

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”

Xantina oxidoreductasa, propiedades, funciones y regulación de su expresión genética

Dr. Ulises Mendoza Coussette, Dr. José Carlos García Piñeiro, Dr. Pedro Luis Gastell y Lic. Armando Amador Armenteros

Resumen

Se realizó una revisión acerca de la xantina oxidoreductasa, una molibdoflavoenzima ampliamente distribuida en diferentes especies desde las bacterias hasta el hombre. Ha sido estudiada por su relación con la producción de especies reactivas del oxígeno, fenómeno implicado con el daño oxidativo presente en varios estados patológicos. Se presentó su estructura, propiedades, genética, distribución, principales funciones, regulación y estados patológicos donde se ha detectado aumento de su actividad. Especial interés reviste la xantina oxidoreductasa humana por sus bajos niveles de actividad debido a sus particularidades estructurales; así como el reciente hallazgo de la participación de proteínas de unión al ADN en la regulación de la expresión de su gen, en cuyo promotor se han detectado sitios de unión a estas proteínas. La inducción de la síntesis de esta enzima por citoquinas inflamatorias, y la detección de un aumento de su actividad durante el daño por isquemia-reperfusión miocárdico y en otros tejidos, apoyan la hipótesis de su participación en el daño tisular por estrés oxidativo.

Palabras clave: Xantina oxidoreductasa, propiedades, funciones, especies reactivas del oxígeno, daño oxidativo.

Generalidades

La xantina oxidoreductasa (XOR) es una molibdoflavoenzima compleja versátil, ampliamente distribuida en diferentes especies, desde las bacterias hasta el hombre e identificada dentro de varios tejidos de mamíferos. Esta enzima existe en 2 formas funcionalmente distintas: xantina deshidrogenasa NAD⁺-dependiente (forma XDH; EC.1.1.1.204) que produce NADH y urato; y puede ser transformada en xantina oxidasa, oxígeno dependiente (forma XO; EC.1.2.3.22)¹⁻⁷ que origina radical anión superóxido (O₂⁻) y/o peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y urato.

Propiedades de la XOR *purificada*

Se trata de una proteína compuesta por su porción apoproteica, de la cual forman parte 2 cadenas polipeptídicas idénticas, y 8 centros redox. La XOR mejor caracterizada es la purificada a partir de la leche bovina.⁸

La enzima tiene las características siguientes:

- Es un homodímero de 300 Kd de peso molecular aproximadamente.
- Cada subunidad contiene 4 centros redox:
 - 1 molécula de molibdopterina con un átomo de molibdeno (Mo) como cofactor
 - 2 centros ferro-sulfurados ($\text{Fe}_2\text{-S}_2$).
 - 1 molécula de dinucleótido de flavinadenina (FAD).

Las 2 formas de la enzima (XDH y XO) se pueden interconvertir, excepto en las aves donde solo existe en la forma XDH.

Genética

El gen de la XOR humana (hXOR) está en el brazo corto del cromosoma 2, 2p22,⁸ y su estructura ha sido dilucidada. Presenta 36 exones y su estructura exón-intrón está altamente conservada respecto a otras especies como el ratón⁸ y difiere significativamente de la estructura del gen en especies menos relacionadas como la *Drosophila*, cuya estructura es más compacta con solo 4-5 exones.⁸ La secuencia del cDNA humano ha sido reportada.⁸

a) En un estudio realizado en el departamento de medicina, Universidad de UTA el cDNA obtenido codificó un ARNm para XDH de hígado humano de 4 577 bases con un extremo 5' no traducible de 63 bases, una región no traducible de 515 bases hacia el extremo 3', un codón TGA de terminación, y el sitio de poliadenilación AATAAA.⁹

b) Se ha detectado, mediante el empleo de pruebas de hibridización de ARN complementario para la XDH humana, un ARN de 5 100 bases en hígado humano. Se plantea que este ARN tiene una distribución tejido específica.

c) Ha sido detectado también un segundo ARN de 4 500 bases en algunos tejidos, el cual puede proceder a partir de un sitio de terminación de la transcripción diferente.¹⁰

Estructura de la XOR

La estructura primaria de la XOR humana revela una secuencia de 1 335 residuos aminoacídicos y

presenta gran homología, 90 %, con la de otros mamíferos.

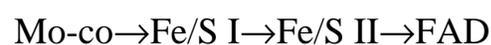
La estructura tridimensional ha sido esclarecida a partir de los resultados obtenidos del análisis de la estructura cristalina de otras enzimas, que a similitud de la XOR presentan el cofactor molibdeno, como la monóxido de carbono deshidrogenasa (CODH) de la bacteria aerobia *Oligotropha carboxidovorans*, cuya estructura cristalina ha sido reportada.⁸ Esta enzima sirve como modelo para la xantina oxidasa, pues a similitud de aquella presenta el cofactor molibdopterina (Mo-co), 2 centros Fe₂-S₂, y un grupo FAD como centros redox.

El dominio N-terminal de la XOR contiene 8 residuos de cisteína fuertemente conservados, que sirven como ligandos para unir a los centros Fe₂-S₂. Cada motivo de unión está constituido por 4 de estas cisteínas, el último de los cuales, el más distal al extremo N-terminal, presenta un plegamiento inusual, único de estas enzimas. Los centros Fe/S son denominados Fe/S I y Fe/S II según la distancia que los separa del centro Mo-co. El centro Fe/S II está localizado cercano a la superficie de la enzima ubicado adecuadamente para transferir electrones a su aceptor electrónico fisiológico, FAD en este caso, a una distancia de 8,7Å°.

La estructura tridimensional de la XOR de leche bovina ha sido recientemente dilucidada.⁸ Cada subunidad está constituida por 3 dominios y 2 segmentos peptídicos conectores entre estos:

1. Dominio N-terminal que incluye los residuos aminoacídicos 1-165 y contiene los sitios de unión para los centros Fe₂-S₂.
2. Segmento conector que incluye los residuos 166-225.
3. Dominio de unión al FAD con los residuos 226-531.
4. Segmento conector, de estructura más desordenada, que incluye a los residuos 532-589.
5. Dominio C-terminal para unir al Mo-co, incluye los residuos 590 en lo adelante.

Los potenciales redox de los diferentes centros garantizan que la transferencia electrónica sea termodinámicamente favorable, siendo el sentido de esta transferencia:



Formas de la XOR. Mecanismos de conversión

Se han enunciado 2 tipos de mecanismos para la conversión entre la XDH y XO.

1. Conversión reversible.

Este mecanismo se lleva a cabo por oxidación-reducción de grupos sulfhidrilos de la enzima. La oxidación de estos con formación de puentes disulfuros intrasubunitarios permite la conversión de XDH en XO, mientras que la reducción de estos enlaces opera en la conversión contraria.

Con la cromatografía de exclusión en gel se ha demostrado que la formación de puentes disulfuros reduce el volumen hidrodinámico de la enzima,¹¹ y con la electroforesis en gel bidimensional de la XO digerida con quimiotripsina se demostró la presencia de significativa heterogeneidad conformacional, mediada por puentes disulfuros en el tercio amino terminal de las subunidades, pero no mostró evidencia de formación de este tipo de enlace entre las regiones amino y carboxilo terminales ni intersubunitarios.¹¹

2. Conversión irreversible.

Este mecanismo tiene lugar mediante proteólisis parcial de la XOR.

Ha sido reportado que ambas formas de la XOR experimentan proteólisis limitada por tripsina y quimiotripsina.¹¹ La tripsina escinde ambas formas de la enzima en la lisina 184 (lys¹⁸⁴), mientras que la quimiotripsina escinde la XDH en metionina 181 (met¹⁸¹), pero escinde a la XO en (met¹⁸¹) y fenilalanina 560, (phe⁵⁶⁰).⁴¹ Se ha demostrado que la proteólisis quimiotrítica, pero no la trítica, previene la conversión reductiva de XO en XDH. Se ha detectado que los residuos met¹⁸¹ y lys¹⁸⁴ están incluidos en un fragmento peptídico hidrofílico expuesto al solvente en ambas formas de la XOR. En contraste, la phe⁵⁶⁰ pertenece a una región hidrofóbica, por lo que ha sido hipotetizado que tenga poco acceso al solvente en condiciones fisiológicas, y por tanto, baja probabilidad de ser escindida por la quimiotripsina. La observación de que este sitio comienza a ser accesible a la quimiotripsina solamente luego de la conversión de XDH en XO, sugiere que la formación de puentes disulfuros produce cambios conformacionales dentro de la región que contiene a la phe⁵⁶⁰.¹¹

Los principales cambios que ocurren durante la conversión irreversible de XDH en XO involucran al sitio de unión al FAD, lo cual tiene 2 efectos importantes en relación con el uso del oxígeno molecular como agente oxidante para la XO:⁸

1. El acceso del NAD⁺ a la superficie del anillo de isoaloxacina del FAD queda bloqueado.
2. El entorno alrededor del FAD queda más positivamente cargado, debido al reemplazo de la cadena lateral del aspártico⁴²⁹, Asp⁴²⁹, desde su sitio de unión al anillo flavínico por la Arg⁴²⁶.⁸

A diferencia de estos 2 efectos, la región restante del sitio de unión al FAD donde puede unirse el O₂ es poco afectada por estos cambios.

Distribución

En tejidos de mamíferos los mayores niveles encontrados se localizan en hígado e intestino.⁴² Existe, sin embargo, considerable variación interespecie según indica el amplio rango encontrado en sangre y corazón.⁸

Muchos autores han obtenido evidencias de la localización tisular de la enzima mediante el empleo de técnicas inmunológicas usando anticuerpo anti-XOR.⁸ De esta forma se ha detectado XO humana en hepatocitos, sobre todo en región periportal, y células de Kuffer en el hígado;⁸ enterocitos y células globet de yeyuno;⁸ glándulas mamarias;⁸ células endoteliales de músculo esquelético y riñón;⁴²⁻³¹ macrófagos y células cebadas;⁸ y células epiteliales del tracto biliar, lo que sugiere secreción de XOR hacia la bilis.⁸

Localización subcelular:

Estudios de células endoteliales humanas en cultivo, usando anticuerpo anti-XOR de leche humana policlonal fluorescente purificado, mostraron que la enzima se encuentra ubicada tanto en el citosol como en la superficie externa de membrana celular, con predominio en las regiones de contacto intercelular en esta última localización.⁸ Se ha sugerido, a partir del uso de anticuerpo monoclonal de ratón en células endoteliales y epiteliales humanas, la localización intravesicular de la XOR intracelularmente, lo cual se ha planteado que pudiera constituir una etapa de almacenamiento previo a su secreción.

Funciones de la xantina oxidoreductasa

a) Cataliza la hidroxilación de una serie de sustratos. Los más específicos son: hipoxantina, que transforma en xantina, y esta a su vez en ácido úrico. Los otros productos serán dinucleótido de nicotinaminadenina reducido (NADH.H^+) o O_2^- y/o H_2O_2 , según haya actuado el NAD^+ o el O_2 como agente reductor para la enzima respectivamente. Es en esta capacidad generadora de especies reactivas del oxígeno (ERO) que descansa el interés de estudios clínicos sobre la XO. Otros sustratos lo constituyen una serie de N-heterociclos y aldehídos.

Ambas formas de la enzima pueden reducir al O_2 pero, la unión del NAD^+ a la XDH inhibe la unión del O_2 .

b) Puede también actuar como una NADH oxidasa.⁸ El NADH dona sus electrones directamente al FAD.⁸

c) Recientemente se ha demostrado la capacidad de la enzima para catalizar la reducción de nitratos a nitritos, y de nitritos a óxido-nítrico (NO). En estas transformaciones se ha demostrado que los nitratos son reducidos por el cofactor molibdeno, mientras que los nitritos son reducidos por el FAD.

d) Liberación del hierro de la ferritina, que puede ocurrir por 2 mecanismos:

- Mecanismo O_2^- dependiente, responsable de 80 % de esta separación.

- Mecanismo O_2^- independiente.

Este efecto de la XO adquiere importancia en el estudio de los tejidos dañados, por la acción de las especies reactivas del oxígeno, pues si bien el radical superóxido es comparativamente inocuo por sí solo, su toxicidad se incrementa mucho en presencia de hierro libre (descompartmentalizado), ya sea por la formación de radical hidroxilo ($OH\cdot$), radicales ferrilos o radicales perferrilos.⁸

Formas funcionales de la xantina oxidoreductasa:

- Forma activa: XDH XO.

Xantina deshidrogenasa: representa 80 % de la XOR funcional *in vivo*.

Xantina oxidasa (XO): constituye 20 % restante de la XOR funcional normalmente.

- Forma inactiva: desulfo, demolibdo, y deflavo

Se plantea que 60 % de la XOR purificada de leche bovina se encuentra en forma inactiva⁸ y existe en 2 formas:

Demolibdo: carece de molibdeno, posiblemente de la molécula de molibdopterina, y comúnmente constituye 40 % de la enzima inactiva.

Desulfo: constituye 30-40 % restante de la enzima que contiene molibdeno. Existen evidencias de la existencia de esta forma de la enzima en hígado de rata, y pollo.⁵⁵

XOR humana

Ha sido caracterizada la XOR obtenida a partir de la leche de glándulas mamarias humana⁸ y se ha demostrado que tiene:

- Baja actividad sobre sus sustratos reductores convencionales. De esta forma su actividad sobre la xantina es solo 5 % de la de XOR de leche bovina.⁸
- Contiene 95 % de la enzima en forma demolibdo.⁸
- La carencia de molibdeno está acompañada de deficiencias de los centros Fe_2-S_2 , principalmente del centro Fe/S I, que en parte, es reemplazado por un nuevo centro, Fe/S III.⁸
- La carencia de molibdeno se supone que resulte de la falta de incorporación de molibdopterina. Se ha planteado que el déficit del cofactor debe conducir a cambios conformacionales en la apoproteína y consecuentemente en el entorno de los grupos Fe_2-S_2 .

- Se conoce que la actividad es relativamente elevada en hígado e intestino, pero baja en otros tejidos,⁸ un efecto que pudiera reflejar diferencias de actividad en diferentes enfermedades, según el tejido afectado. Existen evidencias de bajos niveles de actividad de XOR en corazón humano⁸ y en cultivo de células epiteliales de mama.⁸

XOR circulante

La presencia de XOR circulante en mamíferos ha sido reconocida desde hace tiempo, y se han desarrollado diferentes métodos para su determinación, principalmente en humanos:

A. Métodos que miden actividad *enzimática*, calculando la velocidad de formación de productos, entre los cuales están la radioactividad, que mide formación de xantina o urato;⁸ fluorescencia, que mide formación de isoxantoterina;⁸ quimioluminiscencia, que mide formación de $O_2^{\cdot-}$;⁸ y espectrofotometría ultravioleta (UV)-Visible.⁸

B. Ensayos que miden niveles de la proteína directamente, dentro de los que se encuentra el ELISA, que tiene la característica de detectar niveles de XOR inactiva disponible.

Teniendo en cuenta la variedad de técnicas empleadas los niveles de actividad o concentraciones de XOR reportados a partir de sujetos sanos varían ampliamente, 0-4 200 miliunidades por litro (mU/L).⁸ El consenso general, particularmente a partir de los métodos más sensitivos, es que las concentraciones de XOR en el suero humano normal son muy bajas.

Regulación de la actividad de XOR

La actividad de hXOR está sujeta a diferentes niveles de control. El análisis de la actividad del promotor de su gen en diferentes tipos celulares mostró la presencia de regiones de unión a activadores e inhibidores que regulan la actividad del promotor, involucrando interacción de elementos similares a la caja TATA y E con estos, lo cual ha sido empleado como modelo para explicar la expresión reprimida del gen.^{11,12}

En este modelo, la región comprendida desde -138 hasta -1 provee un sitio para la formación de un complejo multiproteico que contiene al factor de transcripción general II D, TFIID.

Recién ha sido demostrado, mediante estudios de purificación de proteínas de unión al ADN, ensayo de cambio en la movilidad electroforética (EMSA) usando anticuerpos específicos contra TFIID y AREB6, un factor represivo de la transcripción, y estudios de mutaciones directas sobre las secuencias consenso de unión a proteínas nucleares, la participación de otras proteínas de unión al ADN en la regulación de la transcripción del gen de la hXOR.¹² Entre estas se incluyen: 2 proteínas relacionadas con AREB6 que se unen a la caja E y 3 proteínas que constituyen el trímero proteína quinasa dependiente de ADN, DNA PK, las cuales se unen a un sitio adyacente el cual sirve como sitio de reconocimiento para Ku86, una de las

subunidades reguladoras de la DNA PK.¹² La subunidad catalítica de la DNA PK, DNA PKcs, puede regular la actividad de varios factores de transcripción implicados en este mecanismo de regulación mediante la fosforilación de estos, para mantener reprimida la transcripción del gen.

La hXOR, al igual que la de otros mamíferos, se activa bajo diferentes condiciones:

1. Inducción de su síntesis por IL-1, IL-6, TNF- α , INF- γ , factor nuclear Y,¹³ NF- κ B, y factor inducible por la hipoxia.⁸ Estos hallazgos han sido confirmados por la presencia de elementos de respuesta a estos factores en el promotor del gen de la hXOR.⁸
2. Entre los posibles mecanismos postraduccionales de control de la actividad de la XOR se citan varios:
 - a) *Interconversión de las formas sulfo-desulfo de la XOR*: proceso catalizado enzimáticamente en el cual se sulfura el cofactor molibdeno, MO-co, lo cual permite convertir la forma desulfo en sulfa.⁸
 - b) *Incorporación de la molibdopterina a la apoXOR bajo catálisis enzimática*: en relación con este aspecto se plantea que la menor incorporación de molibdeno en la dieta humana respecto a la bovina puede explicar la diferencia de actividad interespecie.
 - c) *Activación por fosforilación*: en respuesta a la hipoxia, mecanismo en el que han sido implicadas las kinasas p38 y caseína kinasa II.⁸
 - d) *Niveles de la relación NAD⁺/NADH.H⁺*: ambas formas de la XOR presentan actividad de NADH oxidasa. Ha sido argumentado que los elevados niveles de NADH inhiben a la XDH, predominando la actividad de la XO con el consecuente incremento de la formación de ERO.⁸
 - e) *Proteólisis parcial*: que está implicada en la conversión irreversible de XDH en XO. Por este mecanismo se convierte, en condiciones fisiológicas, 20 % de XDH intracelular en XO. Se ha notificado que casi toda la XOR circulante existe en la forma XO, como resultado de la conversión de XDH en XO por proteasas séricas.⁸ Este mecanismo cobra especial importancia durante el daño por I/R como ha sido demostrado por varios investigadores.

La actividad de hXOR es 100 veces menor que en especies no primates incluidos ratas y ratones.¹⁴ Los mecanismos postraduccionales parecen explicar la baja actividad de XOR solo parcialmente.¹⁴ Las concentraciones de urato sanguíneo son aproximadamente 10 veces mayores en humanos y primates superiores respecto a otros mamíferos, debido a la pérdida evolutiva de la uricasa.¹⁴ Esta compleja red que regula la actividad de XOR, en especial la expresión reprimida de su gen como ha sido puesto recién en evidencia,⁴⁴ garantiza mantener bajo control la formación potencialmente deletérea de cristales de urato.

Estados patológicos donde se han encontrado aumento en los niveles de XO circulante

Hepatitis viral, especialmente al inicio de la fase aguda.⁸ En estos casos se han reportado valores de hasta 1 000 veces superiores a los normales; íctero obstructivo, hepatitis crónica, y cirrosis, donde se han encontrado menores aumentos que en la hepatitis viral aguda;⁸ artritis reumatoide; escleroderma;⁸ aterosclerosis;⁸ injuria por isquemia-reperfusión.

Muchos estudios han confirmado el papel propuesto por esta hipótesis para la XO en el daño por I/R en varios tejidos como: intestino,⁸ hígado⁸ y riñón.⁸ A pesar de ello, existe controversia entre los resultados obtenidos, y la escala de tiempo de la conversión XDH→XO en tejidos isquémicos, particularmente en hígado, ha sido sometida a debate. En este sentido, algunos autores han planteado, que a pesar de que ocurre conversión de XDH en XO, esta ocurre lentamente para desempeñar un papel significativo en el proceso de injuria por I/R.⁸

El papel de la XOR en la injuria por I/R en corazón ha sido especialmente debatido, sobre todo debido a los niveles tan bajos de XOR detectados en corazón de conejos, y en particular en corazón humano.⁸ A pesar de esto, se ha encontrado aumento en los niveles séricos de actividad de XO en pacientes infartados. En cerebro se han encontrado evidencias tanto a favor^{15,16} como en contra de la participación de la XOR en la injuria por I/R.⁸

Los mecanismos de regulación de la actividad de hXOR que han sido revelados recientemente, sustentan la hipótesis de la participación de esta enzima en la fisiopatología de varias enfermedades que evolucionan con respuesta inflamatoria y estrés oxidativo. La inducción de la síntesis de hXOR en respuesta a citoquinas inflamatorias liberadas en estas enfermedades sugiere el posible monitoreo de este indicador de estrés oxidativo no solo en los momentos iniciales, primeras 6-12 h, sino también en las etapas más avanzadas de su evolución.

Xanthine oxidoreductase. properties, functions and regulation of its genetic expression

Summary

A review of Xanthine oxidoreductase, which is a molybdoflavoenzyme largely distributed in different species from bacteria to man, was made. It has been studied for its connection with the production of reactive oxygen species, a phenomenon involved in the oxidative damage present in different pathological states. Its structure, properties, genetics, distribution, main functions, regulation and pathological states, where an increase of its activity has been detected, were dealt with. There is special interest in it due to its low levels of activity as a result of its structural particularities, and to the recent discovery of the participation of DNA binding proteins in the regulation of the expression of its gene, in whose promoter there have been detected binding sites to these proteins. The induction of the synthesis of this enzyme by inflammatory cytokines and the detection of an increase of its activity

during the myocardial damage caused by ischemia-reperfusion, and in other tissues, support the hypothesis of its participation in the tissular injury by oxidative stress.

Key words: Xanthine oxidoreductase, properties, functions, reactive oxygen species, oxidative damage.

Referencias bibliográficas

1. Della Corte E, Stirpe F. Regulation of xanthine oxidase in rat liver: modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on storage at - 20 °C. *Biochem J* 1968;108:349-51.
2. Della Corte E, Stirpe F. The regulation of rat liver xanthine oxidase: activation by proteolytic enzymes. *FEBS Lett* 1968;2:83-4.
3. Stirpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the activity from dehydrogenase(Type D) to oxidase(Type O). *J Biol Chem* 1969;244:3855-63.
4. Della Corte E, Stirpe F. The regulation of xanthine oxidase. Inhibition by reduced nicotinamide-adenine dinucleotide of rat liver xanthine oxidase type D and of chicken liver xanthine dehydrogenase. *Biochem J* 1970;117:97-100.
5. Della Corte E, Stirpe F. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Involvement of thiol groups in the conversion of the enzyme activity from dehydrogenase(type D) into oxidase(type O) and purification of the enzyme. *Biochem J* 1972;126:739-45.
6. Batelli MG, Della Corte E, Stirpe F. Xanthine oxidase type D(dehydrogenase) in the intestine and other organs. *Biochem J* 1972;126:747-9.
7. Engerson TD, Mckelvey TG, Rhyne DB. Conversión of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat tissues. *J Clin Invest* 1987;79:1564-70.
8. Harrison R. Structure and Function of Xanthine Oxidoreductase: Where are we now? *Free Radical Biol Med* 2002;33(6):774-97.
9. Xu, P., Huecksteadt, T. P., Harrison R., Hoidal, J. R. Molecular cloning, tissue expression of human xanthine dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:998-1004.
10. Wright RM, Vaitaitis GM, Wilson CM, Repine TB, Terada LS, Repine JE. cDNA cloning, characterization, and tissue-specific expression of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(22):10690-4.
11. McManaman JL, David LB. Structural and conformational analysis of the oxidase to dehydrogenase conversion of xanthine oxidoreductase. *J Biol Chem* 2002;277:21261-8.
12. Xu P, La Vallee PA, Lin JJ, John HR. Characterization of Proteins Binding to E-box/Ku86 in transcriptional Regulation of the human xanthine oxidoreductase gene. *J Biol Chem* 2004;279:16057-63.
13. Martelin E, Palvimo JJ, Lapatto R, Raivio KO. Nuclear factor Y activates the human xanthine oxidoreductase gene promoter. *FEBS Lett* 2000;480(2-3):84-8.
14. Xu P, La Vallee P, Hoidal JR. Repressed expression of the human xanthine oxidoreductase gene E-box and TATA-like elements restrict ground state transcriptional activity. *J Biol Chem* 2000;275:5918-26.
15. Phillis JW, Sen S, Cao X. Amflutizole, a xanthine oxidase inhibitor, inhibits free radical generation in the ischemic/reperfused rat cerebral cortex. *Neurosci Lett* 1994;169:188-90.

16. Beetsch JW, Park TS, Dugan LL, Shah AR, Gidday JM. Xanthine oxidase-derived superoxide causes reoxygenation injury of ischemic cerebral endothelial cells. *Brain Res* 1998;786:89-95.

Recibido: 10 de diciembre de 2004. Aprobado: 4 de enero de 2005.

Dr. *Ulises Mendoza Coussette*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”. Avenida 146. No 3102 esquina a 31, reparto Cubanacán, municipio Playa. Ciudad de La Habana, Cuba. CP 11600. Teléf: 2084877.