



Original

Artículo español

Relación entre los niveles plasmáticos de triglicéridos y los polimorfismos -133T>C y 56C>G del gen codificante para la ApoA5.

The relation between plasmatic triglycerides levels and polymorphisms -133T>C and 56C>G of ApoA5 codifying gene.

Ismael San Mauro Martín^{1,3}, Ana María Ruiz León¹, Elena Garicano Vilar¹, Javier Andrés Blumenfeld Olivares², Eva Pérez Arruche², Esperanza Arce Delgado², María José Ciudad Cabañas³, Luis Collado Yurrita³.

¹ Grupo CINUSA. Paseo de la Habana, 43. 28036, Madrid, España.

² Hospital El Escorial. 28200, San Lorenzo de El Escorial, Madrid, España.

³ Departamento de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. 28040, Madrid, España.

Resumen

Objetivo. El presente estudio tiene por objetivo evaluar la asociación entre las variantes genéticas -113T>C (rs662799) y 56C>G (rs3135506) y los niveles de triglicéridos plasmáticos en adultos.

Métodos. Ensayo clínico aleatorizado de una muestra de 44 individuos procedentes de dos centros hospitalarios de Madrid (España). Se realizó estudio antropométrico, análisis sanguíneo, análisis genético y cuestionario *Ad hoc* (hábitos de vida: alimentación, actividad física, sueño).

Resultados. No se encontraron asociaciones significativas entre los polimorfismos 113G>T y 56C>G y las concentraciones plasmáticas de triglicéridos ($p>0,05$). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas entre la variante genética 56C>G y los niveles de colesterol total y lipoproteínas de baja densidad ($p=0,015$ y $p=0,036$, respectivamente).

Conclusiones. Este estudio pone de manifiesto la no asociación entre los niveles de triglicéridos plasmáticos y las variantes polimórficas 56C>G y -1131T>C del gen codificante para la ApoA5.

Palabras clave

ApoA5; ApoA V; triglicéridos; -113T>C; rs662799; 56C>G; rs3135506.

Abstract

Resumen en idioma secundario (Arial 9, si es esestructurado los inicios de sección en negrita)

Aim. The aim was to evaluate the association between polymorphisms -113C>T (rs662799) and 56C>G (rs3135506) and plasmatic triglycerides levels in adults.

Methods. A randomized clinical trial of 44 subjects from two hospital centers from Madrid (Spain). Anthropometric survey, blood test, genetic analysis and an *Ad hoc* survey (lifestyle habits: nutrition, physical activity, sleep) were conducted.

Results. No statistically significant differences were observed between polymorphism 113G>T or 56C>G and plasmatic triglycerides concentrations ($p>0.05$). However, statistically significant differences were found between gene variant 56C>G and total cholesterol levels and low-density lipoproteins ($p=0.015$ and $p=0.036$, respectively).

Conclusion. This trial brings to light no association between plasmatic triglycerides levels and polymorphic variants 56C>G and -1131T>C of Apo5 coding gene.

KEYWORDS

ApoA5; ApoA V; triglycerides; -113T>C; rs662799; 56C>G; rs3135506.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: research@grupocinusa.com (Ismael San Mauro Martín).

Recibido el 24 de mayo de 2016; aceptado el 25 de mayo de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

APORTACIÓN A LA LITERATURA CIENTÍFICA

El incremento de los triglicéridos plasmáticos se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, y numerosos artículos han mostrado la asociación entre -1131T>C (rs662799) y 56C>G (rs3135506) y el incremento en las concentraciones de triglicéridos plasmáticos. Sin embargo, este estudio realizado en España no permite observar diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de triglicéridos plasmáticos y estas variantes genéticas. Lo que sugiere la necesidad de realizar más estudios en este sentido, dada la importancia que está tomando actualmente el control de los niveles de triglicéridos como estrategia para la prevención de las enfermedades cardiovasculares.

INTRODUCCIÓN

El incremento de los triglicéridos plasmáticos se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular⁽¹⁾, la cual permanece como la primera causa de muerte a nivel mundial⁽²⁾. Entre los factores que más influyen en el aumento de la concentración de los triglicéridos plasmáticos se encuentran la ingesta elevada de alcohol, la obesidad y un mal control de la diabetes⁽¹⁾, además han sido identificadas más de 30 variantes genéticas cuyo efecto acumulativo podría ser responsable de concentraciones moderadamente altas de triglicéridos⁽³⁾. El gen codificante para la apoproteína A5 (ApoA5) es uno de los genes que presenta polimorfismos posiblemente relacionados con esta tendencia a incrementar los niveles plasmáticos de triglicéridos⁽³⁾.

La ApoA5 se expresa principalmente a nivel hepático⁽⁴⁾, asociada a quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Esta apoproteína ha destacado por su relación inversa con la concentración de triglicéridos plasmáticos, por lo que se ha señalado que podría ser clave en la regulación de su metabolismo⁽⁴⁾.

En humanos el gen codificante para la ApoA5 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 11, junto al cluster de genes *APOA1/APOA3/APOA4*⁽⁴⁾. Se han identificado varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que afectan al gen codificante para la ApoA5, los más estudiados son el -1131T>C (rs662799) localizado en la región promotora y el 56C>G o S19W (rs3135506) en el que hay una sustitución de una serina por un triptófano en el codón 19.

Numerosos artículos han señalado la asociación entre -1131T>C y el incremento en las concentraciones de triglicéridos plasmáticos, y su papel como factor de riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, como accidentes cerebrovasculares isquémicos y cardiopatías⁽⁵⁾. Del mismo modo se han encontrado evidencias de la asociación entre el 56C>G y el incremento de los niveles de triglicéridos plasmáticos⁽⁶⁾.

OBJETIVOS

Dada la creciente importancia de los triglicéridos como factor de riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y el papel determinante que parece estar desempeñando la ApoA5, el presente estudio tiene por objetivo principal evaluar la asociación entre las variantes genéticas -113T>C y 56C>G y los niveles de triglicéridos plasmáticos de adultos con niveles elevados de colesterol total.

MÉTODOS

Ensayo clínico aleatorizado de una muestra reclutada en el Hospital Universitario Clínico San Carlos y en el Hospital El Escorial, ambos localizados en Madrid (España).

Se reclutó inicialmente a 49 participantes, 44 de los cuales fueron finalmente incluidos en el estudio. 25 mujeres y 19 hombres con una edad media de $37,9 \pm 7,6$ años.

Los criterios de inclusión establecidos fueron los siguientes: hombres y/o mujeres adultos de 18-50 años, con una concentración de colesterol total (CT) >200 mg/dL. Para la obtención de la muestra se tuvo en cuenta una variación máxima del colesterol total del $\pm 15\%$, y una desviación estándar máxima de 35 mg/dL. Fueron descartados sujetos con niveles de CT <200 mg/dL, con antecedentes de patologías cardíacas (angina de pecho, infarto de miocardio), aquellos cuyo índice de masa corporal (IMC) superaba los 30 kg/m^2 (obesidad), con intolerancia a la lactosa, alergia a la leche de vaca, o con alergia a los esteroides vegetales. Tampoco se incluyó a individuos bajo tratamientos farmacológicos o suplementación capaz de influir los niveles de triglicéridos o colesterol plasmáticos.

El estudio ha sido aprobado por los comités bioéticos de ambos hospitales, y cada uno de los participantes antes de su inclusión en el estudio recibió información sobre su objetivo y firmó el formulario de consentimiento informado.

Se realizó un estudio antropométrico a cada participante, llevado a cabo por un único investigador entrenado, con objeto de una mayor estandarización de la metodología y homogeneidad en la obtención de las medidas. Se utilizó un equipo InBody Model 230 de bioimpedancia eléctrica tetrapolar, multifrecuencia (20-100 kHz), según las indicaciones del fabricante⁽⁷⁾, para la medición del peso, el porcentaje de grasa corporal, cantidad de grasa subcutánea (kg), la cantidad de masa magra corporal (kg) y el porcentaje de agua. Asimismo, se midió la talla, se calculó el IMC y utilizando una cinta métrica flexible no elástica (rango: 0,1 mm-150 cm) se determinó el perímetro de cintura.

Tras 12 horas de ayuno cada centro realizó un análisis sanguíneo a cada paciente de acuerdo al protocolo estandarizado⁽⁸⁾⁽⁹⁾, para determinar la concentración de CT, el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), la concentración de triglicéridos, el recuento de células rojas y blancas, la concentración de glucosa, insulina y proteína C reactiva.

Para el estudio se diseñó un cuestionario *Ad hoc* que recogía información sobre las variables: edad, sexo, historia clínica y farmacológica, calidad del sueño, hábitos saludables, hábito tabáquico y enólico, tránsito intestinal, frecuencia

de consumo de alimentos y actividad física. Se tuvo en cuenta factores de confusión cómo la frecuencia de consumo de alimentos mediante la realización de un cuestionario.

El análisis de las variantes genéticas de interés se realizó utilizando la metodología del Proyecto Europeo Vitagenes (Granda, España). El ADN fue extraído a partir de muestras de saliva utilizando sistemas de columnas de alta calidad, fueron purificadas en gel de agarosa. Como criterio de calidad de la pureza de la extracción se estableció que la ratio de densidad óptica medida a 260 nm y a 280 nm fuese superior a 1,7. Asimismo, se aseguró la precisión y fiabilidad de los análisis mediante los siguientes criterios técnicos: análisis por duplicado de las muestras, en caso de no haber concordancia se realizó un tercer análisis; *call rate* >99,7%, porcentaje de los marcadores genéticos analizados del total objetivado; precisión superior al 99,7%; mantener el equilibrio establecido por la ley de Hardy-Weinberg; y aplicación de controles negativos de agua.

El análisis de los datos se llevó a cabo con el paquete estadístico SPSS 22.0. Se realizó un análisis descriptivo de los datos, y la detección de valores extremos por el test de Grubbs. Se aplicó la prueba T para muestras independientes para comparar los niveles lipídicos con los genotipos, y ANOVA de un factor para los haplotipos. Se consideraron significativos p-valores ≤ 0,05. Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

El estudio se ajustó a los principios éticos establecidos por la Declaración de Helsinki, a las recomendaciones de buenas prácticas clínicas, a la legislación española actual sobre investigación biomédica en seres humanos y sobre protección de datos personales y bioéticos (Real Decreto 531/1993 de ensayos clínicos y 14/2007, 3 julio de investigación biomédica).

RESULTADOS

En el estudio se incluyó un total de 44 participantes (25 mujeres y 19 hombres). Cinco sujetos no fueron finalmente incluidos en el estudio, para cuatro de ellos no fue posible obtener la totalidad de las variables de estudio y uno mostró valores extremos para la concentración de TG, tras el análisis de los datos por el test de Grubbs.

La edad media de la muestra fue de 37,9 ± 7,5 años, en la tabla 1 se pueden observar los valores medios y desviación estándar de las variables estudiadas. La concentración media de lípidos plasmáticos fue la siguiente, CT 236,5 ± 26,4 mg/dL, LDL-c 156,0 ± 28,7 mg/dL, HDL-c 58,8 ± 14,1 mg/dL y triglicéridos 106,5 ± 57,5 mg/dL. Los niveles de triglicéridos medios se encontraban dentro de los niveles deseables (<150 mg/dL) según la Sociedad Europea de Cardiología⁽¹⁰⁾.

Tabla 1: Valores medios y desviación estándar de las variables estudiadas.

	Total (n=44)	56C>G		p	-1131T>C		p
		GG (n=32)	CG (n=12)		TT (n=41)	TC (n=3)	
		Media ± SD	Media ± SD		Media ± SD	Media ± SD	
Edad (años)	37,9 ± 7,5	37,0 ± 7,9	40,3 ± 6,5	NS	37,6 ± 7,7	42,7 ± 2,5	NS
Peso (kg)	68,2 ± 12,3	68,8 ± 12,3	66,9 ± 12,7	NS	68,1 ± 11,5	70,5 ± 23,5	NS
Talla (m)	1,70 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	NS	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,2	NS
IMC (kg/m ²)	23,6 ± 3,0	23,5 ± 3,2	23,6 ± 2,5	NS	23,5 ± 3,0	24,2 ± 3,3	NS
Grasa corporal (%)	25,4 ± 7,4	25,0 ± 7,7	26,3 ± 6,8	NS	25,2 ± 7,6	27,5 ± 2,6	NS
Grasa visceral (kg)	6,6 ± 4,5	6,5 ± 4,8	7,0 ± 3,7	NS	6,3 ± 4,4	10,5 ± 4,5	NS
Músculo (kg)	35,6 ± 13,6	35,9 ± 11,4	34,9 ± 18,0	NS	36,8 ± 13,4	21,7 ± 7,5	NS
GMB (kcal)	1480,8 ± 281,2	1489,2 ± 284,0	1461,7 ± 286,2	NS	1481,5 ± 281,3	1472,3 ± 343,1	NS
Colesterol total (mg/dl)	236,5 ± 26,4	241,0 ± 28,5	224,3 ± 14,4	0,015	235,7 ± 26,6	247,0 ± 25,2	NS
LDL (mg/dl)	156,0 ± 28,7	160,6 ± 31,0	144,1 ± 17,5	0,036	155,0 ± 28,2	169,0 ± 38,3	NS
HDL (mg/dl)	58,8 ± 14,1	57,0 ± 14,4	63,7 ± 12,3	NS	58,8 ± 14,0	58,3 ± 18,2	NS
Triglicéridos (mg/dl)	106,5 ± 57,5	115,4 ± 62,2	82,7 ± 34,0	NS	107,1 ± 58,8	97,7 ± 40,5	NS
No HDL colesterol (mg/dl)	177,7 ± 31,8	184,1 ± 33,9	160,7 ± 16,7	0,004	176,9 ± 31,5	188,7 ± 41,3	NS

* IMC: Índice de Masa Corporal; GMB: Gasto Metabólico Basal; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; SD: desviación estándar; NS: no significante.

Respecto a la frecuencia de los genotipos en la muestra, se observó que el 72,7% de los participantes tenían el genotipo GG para el SNP 56C>G, el 27,3% restante correspondía al genotipo heterocigoto CG. Para el SNP -1131T>C, el 93,2% de los participantes eran portadores del genotipo homocigoto TT, mientras que sólo 3 individuos presentaban el genotipo TC, el 6,8%.

El haplotipo más frecuente fue GG/TT (56C>G/-1131T>C) presente en el 70,5% de los participantes, seguido del CG/TT, 22,7%, dos de los sujetos presentaban el genotipo CG/TC (4,5%) y uno el GG/TC (2,3%).

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de triglicéridos plasmáticos y los genotipos del SNP 56C>G (p=0,093). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el caso del HDL-c (p=0,162). Sin embargo, en el caso del CT y el LDL-c sí se observaron cambios significativas según el genotipo, p=0,015 y p=0,036 respectivamente. (Figura 1).

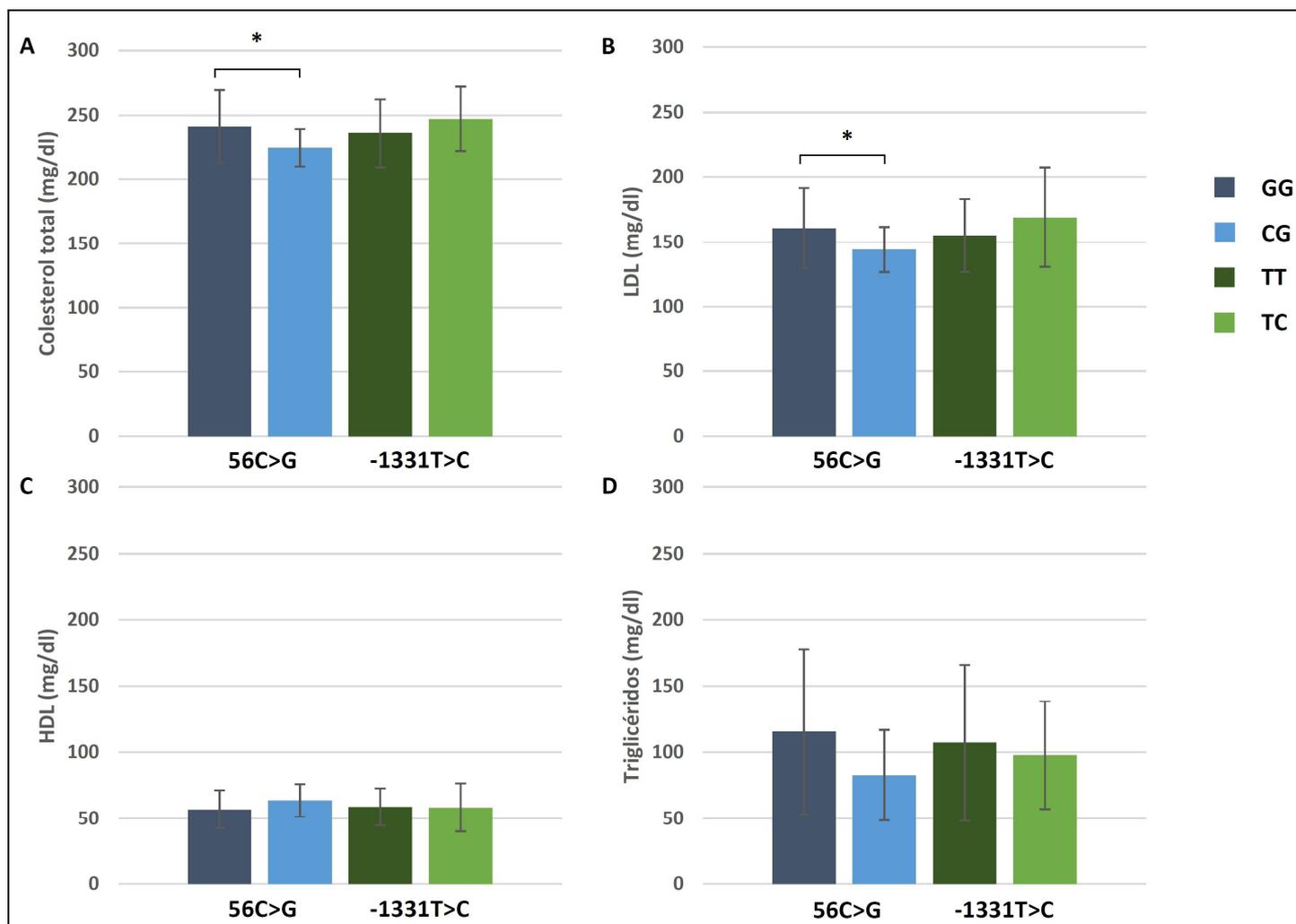


Figura 1: Diferencias entre los niveles lipídicos plasmáticos según polimorfismos y genotipos.

Para el polimorfismo -1131T>C tampoco fue posible encontrar diferencias significativas en los niveles de triglicéridos según el genotipo TT o TC ($p=0,787$), y lo mismo ocurrió para el resto de lípidos plasmáticos evaluados ($p>0,05$). Las concentraciones lipídicas plasmáticas en general tampoco mostraban cambios significativos según el haplotipo del individuo ($p>0,05$). (Figura 1).

El análisis de los datos no permite observar asociaciones significativas entre los diferentes genotipos de los polimorfismos 56C>G y -1131T>C del gen de la codificante para la ApoA5 y nos niveles de triglicéridos plasmáticos. Por lo que en base a estos resultados no se puede afirmar para esta muestra la existencia de una asociación entre los niveles de triglicéridos plasmáticos y el tipo de variante genética 56C>G y -1131T>C.

DISCUSIÓN

El estudio evalúa la existencia de concentraciones diferenciales de triglicéridos plasmáticos en una muestra de hombres y mujeres con niveles de colesterol >200 mg/dL según el polimorfismo génico del gen *APOA5* (56C>G y -1131T>C) de la que son portadores.

La frecuencia genotípica observada para 56C>G y -1131T>C, es similar a la observada en estudios anteriores en muestras de origen español⁽¹¹⁾, en torno al 73-88% para el genotipo GG en 56C>G y sobre el 86-93% para el genotipo TT en -1131T>C.

La mayor parte de los estudios que analizan estos polimorfismos encuentran su asociación con un incremento significativo de los niveles de triglicéridos^(11,12), por el contrario nuestro estudio no observa asociación significativa de cualquier tipo entre estas variables. Un reciente estudio publicado por Fallah et al⁽¹³⁾, que también estudia estos polimorfismos no señala la asociación significativa entre 56C>G y -1131T>C y las concentraciones plasmáticas de triglicéridos. Asimismo, Halakhor et al⁽¹⁴⁾, tampoco encuentra una asociación significativa entre 56C>G y los niveles de triglicéridos ($p=0,594$) lo que se encuentra en consonancia con nuestros resultados.

CONCLUSIÓN

Este estudio pone de manifiesto la no asociación entre los niveles de triglicéridos plasmáticos y las variantes polimórficas 56C>G y -1131T>C del gen codificante para la ApoA5. Son necesarios más estudios con mayor tamaño muestral y el análisis de otras marcas genómicas.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos dar las gracias a la Unidad de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Clínico San Carlos y al Hospital El Escorial, en Madrid; al Departamento de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid; a Vitagenes y Microcaya S.A.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

1. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Averna M, et al; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2(8):655-66.
2. WHO.int. Cardiovascular diseases [página Web]. [Fecha de actualización: 2015 ene; 2016 may 18]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
3. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet.* 2014;384:626-35.
4. Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Cohen JC, Cox DR, Fruchart JC, et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science.* 2001;294:169-73.
5. San Mauro-Martín I, de la Calle-de la Rosa L, Sanz-Rojo S, Garicano-Vilar E, Ciudad-Cabañas MJ, Collado-Yurita L. Enfoque genómico en la enfermedad cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2016;33(1):148-55.
6. Li S, Hu B, Wang Y, Wu D, Jin L, Wang X. Influences of APOA5 variants on plasma triglyceride levels in Uyghur population. *PLoS One.* 2014;9(10):e110258.
7. Portao J, Bescós R, Iruña A, Cacciatori E, Vallejo L. Valoración de la grasa corporal en jóvenes físicamente activos: antropometría vs bioimpedancia. *Nutr Hosp.* 2009;24:529-34.
8. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974;20(4):470-5.
9. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, et al. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clin Chem.* 1995;41(5):717-23.
10. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J.* 2012;33(13):1635-701.
11. Guardiola M, Cofán M, de Castro-Oros I, Cénarro A, Plana N, Talmud PJ, et al. APOA5 variants predispose hyperlipidemic patients to atherogenic dyslipidemia and subclinical atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015;240(1):98-104.
12. Li S, Hu B, Wang Y, Wu D, Jin L, Wang X. Influences of APOA5 variants on plasma triglyceride levels in Uyghur population. *PLoS One.* 2014;9(10):e110258.
13. Fallah MS, Sedaghatikhayat B, Guity K, Akbari F, Azizi F, Daneshpour MS. The relation between metabolic syndrome risk factors and genetic variations of apolipoprotein V in relation with Serum triglyceride and HDL-C level. *Arch Iran Med.* 2016;19(1):46-50.
14. Halalkhor S, Jalali F, Tilaki KH, Shojaei S. Association of two common polymorphisms of apolipoprotein A5 gene with metabolic syndrome indicators in a North Iranian population, a cross-sectional study. *J Diabetes Metab Disord.* 2014;13:48.