de tropocolágeno (28). Este polímero de tropocolágeno se conoce como una *fibrilla de colágeno* (Fig. 3).

Con el avance de la edad, los tejidos dinámicos, como: pulmones, vasos sanguíneos y piel pierden su elasticidad, lo cual impacta profundamente en la función del tejido, y por lo tanto, en la morbilidad. Esta pérdida de elasticidad tisular puede ser debida no sólo a cambios en la abundancia relativa de las proteínas clave de la matriz extracelular dentro de los tejidos, sino también a la acumulación de modificaciones post-traduccionales. Si bien hasta la fecha la atención se ha centrado principalmente en la formación no enzimática, relacionada con la edad, de productos finales de glicación avanzada, también la acumulación patológica de enlaces cruzados mediados por enzimas puede conducir a la rigidez tisular relacionada con la edad (29). Aunque los enfoques inmunoquímicos se utilizan comúnmente para localizar la pro-enzima inactiva de LOX y los métodos bioquímicos se emplean para cuantificar la actividad en el tejido homogeneizado, éstos no permiten la localización *in situ* de la enzima. Por ello, recientemente se ha desarrollado un nuevo ensayo para detectar y además localizar la actividad enzimática de LOX *in situ*. Este ensayo se basa en que una amina sus-

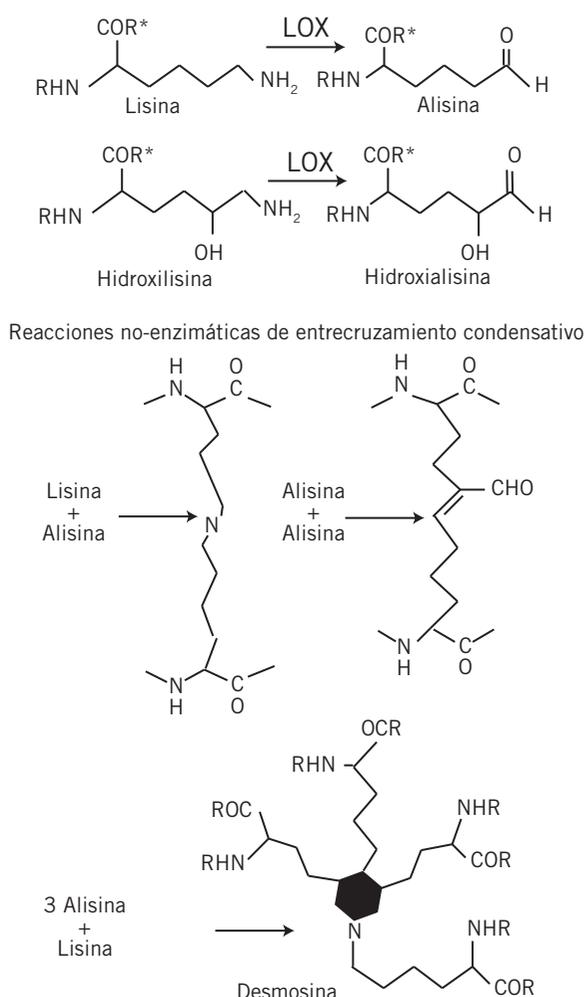


Figura 2. Reacciones espontáneas de entrecruzamiento no-enzimático.

trato en presencia de miembros de la familia LOX, que actúan como amino-oxidasas, se oxidará a aldehído y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). A su vez, este último al combinarse con luminol y peroxidasa de rábano picante, producirá una reacción de emisión de luz que podrá detectarse mediante autorradiografía en film. Esta técnica para localizar la actividad específica de amino-oxidasas en secciones de tejido puede proporcionar información adicional crucial sobre el rol exacto desempeñado por esta clase de enzimas en la mediación del endurecimiento tisular relacionado con la edad (29).

2.1. LOXL1, LOXL2, LOXL3 Y LOXL4

La familia génica de LOX comprende las proteínas LOX, LOXL1, LOXL2, LOXL3 y LOXL4 (24) (30). LOX es el miembro prototípico de la familia, que es esencial para la biogénesis del tejido conectivo, codificando una amino-oxidasa extracelular dependiente de cobre, que cataliza el primer paso en la formación

de enlaces cruzados en colágenos y elastina. El ARNm de LOX se expresa en muchos tejidos humanos, con la expresión más elevada observada en aorta, pulmones, riñones y páncreas, y la expresión de LOX disminuye durante el envejecimiento, que se correlaciona con la disminución de la expresión de tropoelastina y colágeno I. El *knockout* genético de *Lox* en ratones ha demostrado la importancia de la biogénesis mediada por LOX de la matriz extracelular fibrilar durante el desarrollo. Los ratones *Lox*^{-/-} mueren al nacer o poco después, debido a la formación de tejido conectivo alterado causando inestabilidad cardiovascular y de diafragma (21). Es interesante que estos ratones también parecen mostrar una disminución de la expresión de otros miembros de la familia LOXL: LOXL1-4 (21).

La familia LOX contiene una secuencia de aminoácidos muy conservada en el extremo C-terminal que parece ser suficiente para la actividad de amino-oxidasa, lo que sugiere que cada miembro de la familia puede retener esta función (Fig. 4). Este extremo C-terminal comprende un motivo de unión a cobre y el cofactor lisil-tirosil-quinona (LTQ), ambos necesarios para la conformación de la proteína y la actividad catalítica respectivamente; este extremo también contiene un dominio tipo receptor de citoquina (CRL) (Fig. 4). En cambio, el extremo N-terminal está mal conservado y puede im-

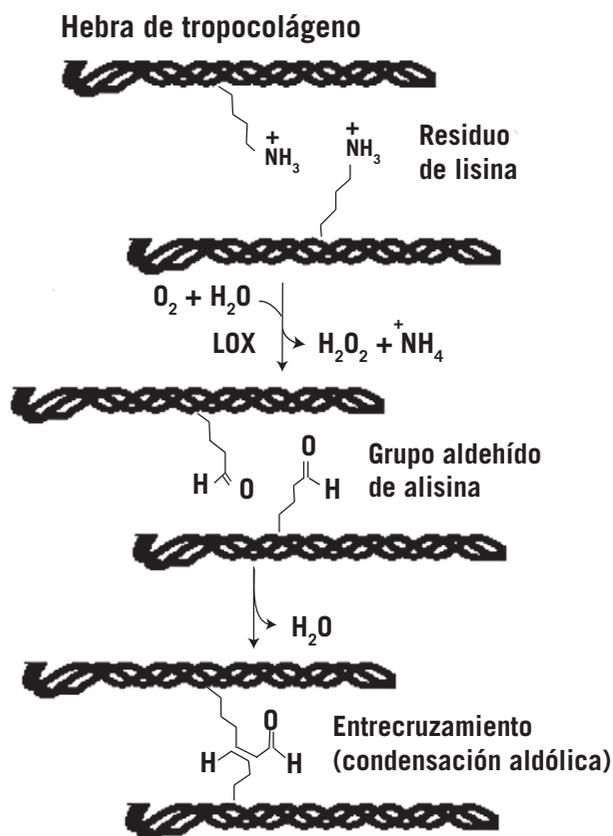


Figura 3. Acción de LOX en la formación de colágeno.

partir roles adicionales en la regulación del desarrollo, la senescencia, la supresión de tumores, el control del crecimiento celular y la quimiotaxis a cada miembro de la familia (5). En realidad los extremos amino de las proteínas LOX son más divergentes, con LOXL2, LOXL3 y LOXL4 conteniendo cuatro dominios receptor captador rico en cisteína (SRCR) que se cree que participan en la adhesión celular y en las interacciones proteína-proteína (Fig. 4).

La complejidad de los dominios presentes en la estructura de los miembros de la familia LOX indica que estas proteínas probablemente participan en una variedad de procesos biológicos.

Lisil-oxidasa tipo 1 u homólogo 1, también conocida como LOXL1, está codificada en humanos por el gen *LOXL1* (31). Los polimorfismos de este gen están asociados con el síndrome de pseudoexfoliación (32) (33). Se ha demostrado que LOXL1 interactúa con Fibulina-5 (*Fbln5*) (31). LOX y LOXL1 contienen pro-secuencias, lo que permite su secreción como pro-enzimas inactivas. Las pro-regiones de LOX y LOXL1 interactúan directamente con la matriz extracelular, dirigiendo de ese modo la deposición de estas enzimas en las fibras elásticas. La proteína morfogenética ósea-1 (BMP-1) y las proteinasas relacionadas con BMP-1 procesan pro-LOX y pro-LOXL1, liberando las enzimas activas catalíticamente y las regiones *N*-terminales del pro-péptido (21). El ARNm de *LOXL1* es más abundante en la aorta, placenta, músculo esquelético, riñones y páncreas, lo que sugiere que se requiere para la integridad estructural de estos tejidos. En efecto, los estudios *knockout* de

Loxl1 en ratones han demostrado que LOXL1 tiene un rol en la síntesis de elastina en la aorta de rata adulta y el mantenimiento de la homeostasis de fibra elástica en el tracto urogenital inferior (21).

Lisil-oxidasa homólogo 2 (LOXL2) es una enzima que está codificada en humanos por el gen *LOXL2* (34). El ARNm de *LOXL2* presenta la expresión más alta en tejidos humanos reproductivos, tales como próstata, útero y placenta (35). Se ha demostrado que LOXL2 está involucrada en la progresión tumoral y la metástasis de varios tipos de tumores. LOXL2 secretada participa en la remodelación de la matriz extracelular del microambiente del tumor, de una manera similar a la LOX prototípica. Además, se han descrito nuevas funciones intracelulares de LOXL2, tales como su participación en la regulación de la transición epitelio-mesenquimal, polaridad de las células epiteliales y la diferenciación mediada por mecanismos de represión transcripcional (36). Es importante destacar que la expresión intracelular (perinuclear) de LOXL2 se asocia con un mal pronóstico y metástasis a distancia en tipos de tumores específicos, tales como carcinoma de laringe de células escamosas y carcinomas basales de mama. Estos recientes hallazgos abren nuevas vías para la utilidad terapéutica de LOXL2 (36).

Lisil-oxidasa homólogo 3 (LOXL3) (37) y lisil-oxidasa homólogo 4 (LOXL4) (38) son dos enzimas que están codificadas en humanos por los genes *LOXL3* (39) y *LOXL4* (40) respectivamente. *LOXL3* y *LOXL4* están presentes en niveles mucho más bajos que los otros miembros de la familia LOX, con aumento de ex-

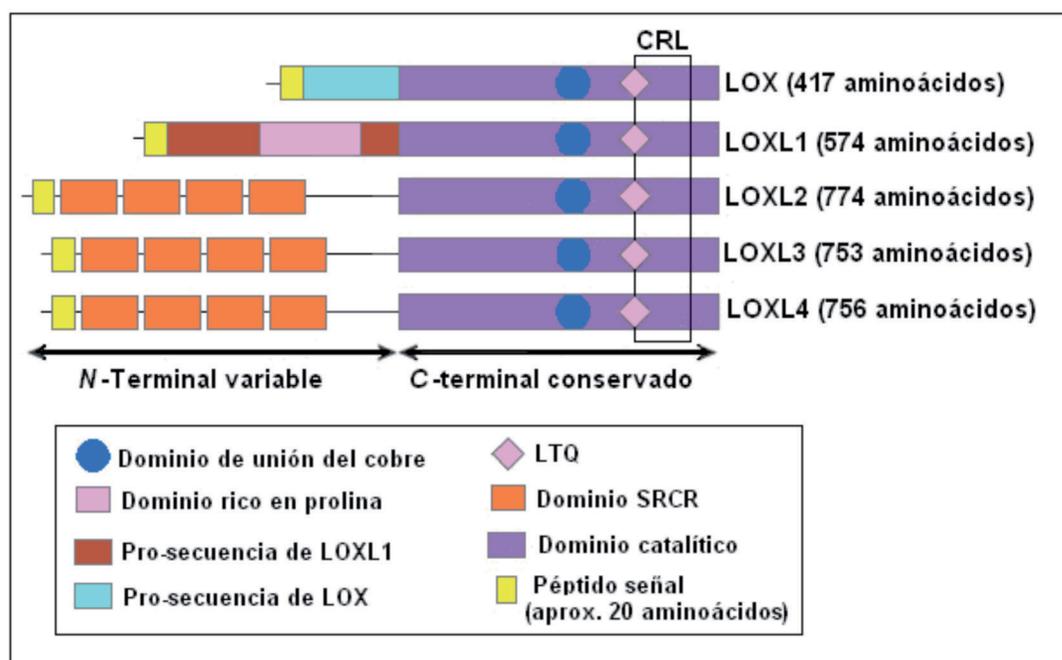


Figura 4. Homología estructural de los miembros de la familia LOX (modificado de (21)).

presión aparente en la placenta, el útero y el corazón para LOXL3, y placenta, pulmones, riñones, páncreas, testículos y ovarios para LOXL4. Parecen existir variantes de transcripción del gen *LOXL3*, conociéndose dos de estas variantes con actividad de amino-oxidasa, pero con diferente especificidad de tejidos y de sustrato (21). LOXL4 es inducida por el factor de crecimiento transformante- β 1 (TGF- β 1) a través de Smad y JunB/Fra2 (41). La expresión de *LOXL4* juega un rol en la homeostasis vascular de la matriz extracelular, contribuyendo a los procesos vasculares asociados a la remodelación de la matriz extracelular y a la fibrosis (41).

Aún no se han obtenido ratones *knockout* para *LOXL2*, *LOXL3* y *LOXL4*, y las estructuras cristalinas de proteínas hasta ahora no han sido resueltas para ninguna de las enzimas de la familia LOX debido a las dificultades en la expresión de las proteínas recombinantes (21).

3. Propiedades moleculares de la lisil-oxidasa

LOX es una enzima homodimérica (compuesta por dos subunidades idénticas) que modifica las proteínas de colágeno y elastina de manera tal que puedan reticularse, estabilizando así los depósitos de estas proteínas en la matriz extracelular (42). 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.

Inicialmente se creía que la enzima LOX era sólo de un tipo. Los estudios sobre esta enzima estuvieron muy limitados durante mucho tiempo debido a su insolubilidad y su tendencia a la agregación. Pero luego pudo ser solubilizada mediante buffers conteniendo urea 4-6 M y su actividad fue recuperada mediante la remoción de la urea. LOX, extraída de diversos tejidos, se resolvió por cromatografía de intercambio aniónico en dietilaminoetilcelulosa (DEAE) en múltiples formas (43). Se obtuvieron unas cuatro formas del cartílago de pollo (44) y de la placenta humana (45), también de aorta y pulmón de bovinos (46) y piel de cerdo (47), que presentaron especificidades similares de sustrato, composición de aminoácidos y masas moleculares de aproximadamente 32 kDa (43), sugiriendo la presencia de isoenzimas con propiedades similares, pero no idénticas.

La isoenzima de LOX ha sido clonada a partir de tejidos de rata (48) (49), de humanos (50-52), de pollo (53) y de ratón (54).

Esta Cu-enzima extracelular, en los humanos es codificada por el gen *LOX*, que está localizado en el cromosoma 5q23.3-31.2 (50-52) (55) y codifica un polipéptido de 417 aminoácidos, de los cuales los primeros 21 residuos corresponden al péptido señal (50) (52) (Fig. 4).

LOX es sintetizada como una proproteína, secretada como una proenzima N-glicosilada de 50 kDa, y luego proteolíticamente escindida a los 32 kDa, enzima catalíticamente activa, madura (5) (20) (Fig. 5).

4. Biosíntesis y procesado del precursor LOX

La proteína LOX se sabe que es secretada en el espacio extracelular (56) (57). Se identificaron tres formas de LOX con masas moleculares de 50, 45 y 32 kDa mediante inmunoprecipitación y se marcaron las células cultivadas del músculo liso de rata con [35 S]-metionina (58). El fragmento de 50 kDa se encontró como una proteína secretada en el medio celular y en la fracción intracelular, y los estudios revelaron que se convierte en una proteína de 32 kDa en el medio. Este fragmento de 50 kDa resultó ser el derivado N-glicosilado de la proproteína de 45 kDa (58). La procolágeno C-proteinasa (PCP) escinde el precursor de 50 kDa entre Gly-168 y Asp-169 (numeración de acuerdo con la secuencia humana) para producir la enzima madura no glicosilada de 32 kDa (Fig. 5) (59) (60). En los mamíferos, la actividad de PCP es proporcionada por los productos del gen *BMP-1*, que codifica las especies de ARNm empalmados alternativamente para la proteína BMP-1 y toloide de mamífero (mTLD) (61). El gen *BMP-1* es un miembro de una familia multigénica incluyendo dos proteinasas genéticamente diferentes relacionadas con los toloides de mamíferos tipo 1 (mTLL-1) y tipo 2 (mTLL-2). BMP-1, mTLD, y mTLL-1 todos tienen actividad de PCP, sin embargo, varía su especificidad de sustrato.

Uzel *et al.* (62) demostraron que BMP-1, mTLD, mTLL-1 y mTLL-2 todos procesan al precursor de LOX de 50 kDa y controlan su activación en los fibroblastos de embrión de ratón. Los ensayos *in vitro* con enzimas recombinantes purificadas mostraron que las cuatro proteinasas escindían al precursor de LOX en el sitio fisiológico correcto. Además, BMP-1 puede ser capaz de regular la actividad de LOX a través del evento de procesado (63).

La biosíntesis de LOX se detalla en la Fig. 5 (modificado de (16)). El precursor de LOX entra en el retículo endoplasmático rugoso, donde se escinde su péptido señal y es glicosilado en un residuo Asn localizado en la región del propéptido. La adición de cobre (Cu^{2+}) y la formación del cofactor LTQ pueden ocurrir en el retículo endoplasmático o durante el tráfico de proteínas a través de los elementos de Golgi. Después de la secreción del precursor de LOX en el espacio extracelular, la región del propéptido se escinde mediante PCP entre Gly-168 y Asp-169 para obtener la enzima activa de 32 kDa. Las masas moleculares del polipéptido de LOX se indican de acuerdo a la enzima LOX de rata (48) (49) (58).

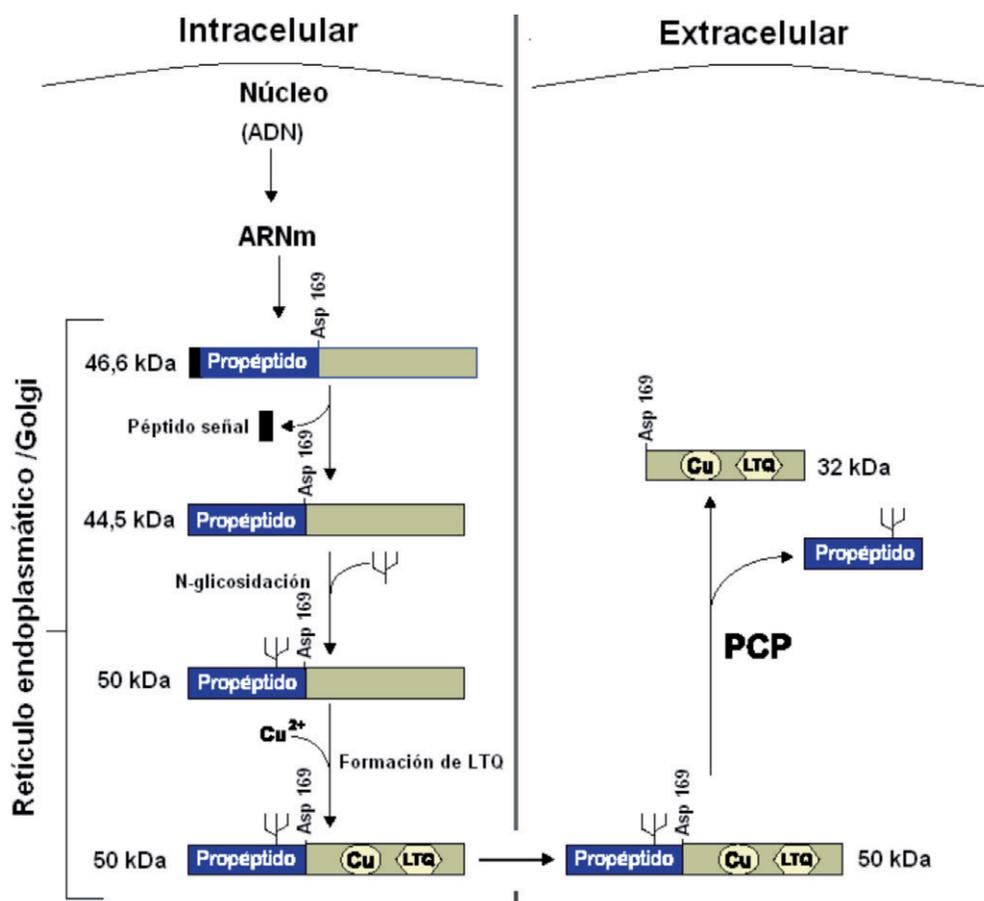


Figura 5. Biosíntesis de LOX.

Recientemente se publicó un procesamiento nuevo de proLOX identificado *in vitro* e *in vivo* (64). La proLOX secretada es enzimáticamente inactiva y se activa a través de la escisión proteolítica entre los residuos Gly-162 y Asp-163 (números de residuos de acuerdo con LOX de ratón) mediante los productos génicos de la proteína BMP-1.

Se identificaron y se caracterizaron dos formas de LOX madura por su inmunoreactividad a anticuerpos específicos, actividad de amino-oxidasa y espectrometría de masa. Una forma fue identificada como una bien caracterizada proteína LOX procesada por BMP-1 (64). Otra se encontró que era una forma troncada de LOX resultante de la escisión en el carboxilo terminal de Arg-192, la cual retuvo la actividad de amino-oxidasa. Los resultados de la delección del gen de proLOX y los experimentos de mutación indicaron que el procesamiento se produce independientemente de la escisión de proLOX mediante los productos del gen *BMP-1* y probablemente requiere la presencia del propéptido LOX. Estos resultados indican que proLOX podría ser procesada por dos mecanismos diferentes que producen dos formas de LOX activa (64).

5. Propiedades catalíticas

5.1. COFACTORES

Se demostró que el cobre es un componente de LOX mediante estudios espectroscópicos de absorción atómica, encontrándose un átomo de cobre fuertemente unido en el monómero de LOX de 32 kDa. La remoción de los iones de cobre conduce a una apoenzima catalíticamente inactiva. Los estudios de resonancia paramagnética electrónica indicaron que el cobre en la enzima en reposo se encuentra en el estado Cu (II) y está coordinado octaédricamente, tetragonalmente distorsionado (65). La secuencia WEWSCHQHYH en humanos es la región de unión al cobre, que proporciona cuatro unidades de histidina que participan en el complejo de coordinación con el cobre (66). Además del ión cobre fuertemente unido, las preparaciones purificadas de LOX contienen 5-9 átomos de cobre débilmente unidos por molécula de enzima (65).

Además del cobre, LOX contiene también un grupo prostético con carbonilo unido covalentemente (5) (67). La estructura del cofactor LTQ deriva del entrecruza-

miento del grupo ϵ -amino de una lisina peptídica (Lys-314 en LOX bovina) con la cadena lateral modificada de una unidad tirosilo (Tyr-349 en LOX bovina). LTQ podría formarse en el retículo endoplasmático o durante el tráfico de proteínas a través de los elementos de Golgi (Fig. 5) (68). En esta vía, el cobre puede desempeñar un papel estructural en la estabilización de LTQ (69).

5.2. MECANISMO DE REACCIÓN

LOX cataliza la oxidación de aminas primarias a través de un mecanismo cinético ping-pong *ter-bi* (70) (Fig. 6). El primer paso en esta reacción es la formación de una base de Schiff con el cofactor LTQ (**A** \rightarrow **B**). Cuando LTQ se une al sustrato, sufre una abstracción de protones α , limitante de la velocidad, facilitada por bases (71) como histidina (72). En la siguiente reacción, tiene lugar la abstracción estereoespecífica del protón- α pro-*S* (73) y los electrones que migran desde el carbanión del sustrato reducen al cofactor LTQ (**B** \rightarrow **C**). La hidrólisis de la imina intermediaria libera el aldehído reactivo como producto, que puede entonces reaccionar espontáneamente para formar enlaces cruzados derivados de lisina o hidroxilisina. Después de la liberación del aldehído, la enzima reducida es oxidada nuevamente por el oxígeno molecular con la ayuda de Cu (II) para producir peróxido de hidrógeno y amoníaco (74). De esta manera, la enzima oxidada es regenerada y el ciclo catalítico

se ha completado (**D** \rightarrow **E** \rightarrow **A**) (5) (67) (74). En la Fig. 6 (modificada de (5)), el sustituyente RNH corresponde a Lys-314 peptídica en LOX bovina, la letra B representa una base, LTQ es el cofactor lisil-tirosil-quinona, y Lys^{Ald} representa el producto final de la reacción, un aldehído derivado de lisina, es decir alisina (5) (74).

5.3. INHIBIDORES DE LOX

La importancia del entrecruzamiento derivado de LOX surgió de estudios en animales, en los que LOX fue inhibida, ya sea mediante deficiencia nutricional de cobre o mediante la suplementación dietaria con β -aminopropionitrilo (β -APN) (75). La inhibición de LOX en animales en crecimiento causó una enfermedad molecular conocida como latirismo, que se caracteriza por una fragilidad aumentada de todos los tejidos conectivos y un incremento de la solubilidad del colágeno tisular dando lugar a mala formación y debilidad en los huesos, piel hiperextensible, ligamentos débiles y mayor incidencia de aneurismas aórticos, debido a la disminución de entrecruzamiento del colágeno y de la elastina (76).

β -APN es un potente inhibidor irreversible de LOX (77), que se ha usado para inhibir específicamente la actividad de todas las isoenzimas de LOX en numerosos estudios (78). La estructura de β -APN se usó en la búsqueda de otros inhibidores también irreversibles, como β -haloetilaminas, β -nitroetilamina (71) y las diaminas

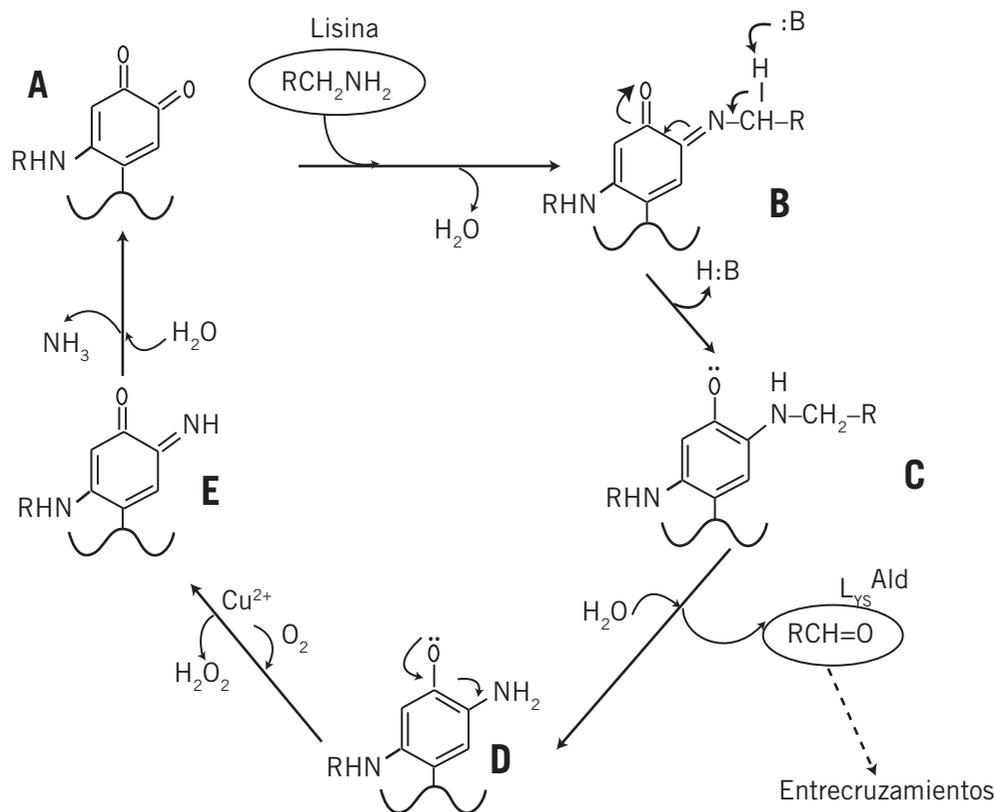


Figura 6. Mecanismo de reacción de LOX.

vicinales como *cis*-1,2-diamino-ciclohexano y etilendiamina (79). Las bencilaminas sustituidas en posición *para* con grupos aceptores de electrones se comportan como inhibidores del estado fundamental, presumiblemente mediante la formación de intermediarios unidos a la enzima LOX que no se transforman totalmente en aldehído (80). LOX es además inhibida por heparina (81), *N*-(5-aminopentil)aziridina (82) y *trans*-2-fenilciclopropilamina (83), siendo esta última amina un inhibidor reversible, no competitivo (83). LOX es inhibida además, en forma irreversible, por homocisteína-tiolactona y sus análogos de selenio y de oxígeno (84).

6. Regulación de LOX

6.1. EXPRESIÓN EN DIFERENTES TIPOS DE CÉLULAS Y DURANTE EL DESARROLLO

LOX está expresada en varias células diferentes, como: fibroblastos, células del músculo liso aórticas y de pulmón, osteoblastos, células de osteosarcoma (63), miofibroblastos (85), células endoteliales corneales (86) y condrocitos (87). Además, una forma secretada de LOX se asocia con los condrocitos traqueales, células endoteliales, células basales, células biliares epiteliales, células del parénquima hepático y células del retículo del bazo (88).

LOX se expresa en particular en los tejidos que contienen colágeno fibrilar y/o fibras elásticas, como: piel, pulmones, cartílago, sistema cardiovascular y *lamina propria* fibrosa en el intestino delgado. LOX también se detectó en el hígado, riñones (en glomérulos, médula, líneas celulares renales y células epiteliales tubulares) (88), estómago, retina y cerebro (89), y en el ojo (90). LOX también se ha descrito en el cerebro en: mesencéfalo, cuerpo calloso, corteza cerebral y cerebelo (91).

La expresión de las proteínas LOX puede estar influenciada por microARNs. El 3'-UTR del ARNm de *LOX* contiene un sitio de unión para mir-145 (microARN corto), que es regulado negativamente en muchos tipos de cáncer (92).

6.2. LOX EN LOS TEJIDOS FIBRÓTICOS Y SU POTENCIAL USO COMO MARCADOR DE FIBROSIS

La fibrosis se caracteriza por una acumulación de fibras de colágeno esencialmente insolubles. Debería ser posible tratar esta condición mediante la supresión selectiva de eventos clave en la biosíntesis de colágeno, incluyendo la reacción catalizada por las LOXs. La inhibición de las LOXs probablemente disminuiría la cantidad de enlaces cruzados en los colágenos, lo cual podría aumentar su degradación por las proteasas (67) (93-95).

En las últimas décadas, varias publicaciones han sugerido una fuerte asociación entre la fibrosis de órganos y el aumento de actividad de LOX. Un nivel signi-

ficativamente mayor de la actividad de LOX se observó en medios de células mesenquimales cultivadas a partir de hígado cirrótico humano, cuando se compararon con la de los medios de células de hígado normal o de hígado de pacientes con hepatitis crónica (96). En estos estudios, el bajo nivel de la actividad de la enzima en el hígado sano aumentó 15 a 30 veces en el hígado fibrótico. Por lo tanto, LOX podría servir como un marcador de la fibrosis interna (97).

En cultivos de fibroblastos, LOX fue detectada inmunológicamente en asociación con estructuras filamentosas en el citoplasma en consonancia con las proteínas del citoesqueleto (98). Además, la forma activa de LOX de 32 kDa ha sido localizada mediante inmunocitoquímica y análisis por Western blot en el núcleo de células musculares lisas vasculares y fibroblastos 3T3 de rata (99). El núcleo de las células musculares lisas vasculares contenía lisinonorleucina, que es el aducto formado durante la reacción de entrecruzamiento catalizada por LOX. La formación de lisinonorleucina fue impedida por la administración de β -APN, confirmando así un rol de LOX en esta reacción (99).

Es interesante que los cambios en el nivel de expresión del colágeno tipo III suelen preceder, o están en paralelo con, los cambios en el nivel de la actividad de LOX (100) (101). Se realizaron varios estudios genéticos al respecto (102).

La expresión de LOX también parece estar asociada con la expresión del colágeno tipo I, lo cual ha sido corroborado en varias investigaciones (103).

Recientemente, se identificó un péptido, E4, con potente actividad antifibrótica al estudiar el efecto de los péptidos derivados de endostatina sobre la fibrosis existente y la fibrosis provocada por dos potentes mediadores: TGF- β y bleomicina, en tejidos humanos y de ratón *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*. E4, que es un péptido derivado de endostatina, previno la fibrosis dérmica inducida por TGF- β *in vivo* en un modelo de ratón, *ex vivo* en piel humana y en fibrosis dérmica y pulmonar inducida por bleomicina *in vivo* (104). La mejoría de la fibrosis por E4 de la fibrosis estuvo acompañada de una reducción de la apoptosis celular y de menores niveles de LOX y Egr-1 (gen-1 de respuesta de crecimiento temprano), un factor de transcripción que medía los efectos de varios desencadenantes fibróticos (104). E4 es un posible agente terapéutico para la fibrosis de órganos, lo cual es importante ya que no parece haber terapias eficaces para los trastornos fibroproliferativos, como la fibrosis pulmonar idiopática y la esclerosis sistémica, que provocan significativa morbilidad y mortalidad debido a la fibrosis progresiva de los órganos.

6.3. RESPUESTA A EFECTORES DIFERENTES EN VARIOS TIPOS DE CÉLULAS

La expresión de *LOX* es muy sensible a una variedad de estados fisiológicos, como crecimiento, reparación

de heridas, envejecimiento, enfermedades genéticas que involucran el metabolismo del cobre alterado y tumorigénesis. Por lo tanto, es obvio que la expresión de *LOX* está regulada por varias citoquinas específicas, factores de crecimiento y mensajeros moleculares intercelulares relacionados (5) (24).

Se ha descrito la regulación de la expresión del gen *LOX* en diferentes tejidos y células de varias especies, poniendo así en evidencia múltiples mecanismos complejos que regulan la expresión y la actividad de *LOX*. Muchos de estos efectores se han compilado (24) e incluyen citoquinas y factores de crecimiento, como: interferón *gamma* (IFN- γ), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF o FGF-2 o FGF- β) (105), factor de crecimiento tipo insulina-1 (IGF) (106), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (107), y TGF- β 1 (108-111); hormonas y mediadores, tales como: testosterona (112), progesterona y prostaglandina E₂ (PGE₂) (113); moléculas de señalización, tales como: factor regulador de interferón-1 (IRF-1) (114), ras (115), cAMP (113)(116), y fármacos, tales como: adriamicina, bleomicina e hidralazina. Desde entonces se han descrito efectores adicionales, incluyendo la hormona folículoestimulante (FSH) (117)(118), solución hiperosmótica (119), inhibidor de la secreción de proteasa de leucocitos (SLPI) (120), IL-1 α (interleuquina-1 *alfa*) (121), condensado del humo de cigarrillo (122)(123), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) (124), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (125), hialuronano con IGF-1 (126) y hormona paratiroidea (PTH) (127).

Los factores de crecimiento y otros efectores que se sabe que afectan a la expresión y la actividad de *LOX* en determinadas células o tejidos se enumeran a continuación: IFN- γ (128) en células musculares lisas de la aorta de rata (efecto: regulación negativa de ARNm); bFGF (105) en células osteoblásticas de ratón (efecto: nivel disminuido de ARNm [1-10 nM]; regulación positiva de ARNm [0,01-0,1 nM]); FGF-2 y IGF-1 (106) en tejidos orales inflamados y en células mesenquimales fibroblásticas de rata (efecto: aumento de ARNm); PGE₂ (113) en fibroblastos de pulmón de rata (efecto: nivel de ARNm sin cambios; reducción en la actividad de la enzima *LOX*) y fibroblastos de pulmón embrionario humano (efecto: regulación negativa de ARNm); TGF- β 1 (108-111) en células del músculo liso de aorta de rata, en células gingivales, células reticulares de flexores y líneas celulares renales de humanos y en células murinas tipo osteoblastos (efecto en todos los tipos mencionados de células: aumento del nivel de ARNm y de la actividad de *LOX*); cadmio (129) en fibroblastos de ratón (efecto: disminución del nivel de ARNm) y fibroblastos de ratón resistentes al cadmio (efecto: aumento del nivel de ARNm); testosterona (112) en células musculares lisas de aorta de ternero (efecto: aumento de la actividad de *LOX*); bleomicina (130) en fibroblastos de pulmón

humano (efecto: aumento del nivel de ARNm), en fibroblastos dérmicos humanos (efecto: disminución del nivel de ARNm); hidralazina (130) en fibroblastos dérmicos humanos (efecto: aumento del nivel de ARNm); minoxidil (130) en fibroblastos dérmicos humanos (efecto: aumento del nivel de ARNm); adriamicina (88) en glomérulos y médula del riñón de rata (efecto: aumento del nivel de ARNm); cAMP (113)(116) en células musculares lisas vasculares de rata y de humanos (efecto: regulación positiva de las células de la transcripción); PDGF (107) en células musculares lisas vasculares de rata (efecto: regulación positiva de ARNm); dexametasona (131) en pulmones murinos fetales cultivados (efecto: regulación positiva de ARNm); ácido retinoico (132) en adipocitos en la adipogénesis temprana (efecto: evita la regulación negativa de ARNm y de la actividad de *LOX*).

Uno de estos efectores, TGF- β 1, es un factor de crecimiento fibrogénico, que se sabe que regula la síntesis de colágenos (133, 134) y de elastina (135).

La expresión de *LOX* se promueve en células MCF-7 de cáncer de mama mediante el contacto con medios condicionados con fibroblastos, matriz de colágeno I condicionada por fibroblastos (136) y en células HK-2 del túbulo renal proximal co-cultivadas con células HMEC-1 endoteliales microvasculares (137).

La expresión de *LOX* también es inducida por hipoxia. El factor HIF-1 α estimula la transcripción de ARNm de *LOX* (138)(139). La expresión de *LOX* en hipoxia puede ser modulada por el pH (140). El reclutamiento de HIF-1 α al promotor de *LOX* es potenciado mediante las vías de señalización Notch, que también aumentan la expresión de Snail-1 (141).

8. 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 participa también en la supresión tumoral y en la paradójica acción de promoción tumoral. *LOX* desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la estabilidad de la matriz extracelular y podría participar en el remodelado vascular asociado con las enfermedades cardiovasculares. Asimismo, los inhibidores de esta enzima pueden ser útiles en la prevención de la progresión de tumores y de metástasis, así como para el tratamiento de otras enfermedades fibróticas que involucren la remodelación de la matriz extracelular, como: enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares.

Todos estos temas así como el rol primordial 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 restan-

tes miembros de esta familia génica: LOXL1, LOXL2, LOXL3 y LOXL4, se discuten en este trabajo conjuntamente con el mecanismo de acción y la expresión y respuesta a diversos efectores celulares.

Lo presentado aquí muestra la importancia de esta familia génica de acuerdo con las investigaciones recientes.

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. Los Dres. Pomilio y Vitale son Miembros de la Carrera de Investigador Científico de CONICET.

CORRESPONDENCIA

PROF. DRA. ALICIA B. POMILIO

Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular IBIMOL

(ex PRALIB) (UBA y CONICET)

Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB)

Universidad de Buenos Aires (UBA)

Junín 956 C1113AAD

CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, Argentina

E-mail: pomilio@ffyb.uba.ar

Referencias bibliográficas

1. Largeron M. Amine oxidases of the quinoproteins family: their implication in the metabolic oxidation of xenobiotics. *Pharm Fr* 2011; 69 (1): 53-61.
2. Vitale AA, Ciprian-Ollivier JO, Vitale MG, Romero E, 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.
3. Pomilio AB, Ciprian Ollivier JO, Vitale AA. Flavoproteínas que actúan como amino-oxidasas: Estructura, función e importancia clínica. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47: 279-305.
4. Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. *Matrix Biol* 1998; 16 (7): 387-98.
5. Uscn Life Science Inc. Lysyl oxidase (LOX). Disponible en: [www.uscnk.com/directory/Lysyl-oxidase\(LOX\)-2580.htm](http://www.uscnk.com/directory/Lysyl-oxidase(LOX)-2580.htm). (Fecha de acceso: mayo 2013).
6. Khan S, Chatra L, Prashanth SK, Veena KM, Rao PK. Pathogenesis of oral submucous fibrosis. *J Cancer Res Ther* 2012; 8 (2): 199-203.
7. Cox TR, Bird D, Baker AM, Barker HE, Ho MW, Lang G, *et al.* LOX-mediated collagen crosslinking is responsible for fibrosis-enhanced metastasis. *Cancer Res* 2013; 73 (6): 1721-32.
8. Cosimo QC, Daniela L, Elsa B, Carlo DV, Giuseppe F. Kinky hair, kinky vessels, and bladder diverticula in Menkes disease. *J Neuroimaging* 2011; 21 (2): e114-6.
9. Mizuno S, Yasuo M, Bogaard HJ, Kraskauskas D, Alhusaini A, Gomez-Arroyo J, *et al.* Copper deficiency induced emphysema is associated with focal adhesion kinase inactivation. *PLoS One* 2012; 7 (1): e30678.
10. Kohno T, Urao N, Ashino T, Sudhakar V, McKinney RD, Hamakubo T, *et al.* Novel role of copper transport protein antioxidant-1 in neointimal formation after vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33 (4): 805-13.
11. Hasan NM, Lutsenko S. Regulation of copper transporters in human cells. *Curr Top Membr* 2012; 69: 137-61.
12. National Center for Biotechnology Information, Lysyl Oxidase (LOX). Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/gene (search: lysyl oxidase). (Fecha de acceso: mayo 2013).
13. Huang Y, Dai J, Tang R, Zhao W, Zhou Z, Wang W, *et al.* Cloning and characterization of a human lysyl oxidase-like 3 gene (hLOXL3). *Matrix Biol* 2001; 20 (2): 153-7.
14. Mäki JM, Kivirikko KI. Cloning and characterization of a fourth human lysyl oxidase isoenzyme. *Biochem J* 2001; 355: 381-7.
15. Mäki JM, Tikkanen H, Kivirikko KI. Cloning and characterization of a fifth human lysyl oxidase isoenzyme: the third member of the lysyl oxidase-related subfamily with four scavenger receptor cysteine-rich domains. *Matrix Biol* 2001; 20 (7): 493-6.
16. Mäki J. Cloning and characterization of the fourth and the fifth human lysyl oxidase isoenzymes, and the consequences of a targeted inactivation of the first described lysyl oxidase isoenzyme in mice. Academic Dissertation, Faculty of Medicine, University of Oulu, Department of Medical Biochemistry, Finlandia; 2002. Disponible en: www.herkules oulu.fi/isbn9514267397/isbn9514267397.pdf. (Fecha de acceso: mayo 2013).
17. Herranz N, Dave N, Millanes-Romero A, Morey L, Díaz VM, Lórenz-Fonfría V, *et al.* Lysyl oxidase-like 2 deaminates lysine 4 in histone H3. *Mol Cell* 2012; 46 (3): 369-76.
18. Semenza GL. Molecular mechanisms mediating metastasis of hypoxic breast cancer cells. *Trends Mol Med* 2012; 18 (9): 534-43.
19. Tadmor T, Bejar J, Attias D, Mischenko E, Sabo E, Neufeld G, *et al.* The expression of lysyl-oxidase gene family members in myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol* 2013; 88 (5): 355-8.
20. Nishioka T, Eustace A, West C. Lysyl oxidase: from basic science to future cancer treatment. *Cell Struct Funct* 2012; 37 (1): 75-80.
21. Barker HE, Cox TR, Erler JT. The rationale for targeting the LOX family in cancer. *Nature Rev Cancer* 2012; 12 (8): 540-52.
22. Thomas C, Karnoub AE. Lysyl oxidase at the crossroads of mesenchymal stem cells and epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2013; 4 (3): 376-7.
23. Seton-Rogers S. Metastasis: dynamic interactions. *Nat Rev Cancer* 2012; 12 (6): 378.
24. Csiszar K. Lysyl oxidases: a novel multifunctional amine oxidase family. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001; 70: 1-32.

25. Alberts B. Molecular biology of the cell. New York: Garland Science; 2002.
26. Siegel RC, Fu JC, Uto N, Horiuchi K, Fujimoto D. Collagen cross-linking: lysyl oxidase dependent synthesis of pyridinoline *in vitro*: confirmation that pyridinoline is derived from collagen. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 108 (4): 1546-50.
27. Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibers. *J Cell Sci* 2002; 115 (14): 2817-28.
28. Fong SFT, Fong KSK, Csiszar K. LOX (lysyl oxidase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*; February 2009. Disponible en: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Genes/LOXID41191ch5q23.html>. (Fecha de acceso: mayo 2013).
29. Langton AK, Griffiths CE, Sherratt MJ, Watson RE. Cross-linking of structural proteins in ageing skin: an *in situ* assay for the detection of amine oxidase activity. *Biogerontology* 2013; 14 (1): 89-97.
30. 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.
31. Liu X, Zhao Y, Gao J, Pawlyk B, Starcher B, Spencer JA, *et al*. Elastic fiber homeostasis requires lysyl oxidase-like 1 protein. *Nat Genet* 2004; 36 (2): 178-82.
32. Uscn Life Science Inc. Lysyl Oxidase Like Protein 1 (LOX1). Disponible en: [www.uscnk.com/img/Lysyl-Oxidase-Like-Protein-1-\(LOXL1\)-95551.jpg](http://www.uscnk.com/img/Lysyl-Oxidase-Like-Protein-1-(LOXL1)-95551.jpg). (Fecha de acceso: mayo 2013).
33. Kasım B, Irkeç M, Alikas Alikeşifoğlu fiifoglu M, Orhan M, Mocan MC, Aktaş D. Association of LOXL1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma and primary open angle glaucoma in a Turkish population. *Mol Vis* 2013; 19: 114-20.
34. Jourdan-Le Saux C, Le Saux O, Donlon T, Boyd CD, Csiszar K. The human lysyl oxidase-related gene (*LOXL2*) maps between markers D8S280 and D8S278 on chromosome 8p21.2-p21.3. *Genomics* 1998; 51 (2): 305-7.
35. Uscn Life Science Inc. Lysyl Oxidase Like Protein 2 (LOX2). Disponible en: [www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-2\(LOXL2\)-5552.htm](http://www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-2(LOXL2)-5552.htm). Lysyl Oxidase Like Protein 2 (LOXL2). (Fecha de acceso: mayo 2013).
36. Cano A, Santamaría PG, Moreno-Bueno G. LOXL2 in epithelial cell plasticity and tumor progression. *Future Oncol* 2012; 8(9): 1095-108.
37. Uscn Life Science Inc. Lysyl Oxidase Like Protein 3 (LOX3). Disponible en: [www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-3\(LOXL3\)-5553.htm](http://www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-3(LOXL3)-5553.htm). Lysyl Oxidase Like Protein 3 (LOXL3). (Fecha de acceso: mayo 2013).
38. Uscn Life Science Inc. Lysyl Oxidase Like Protein 4 (LOX4). Disponible en: [www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-4\(LOXL4\)-5554.htm](http://www.uscnk.com/directory/Lysyl-Oxidase-Like-4(LOXL4)-5554.htm). Lysyl Oxidase Like Protein 4 (LOXL4). (Fecha de acceso: mayo 2013).
39. Jourdan-Le Saux C, Tomsche A, Ujfalusi A, Jia L, Csiszar K. Central nervous system, uterus, heart, and leukocyte expression of the LOXL3 gene, encoding a novel lysyl oxidase-like protein. *Genomics* 2001; 74 (2): 211-8.
40. Ito H, Akiyama H, Iguchi H, Iyama K, Miyamoto M, Ohsawa K. Molecular cloning and biological activity of a novel lysyl oxidase-related gene expressed in cartilage. *J Biol Chem* 2001; 276 (26): 24023-9.
41. Busnadiego O, González-Santamaría J, Lagares D, Guinea-Viniegra J, Pichol-Thievent C, Muller L, *et al*. LOXL4 is induced by TGF- β 1 through Smad and JunB/Fra2 and contributes to vascular matrix remodeling. *Mol Cell Biol* 2013 Apr 9.[Epub ahead of print].
42. Science Photo Library. Lysyl oxidase enzyme molecule. Disponible en: www.sciencephoto.com/media/88619/view. Lysyl oxidase enzyme molecule. (Fecha de acceso: mayo 2013).
43. Kagan HM. Characterization and regulation of lysyl oxidase. En: Mecham RP, editor. *Biology of Extracellular Matrix*. Orlando: Academic Press; 1986. p. 321-89.
44. Stassen FL. Properties of highly purified lysyl oxidase from embryonic chick cartilage. *Biochim Biophys Acta* 1976; 438 (1): 49-60.
45. Kuivaniemi H, Savolainen ER, Kivirikko KI. Human placental lysyl oxidase. Purification, partial characterization, and preparation of two specific antisera to the enzyme. *J Biol Chem* 1984; 259 (11): 6996-7002.
46. Cronlund AL, Kagan HM. Comparison of lysyl oxidase from bovine lung and aorta. *Connect Tissue Res* 1986; 15 (3): 173-85.
47. Shackleton DR, Hulmes DJ. Purification of lysyl oxidase from piglet skin by selective interaction with Sephacryl S-200. *Biochem J* 1990; 266 (3): 917-9.
48. Trackman PC, Pratt AM, Wolanski A, Tang SS, Offner GD, Troxler RF, *et al*. Cloning of rat aorta lysyl oxidase cDNA: complete codons and predicted amino acid sequence. *Biochemistry* 1990; 29 (20): 4863-70.
49. Trackman PC, Pratt AM, Wolanski A, Tang SS, Offner GD, Troxler RF, *et al*. Cloning of rat aorta lysyl oxidase cDNA: complete codons and predicted amino acid sequence. Erratum. *Biochemistry* 1991; 30 (33): 8282.
50. 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.
51. Hämäläinen ER, Kemppainen R, Pihlajaniemi T, Kivirikko KI. Structure of the human lysyl oxidase gene. *Genomics* 1993; 17 (3): 544-8.
52. 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 reversion gene). *Matrix* 1992; 12 (3): 242-8.
53. Wu Y, Rich CB, Lincecum J, Trackman PC, Kagan HM, Foster JA. Characterization and developmental expression of chick aortic lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1992; 267 (34): 24199-206.
54. Contente S, Csiszar K, Kenyon K, Friedman RM. Structure of the mouse lysyl oxidase gene. *Genomics* 1993; 16 (2): 395-400.
55. Boyd CD, Mariani TJ, Kim Y, Csiszar K. The size heterogeneity of human lysyl oxidase mRNA is due to alternate polyadenylation site and not alternate exon usage. *Mol Biol Rep* 1995; 21 (2): 95-103.

56. Peltonen L, Kuivaniemi H, Palotie A, Horn N, Kaitila I, Kivirikko KI. Alterations in copper and collagen metabolism in the Menkes syndrome and a new subtype of the Ehlers-Danlos syndrome. *Biochemistry* 1983; 22 (26): 6156-63.
57. Kuivaniemi H, Ala-Kokko L, Kivirikko KI. Secretion of lysyl oxidase by cultured human skin fibroblasts and effects of monensin, nigericin, tunicamycin and colchicine. *Biochim Biophys Acta* 1986; 883 (2): 326-34.
58. Trackman PC, Bedell-Hogan D, Tang J, Kagan HM. Post-translational glycosylation and proteolytic processing of a lysyl oxidase precursor. *J Biol Chem* 1992; 267 (12): 8666-71.
59. Cronshaw AD, Fothergill-Gilmore LA, Hulmes DJ. The proteolytic processing site of the precursor of lysyl oxidase. *Biochem J* 1995; 306 (Pt 1): 279-84.
60. Panchenko MV, Stetler-Stevenson WG, Trubetskoy OV, Gacheru SN, Kagan HM. Metalloproteinase activity secreted by fibrogenic cells in the processing of prolyl oxidase. Potential role of procollagen C-proteinase. *J Biol Chem* 1996; 271 (12): 7113-9.
61. Takahara K, Lyons GE, Greenspan DS. Bone morphogenetic protein-1 and a mammalian tolloid homologue (mTld) are encoded by alternatively spliced transcripts which are differentially expressed in some tissues. *J Biol Chem* 1994; 269 (51): 32572-8.
62. Uzel MI, Scott IC, Babakhanlou-Chase H, Palamakumbura AH, Pappano WN, Hong HH, *et al.* Multiple bone morphogenetic protein 1-related mammalian metalloproteinases process pro-lysyl oxidase at the correct physiological site and control lysyl oxidase activation in mouse embryo fibroblast cultures. *J Biol Chem* 2001; 276 (25): 22537-43.
63. Uzel MI, Shih SD, Gross H, Kessler E, Gerstenfeld LC, Trackman PC. Molecular events that contribute to lysyl oxidase enzyme activity and insoluble collagen accumulation in osteosarcoma cell clones. *J Bone Miner Res* 2000; 15 (6): 1189-97.
64. Atsawasuwan P, Mochida Y, Katafuchi M, Tokutomi K, Mocanu V, Parker CE, *et al.* A novel proteolytic processing of prolyl oxidase. *Connect Tissue Res* 2011; 52 (6): 479-86.
65. Gacheru SN, Trackman PC, Shah MA, O'Gara CY, Spacciapoli P, Greenaway FT, *et al.* Structural and catalytic properties of copper in lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1990; 265 (31): 19022-7.
66. Krebs CJ, Krawetz SA. Lysyl oxidase copper-talon complex: a model. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1202 (1): 7-12.
67. Kagan HM. Lysyl oxidase: mechanism, regulation and relationship to liver fibrosis. *Pathol Res Pract* 1994; 190 (9-10): 910-9.
68. Rucker RB, Kosonen T, Clegg MS, Mitchell AE, Rucker BR, Uriu-Hare JY, *et al.* Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (5): 996-1002.
69. Tang C, Klinman JP. The catalytic function of bovine lysyl oxidase in the absence of copper. *J Biol Chem* 2001; 276 (33): 30575-8.
70. Williamson PR, Kagan HM. Reaction pathway of bovine aortic lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1986; 261 (20): 9477-82.
71. Williamson PR, Kagan HM. α -Proton abstraction and carbanion formation in the mechanism of action of lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1987; 262 (17): 8196-201.
72. Gacheru SN, Trackman PC, Kagan HM. Evidence for a functional role for histidine in lysyl oxidase catalysis. *J Biol Chem* 1988; 263 (32): 16704-8.
73. Shah MA, Scaman CH, Palcic MM, Kagan HM. Kinetics and stereospecificity of the lysyl oxidase reaction. *J Biol Chem* 1993; 268 (16): 11573-9.
74. Akagawa M, Suyama K. Characterization of a model compound for the lysine tyrosylquinone cofactor of lysyl oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281 (1): 193-9.
75. Wilmarth KR, Froines JR. *In vitro* and *in vivo* inhibition of lysyl oxidase by aminopropionitriles. *J Toxicol Environ Health* 1992; 37 (3): 411-23.
76. 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.
77. Narayanan AS, Siegel RC, Martin GR. On the inhibition of lysyl oxidase by β -aminopropionitrile. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 46: 745-51.
78. Tang SS, Trackman PC, Kagan HM. Reaction of aortic lysyl oxidase with β -aminopropionitrile. *J Biol Chem* 1983; 258 (7): 4331-8.
79. Gacheru SN, Trackman PC, Calaman SD, Greenaway FT, Kagan HM. Vicinal diamines as pyrroloquinoline quinone-directed irreversible inhibitors of lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1989; 264 (22): 12963-9.
80. Williamson PR, Kagan HM. Electronegativity of aromatic amines as a basis for the development of ground state inhibitors of lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1987; 262 (30): 14520-4.
81. Gavriel P, Kagan HM. Inhibition by heparin of the oxidation of lysine in collagen by lysyl oxidase. *Biochemistry* 1988; 27 (8): 2811-5.
82. Nagan N, Callery PS, Kagan HM. Aminoalkylaziridines as substrates and inhibitors of lysyl oxidase: specific inactivation of the enzyme by *N*-(5-aminopentyl)aziridine. *Front Biosci* 1998; 3: A23-6.
83. Shah MA, Trackman PC, Gallop PM, Kagan HM. Reaction of lysyl oxidase with *trans*-2-phenyl-cyclopropylamine. *J Biol Chem* 1993; 268 (16): 11580-5.
84. Liu G, Nellaiappan K, Kagan HM. Irreversible inhibition of lysyl oxidase by homocysteine thiolactone and its selenium and oxygen analogues. Implications for homocystinuria. *J Biol Chem* 1997; 272 (51): 32370-7.
85. 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.
86. Fujimaki T, Hotta Y, Sakuma H, Fujiki K, Kanai A. Large-scale sequencing of the rabbit corneal endothelial cDNA library. *Cornea* 1999; 18 (1): 109-14.

87. Gregory KE, Marsden ME, Anderson-MacKenzie J, Bard JB, Bruckner P, Farjanel J, *et al.* Abnormal collagen assembly, though normal phenotype, in alginate bead cultures of chick embryo chondrocytes. *Exp Cell Res* 1999; 246 (1): 98-107.
88. 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.
89. Hayashi K, Fong KS, Mercier F, Boyd CD, Csiszar K, Hayashi M. Comparative immunocytochemical localization of lysyl oxidase (LOX) and the lysyl oxidase-like (LOXL) proteins: changes in the expression of LOXL during development and growth of mouse tissues. *J Mol Histol* 2004; 35 (8-9): 845-55.
90. Coral K, Angayarkanni N, Madhavan J, Bharathselvi M, Ramakrishnan S, Nandi K, *et al.* Lysyl oxidase activity in the ocular tissues and the role of LOX in proliferative diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49 (11): 4746-52.
91. 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.
92. Dalmay T, Edwards DR. MicroRNAs and the hallmarks of cancer. *Oncogene* 2006; 25 (46): 6170-5.
93. Franklin TJ. Current approaches to the therapy of fibrotic diseases. *Biochem Pharmacol* 1995; 49 (3): 267-73.
94. Franklin TJ. Therapeutic approaches to organ fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29 (1): 79-89.
95. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens and collagen-related diseases. *Ann Med* 2001; 33 (1): 7-21.
96. Konishi A, Iguchi H, Ochi J, Kinoshita R, Miura K, Uchino H. Increased lysyl oxidase activity in culture medium of nonparenchymal cells from fibrotic livers. *Gastroenterology* 1985; 89 (4): 709-15.
97. Murawaki Y, Kusakabe Y, Hirayama C. Serum lysyl oxidase activity in chronic liver disease in comparison with serum levels of prolyl hydroxylase and laminin. *Hepatology* 1991; 14 (6): 1167-73.
98. Wakasaki H, Ooshima A. Immunohistochemical localization of lysyl oxidase with monoclonal antibodies. *Lab Invest* 1990; 63 (3): 377-84.
99. Li W, Nellaippan K, Strassmaier T, Graham L, Thomas KM, Kagan HM. Localization and activity of lysyl oxidase within nuclei of fibrogenic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (24): 12817-22.
100. Sharma R, Kramer JA, Krawetz SA. Lysyl oxidase, cellular senescence and tumor suppression. *Biosci Rep* 1997; 17 (4): 409-14.
101. Kim Y, Peyrol S, So CK, Boyd CD, Csiszar K. Coexpression of the lysyl oxidase-like gene (*LOXL*) and the gene encoding type III procollagen in induced liver fibrosis. *J Cell Biochem* 1999; 72 (2): 181-8.
102. Giampuzzi M, Botti G, Cilli M, Gusmano R, Borel A, Sommer P, *et al.* Downregulation of lysyl oxidase-induced tumorigenic transformation in NRK-49F cells characterized by constitutive activation of ras proto-oncogene. *J Biol Chem* 2001; 276 (31): 29226-32.
103. Sommer P, Gleyzal C, Raccurt M, Delbourg M, Serrar M, Joazeiro P, *et al.* Transient expression of lysyl oxidase by liver myofibroblasts in murine schistosomiasis. *Lab Invest* 1993; 69 (4): 460-70.
104. Yamaguchi Y, Takihara T, Chambers RA, Veraldi KL, Larregina AT, Feghali-Bostwick CA. A peptide derived from endostatin ameliorates organ fibrosis. *Sci Transl Med* 2012; 4 (136): 136ra71.
105. Feres-Filho EJ, Menassa GB, Trackman PC. Regulation of lysyl oxidase by basic fibroblast growth factor in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J Biol Chem* 1996; 271 (11): 6411-6.
106. 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.
107. Green RS, Lieb ME, Weintraub AS, Gacheru SN, Rosenfield CL, Shah S, *et al.* Identification of lysyl oxidase and other platelet-derived growth factor-inducible genes in vascular smooth muscle cells by differential screening. *Lab Invest* 1995; 73 (4): 476-82.
108. Gacheru SN, Thomas KM, Murray SA, Csiszar K, Smith-Mungo LI, Kagan HM. Transcriptional and post-transcriptional control of lysyl oxidase expression in vascular smooth muscle cells: effects of TGF- β_1 and serum deprivation. *J Cell Biochem* 1997; 65 (3): 395-407.
109. Shanley CJ, Gharaee-Kermani M, Sarkar R, Welling TH, Krieger A, Ford JW, *et al.* Transforming growth factor- β_1 increases lysyl oxidase enzyme activity and mRNA in rat aortic smooth muscle cells. *J Vasc Surg* 1997; 25 (3): 446-52.
110. Hong HH, Uzel MI, Duan C, Sheff MC, Trackman PC. Regulation of lysyl oxidase, collagen, and connective tissue growth factor by TGF- β_1 and detection in human gingiva. *Lab Invest* 1999; 79 (12): 1655-67.
111. Bose KK, Chakraborty J, Khuder S, Smith-Mensah WH, Robinson J. Lysyl oxidase activity in the cells of flexor retinaculum of individuals with carpal tunnel syndrome. *J Occup Environ Med* 2000; 42 (6): 582-7.
112. Bronson RE, Calaman SD, Traish AM, Kagan HM. Stimulation of lysyl oxidase (*EC* 1.4.3.13) activity by testosterone and characterization of androgen receptors in cultured calf aorta smooth-muscle cells. *Biochem J* 1987; 244 (2): 317-23.
113. Choung J, Taylor L, Thomas K, Zhou X, Kagan H, Yang X, *et al.* Role of EP₂ receptors and cAMP in prostaglandin E₂ regulated expression of type I collagen *alpha*1, lysyl oxidase, and cyclooxygenase-1 genes in human embryo lung fibroblasts. *J Cell Biochem* 1998; 71 (2): 254-63.
114. 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.
115. Di Donato A, Lacal JC, Di Duca M, Giampuzzi M, Ghiggeri G, Gusmano R. Microinjection of recombinant lysyl

- oxidase blocks oncogenic p21-Ha-Ras and progesterone effects on *Xenopus laevis* oocyte maturation. *FEBS Lett* 1997; 419 (1): 63-8.
116. Ravid K, Smith-Mungo LI, Zhao Z, Thomas KM, Kagan HM. Upregulation of lysyl oxidase in vascular smooth muscle cells by cAMP: role for adenosine receptor activation. *J Cell Biochem* 1999; 75 (1): 177-85.
 117. Slee RB, Hillier SG, Lague P, Harlow CR, Miele G, Clinton M. Differentiation-dependent expression of connective tissue growth factor and lysyl oxidase messenger ribonucleic acids in rat granulosa cells. *Endocrinology* 2001; 142 (3): 1082-9.
 118. Harlow CR, Rae M, Davidson L, Trackman PC, Hillier SG. Lysyl oxidase gene expression and enzyme activity in the rat ovary: regulation by follicle-stimulating hormone, androgen, and transforming growth factor-beta superfamily members *in vitro*. *Endocrinology* 2003; 144(1): 154-62.
 119. Omori K, Fujiseki Y, Omori K, Suzukawa J, Inagaki C. Regulation of the expression of lysyl oxidase mRNA in cultured rabbit retinal pigment epithelium cells. *Matrix Biol* 2002; 21 (4): 337-48.
 120. Zhang D, Simmen RC, Michel FJ, Zhao G, Vale-Cruz D, Simmen FA. Secretory leukocyte protease inhibitor mediates proliferation of human endometrial epithelial cells by positive and negative regulation of growth-associated genes. *J Biol Chem* 2002; 277 (33): 29999-30009.
 121. Rae MT, Niven D, Ross A, Forster T, Lathe R, Critchley HO, *et al.* Steroid signalling in human ovarian surface epithelial cells: the response to interleukin-1 α determined by microarray analysis. *J Endocrinol* 2004; 183 (1): 19-28.
 122. Chen LJ, Zhao Y, Gao S, Chou IN, Toselli P, Stone P, *et al.* Downregulation of lysyl oxidase and upregulation of cellular thiols in rat fetal lung fibroblasts treated with cigarette smoke condensate. *Toxicol Sci* 2005; 83 (2): 372-9.
 123. Gao S, Chen K, Zhao Y, Rich CB, Chen L, Li SJ, *et al.* Transcriptional and posttranscriptional inhibition of lysyl oxidase expression by cigarette smoke condensate in cultured rat fetal lung fibroblasts. *Toxicol Sci* 2005; 87 (1): 197-203.
 124. Rodríguez C, Alcudia JF, Martínez-González J, Raposo B, Navarro MA, Badimon L. Lysyl oxidase (LOX) downregulation by TNF α : a new mechanism underlying TNF α -induced endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 2008; 196 (2): 558-64.
 125. Weissen-Plenz G, Eschert H, Völker W, Sindermann JR, Beissert S, Robenek H, *et al.* Granulocyte macrophage colony-stimulating factor deficiency affects vascular elastin production and integrity of elastic lamellae. *J Vasc Res* 2008; 45 (2): 103-10.
 126. Kothapalli CR, Ramamurthi A. Benefits of concurrent delivery of hyaluronan and IGF-1 cues to regeneration of crosslinked elastin matrices by adult rat vascular cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2008; 2 (2-3): 106-16.
 127. Lowry MB, Lotinun S, Leontovich AA, Zhang M, Maran A, Shogren KL, *et al.* Osteitis fibrosa is mediated by platelet-derived growth factor-A *via* a phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathway in a rat model for chronic hyperparathyroidism. *Endocrinology* 2008; 149 (11): 5735-46.
 128. Song YL, Ford JW, Gordon D, Shanley CJ. Regulation of lysyl oxidase by interferon- γ in rat aortic smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20 (4): 982-8.
 129. Li W, Chou IN, Boak A, Kagan HM. Downregulation of lysyl oxidase in cadmium-resistant fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13 (4): 418-25.
 130. Yeowell HN, Marshall MK, Walker LC, Ha V, Pinnell SR. Regulation of lysyl oxidase mRNA in dermal fibroblasts from normal donors and patients with inherited connective tissue disorders. *Arch Biochem Biophys* 1994; 308 (1): 299-305.
 131. Chinoy MR, Zgleszewski SE, Cilley RE, Krummel TM. Dexamethasone enhances ras-*recision* gene expression in cultured murine fetal lungs: role in development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279 (2): L312-8.
 132. Dimaculangan DD, Chawla A, Boak A, Kagan HM, Lazar MA. Retinoic acid prevents downregulation of ras *recision* gene/lysyl oxidase early in adipocyte differentiation. *Differentiation* 1994; 58 (1): 47-52.
 133. Chambers RC, Laurent GJ. *The Lung*. En: Comper WD, editor. *Extracellular Matrix*. Vol. 1. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1996. p. 378-409.
 134. Wight TN. *Arterial wall*. En: Comper WD, editor. *Extracellular Matrix*. Vol. 1. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1996. p. 175-202.
 135. Cleary EG, Gibson MA. Elastic tissue, elastin and associated microfibrils. En: Comper WD, editor. *Extracellular Matrix*. Vol. 1. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1996. p. 95-140.
 136. 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.
 137. Aydin S, Signorelli S, Lechleitner T, Joannidis M, Pleban C, Perco P, *et al.* Influence of microvascular endothelial cells on transcriptional regulation of proximal tubular epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294 (2): C543-54.
 138. 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.
 139. 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.
 140. Sørensen 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.
 141. Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, Poellinger L, Lendahl U. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105 (17): 6392-7.

Aceptado para su publicación el 24 de mayo de 2013