Variación genética de lipoproteínas y lípidos plasmáticos

José Luis Santos

*Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo
Facultad de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.*

Recibido el 26 de Enero de 2010, Aceptado el 10 de marzo de 2010

Rev Chil Cardiol 2010; 29: 88-93

A pesar de las importantes influencias que ejercen la dieta, los estilos de vida y los factores ambientales en las dislipidemias de origen multifactorial, existen también numerosas evidencias que apoyan la participación de factores genéticos en la variabilidad de los lípidos plasmáticos¹. Los estudios de pares de gemelos monocigóticos (MZ) y dicigóticos (DZ) indican en términos generales que existe una mayor similitud en las concentraciones de lípidos plasmáticos en gemelos MZ en comparación con los gemelos DZ, lo que indicaría que estos rasgos se encuentran parcialmente bajo control genético²⁻⁴.

Es importante considerar la variabilidad de los lípidos plasmáticos en la salud de las personas, dado que el riesgo de desarrollar Enfermedad Cardiovascular (ECV) se relaciona de forma directa con los niveles de colesterol total y colesterol-LDL, e inversamente con los niveles de colesterol-HDL⁵. Aunque los efectos del colesterol-LDL y HDL sobre el riesgo cardiovascular están ampliamente documentados, el efecto causal de las variaciones del colesterol-HDL se encuentra aún en debate dado que algunos desórdenes del metabolismo de lípidos caracterizados por niveles muy bajos de esta fracción lipídica (por ejemplo, en las deficiencias genéticas de ABCA1, LCAT y la mutación Milano del gen APOA1) no parecen presentar un elevado riesgo de ECV⁶⁻⁸. Por otro lado, los niveles elevados de triglicéridos (TG),

tanto basales como postprandiales, parecen estar asociados de forma independiente con el riesgo de ECV, aunque con un efecto de menor magnitud que el del colesterol-LDL⁹. En este sentido, algunos autores han sugerido que los valores de TG postprandiales podrían tener un efecto de mayor relevancia que los TG en ayunas como predictores del riesgo de ECV¹⁰, existiendo adicionalmente un control genético en la modulación de la lipemia postprandial¹¹.

Valores de trigliceridemia excesivamente altos son propios de cinco de los seis clásicos fenotipos de las llamadas hiperlipoproteinemias de Frederickson (tipos 1, 2B, 3, 4 y 5), siendo la tipo 2 (hipercolesterolemia familiar) la única hiperlipoproteinemia que no presenta hipertrigliceridemia de forma característica¹². El ejemplo más clásico de influencia genética sobre los niveles de TG se observa en la hiperlipoproteinemia tipo 1, que se produce por una alteración en la actividad de la Lipoproteína Lipasa (LPL)¹³. Esta enzima juega un papel fundamental en la regulación de lípidos plasmáticos, ya que es la encargada de la hidrólisis de los TG empaquetados en los quilomicrones y en las partículas VLDL para producir ácidos grasos que serán captados por el músculo y el tejido adiposo¹⁴.

Los pacientes afectados con hiperlipoproteinemia tipo 1 pueden presentar pancreatitis aguda, estando

Correspondencia: Prof. José Luis Santos
Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo.
Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile
Correo Electrónico: jsantos@med.puc.cl

aún en discusión cuál es el impacto real de esta enfermedad sobre el riesgo de ECV. Un fenotipo similar ocurre en la deficiencia familiar del gen APOC2, que es un activador de la LPL en condiciones fisiológicas. Se han descrito defectos genéticos raros en APOC2 que, en estado autosómico recesivo, generan altos niveles de TG en plasma similares a los encontrados en la deficiencia de LPL¹⁵. En la hiperlipoproteínemia 3 (también llamada disbetalipoproteínemia), existe típicamente un estado homocigoto para el alelo E2 del gen APOE, que se acompaña de otros factores precipitantes de dislipidemias que pueden incluir tanto factores ambientales, concurrencia de otras patologías (obesidad, diabetes), así como adicionales polimorfismos genéticos de riesgo tales como las variantes -1131T>C y S19W del gen APOA5¹. En el extremo opuesto de la distribución poblacional de TG, también se han descrito casos clínicos con muy bajos niveles de triglicéridos plasmáticos, tales como los que se presentan en la abetalipoproteínemia, la hipobetalipoproteínemia y la enfermedad de retención de quilomicrones, producidas respectivamente por mutaciones en MTTP (proteína encargada del ensamblaje de los quilomicrones en el intestino), mutaciones en el gen APOB (componente característico de los quilomicrones en su isoforma editada B48) o mutaciones en el gen SAR1B¹. En un estudio de barrido de genoma completo en una población aislada, se ha descrito recientemente una mutación en el gen humano APOC3, que codifica para una proteína que actúa como inhibidora de la LPL^{17,18}. Este estudio pudo establecer una asociación entre valores muy bajos de TG postprandiales con la presencia de una variante genética cercana al agrupamiento de genes APOA1-C3-A4-A5 del cromosoma 11, en el que finalmente se identificó una mutación en estado heterocigoto en APOC3 relacionado con una aparente protección cardiovascular¹⁸. Otras mutaciones de baja frecuencia relacionadas con alteraciones en los niveles de TG se han encontrado en los genes LMF1, GPIHBP1,

ANGPTL3 y ANGPTL4¹. Es probable que existan otros genes desconocidos hasta el momento que puedan cargar con mutaciones responsables de cambios drásticos en la concentración de TG plasmáticos.

Se han descrito estrategias para la búsqueda de nuevos genes y mutaciones responsables de enfermedades, como el enfoque de mapeo por homocigosidad para enfermedades de herencia recesiva en familias consanguíneas¹⁹ o la reciente posibilidad de aplicar nuevas técnicas de secuenciación masiva que han permitido la determinación de la secuencia completa del exoma (total de las secuencias codificantes en el genoma humano)²⁰. Esta última estrategia ya ha mostrado su utilidad al identificar el gen y la mutación responsables de una enfermedad mendeliana cuya etiología genética era desconocida hasta el momento²⁰.

La investigación en epidemiología genética de enfermedades y rasgos multifactoriales en los últimos 20 años, ha estado dominada por los estudios de ligamiento de tipo no-paramétrico que consisten en barridos genómicos de marcadores de tipo microsatélite en familias, así como por los estudios de casos-controles focalizados en la variabilidad genética de genes candidatos^{21,22}. Mientras que los estudios de ligamiento han sido muy exitosos en la identificación de genes involucrados en enfermedades mendelianas, su efectividad ha sido muy limitada en el estudio de rasgos multifactoriales²³.

Por otro lado, los estudios de casos y controles en genes candidatos han sido criticados por limitaciones metodológicas que se han traducido en un número elevado de falsos positivos y en una baja replicabilidad²⁴.

En los últimos años, se ha materializado la factibilidad técnica de realizar estudios de asociación en sujetos sin relación familiar en los que se realiza un barrido del genoma completo con marcadores

genéticos de variaciones simples de tipo SNP (acrónimo de Single Nucleotide Polymorphism)²⁵. Actualmente existen diferentes paneles de cobertura del genoma que permiten la determinación de un número de SNPs superior al millón de genotipos por muestra (<http://www.illumina.com> y <http://www.affymetrix.com>).

El objetivo de los estudios de asociación de genoma completo es encontrar marcadores genéticos que se asocian a rasgos o enfermedades, a través del fenómeno de asociación alélica (también conocido como desequilibrio de ligamiento) existente entre los SNPs determinados en el ensayo y las variantes genéticas causales de la enfermedad²⁵.

La racionalidad de los estudios de asociación de barrido de genoma completo se basa en la hipótesis “enfermedad común-genotipo común”, que afirma que existen diferentes variantes genéticas comunes que contribuirían a incrementar el riesgo de enfermar con efectos individuales de baja magnitud²². En relación a los estudios de asociación de genoma completo con TG plasmáticos, se han encontrado las señales más significativas en los genes LPL, el agrupamiento APOA1–C3–A4–A5 del cromosoma 11, y los genes APOB, GCKR, ANGPTL3 y MLXIPL, así como en otros genes con efecto de menor magnitud²⁶⁻²⁹.

Aunque la aplicación de barridos genómicos en los estudios de asociación de genoma completo ha significado un importante avance en la genética de las dislipidemias, también es importante señalar que estos avances probablemente van a impulsar nuevos estudios epidemiológicos en genes candidatos focalizados en la estimación correcta de la magnitud del riesgo de enfermar (riesgo relativo, odds ratio).

Los meta-análisis³⁰ y los estudios centrados en el genotipado intensivo de genes previamente involucrados en la enfermedad cardiovascular (“gene centric” HumanCVD BeadChip de Illumina, con cerca de 50000 SNPs en aproximadamente

2100 genes) han puesto de manifiesto la relevancia de la variación genética de los genes candidatos conocidos relacionados con la ECV, confirmando las asociaciones ya descritas en relación a los TG plasmáticos (descritas más arriba), así como las asociaciones ya conocidas entre APOE–APOC1–APOC4–APOC2 (cromosoma 19), LDLR, APOB y PCSK9 con colesterol-LDL (y niveles de apolipoproteína B), así como las asociaciones entre CEPT y LPL con los niveles de colesterol-HDL (y niveles de apolipoproteína AI)^{1,31}. Adicionalmente, la re-secuenciación de estos genes en familias con dislipidemias severas puede ser útil en la búsqueda de mutaciones responsables de estas patologías. Se ha sugerido que la variabilidad de los TG plasmáticos está determinada por mutaciones de muy baja frecuencia con un efecto de gran magnitud, junto con otras variantes genéticas de tipo SNP con un efecto de menor magnitud y con una mayor frecuencia poblacional¹. Además de la variabilidad genética de sustituciones simples de tipo SNP, también es preciso considerar otro tipo de variación de gran relevancia que consiste en el número de copias variables de segmentos cromosómicos amplios (mayores de 1 Kb) llamados en la literatura “Copy-Number Variations” (CNV). Los CNV tienen un enorme potencial en la explicación de la arquitectura genética de muchos rasgos y enfermedades dado que podrían afectar al equilibrio de dosis alélica, a la disrupción de genes y a la expresión génica³². En el gen LPA que codifica para la lipoproteína Lp(a), se ha descrito un CNV (y un conjunto de SNPs asociados), cuya variabilidad en el número de copias se encuentra asociada a los niveles de Lp(a), al tamaño de esta lipoproteína, y al riesgo cardiovascular^{33,34}. Como recapitulación a lo anteriormente expuesto, la Figura 1 muestra las diferentes opciones de diseño de estudio y tipos de marcadores genéticos que han sido usados en el análisis de la etiología genética de la dislipidemia humana.

Figura 1.- DISEÑOS DE ESTUDIO Y USO DE MARCADORES GENÉTICOS EN EL ESTUDIO DE LA ETIOLOGÍA GENÉTICA DE LAS DISLIPIDEMIAS HUMANAS

SNP: Single Nucleotide Polymorphisms; CNV: Copy-Number Variation.

El artículo de Saavedra y cols³⁵, publicado en este número de la Revista Chilena de Cardiología se centra en los polimorfismos del gen APOA5³⁵. Tal como señalan los autores de este artículo, existen evidencias sólidas provenientes de estudios de diferente naturaleza que relacionan a la apolipoproteína A-V y a la variabilidad genética de APOA5 en la regulación de los niveles de TG plasmáticos, por lo que las variantes de este gen se han erigido como un referente en los cálculos del poder predictivo de la variabilidad genética sobre la trigliceridemia¹. Por un lado, se han descrito mutaciones raras en APOA5 con un efecto de penetrancia variable sobre la hipertrigliceridemia severa³⁶, mientras que adicionalmente, también se ha descrito un efecto relativamente consistente de las variantes -1131T>C y S19W sobre los niveles plasmáticos de TG¹. El artículo de Saavedra y cols, apunta en este mismo sentido al informar la asociación entre estas variantes genéticas con los TG plasmáticos, representando una muy importante contribución al conocimiento del efecto de estas

variantes genéticas y su distribución en la población Chilena. Es importante destacar la cuidada caracterización fenotípica y genotípica aplicada en este estudio y el importante esfuerzo de selección de participantes que ha conducido a un tamaño de muestra considerable. A pesar de esto y como suele ser común en estudios de epidemiología genética en la literatura internacional, es difícil poder alcanzar tamaños de muestra adecuados que permitan tener un poder estadístico suficiente para estimar con precisión la magnitud de los efectos principales, así como permitir el control de variables confundentes y la evaluación de las posibles interacciones entre las variables participantes.

Igualmente, es importante resaltar la importancia de la subestructura genética poblacional en estudios de epidemiología genética en nuestra población³⁷, tanto por el posible efecto de confusión de la estratificación genética poblacional, como por la posibilidad de existencia de variantes genéticas relevantes en grupos étnicos específicos, como

aparentemente ocurre con la asociación entre la variante 185G>C de APOA5 con los niveles de TG en poblaciones asiáticas³⁸. Otro hallazgo relevante del estudio de Saavedra y cols, es la asociación encontrada entre los genotipos -1131T>C y S19W de APOA5 y los niveles de glucosa plasmática en ayunas. En este sentido, se ha descrito una relación entre la acción de LPL y la dislipidemia diabética y la resistencia a la insulina^{15, 39}. Por otro lado, es interesante también señalar que algunas de las señales significativas procedentes de los estudios

de asociación de genoma completo en relación a los niveles de TG plasmáticos se refieren a genes relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono tales como GCKR y MLXIPL²⁶⁻²⁹. El gen GCKR codifica para la proteína reguladora de la glucoquinasa, que es la enzima que actúa como sensor de la glucosa plasmática y que participa en la fosforilación de la glucosa en la primera etapa de la glicolisis, mientras que el gen MLXIPL codifica para un factor de transcripción sensible a la acción de la glucosa.

REFERENCIAS:

1. HEGELE. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 109-121.
2. SUNG J, LEE K, SONG YM. Heritabilities of the metabolic syndrome phenotypes and related factors in Korean twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4946-4952. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009 Sep;19(7): 455-61. Epub 2009 Feb 6.
3. FENGER M, BENYAMIN B, SCHOUSBOE K, SORENSEN TI, KYVIK KO. Variance decomposition of apolipoproteins and lipids in Danish twins. *Atherosclerosis* 2007; 191: 40-47.
4. SOUREN NY, ZEEGERS MP, JANSSEN RG, STEYLS A, GIELEN M, LOOS RJ, et al. Anthropometry, carbohydrate and lipid metabolism in the East Flanders Prospective Twin Survey: linkage of candidate genes using two sib-pair based variance components analyses. *Twin Res Hum Genet* 2008; 11: 505-516.
5. VAN WIJK DF, STROES ES, KASTELEIN JJ. Lipid measures and cardiovascular disease prediction. *Dis Markers* 2009; 26: 209-216.
6. CALABRESI L, BALDASSARRE D, CASTELNUOVO S. Functional lecithin: cholesterol acyltransferase is not required for efficient atheroprotection in humans. *Circulation* 2009; 120: 628-635.
7. WEISGRABER KH, RALL SC JR, BERSOT TP, MAHLEY RW, FRANCESCHINI G, SIRTORI CR, et al. Apolipoprotein A-IMilano. Detection of normal A-I in affected subjects and evidence for a cysteine for arginine substitution in the variant A-I. *J Biol Chem* 1983; 258: 2508-2513.
8. FRIKKE-SCHMIDT R. Genetic variation in the ABCA1 gene, HDL cholesterol, and risk of ischemic heart disease in the general population. *Atherosclerosis* 2009 (epub ahead of print).
9. SARWARN, DANESH J, EIRIKSDOTTIR G, SIGURDSSON G, WAREHAM N, BINGHAM S, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease. 10158 incident cases among 262525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation* 2007; 115: 450-458.
10. BANSAL S, BURING JE, RIFAI N, MORA S, SACKS FM, RIDKER PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 2007; 298:309-316.
11. PÉREZ-MARTINEZ P, LOPEZ-MIRANDA J, PÉREZ-JIMÉNEZ F, ORDOVAS JM. Influence of genetic factors in the modulation of postprandial lipemia. *Atheroscler Suppl* 2008; 9: 49-55.
12. ARTEAGA A, CUEVAS A, RIGOTTI A, GONZÁLEZ F, CASTILLO S, MATA P, ALONSO R. Hipercolesterolemia familiar heterocigota: diagnóstico molecular y terapia hipolipemiente combinada. Caso clínico. *Rev Med Chile* 2007; 135: 216-220.
13. RAHALKAR AR, GIFFEN F, HAR B, HO J, MORRISON KM, HILL J, et al. Novel LPL mutations associated with lipoprotein lipase deficiency: two case reports and a literature review. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87: 151-160.
14. XIE C, WANG ZC, LIU XF, YANG MS. The common biological basis for common complex diseases: evidence from lipoprotein lipase gene. *Eur J Hum Genet* 2010; 18: 3-7.
15. BRECKENRIDGE WC, LITTLE JA, STEINER G, CHOW A, POAPST M. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Engl J Med* 1978; 298: 1265-1273.
16. WALDEN CC, HEGELE RA. Apolipoprotein E in hyperlipidemia. *Ann Intern Med* 1994; 120: 1026-36.
17. JONG MC, HOFKER MH, HAVEKES LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: differences between ApoC1, ApoC2 and ApoC3. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 472-484.
18. POLLIN TI, DAMCOTT CM, SHEN H, OTT SH, SHELTON J, HORENSTEIN RB, ET AL. A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science* 2008; 322: 1702-1705.
19. NEWMAN DL, ABNEY M, DYTCH H, RODNEY P, McPEAK MS, OBER C. Major loci influencing serum triglyceride

- levels on 2q14 and 9p21 localized by homozygosity-by-descent mapping in a large Hutterite pedigree. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 137-144.
20. NG SB, BUCKINGHAM KJ, LEE C, BIGHAM AW, TABOR HK, DENT KM, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* 2010; 42: 30-35.
 21. COLETTA DK, SCHNEIDER J, HU SL, DYER TD, PUPPALA S, FAROOK VS, et al. Genome-wide linkage scan for genes influencing plasma triglyceride levels in the veterans administration genetic epidemiology study. *Diabetes* 2009; 58: 279-284.
 22. FRAZER KA, MURRAY SS, SCHORK NJ, TOPOL EJ. Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Genet Rev* 2009; 10: 241-251.
 23. BOTSTEIN D, RISCH N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet* 2003; 33: 228-37.
 24. REDDEN DT, ALLISON DB. Nonreplication in genetic association studies of obesity and diabetes research. *J Nutr* 2003; 133: 3323-3326.
 25. THE WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678.
 26. KOONER JS, CHAMBERS JC, AGUILAR-SALINAS CA, HINDS DA, HYDE CL, WARNES GR, et al. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat Genet* 2008; 40: 149-151.
 27. WALLACE C, NEWHOUSE SJ, BRAUND P, ZHANG F, TOBIN M, FALCHI M, et al. Genome-wide Association Study Identifies Genes for Biomarkers of Cardiovascular Disease: Serum Urate and Dyslipidemia. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 139-149.
 28. AULCHENKO YS, RIPATTI S, LINDQUIST I, BOOMSMA D, HEID IM, PRAMSTALLER PP, et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet* 2009; 41: 47-55.
 29. KATHIRESAN S, WILLER CJ, PELOSO G, DEMISSIE S, MUSUNURU K, SCHADT E, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet* 2009; 41: 56-65.
 30. BENNET AM, DI ANGELANTONIO E, YE Z, WENSLEY F, DAHLIN A, AHLBOM A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007; 298: 1300-1311.
 31. TALMUD PJ, DRENOS F, SHAH S, SHAH T, PALMEN J, VERZILLI C, et al. Gene-centric association signals for lipids and apolipoproteins identified via the HumanCVD Beadchip. *Am J Hum Genet* 2009; 85: 628-642.
 32. BECKMANN JS, ESTIVILL X, ANTONARAKIS SE. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 639-646.
 33. LANKTREE MB, RAJAKUMAR C, BRUNT JH, KOSCHINSKY ML, CONNELLY PW, HEGELA RA. Determination of lipoprotein(a) kringle repeat number from genomic DNA: copy number variation genotyping using qPCR. *J Lipid Res* 2009; 50: 768-772.
 34. CLARKE R, PEDEN JF, HOPEWELL JC, KYRIAKOU T, GOEL A, HEATH SC, et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2518-2528.
 35. SAAVEDRAC, HERNANDEZA, CAAMAÑO J, JARAMILLO P, LANAS F, SALAZAR LA. Polimorfismos genéticos de APOA5 se asocian a hipertrigliceridemia e hiperglicemia en individuos chilenos con enfermedad coronaria y controles. *Rev Chil Cardiol* 2010; 29: 19-27.
 36. TALMUD PJ. Rare APOA5 mutations--clinical consequences, metabolic and functional effects: an ENID review. *Atherosclerosis* 2007; 194: 287-292.
 37. SANTOS JL, PÉREZ-BRAVO F, CARRASCO E, CALVILLÁN M, ALBALA C. Association between type 1 diabetes and HLA-DQB1 alleles in a case-parents study conducted in Santiago, Chile. *Am J Epidemiol* 2001; 153: 794-798.
 38. PULLINGER CR, AOUIZERAT BE, MOVSESYAN I, DURLACH V, SIJBRANDS EJ, NAKAJIMA K, et al. An apolipoprotein A-V gene SNP is associated with marked hypertriglyceridemia among Asian-American patients. *J Lipid Res* 2008; 49:1846-1854.
 39. MCLEAN AG, PETERSONS CJ, HOOPER AJ, BURNETT JR, BURT MG, DOOGUE MP. Extreme diabetic lipaemia associated with a novel lipoprotein lipase gene mutation. *Clin Chim Acta* 2009; 406: 167-169.