



**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A.C.**

**POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO EN EL
GEN *ABCA1* RELACIONADOS CON COLESTEROL-HDL
EN POBLACIÓN SONORENSE**

Por:

Dulce Oney Román Pellegrini

TESIS APROBADA POR LA
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora.

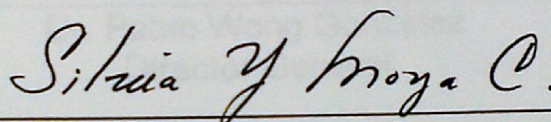
Diciembre, 2014

APROBACIÓN

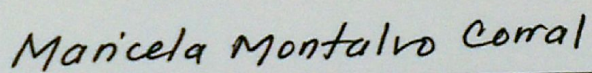
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Dulce Oney Román Pellegrini, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



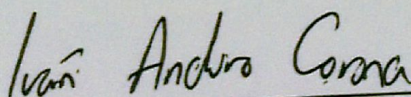
Dra. Martha Nydia Ballesteros Vázquez
Director de Tesis



Dra. Silvia Yolanda Moya Camarena
Asesor



Dra. Maricela Montalvo Corral
Asesor

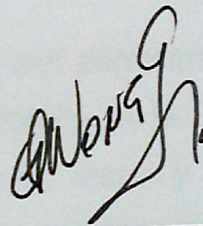


Dr. Iván Anduro Corona
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante el posgrado.

Al Centro de investigación en alimentación y desarrollo (CIAD) por permitirme realizar mis estudios de posgrado.

A la Dra. Martha Nydia Ballesteros por permitirme ser parte de su laboratorio y brindarme su ayuda cuando la necesité. A la Dra. Silvia Moya, Dra. Maricela Montalvo y al Dr. Iván Anduro por su apoyo y asesoría para la realización de esta Tesis de Maestría. A los cuatro, muchas gracias, porque además de ser mi comité de tesis, fueron quienes me alentaron a quedarme en esta institución cuando estuve a punto de claudicar.

A las M. en C. Elizabeth Artalejo y Alma Robles por su colaboración para la realización de la presente investigación. A los chicos de servicio social, quienes me ayudaron a sacar adelante el trabajo de campo Víctor Cota, Gaby Jiménez, Rossy Rivera, Mariza Luna y Gaby Beltrán.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Martín Tizado y al M. en C. Javier Ojeda, por abrirme las puertas del laboratorio de Fisiología y Biología Molecular de Plantas. A todos los chicos de este mismo laboratorio, muchas gracias por

brindarme su amistad y verme como un miembro más de su equipo, pues como bien decía Javier, yo pertenezco a Vegetales.

A mis compañeros de laboratorio, por hacer menos pesados los días de trabajo, Fabrizio, Mildren y Amanda.

A mi amiga Ale Chávez, por estar siempre cuando necesité desahogarme. A Monse y Anna por los cafecitos ñoños de niñas.

A mis amigos fuera de CIAD, Sarah, Rosen, Arturo y Gox muchas gracias por hacer más placentera mi estancia en Hermosillo. A mis amigos de La Paz, quienes constantemente preguntaban por mi regreso.

A mis padres, Dulce y Jorge, por alentarnos siempre a mis hermanos y a mí a seguir adelante y crecer, a ser siempre más de lo que creemos ser. A mi abuela (la awala) por siempre haber estado al pendiente de mí, me encantan nuestras pijamadas y sus llamadas inesperadas. A mi pequeño Wally, quien espera ansioso mi pronto regreso. A mi familia en general, gracias.

Por último, a mi compañero Hever Latisnere, quien me apoyó desde que decidí realizar mi posgrado. Muchas gracias por tus palabras, por tu cariño, sobre todo por la inmensa paciencia que me tienes. Gracias mi amor.

DEDICATORIA

*Si sobrevives, si persistes, canta,
sueña, emborráchate.
Es el tiempo del frío: ama,
apresúrate. El viento de las horas
barre las calles, los caminos.
Los árboles esperan: tú no esperes,
éste es el tiempo de vivir, el único.*

JAIME SABINES

CONTENIDO

	Páginas
Lista de Figuras.....	
Lista de Tablas.....	
Resumen.....	
Abstract.....	

	Páginas
Introducción	1
Antecedentes	3
Dislipidemias, un riesgo para la salud	3
HDL en el organismo	4
Funciones ateroprotectoras de HDL y transporte reverso del colesterol	5
Proteína transportadora de casete unida a ATP A1 (ABCA1)	8
Variantes genéticas	10
Variantes genéticas de ABCA1 asociadas a niveles bajos de HDL-C	12
Variaciones genéticas en población caucásica	13
La variante R230C en México	16

Niveles de HDL-C en la población sonoreense	17
Hipótesis	19

Objetivos	20
Objetivo particular	20
Objetivos específicos	20
Materiales y Métodos	21
Población de estudio	21
Diseño del estudio y participantes	21
Tamaño de muestra	22
Criterios de inclusión	23
Criterios de exclusión	23
Captación y selección de los sujetos de estudio	23
Estudios realizados	24
Mediciones antropométricas	24
Evaluación clínica y estilo de vida	25
Presión arterial	25
Evaluación dietaria	25
Evaluación de la actividad física	26
Toma de muestra de sangre	26
Determinación del perfil lipídico	27
Análisis genético	28
Extracción de ADN genómico	28
Ensayos de genotipificación de los polimorfismos de un solo nucleótido R230C y R1587K	28
Análisis estadístico	29
Resultados	31
Características físicas y clínicas generales de los sujetos de estudio .	31
Evaluación dietaria	36
Genotipificación	38
Frecuencias alélicas y genotípicas de R230C y R1587K en población Sonorense	41
Asociación entre el genotipo y los niveles de HDL-C	44
Asociación entre R230C con los niveles de HDL-C y otras	

variables	45
Asociación entre R1587K con los niveles de HDL-C y otras variables	49
Discusión	52
Conclusiones	63
Referencias	64

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama de la ruta del TRC	7
2	Ilustración del ensayo de exonucleasas 5' – 3' por qPCR	12
3	Modelo topológico de ABCA1	15
4	Gel de agarosa mostrando integridad de ADN _g extraído	38
5	Gráfica representativa de la discriminación alélica del SNP R230C del gen <i>ABCA1</i> por sondas TaqMan	39
6	Gráfica representativa de la discriminación alélica del SNP R1587K del gen <i>ABCA1</i> por sondas TaqMan	40
7	Frecuencia absoluta de los genotipos del SNP R1587K en población sonorense y española	59

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Características físicas y metabólicas de los sujetos de estudio	33
2	Presencia de dislipidemias de los sujetos de estudio	34
3	Niveles plasmáticos de Triglicéridos por grupos de HDL-C	35
4	Ingesta de macronutrientes de los sujetos de estudio	37
5	Frecuencias genotípicas y alélicas de R230C y R1587K	42
6	Frecuencias de alelos en la población sonoreNSE y otras poblaciones mexicanas	43
7	Frecuencia de alelos del SNP R1587K en la población sonoreNSE y otras poblaciones a nivel mundial	43
8	Frecuencias alélicas respecto a niveles de HDL-C de los polimorfismos R230C y R1587K	45
9	Valores antropométricos, clínicos y de estilo de vida de acuerdo al genotipo de la variante R230C	47
10	HDL-C y su relación con el genotipo R230C por regresión lineal	48
11	Valores antropométricos, clínicos y de estilo de vida de acuerdo al genotipo del SNP R1587K	50
12	HDL-C y su relación con los genotipos del SNP R1587K por regresión lineal	51

RESUMEN

La biogénesis del HDL-C involucra a la proteína transportadora de casete unida a ATP-A1 (ABCA1) encargada del eflujo de fosfolípidos y colesterol. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el gen *ABCA1*, particularmente R230C y R1587K, están relacionados con la disminución de los niveles de HDL-C. R230C es característico de población mestiza mexicana y amerindia, y R1587K de población europea. **Objetivo:** Determinar la asociación entre la presencia de ambos SNP con los niveles bajos de HDL-C en población sonoreense. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de corte transversal, en el que se examinó la presencia de los SNPs R230C y R1587K mediante ensayos de genotipificación por qPCR en 76 individuos. Adicionalmente se evaluó el perfil lipídico, presión arterial, dieta y actividad física. **Resultados:** Los SNPs R230C y R1587K se encontraron en el 11.8% y el 38.1% de los individuos evaluados, respectivamente. Se observaron niveles menores de HDL-C en individuos con el genotipo R230C (41.6 ± 3.2 mg/dL) comparados con los que portan el genotipo R230R (47.2 ± 1.1 mg/dL). De manera similar, individuos con el genotipo R1587K (42.9 ± 1.9 mg/dL) mostraron niveles inferiores de HDL-C, respecto a R1587R (48.3 ± 1.3 mg/dL). La disminución en los niveles de HDL-C dependiendo del SNP fue de 5.1 mg/dL para R230C y 3.8 mg/dL para R1587K ($p < 0.1$). **Conclusión:** Ambos SNPs están asociados con la disminución de HDL-C en población sonoreense; R1587K se encuentra en mayor proporción que R230C.

Palabras clave: Colesterol en la lipoproteína de alta densidad, polimorfismos de un solo nucleótido, ABCA1, población sonoreense.

ABSTRACT

The ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) protein is involved in the HDL-C biogenesis acting over the efflux of phospholipids and cholesterol. Single nucleotide polymorphisms (SNP's) as R230C and R1587K relates with level decrease of HDL-C. The SNP R230C characterized mixed Mexican and Indian American populations meanwhile R1587K presents in European populations. The objective of the study was to determine the hypothetical association between the presences of both SNP's with low levels of HDL-C in Sonoran population. A cross-sectional study was conducted and the presences of both SNP's were surveyed by genotyping assays in 76 individuals. In addition, factors as lipid profile, blood pressure, diet and physical activity were considered. In the individuals analyzed, each SNP (R230C and R1587K), was observed in 11.8% and 38.1% respectively. Those individuals genotyped as R230C showed lower levels of HDL-C (41.6 ± 3.2 mg/dL) compared with those genotyped as R230R (47.2 ± 1.1 mg/dL). In a similar fashion, those individuals genotyped as R1587K showed lower levels of HDL-C (42.9 ± 1.9 mg/dL), compared to R1587R (48.3 ± 1.3 mg/dL). The decrease of HDL-C levels relative to each SNP (R230C and R1587K) were 5.1 mg/dl and 3.8 mg/dL respectively ($p < 0.1$). We conclude that both SNP's are associated with decreased levels of HDL-C in the individuals studied and that genotype R1587K is in greater proportion than the R230C.

Key words: High-density lipoprotein cholesterol, single nucleotide polymorphisms, ABCA1, Sonoran population.

INTRODUCCIÓN

En la población adulta e infantil sonoreense predominan niveles bajos de colesterol HDL (HDL-C) (Amaya, 2011; Guillot, 2012; Ramírez, 2012; Valenzuela, 2010), lo cual puede ser un factor de riesgo para la salud. Se considera que los niveles de HDL-C son bajos cuando la concentración de éste se presenta por debajo de 40 mg/dL (Aguilar-Salinas et al, 2009), generándose así un tipo de dislipidemia, la hipoalfalipoproteinemia, la cual la padece el 50% de los adultos mexicanos (<0.9 mmol/L, 35 mg/dL) (Aguilar-Salinas et al, 2001).

La dieta guarda una relación con los niveles de HDL-C, al igual que la ingesta de alcohol, tabaquismo, la actividad física y la obesidad. El agua y la ingesta moderada de carbohidratos muestran una asociación negativa con los niveles de HDL-C (Dwyer et al, 1981). En el estudio hecho por Panagiotakos y colaboradores (2004), se determinó que individuos que llevan la dieta mediterránea, aunado al consumo de estatinas, en comparación a aquellos individuos que llevan la dieta occidental, tienen niveles menores de LDL y colesterol total, lo que produciría un aumento en los niveles de HDL-C. Un buen estilo de vida puede estar asociado al aumento de los niveles de HDL-C, como actividad física o ejercicio, niveles superiores de masa magra, no fumar, consumo moderado de alcohol, bajo consumo de sacarosa y almidón, así como un estatus educativo superior (Criqui et al, 1980; Glueck et al, 1981; Heiss et al, 1980b). Heiss y colaboradores (1980a) reportaron que los valores de HDL-C están asociados positivamente con los logros educativos en adultos, ya que el estilo de vida y el estatus socioeconómico pueden ser de mejor calidad. Sin embargo hasta ahora se desconoce si poblacionalmente existen variaciones a nivel genético.

La biogénesis de la lipoproteína de alta densidad (HDL) ocurre a través de una compleja ruta que involucra la proteína transportadora de casete unida a ATP A1 (ABCA1) y a la enzima plasmática lecitina-colesterol acil transferasa (LCAT). La ABCA1 promueve el eflujo celular de fosfolípidos y colesterol hacia la apoA-1 libre de lípidos (Oram, 2003; Zannis et al, 2006), mediante el transporte reverso del colesterol, el cual consiste en la adquisición del colesterol celular excedente en las células periféricas por las HDL o por la apoA-1 (libre de lípidos o integrada en pequeñas partículas) en el líquido intersticial o la íntima arterial (Gómez-Coronado, 2010).

El gen de *ABCA1* se localiza en el cromosoma 9q31 (Jiang et al, 2011), y el motivo intracelular 2215VFVNFa2220 de ABCA1 es esencial para la unión del aceptor de colesterol apoA-1 y para el eflujo del colesterol (Fitzgerald et al, 2004). Sin embargo, varios estudios han comprobado que diversas mutaciones genéticas tienen relación con diferentes enfermedades en donde los niveles de HDL-C en las personas que las padecen son bajos, tales como la enfermedad de Tangier y deficiencia de HDL familiar. En estudios en población mexicana, la variante R230C se ha asociado fuertemente a hipoalfalipoproteinemia, siendo los genotipos R230C/C230C los más frecuentes (Aguilar-Salinas et al, 2011). La variante R230C disminuye la actividad del transportador ABCA1 *in vitro* hasta un 30%, y el efecto atribuible a la variante para la presencia de hipoalfalipoproteinemia en la población fue del 12.2%, lo cual es notable si se compara con otras cifras registradas para diversas variantes comunes de *ABCA1* (Aguilar-Salinas et al, 2011). En este contexto, el objetivo de este estudio es identificar si existe una asociación entre los niveles bajos de colesterol HDL prevalentes en la población sonoreense y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) R230C y R1587.

ANTECEDENTES

Dislipidemias, Un Riesgo Para La Salud

La dislipidemia aterogénica es un perfil lipídico caracterizado por la combinación de cuatro anormalidades específicas. Estas anormalidades son: nivel de colesterol total en los límites superiores, concentraciones altas de triglicéridos, partículas de lipoproteínas de baja densidad densas y pequeñas, y concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (Grundy, 1995). Este tipo de alteraciones lipídicas son observadas en enfermedades metabólicas como obesidad abdominal, síndrome metabólico y diabetes tipo 2, así como en enfermedad coronaria (Cabre et al, 2012; Lahoz et al, 2012). La dislipidemia aterogénica también es caracterizada por el aumento de la apoproteína B y de concentraciones de colesterol no-HDL, por partículas grandes de lipoproteínas de muy baja densidad, HDL pequeñas, y por lo general se presenta hiperlipidemia postprandial prolongada (Cabre et al, 2012).

La prevalencia de algunas formas de dislipidemias son altas en México, siendo una de éstas la hipoalfalipoproteinemia, la cual es un factor de riesgo en adultos mexicanos (Aguilar-Salinas et al, 2001). La terapia para controlar las dislipidemias incluye cambios en la dieta disminuyendo la ingesta de colesterol, ejercicio y como medidas drásticas el uso de medicamentos en aquellas personas que las recomendaciones anteriormente mencionadas no corrigieron el perfil de lípidos y lipoproteínas (Grundy, 1995).

La hipoalfalipoproteinemia constituye un grupo heterogéneo de patologías definidas por la presencia de un nivel plasmático de HDL-C menor del 10%

correspondiente por edad y sexo (Moreno-Esteban et al, 1997) o concentraciones menores a 40 mg/dL (Aguilar-Salinas et al, 2009). Cerca del 50% de los adultos mexicanos presentan hipoalfalipoproteinemia (<0.9 mmol/L, 35 mg/dL) y casi un tercio de la población tiene los triglicéridos por arriba de 2.26 mmol (200 mg/dL) en condiciones de ayuno; la prevalencia es mayor en hombres, especialmente cuando son mayores de 50 años (Aguilar-Salinas et al, 2001). Las causas principales son la obesidad, diabetes *mellitus*, consumo elevado de ácidos grasos saturados, sedentarismo, tabaquismo y fármacos como los betabloqueadores, metildopa, benzodiazepinas y probucol (Moreno-Esteban et al, 1997). Además de estos factores, actualmente las investigaciones sugieren que otro punto importante en los niveles bajos de colesterol HDL es la predisposición genética.

HDL en el organismo

La HDL es una mezcla de lipoproteínas con densidades de 1.063 a 1.21 g/mL, la cual dependiendo de su composición lipídica, puede tener una forma discoidal o esférica. La forma esférica madura contiene 45-55% de apoproteínas, 26-32% de fosfolípidos, 15-20% es colesterol esterificado, 3-5% de colesterol libre, y aproximadamente 5% de triglicéridos; su componente principal es la apolipoproteína A1 (apoA-1), la cual representa hasta un 70% del contenido proteico de la HDL (Oram, 2003; Tsompanidi et al, 2010).

Estudios *in vitro*, así como en ratones, han mostrado que la biogénesis del HDL ocurre a través de una compleja ruta (Zannis et al, 2006) que involucra la proteína transportadora ABCA1 y a la LCAT. En los primeros pasos para la formación del HDL, la apoA-1 libre de lípidos, secretada tanto por el hígado como por el intestino, interactúa con el transportador de lípidos ABCA1 y adquiere fosfolípidos y colesterol (Tsompanidi et al, 2010). En las últimas décadas, la comunidad médica ha reconocido que la HDL juega un rol esencial en contra de

enfermedades cardiovasculares, debido a sus múltiples funciones ateroprotectoras que protegen contra enfermedad coronaria.

Funciones ateroprotectoras de HDL y transporte reverso del colesterol

De acuerdo a la revisión de Tsoimpanidi y colaboradores (2010), se han encontrado diversas funciones ateroprotectoras por parte de la HDL. Debido principalmente a la presencia de la apoA-1 ha sido reportado que la HDL tiene propiedades antioxidantes, ya que provee la protección contra la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) al mostrar resistencia a la oxidación por la lipoxigenasa, una enzima que participa en la oxidación de los ácidos grasos. También se señala que la HDL estimula la síntesis del óxido nítrico endotelial (eNOS) de manera favorable al disminuir la disfunción endotelial, involucrada en gran parte en el desarrollo de aterogénesis. En la misma revisión se menciona que la HDL protege contra la inflamación, al bloquear la actividad pro-inflamatoria de la proteína C-reactiva (CRP), inhibiendo la producción de prostaglandinas pro-inflamatorias por los monocitos en el sitio de la lesión aterosclerótica previniendo y/o neutralizando los efectos pro-inflamatorios de los fosfolípidos oxidados de la LDL en el endotelio.

Otra propiedad de la HDL que contribuye a la ateroprotección es su habilidad para estimular la migración celular endotelial dependiente del receptor tipo *scavenger* B1 (SR-B1) (Tsoimpanidi et al, 2010) . El SR-B1 es una proteína de membrana que se une a HDL/apoA-1 con gran afinidad y estimula el flujo bidireccional del colesterol entre células y partículas de HDL extracelulares, además tiene la capacidad de mediar la captación celular de HDL asociado a ésteres de colesterol en el hígado, facilitando así un paso del transporte reverso del colesterol (El Bouhassani et al, 2011). Se ha establecido que la HDL juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y triglicéridos, ya que los niveles de éstos pueden estar

relacionados con bajos niveles de HDL en enfermedades como la de Tangier (Tsompanidi et al, 2010).

Una de las funciones principales de la HDL es la eliminación del colesterol excesivo de los tejidos periféricos y su transporte hacia el hígado para su catabolismo (Tsompanidi et al, 2010). La eliminación es mediante el transporte reverso de colesterol (TRC), originalmente propuesto por Glomset (Glomset, 1968), éste es un proceso fisiológico por el cual el colesterol en los tejidos periféricos es transportado por la HDL hacia el hígado para su excreción en la bilis y heces (Gómez-Coronado, 2010; Rader et al, 2009). La mayoría de los tejidos y células periféricas, excepto aquellas en los órganos esteroideogénicos, no pueden catabolizar colesterol y sólo pueden disponer de él por su eflujo a aceptores extracelulares como las HDL.

Se cree que el TRC es el principal mecanismo para proteger contra enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas (Rader et al, 2009). Esto es debido a que además de ser esencial para la homeostasis del colesterol, se considera clave para impedir la acumulación de este lípido en los macrófagos de la íntima arterial, que les confiere un fenotipo espumoso, y por tanto, es uno de los mecanismos en los que radican las propiedades antiaterogénicas de las HDL. El paso inicial en el TRC consiste en la adquisición del colesterol celular excedente por las HDL o bien por la apoA-1 (libre de lípidos o integrada en pequeñas partículas) en el líquido intersticial o la íntima arterial (Fig. 1). Los mecanismos implicados son diversos, puede producirse una difusión acuosa, una salida facilitada por el receptor CLA-1/SR-B1, una salida activa mediada por los transportadores ABCA1 o ABCG1 y, en el caso de macrófagos y adipocitos, una salida de colesterol asociado a la apo-E que estas células sintetizan (Gómez-Coronado, 2010).

El progreso en el tratamiento de la aterosclerosis depende del mejoramiento del TRC, por lo que se han desarrollado métodos para estimularlo (Tchoua et al, 2008). Uno de éstos es la inhibición de la proteína de transferencia de colesterol esterificado (CETP), la cual media la transferencia de colesterol de HDL aterogénico a lipoproteínas ricas en triglicéridos que contienen Apo-B. Su

inhibición eleva significativa y consistentemente los niveles de colesterol HDL en estudios hechos en modelos animales y humanos, asociándose con la reducción del riesgo de aterosclerosis (de Grooth et al, 2004). La CETP es también requerida para la efectiva interacción de la HDL con el SR-B1 y la toma selectiva de los ésteres de colesterol por el hígado, por lo que los cambios en la composición de la HDL inducidos por la inhibición de la CETP podrían impactar sobre la funcionalidad de ésta (Tchoua et al, 2008). De igual manera, sería necesario analizar la actividad enzimática de la CETP y evaluar cómo influye sobre los niveles de HDL-C.

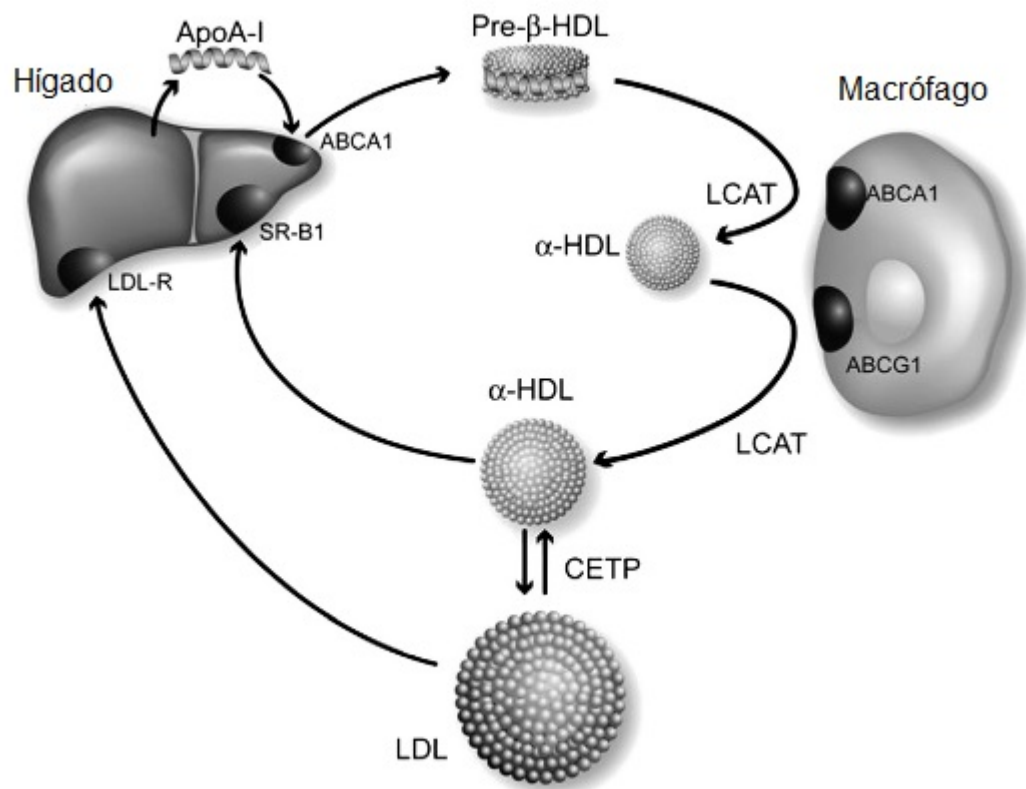


Fig.1 Diagrama de la ruta del TRC. Modificado de Osei-Hwedieh et al (2011).

Proteína Transportadora De Casete Unida a ATP A1 (ABCA1)

La ABCA1 es una proteína integral de membrana compuesta por 2261 aminoácidos, miembro de la superfamilia de transportadores ABC. Es una proteína ubicua expresada abundantemente en células hepáticas, macrófagos, células endoteliales capilares cerebrales, células epiteliales de la vesícula biliar, y en células intestinales (Oram, 2003; Zannis et al, 2006). Presenta un extremo amino-terminal hacia el citosol, y dos grandes lazos extracelulares.

La ABCA1, utilizando ATP como fuente de energía, promueve principalmente el eflujo celular de fosfolípidos, así como de colesterol a la apoA-1 libre o con pocos lípidos, además de otras apoproteínas y moléculas. El eflujo se realiza mediante un canal de membrana que promueve la salida de los lípidos desde el interior hasta el exterior de la membrana, evitando así la acumulación de colesterol citosólico (Oram, 2003; Zannis et al, 2006). La transferencia de los lípidos es mediante vesículas endocíticas, que son asociadas con la proteína Niemann-Pick C1 a apoA-1 que entra en el compartimiento endosomal con ABCA1; el complejo lipidado apoA-1/ABCA1 regresa a la superficie celular, y el complejo disocia y libera HDL nacientes (Zannis et al, 2006).

Mutaciones puntuales en los lazos extracelulares comprometen tanto el transporte de lípidos como las uniones entre apoA-1 y ABCA1 (Fitzgerald et al, 2002). Esto sugiere que las interacciones de apoA-1 con los residuos clave de aminoácidos en estos lazos de la proteína son importantes para el eflujo de lípidos (Oram, 2003). Debido a que el eflujo del colesterol es el primer paso en el TRC, por el cual se regula el catabolismo del colesterol de células periféricas de vuelta al hígado, se ha considerado a la ABCA1 como un paso limitante en la velocidad de producción de HDL (Jiang et al, 2011).

El motivo intracelular 2215VFVNFa2220 de ABCA1 es esencial para la unión del aceptor de colesterol apoA-1 y para el eflujo del colesterol (Fitzgerald et al, 2004). La estabilidad de la ABCA1 es controlada por fosforilación y por la unión de la apoA-1, incrementando así su contenido membranal y potenciando el eflujo de lípidos. Una de sus formas de degradación es promovida por la ruta de la

ubiquitina que es activada por el exceso de colesterol libre y por ácidos grasos insaturados (Zannis et al, 2006), sin embargo esta forma de degradación proteolítica es inhibida cuando la ABCA1 se encuentra unida a la apoA-1 (Oram, 2003).

El gen *ABCA1* es el encargado de codificar a la proteína ABCA1, éste se localiza en el cromosoma 9q31, abarcando 150 kb aproximadamente y contiene 50 exones. El promotor de ABCA1 está compuesto por 1153 pb, la secuencia de la región codificante e intrónica comprende 146 581 pb, y la región de flanqueo 3' 1 kb (Santamarina-Fojo et al, 2000). Su transcripción está sumamente regulada, y diversos metabolitos modulan su expresión, tales como cAMP, esteroides, el ácido *cis*-retinoico, agonistas del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR) e interferon γ (IFN- γ) (Santamarina-Fojo et al, 2001).

La inducción que ocurre para la transcripción de *ABCA1* promovida por células cargadas de colesterol es exclusivamente a través de la activación del receptor nuclear X del hígado (LXR), con una o ambas isoformas (LXR α /LXR β) y con el receptor X retinoide (RXR). Ambos receptores forman un heterodímero que se une a los elementos de respuesta del gen, encontrados dentro del promotor y el primer intrón; LXR y RXR al unirse son activados por oxisteroides y ácido retinoico, respectivamente, logrando así la activación de la transcripción (Oram, 2003). El elemento de respuesta identificado para LXR es el elemento DR-4, en donde se une el heterodímero LXR/RXR con sus ligandos respectivos, como pueden ser los oxisteroides 20(S)-OH y 22(R)-hidroxicolesterol para LXR, y el ácido retinoico 9-*cis* para RXR (Schwartz et al, 2000). Otros genes que son sobre-regulados por el colesterol a través de LXR son el que codifica para la enzima 7 α -hidroxilasa, relacionada con el control de la síntesis de ácidos biliares; y el *CETP*, el cual codifica para la proteína que transporta los ésteres de colesterol de HDL hacia las lipoproteínas ricas en triglicéridos.

Agonistas sintéticos LXR regulan la transcripción de *ABCA1* en macrófagos y promueven el incremento del eflujo del colesterol a apoA-1 y HDL madura *ex vivo* y del TRC en macrófagos *in vivo*. Así mismo, se ha demostrado que estos LXR inhiben la progresión de la aterosclerosis e incluso han promovido la

regresión de ésta en ratones a pesar de tener poco efecto sobre los niveles plasmáticos de HDL-C (Zannis et al, 2006).

El gen *ABCA1* presenta diversas variantes genéticas, tanto mutaciones como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), las cuales han sido reportados en regiones promotoras y codificantes del gen (Jiang et al, 2011).

Variaciones Genéticas

Las variaciones o los cambios en la secuencia de ADN consisten en mutaciones, las cuales pueden permitir que la proteína codificada presente diversas formas, resultando en el cambio de un determinado fenotipo del organismo. Todos los organismos presentan mutaciones como resultado de actividades celulares normales o de interacciones con el medio ambiente (Lewin, 2008b). Muchas de las mutaciones que afectan la función del gen son recesivas, esto quiere decir que representan una ausencia de función, debido a que el gen mutante impide la producción de la proteína funcional (Lewin, 2008c). Por otra parte, una mutación que elimina completamente la función del gen es llamada mutación nula.

Desde el punto de vista Mendeliano el genoma es clasificado en alelos, ya sea silvestre o mutante, teniendo cada uno un efecto diferente sobre el fenotipo (Lewin, 2008a). Cuando un heterocigoto presenta un alelo silvestre y un alelo mutante, si la presencia del alelo silvestre es capaz de producir una proteína funcional, el alelo silvestre es dominante (Lewin, 2008c).

Las mutaciones pueden ser de tipo puntual, lo que significa que cambia una sola base nucleotídica. Comparando la secuencia de ADN de un alelo silvestre con el de un alelo mutante, se puede determinar la naturaleza de una mutación y su sitio exacto de aparición. La coexistencia de múltiples alelos en un *locus* es llamado polimorfismo genético. Un alelo es definido como polimórfico si se presenta en una frecuencia >1% en la población. En un mismo *locus* pueden existir diferentes variantes, algunas de ellas son evidentes debido a que afectan el

fenotipo, sin embargo otras no presentan un efecto visible. Existen muchos cambios continuos en un *locus*: los que cambian la secuencia de ADN pero no la secuencia proteica, aquellos que cambian la secuencia proteica sin cambiar la función de la proteína, aquellos que crean proteínas con diferentes actividades, y por los que se crean proteínas mutantes que carecen de funcionalidad (Lewin, 2008a).

Cuando los alelos son comparados y existe un cambio de un solo nucleótido, se conoce como polimorfismo de un sólo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés). Es decir, un cambio de una base en la secuencia de ADN teniendo como alternativa dos posibles nucleótidos en un mismo *locus* (Vignal et al, 2002). Un SNP ocurre aproximadamente cada 1330 bases el genoma humano (Lewin, 2008a). Los SNPs son más frecuentes en las regiones no codificantes del ADN, que en las codificantes. Sin embargo, existen SNPs en regiones codificantes (cSNPs) que pueden afectar las funciones de los genes, su expresión o la estructura de la proteína (Popa et al, 2009). Se han encontrado alrededor de cuatro cSNPs por cada gen, lo que indica la existencia de aproximadamente 120000 cSNPs en el genoma humano, de los cuales el 40% representan un cambio de aminoácido (Kruglyak y Nickerson, 2001). A los SNPs que modifican el aminoácido se les llama SNPs no-sinónimos, los cuales potencian las consecuencias fenotípicas de los polimorfismos (Kruglyak y Nickerson, 2001).

Debido a que los SNPs se consideran marcadores moleculares, se emplean frecuentemente para pruebas de genotipificación y discriminaciones alélicas. Existen diversas técnicas para llevar a cabo la genotipificación basadas en diferentes métodos, como el uso de enzimas de restricción, ligación, extensión de *primer*, conformación de la cadena de ADN, el uso de exonucleasas o endonucleasas, e hibridación (Vignal et al, 2002).

Una de las técnicas más empleadas es el uso de exonucleasas 5' – 3', en donde dos sondas específicas para un *locus* determinado son marcadas con diferentes fluorocromos notificadoros, el primero para el alelo silvestre, y el segundo para el alelo mutante. La reacción se lleva a cabo por PCR en tiempo real (qPCR), cuantificando la fluorescencia del fluorocromo notificador por

transferencia de energía de resonancia de Förster (FRET, por sus siglas en inglés). Si el ensayo cuantifica la fluorescencia del primer fluorocromo, el resultado es un homocigoto silvestre; por otra parte, si se cuantifica la fluorescencia del segundo fluorocromo, el resultado es un homocigoto mutante. Sin embargo, si el ensayo detecta ambas fluorescencias (fluorocromo 1 y fluorocromo 2) el resultado es un heterocigoto (Fig. 2).

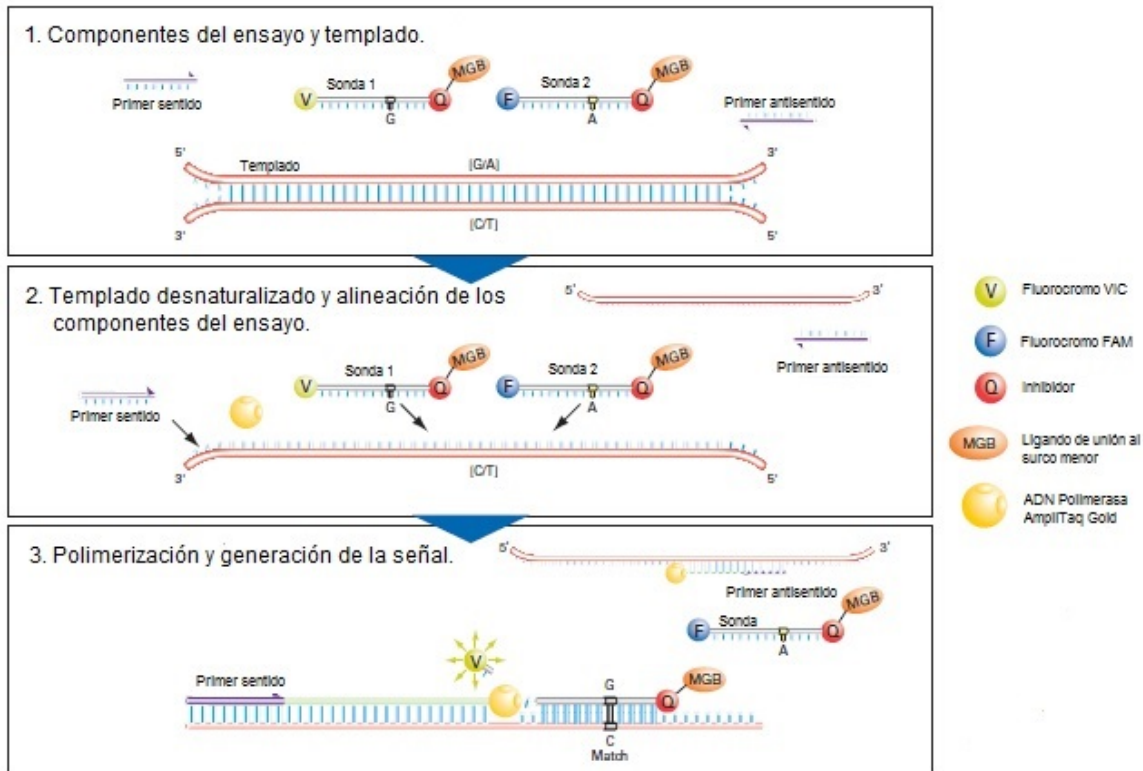


Fig. 2 Ilustración del ensayo de exonucleasas 5' – 3' por qPCR. Adaptado de Applied-Byosistemas (2006).

Variantes genéticas de *ABCA1* asociadas a niveles bajos de HDL-C

Alrededor del 50% en las variaciones de los niveles de HDL-C se deben a factores genéticos (Holleboom et al, 2008), y uno de los genes involucrados en el metabolismo del colesterol HDL es el *ABCA1*. Éste presenta más de 70 variantes codificantes, incluidas mutaciones sin sentido, deleciones, inserciones y

polimorfismos de un solo nucleótido (Brunham et al, 2005). Debido a que la ABCA1 es crucial en los primeros pasos para la formación de HDL y en el TRC, mutaciones de tipo homocigoto y heterocigoto en *ABCA1* causan deficiencias de HDL, y polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en *ABCA1* también influyen sobre los niveles plasmáticos de HDL-C en la población en general (Fasano et al, 2012; Frikke-Schmidt et al, 2004).

Variaciones genéticas en población caucásica

Individuos con mutaciones heterocigotas en *ABCA1* han presentado una disminución en los niveles de HDL-C y un aumento en los niveles de triglicéridos. La enfermedad de Tangier es un desorden recesivo raro caracterizado por casi la completa ausencia de HDL en plasma, acumulación de ésteres de colesterol en tejidos ricos de macrófagos, y el incremento de riesgo de aterosclerosis (Fasano et al, 2012; Frikke-Schmidt et al, 2004). En población Holandesa, se han identificado mutaciones en el gen *ABCA1* responsables de defectos a nivel molecular en esta enfermedad y en la deficiencia familiar de HDL, asociada con una reducción del eflujo del colesterol (FHA) (Clee et al, 2001). Los portadores de mutaciones del tipo heterocigotas exhiben un fenotipo intermedio de niveles de HDL-C, y aproximadamente un 50% en la reducción del eflujo del colesterol celular mediado por la ABCA1 (Fasano et al, 2012). Así mismo, se ha reportado que el genotipo A1051A de *ABCA1* está asociado con altas concentraciones de partículas de HDL pequeñas y con bajas concentraciones (21.4%) de partículas medianas de HDL en comparación al genotipo G1051G (Tsai et al, 2009).

En pacientes caucásicos con enfermedad de Tangier o deficiencia familiar de HDL, se han identificado más de 150 mutaciones, incluso algunas intrónicas que afectan el *splicing* del mRNA (Fasano et al, 2012). Se observaron siete mutaciones en el gen *ABCA1* (cinco en la secuencia codificante y 2 en intrones), demostrándose que las mutaciones intrónicas c.1195-27G>A y c.4465-34A>G (localizadas en el intrón 10 y 31, respectivamente) tienen efecto sobre el *splicing* del mRNA. Se comprobó en un sistema celular heterólogo que ambas mutaciones,

a pesar de su localización fuera del sitio de *splicing* canónico, afectan el *splicing* del mRNA por la inducción de la activación de aceptores intrónicos en sitios donde se lleva a cabo el *splicing*. Lo anterior produjo una retención parcial de los intrones en el mRNA maduro, por lo que los productos previstos de la traducción de estos mRNA anormales son proteínas truncadas, carentes de funcionalidad.

En el estudio realizado por Frikke-Schmidt y colaboradores (2004) en población danesa, se analizaron 6 SNPs no sinónimos (R219K, V771M, V825I, I883M, E1172D, R1587K) encontrándose frecuencias alélicas desde 0.03 (V771M y E1172D) a 0.26 (R219K). Los SNPs con mayor frecuencia en un grupo con individuos con altos niveles de HDL-C fueron V771M y V825I, relacionados con el aumento de niveles plasmáticos de HDL-C, en 1.54 y 1.93 mg/dL, respectivamente (Frikke-Schmidt et al, 2008; Frikke-Schmidt et al, 2004). Además, se reportaron cuatro mutaciones (T774P, K776N, N1800H, R2144X), de las cuales K776N se encontró sólo en individuos con bajos niveles de HDL-C. Las mutaciones N1800H y R2144X estuvieron presentes en 4 de 9 individuos con niveles bajos de HDL-C, los cuales habían sido previamente reportados con enfermedad de Tangier y con hipoalfalipoproteinemia familiar, respectivamente.

Portadores del SNP R1587K presentan niveles disminuidos de HDL-C en comparación con individuos que no lo presentan (Clee et al, 2001; Frikke-Schmidt et al, 2004). Por lo que R1587K es representativo en individuos con niveles bajos de HDL-C, asociado a una disminución de 2.70 mg/dL y 4.25 mg/dL en heterocigotos y homocigotos, respectivamente (Frikke-Schmidt et al, 2008). De manera similar, se reportó que en población francesa existe una asociación de R1587K con respecto a las bajos niveles de HDL-C, con disminuciones en la concentración (mg/dL) dependiendo del genotipo, RR = 51.43, RK = 51.43 y KK = 49.88 (Porchay-Balderelli et al, 2009). Sin embargo, en qué medida las variaciones comunes del gen *ABCA1* influyen en estos fenotipos en la población en general es incierto.

Todos los polimorfismos tienen una ubicación específica en la estructura de la proteína *ABCA1*. R219K y R1587K están localizados en los dos lazos extracelulares mayores de la proteína, siendo importantes para la interacción con

apoA-1 y para el eflujo del colesterol. Por otro lado, V771M, V825I, I883M y E1172D están localizados en la parte media de la proteína correspondiente a las α -hélices transmembranales quinta y sexta, el séptimo segmento hidrofóbico (H7) y el primer segmento regulatorio (R1), respectivamente (Fig. 3).

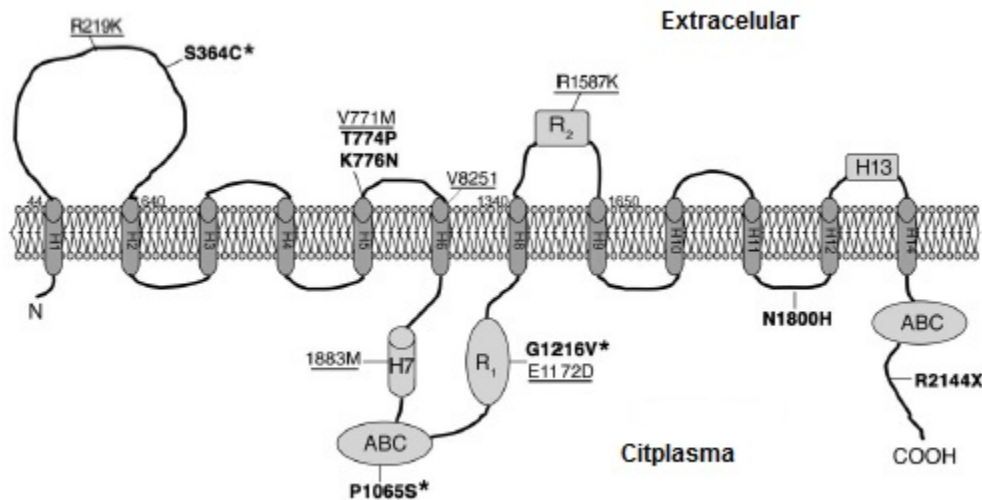


Fig. 3 Modelo topológico de ABCA1 modificado de Frikke-Schmidt et al (2004). Los SNPs están subrayados, y las mutaciones se muestran remarcadas.

Las mutaciones en *ABCA1* encontradas, ya sea en estado heterocigoto u homocigoto mutante, pueden ser causas relativamente comunes de hipoalfalipoproteinemia o niveles bajos de HDL-C en la población en general. Se ha señalado que al menos el 10% de individuos con niveles bajos de HDL-C en la población en general presentan mutaciones del tipo heterocigóticas en *ABCA1*, contribuyendo así a las variaciones en los niveles de HDL-C y apoA-1 (Frikke-Schmidt et al, 2004). Así mismo, se reporta que el SNP R1587K presenta una asociación con la disminución de HDL-C y apoA-1 consistente a través del tiempo.

Cabe destacar que el SNP R1587K es uno de los polimorfismos más frecuentemente reportado por la literatura, respecto a su asociación con las disminuciones de HDL-C en población caucásica. Éste representa un cambio del aminoácido arginina por una lisina en la cadena proteínica de la ABCA1 en la posición 1587.

La variante R230C en México

La más frecuente anomalía lipídica entre los hispanos es la hipoalfalipoproteinemia (Aguilar-Salinas et al, 2001), la cual puede estar determinada genéticamente, y sus variaciones son dependientes de la población. En poblaciones amerindias, existe la variante R230C en el gen *ABCA1*, la cual produce un cambio de aminoácido (arginina por cisteína) en la posición 230 de la proteína ABCA1. En mestizos mexicanos, se ha reportado que el alelo C230 tiene una frecuencia de 0.109 y en mexicanos nativos se presenta como sigue: en mayas 0.28, purépechas 0.21, yaquis 0.20 y huastecos 0.17. Sin embargo, dicho alelo no ha sido encontrado en poblaciones africanas, europeas, chinas, sur de Asia o inuit. Es sabido que en la población Pima se presentan niveles muy bajos de HDL-C en comparación con la población caucásica, existiendo una fuerte asociación de este padecimiento con los genotipos R230C/C230C (Acuña-Alonzo et al, 2010; Aguilar-Salinas et al, 2011).

Esta variable se ha asociado fuertemente a hipoalfalipoproteinemia, siendo los genotipos R230C/C230C los mayormente frecuentes en grupos con niveles bajos de HDL-C en comparación con grupos con niveles altos de HDL-C (45% vs 2.9%) (Villarreal-Molina et al, 2007). Cabe señalar que esta variante se ha preservado en estas poblaciones debido a que en el pasado presentaba cierta ventaja (Aguilar-Salinas et al, 2011), pues el alelo C230 muestra una disminución en el eflujo del colesterol y su presencia podría favorecer el almacenamiento del colesterol intracelular y energía, específicamente en tiempos de escasez de comida (Acuña-Alonzo et al, 2010). Esta disminución en el eflujo del colesterol puede ser explicada debido a que la variante R230C disminuye la actividad del transportador *ABAC1 in vitro* hasta un 30%. Individuos con los genotipos R230C/C230C presentan significativamente niveles bajos de HDL-C y apoA-1 (44.4±11.1 y 131.9±24.4 mg/dL, respectivamente) comparados con aquellos que portan el genotipo R230R (48.7±13.8 y 141.1±23.8 mg/dL, $p = 0.024$ y 0.001 , respectivamente) (Villarreal-Molina et al, 2007) .

El tamaño de las partículas de la HDL puede ser afectado por el tipo de genotipos que presentan los individuos. En el estudio de Aguilar-Salinas y

colaboradores (2011) se mostró que las HDL eran más pequeñas en los portadores del alelo C230 en comparación con aquellos que presentan el genotipo homocigoto R230R. Conjuntamente la proporción de partículas grandes de HDL es más pequeña y la proporción de partículas pequeñas de HDL aumenta en R230C/C230C comparado con los individuos que portan R230R. El efecto atribuible a la variante para la presencia de hipoalfalipoproteinemia en la población fue del 12.2%, lo cual es notable si se compara con otras cifras registradas para diversas variantes comunes de *ABCA1*. Además, es interesante que los resultados fueron mayores en hombres (disminución de 7.50 ± 2.2 mg/dl), aunque la razón de las diferencias específicas entre género aún no es clara (Aguilar-Salinas et al, 2011).

Niveles de HDL-C En La Población Sonorense

Valenzuela (2010) realizó un estudio en niños sonorenses en edad escolar, y observó que el 25% de ellos tienen valores de HDL-C que los sitúan entre el percentil 25 y 50, y un 30% tiene niveles muy por debajo del percentil 10. De igual forma, determinó que prevalecen concentraciones elevadas de triglicéridos en el 65% de los niños, y en 18.8% se presentaron concentraciones altas de LDL-C. En otra investigación, Amaya (2011) identificó, que el 57.6% de las niñas y el 60% de los niños sonorenses analizados, presentan niveles muy bajos de HDL-C (percentil ≤ 10), lo cual se considera como hipoalfalipoproteinemia, y sólo 1% y 2% de las niñas y niños, respectivamente, estuvieron en el percentil 90. Los datos obtenidos se compararon con los resultados de Aguilar-Salinas y colaboradores (2001) para la población mexicana, encontrándose que la prevalencia de hipoalfaproteinemia fue mayor.

En el estudio de Amaya (2011) se evaluaron las subfracciones de HDL (HDL₂ y HDL₃), en donde la fracción HDL₃ representa el 60% de la HDL-C total, considerándose así la fracción predominante en la población. Así mismo, se

observó que a medida que la concentración total de HDL-C total disminuye lo hace a su vez la subfracción HDL₂, mientras que HDL₃ aumenta. Esta relación entre HDL₂ y HDL₃ se propuso como riesgo cardiovascular, ya que el riesgo aumenta con descensos en el cociente HDL₂/HDL₃, obteniéndose 0.60.

En un estudio realizado en CIAD, A.C. por Ramírez (2012) se determinó la presencia del síndrome metabólico en niños escolares sonorenses. En éste se encontró que el 32.1% de éstos y el 19% tienen hipertrigliceridemia y niveles de HDL-C bajos, respectivamente. Además, se comprobó que a pesar que algunos niños tienen composición corporal normal presentan tres factores metabólicos alterados como glucosa alterada, hipertensión, triglicéridos elevados o HDL-C disminuido, lo que posiblemente se deba a factores genéticos que sitúan en riesgo a dichos niños. Se han analizado los niveles de HDL-C en adultos en Sonora, dividiendo en dos grupos de edades, 20-24 años y 35-39 años, de los cuales más del 70% mostró bajas concentraciones (43.03 mg/dL) (Valenzuela, 2010). Posteriormente, Guillot (2012) evaluó en mujeres adultas el contenido de ácidos grasos trans en tejido adiposo subcutáneo y visceral, y determinó que el 28% presentan colesterol total y LDL-C por encima de las concentraciones normales, 16% con hipertrigliceridemia y el 50% tiene valores de HDL-C bajos.

De acuerdo a los resultados obtenidos de los diversos estudios mencionados anteriormente se puede concluir que dichos valores pueden deberse principalmente al estilo de vida y alimentación, sin embargo no debe descartarse la posibilidad de que los genotipos presentes en los individuos pueden estar asociados.

HIPÓTESIS

Existe una relación entre los niveles bajos de colesterol HDL prevalentes en la población sonorense y la presencia de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) R230C y R1587K en el gen *ABCA1* en dicha población.

OBJETIVOS

General

Identificar si existe una asociación entre los niveles bajos de colesterol HDL prevalentes en la población sonorense y los polimorfismos de un solo nucleótido R230C y R1587K.

Particulares

1. Determinar biomarcadores clínicos de enfermedad cardiovascular a través de las concentraciones de lípidos en plasma: colesterol HDL, colesterol total, colesterol LDL, y triglicéridos.
2. Genotipificar los polimorfismos de un solo nucleótido R230C y R1587K a partir de muestras de sangre en población sonorense.
3. Determinar la relación entre los polimorfismos de un solo nucleótido R230C y R1587K y los niveles bajos de colesterol HDL.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de Estudio

En la realización del estudio participaron 76 adultos (38 mujeres y 38 hombres), residentes de la comunidad del Ejido La Victoria y de diversas colonias de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México. Para su selección se consideró que no tuvieran parentesco consanguíneo y que pertenecieran por lo menos a la tercera generación filial (F₃) sonoreense. Sólo participaron aquellas personas que cumplieron con los criterios de inclusión y firmaron el consentimiento informado del proyecto.

Diseño Del Estudio y Participantes

El diseño del estudio fue de corte transversal, sobre una población adulta, de ambos sexos, residente de la Cd. de Hermosillo, Sonora, México. El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.) (Oficio no. CE/013/2014). Se formaron dos grupos de estudio, el primero conformado por 22 adultos con concentraciones bajas de HDL-C (≤ 40 mg/dL), y el segundo grupo conformado por 6 adultos con concentraciones altas de HDL - C (≥ 60 mg/dL).

Tamaño de muestra

Para calcular el tamaño de muestra se consultaron las proporciones reportadas en la literatura de los polimorfismos R230C (rs9282541) y R1587K (rs2230808) del gen *ABCA1* respecto a las concentraciones bajas y elevadas de HDL-C. Se empleó la fórmula de comparación de dos proporciones (Ecuación 1), tomando en cuenta un poder de 80% y un nivel de alfa de 0.05. Para el SNP R1587K se consideraron las proporciones reportadas por Frikke-Schmidt et al (2004) para población europea, en donde la proporción del polimorfismo para HDL-C bajo fue de 23% (P_1) y para HDL-C alto fue 16% (P_2); calculando un tamaño de muestra de 216. Para el caso del SNP R230C, se tomaron las proporciones reportadas por Villarreal-Molina et al (2007) observados en población mexicana, en donde la proporción de la variante en relación con las concentraciones de HDL-C bajo fue de 37.5% (P_1), y para HDL-C alto de 2.9% (P_2); calculando un tamaño de muestra de 18.

$$n = \frac{\left[Z_{1-\alpha/2} * \sqrt{2P(1-P)} + z_{1-\beta} * \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)} \right]^2}{(P_1 - P_2)^2} \quad (1)$$

Ecuación 1, dónde:

$P =$ Promedio de P_1 y P_2

$P_1 =$ Proporción de los niveles de HDL-C bajo en presencia del SNP

$P_2 =$ Proporción de los niveles de HDL-C alto en presencia del SNP.

Criterios de Inclusión

Se estableció que fueran personas adultas entre 20 y 60 años de edad, sin parentesco consanguíneo, y pertenecientes a la tercera generación filial (F₃) sonoreense, de acuerdo al Principio de Segregación (Primera Ley de Mendel) (Pierce, 2006).

Criterios de Exclusión

Se establecieron como criterios de exclusión el haber sido diagnosticado previamente con diabetes, y con enfermedades que pudieran alterar los resultados de algunas pruebas, como hipotiroidismo o hipertiroidismo y esteatosis hepática, o encontrarse en embarazo o lactancia. También, se excluyeron las personas que estuvieran tomando algún medicamento que alterara el metabolismo de los lípidos, quienes no tuvieran o completaran todas sus evaluaciones, o decidieran salir del estudio.

Captación y Selección De Los Sujetos De Estudio

El reclutamiento de los sujetos de estudio se realizó de manera intencional no probabilística, en residentes de diversas colonias de la ciudad de Hermosillo, Sonora, así como en una zona suburbana de la ciudad (Ejido La Victoria). La captación de los participantes fue en su fuente de trabajo o directamente en su domicilio.

A las personas que mostraron interés por participar, se les explicaron los objetivos del estudio y los procedimientos que se llevarían a cabo. Se aplicó un

breve cuestionario clínico, cuyo objetivo fue determinar si los sujetos cumplían con los criterios de inclusión preestablecidos.

El cuestionario clínico consistió en registrar información básica del individuo, además del número de generación filial al que pertenecían, tomando en cuenta sólo a aquellos que pertenecieran a un linaje de al menos tres generaciones sonorenses. Se tomó en consideración si el sujeto estaba bajo tratamiento farmacológico, si padecía patologías como diabetes, hipotiroidismo, esteatosis hepática, o se encontraba en embarazo o lactancia. Las personas que cumplieron con los criterios de inclusión, y que así lo decidieron, firmaron una hoja de consentimiento informado, en el cual dieron su aprobación para la participación en el estudio.

Estudios Realizados

Mediciones antropométricas

Se midió el peso corporal con una balanza electrónica digital con capacidad de 0 a 150 ± 0.05 kg (AND FG-150 KMB, Corea). Se colocó al sujeto sobre la balanza, descalzo y con la mínima ropa posible (Jelliffe et al, 1989). La talla se midió con un estadiómetro portátil (Seca 242 1814009, Alemania) con un rango de medición de 0 a 211 ± 0.1 cm. El sujeto descalzo se colocó de pie, con los talones unidos tocando la superficie vertical del estadiómetro. Todos aquellos accesorios que pudieran interferir con el contacto con la superficie vertical del estadiómetro y que influyen en la medición, se pidió al participante que los retiraran. Los brazos debieron caer a los lados del cuerpo, el sujeto permaneció inmóvil, se le pidió que realizara una inspiración profunda y al término de la exhalación se tomó la lectura y un observador registró el dato de la talla (Jelliffe et al, 1989).

Una vez obtenidos los datos de peso y talla se calculó el índice de masa corporal (IMC): $IMC = \text{kg/m}^2$, clasificando el estado nutricional de los pacientes. Se

utilizaron los puntos de corte establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2000).

Evaluación clínica y estilo de vida

Presión arterial

Se midió la presión arterial (mmHg) con la ayuda de un esfigmomanómetro de columna de mercurio con escala grabada de 00 mmHg a 300 mmHg (Esfigmomanómetro mercurial de escritorio, HERGOM, China). Se emplearon los lineamientos que marca el Programa Nacional de Educación sobre la Presión Arterial Alta en población adulta (NNHLBI, 2003).

Evaluación dietaria

Se llevó a cabo una evaluación dietaria de cada individuo utilizando el método de recordatorio de 24 horas, con dos cuestionarios no consecutivos (uno entre semana y otro en fin de semana). Se utilizaron modelos de plástico y cartón, así como utensilios de cocina para identificar peso y volumen de los alimentos consumidos (Linusson et al, 1974), y se le pidió al sujeto que señalara el tipo y cantidad de alimentos consumidos durante las 24 horas previas a la entrevista. El tiempo de aplicación de ambos cuestionarios fue de entre 1 – 2 semanas. Posteriormente los datos obtenidos se codificaron y analizaron individualmente en el programa computacional ESHA Food Processor II versión 10.3, 2008. Este programa contiene tablas de composición de alimentos de Estados Unidos de América, así como de alimentos regionales analizados en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD) (Grijalva Haro et al, 1995; Martinez, 2010).

Evaluación de la actividad física

Se llevó a cabo una evaluación de actividad física, empleando el método de registro de tres días (Haggarty et al, 1997) que consistió en registrar cada quince minutos la actividad física realizada hasta cubrir 24 horas, incluyendo las horas en que el sujeto duerme. A las actividades registradas se les asignó un valor en términos de múltiplos de metabolismo basal. Para estimar el metabolismo basal se emplearon las ecuaciones de la FAO/WHO/ONU (2001) de acuerdo al sexo, edad y peso corporal de cada sujeto. Una vez obtenido el registro de la actividad física, ésta se clasificó dentro del rango de categorías de múltiplos del metabolismo basal (mMB) como actividad ligera (1.40 – 1.69), moderada (1.70 – 1.99) e intensa (2.0 – 2.40) según FAO/WHO/ONU (2001).

Toma de Muestra de Sangre

Se tomaron dos muestras de sangre (5 mL cada una) de la vena antecubital después de 12 a 14 horas de ayuno, permitiendo sólo el consumo de agua. Además, se les pidió a los participantes no fumar antes de la toma de muestra y no hacer ejercicio físico un día anterior. Las muestras se colectaron en tubos Vacutainer® con anticoagulante EDTA para lípidos; de ser necesario, se transportaron al laboratorio en ambiente fresco para su posterior análisis. El plasma y paquete globular se obtuvieron por centrifugación a 2400 rpm por 20 minutos a 4° C (CS-6R Centrífuga Beckman, Instruments Palo Alto, CA, USA). Una vez separadas ambas fases, se tomó la fase del plasma para ser preparada y posteriormente analizado el perfil lipídico; por otra parte, la fase que contenía el paquete globular se almacenó a -70° C en un ultracongelador (So-Low, Environmental Equipment, Cincinnati, Ohio, USA) hasta su posterior análisis.

Determinación Del Perfil Lipídico

El colesterol total y los triglicéridos se midieron por métodos enzimáticos colorimétricos, CHOD-PAP descrito por Allain et al (1974) y GPO-PAP respectivamente, mediante el uso de kits comerciales (Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemania). El HDL-C se determinó enzimáticamente por kits comerciales, midiendo el sobrenadante después de la precipitación de las lipoproteínas conteniendo Apo-B por la técnica de Warnick et al (1982). Para la medición del perfil lipídico se empleó un lector de microplacas Benchmark (BIO-RAD, CA, USA). Para cada uno de los análisis se empleó una curva estándar y sueros control certificados (SIGMA Diagnostics, St. Louis, Missouri), así como controles estándar (Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemania).

La LDL-C se calculó usando la ecuación descrita por Friedewald et al (1972):

$$LDL_C = C_{plasma} - HDL_C - TG/5 \quad (2)$$

donde LDL_C es colesterol LDL; C es colesterol; HDL_C es colesterol HDL y TG es triglicéridos.

La VLDL-C se calculó de la siguiente manera:

$$VLDL_C = TG/5 \quad (3)$$

donde $VLDL_C$ es el colesterol VLDL y TG es triglicéridos.

Para la clasificación del perfil lipídico obtenido se utilizó el punto de corte de la *National Cholesterol Education Program* (NCEP, ATP III) (NCEP, 2002).

Extracción de ADN genómico

A partir del paquete globular, obtenido por centrifugación de sangre total, se realizó la extracción del ADN genómico (ADNg) de acuerdo a la técnica de Fenol-Cloroformo y Proteinasa K (Sambrook y Russell, 2001). El ADNg de cada muestra se corrió por electroforesis en geles de agarosa al 1%, teñidos con SYBR Safe[®] DNA Gel Stain (Life Technologies, USA). Posteriormente se visualizó con luz UV en un fotodocumentador Gel Doc[™] EZ System (BIO-RAD, CA, USA) para corroborar su integridad. La concentración y pureza del ADNg fueron determinadas utilizando el espectrofotómetro NanoDrop[™] 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA), obteniendo las lecturas de cuantificación a una absorbancia de 260/280 y 260/230 nm. Las muestras de ADNg fueron almacenadas a -20° C hasta su posterior análisis.

Ensayos de genotipificación de los polimorfismos de un solo nucleótido R230C y R1587K

La genotipificación de los SNPs R230C (rs9282541) y R1587K (rs2230808) se llevó a cabo por ensayos de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) con sondas TaqMan[®]. Los ensayos de discriminación alélica de cada SNP se realizaron con el protocolo estándar para experimentos de genotipificación en el sistema de qPCR StepOne[™] (Applied Biosystems, Foster City CA, USA). Cada reacción de amplificación incluyó 5 µL de TaqMan Genotyping Mix 2X (Applied Biosystem, Foster City CA, USA), 0.25 µL de cada ensayo TaqMan SNP

Genotyping 20X y 20 ng totales de ADNg de cada muestra, en un volumen total de reacción de 25 μ L.

La presencia de dos sondas en cada reacción de amplificación permitió la genotipificación de las variantes en el sitio específico de la secuencia. Para el ensayo del SNP R230C, la sonda complementaria a “R” (alelo G) fue marcada con el fluoróforo FAM, y la sonda complementaria a “C” (alelo A) fue marcada con el fluoróforo VIC. Para el ensayo del SNP R1587K, la sonda complementaria a “R” (alelo C) fue marcada con el fluoróforo VIC, y la sonda complementaria a “K” (alelo T) fue marcada con el fluoróforo FAM. Para el análisis de los ensayos se empleó el programa computacional StepOne versión 2.3, 2012 (Life Technologies Corporation).

Análisis Estadístico

Se verificó la normalidad de los datos. Se realizó estadística descriptiva para presentar las características de la población de estudio. Los datos normales se expresan como media \pm desviación estándar, y los no normales como medianas e intercuartiles.

Se realizaron pruebas de t para dos muestras independientes, para comparar ambos grupos de estudio y por sexo. En el caso de las variables no normales se utilizó la prueba de U de Mann Whitney. Para determinar las frecuencias alélicas se utilizó la prueba de X^2 o exacta de Fisher. Adicionalmente, se empleó el análisis de ANOVA para comparar entre genotipos; en el caso de datos no paramétricos se utilizó Kruskal-Wallis.

Los datos fueron analizados en el paquete estadístico NCSS versión 2007 (Number Cruncher Statistical System for Windows, Kaysville, Utah). Se consideraron las significancias al ser la $p < 0.05$.

Para determinar en la medida en que los SNPs explican los bajos o elevados valores de HDL-C, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple, en

el que se consideró a la HDL-C como la variable dependiente. Dentro del modelo se incluyeron como variables independientes edad, sexo, IMC, actividad física, tabaquismo, colesterol en la dieta, fibra. Los datos fueron analizados en el paquete estadístico Stata[®] versión 12. Se consideraron las significancias al ser la $p < 0.1$.

RESULTADOS

En la presente investigación se llevaron a cabo estudios para evaluar indicadores antropométricos, metabólicos y físicos, así como análisis genéticos para identificar la existencia de diversas variantes genéticas en el gen *ABCA1*. Además, se evaluó si éstas se encuentran asociadas con las bajas concentraciones de HDL-C en población adulta sonoreNSE.

El tamaño de muestra calculado, con base en las proporciones de cada SNP respecto a las concentraciones bajas de HDL-C reportadas en la literatura, fue de 18 sujetos para el SNP R230C, y 216 sujetos para el SNP R1587K, seleccionando el cálculo obtenido de este último como tamaño final de la muestra. Sin embargo, no fue posible completarla debido a distintos factores, por lo que sólo se incluyeron 76 sujetos.

Se entrevistaron a 209 sujetos, de los cuales 96 cumplieron con los criterios de inclusión establecidos, y de ellos sólo 76 aceptaron participar en el estudio (38 mujeres y 38 hombres).

Características físicas y clínicas generales de los sujetos de estudio

Las características físicas y metabólicas de los sujetos de estudio se muestran en la Tabla 1. La edad promedio fue de 37.61 ± 10.57 años.

En cuanto al tamaño corporal, el IMC obtenido clasificó al 26.3% de la población analizada con problemas de obesidad ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) y al 43.4% con

sobrepeso (IMC = 25 – 29.9 kg/m²). No se observaron diferencias significativas al estratificar por sexo (p>0.05).

En presión arterial, la mayor parte de los sujetos de estudio resultó ser normotenso (120/80 mmHg). Sin embargo, se observó que un 5.3% se clasificó con hipertensión arterial sistólica (> 140 mmHg), y un 17.1% como hipertenso para la presión arterial diastólica (>90 mmHg). El análisis estadístico efectuado mostró que tanto la presión arterial sistólica como diastólica, presentaron diferencias significativas por género (p < 0.05), siendo más elevada en hombres.

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones plasmáticas de los lípidos analizados. Al estratificar por sexo, los triglicéridos, el VLDL-C y el HDL-C mostraron diferencias significativas (p < 0.05). Las concentraciones promedio de HDL-C, tanto en hombres (43.28 ± 8.94 mg/dL) como en mujeres (50.25 ± 8.31 mg/dL), se encontraron en el límite de lo considerado como normal (hombres > 40; mujeres > 50). Un análisis para determinar la presencia de dislipidemias (Tabla 2) mostró que las más frecuentes fueron los niveles elevados de colesterol total y LDL-C. Al comparar por sexo, sólo se observaron diferencias significativas en las concentraciones de triglicéridos y en LDL-C (p < 0.05), en donde los hombres presentan cifras más elevadas. Adicionalmente se determinó que ellos también tienen mayor consumo de alcohol y cigarrillos (Tabla 1).

Tabla 1. Características físicas y metabólicas de los sujetos de estudio.

Parámetro	Total n= 76	Mujeres n= 38	Hombres n= 38	p
Edad (años)	37.61 ±10.57 (20 – 60)	37.26 ± 9.93 (20 – 57)	37.97 ± 11.29 (21 – 60)	0.7
IMC (kg/m²)	27.94 ± 4.80 (19.38 – 25.82)	27.89 ± 4.84 (20.67 – 41.85)	27.99 ± 4.83 (19.38 – 45.2)	0.9
PAS (mmHg)	113.76± 14.56 (82.5 – 155)	106.69 ± 13.04 (82.5 – 130)	120.79 ± 12.55 (100.5 – 155)	<0.01
PAD (mmHg)	80.30 ± 12.08 (59.5 – 130)	75.13 ± 9.42 (59.5 – 100)	85.48 ± 12.34 (66 – 130)	<0.01
Colesterol total (mg/dL)	208.49 ± 40.49 (116.45 – 314.29)	200.19 ± 35.39 (116.45 – 282.54)	216.78 ± 43.93 (136.91 – 314.29)	0.07
Triglicéridos (mg/dL)	103.72* [80.55 - 142.32]	99.21 ± 34.99 (40.44 – 199.59)	142.24 ± 73.19 (53.5 – 359.36)	<0.01
VLDL-C (mg/dL)	20.66* [16.11 - 28.46]	19.84 ± 6.99 (8.09 – 39.92)	28.44 ± 14.63 (10.7 – 71.87)	<0.01
HDL-C (mg/dL)	46.80 ± 9.30 (24.63 – 74.91)	50.25 ± 8.31 (31.08 – 74.91)	43.28 ± 8.94 (24.63 – 64.99)	<0.01
LDL-C (mg/dL)	138.30 ± 38.01 (64.05 – 250.63)	130.09 ± 34.58 (64.05 – 208.17)	146.51 ± 39.93 (70.55 – 250.63)	0.05
AF (mMB)	1.66* [1.52 – 1.83]	1.69 ± 0.23 (1.28 – 2.43)	1.70 ± 0.26 (1.38 – 2.5)	0.8
Tabaquismo (Cigarros/día)	0.811 ± 1.96 (0 – 10)	0.471 ± 1.15 (0 – 5)	1.15 ± 2.49 (0 – 10)	0.1
Alcohol (mL/día)	68.83* [0 – 304.28]	0* [0 – 112.36]	177.49* [0 – 532.49]	<0.01

Media ± desviación estándar (valor mínimo-valor máximo). * Mediana (intervalo intercuartil [25-75]).

¹Diferencia entre grupos probada por T-Student para datos normales ($p < 0.05$). *Abreviaturas:* IMC, índice de masa corporal; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; VLDL-C, colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad; HDL-C, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; LDL-C, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; AF, actividad física.

Tabla 2. Alteraciones en algunos indicadores metabólicos y clínicos de riesgo cardiovascular

Parámetro	Riesgo CV	Total n (%)	Mujeres n (%)	Hombres n (%)	P
Colesterol total (mg/dL)	≥ 200	43 (56.57)	18 (47.7)	25 (68.78)	0.06
Triglicéridos (mg/dL)	≥ 150	17 (22.36)	3 (7.89)	14 (36.84)	<0.01
LDL-C (mg/dL)	≥ 130	41 (53.94)	16 (42.1)	25 (65.78)	0.03
HDL-C (mg/dL)	<50, <40	36 (47.36)	19 (50.0)	17 (44.78)	0.6
PAS (mmHg)	≥ 140	4 (5.26)	0	4 (10.52)	0.04
PAD (mmHg)	≥ 90	13 (17.10)	3 (7.8)	10 (26.31)	0.02

Diferencias entre proporciones para dos muestras. Abreviaturas: LDL-C, colesterol de lipoproteínas de baja densidad, HDL-C, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica. Puntos de corte de acuerdo a NCEP, ATP III.

Otro aspecto importante fue la actividad física, los resultados muestran que tanto hombres como mujeres tienen una actividad física que clasifica como ligera con un promedio de 1.65 mMB. No se observaron diferencias significativas entre sexo ($p > 0.05$).

De manera general, los hallazgos nos muestran que la población masculina tiene significativamente concentraciones más elevadas de triglicéridos, LDL-C, hipertensión arterial y más bajas concentraciones de HDL-C, con respecto al grupo de mujeres.

Al contrastar las concentraciones de HDL-C respecto a las de triglicéridos, se observó una relación inversa en los hombres, mas no en las mujeres (Tabla 3).

Tabla 3. Niveles plasmáticos de triglicéridos en relación a la concentración de HDL-C

Grupos por niveles de HDL-C (mg/dL)				
	Muy bajo < 35	Bajo <50, <40	Medio	Elevado > 60
Mujeres				
HDL-C	31.08 ± 0 ^a	44.74 ± 3.93 ^b	54.28 ± 3.34 ^c	50.25 ± 8.31 ^d
TG	82.44 ± 0 ^a	105.17 ± 40.97 ^a	99.73 ± 29.37 ^a	74.61 ± 21.10 ^a
Hombres				
HDL-C	30.70 ± 3.62 ^a	37.61 ± 1.51 ^b	48.63 ± 4.32 ^c	62.59 ± 3.38 ^d
TG	163.67 ± 83.08 ^a	156.29 ± 79.25 ^a	118.96 ± 58.91 ^a	118.96 ± 84.11 ^a

Media ± desviación estándar. *Mediana (intervalo intercuartil [25-75]). Relación inversa de las concentraciones de HDL-C con las concentraciones de triglicéridos. Abreviaturas: HDL-C, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos. Literales diferentes significan diferencias significativas entre sí ($p < 0.05$).

Evaluación Dietaria

Los resultados obtenidos de la evaluación dietaria se muestran en la Tabla 4. Los datos presentados corresponden a 74 sujetos de estudio, debido a que 2 de ellos decidieron interrumpir sus evaluaciones por falta de tiempo. En general, el consumo promedio diario de energía fue de 2333.39 ± 828.75 kcals. Al estratificar por sexo, los hombres reportaron una mayor ingesta que las mujeres ($p < 0.05$). Del total de la energía consumida, el 49.24% corresponde a carbohidratos, 32.83% a grasas y 17.82% a proteínas. En cuanto a la distribución del tipo de grasa consumida, la grasa saturada tuvo el mayor aporte energético ($12.46 \pm 3.24\%$), seguida de la grasa monoinsaturada ($9.37 \pm 3.25\%$) y la poliinsaturada ($4.51 \pm 1.77\%$). Al comparar entre géneros la distribución de la grasa consumida no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Otro

aspecto importante a considerar es el consumo de ácidos grasos trans, el cual tuvo un aporte energético del 1.87%. El consumo de fibra dietaria y colesterol fue mayor en hombres que en mujeres ($p < 0.05$).

Tabla 4. Consumo promedio de macronutrientes de los sujetos de estudio.

Nutrimento	Total n = 74	Mujeres n = 37	Hombres n = 37	P
Energía (kcal)	2333.39 ± 828.75	1892.41 ± 636.53	2774.37 ± 766.70	<0.01
% Proteínas	17.62* [14.96 - 19.60]	17.28 ± 4.06	18.35 ± 4.12	0.2
% Carbohidratos	49.23 ± 7.65	51.05 ± 7.68	47.42 ± 7.27	0.04
Fibra (g)	24.48* [18.13 - 34.61]	20.56* [17.26 - 28.20]	29.84* [21.52 - 42.60]	<0.01**
Soluble (g)	4.80* [3.57 - 6.78]	3.96* [2.98 - 5.12]	5.77* [4.26 - 9.36]	<0.01**
Insoluble (g)	11.03* [7.96 - 16.42]	9.08* [6.91 - 11.49]	13.36* [9.93 - 19.27]	<0.01**
% Grasas	32.83 ± 6.06	32.41 ± 5.88	33.24 ± 6.28	0.5
Saturadas (%)	12.46 ± 3.24	11.83 ± 2.98	13.09 ± 3.40	0.09
Mono-insat. (%)	9.37 ± 3.25	9.15 ± 3.57	9.59 ± 2.93	0.5
Poli-insat. (%)	4.51 ± 1.77	4.53 ± 1.75	4.49 ± 1.82	0.9
Omega 3 (%)	0.618* [0.38 - 1.04]	0.57* [0.37 - 0.82]	0.70* [0.39 - 1.27]	0.1**
Omega 6 (%)	3.50 ± 1.52	3.28 ± 1.63	3.72 ± 1.40	0.2
Trans (%)	1.87 ± 1.19	1.65 ± 1.11	2.09 ± 1.24	0.1
Ác. elai. (%)	0.50 ± 0.42	0.30* [0.037 - 0.69]	0.52* [0.27 - 0.90]	0.03**
Ác. linoelaí. (%)	0.81 ± 0.71	0.64 ± 0.63	0.99 ± 0.75	0.03
Ác. vaccé. (%)	0.28* [0 - 0.65]	0.17* [0 - 0.63]	0.39* [0 - 0.73]	0.6**
Colesterol (mg)	360.59* [230.31 - 583.08]	319.85 ± 177.92	533.56 ± 297.92	<0.01

Media ± desviación estándar. *Mediana (intervalo intercuartil [25-75]). Diferencia entre grupos probada por T-Student para datos normales y **U de Mann-Whitney para datos no normales ($p < 0.05$). *Abreviaturas:* Ác. elai., ácido elaidico; Ác. linoelaí., ácido linoelaídico; Ác. vaccé, ácido vaccénico.

Genotipificación

Las 76 muestras de sangre colectadas fueron procesadas, y se obtuvo una extracción eficiente del ADN genómico. La integridad del ADNg extraído se muestra en la Figura 4.

Se determinó la discriminación alélica de ambos SNPs (R230C y R1587K), mediante los ensayos de genotipificación por qPCR.

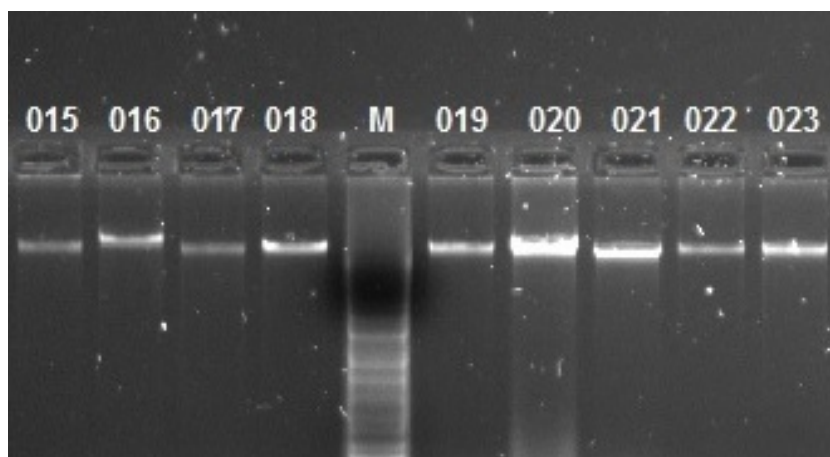


Fig. 4 Integridad del ADNg extraído a partir de muestras de sangre. Las muestras se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1% y se visualizaron con luz UV. Donde, los carriles del 015 – 023: muestras representativas; M: Marcador de peso molecular 1kb Plus (0.1 – 12 kb; Invitrogen).

Las muestras de ADNg de cada uno de los participantes se amplificaron y analizaron con el programa computacional StepOne, el cual agrupó algorítmicamente los datos de todas las muestras, y asignó genotipos a cada una de ellas.

Respecto al SNP R1587K las muestras se agruparon en los tres genotipos posibles (Figura 5), heterocigotos (alelos C/T), homocigotos para el alelo C (silvestres) y homocigotos para el alelo T (mutantes). Por otra parte, para R230C el programa no pudo discriminar las muestras en los tres genotipos por la ausencia de uno de ellos, por lo que se analizaron con la función “*2-Cluster Calling*”, la cual permitió el agrupamiento en dos genotipos (Figura 6). Los grupos resultantes fueron los genotipos heterocigotos (alelos G/A) y homocigotos para el

alelo G (silvestres); indicando que en la población de estudio no se encontraron individuos homocigóticos del alelo A (mutantes) para R230C.

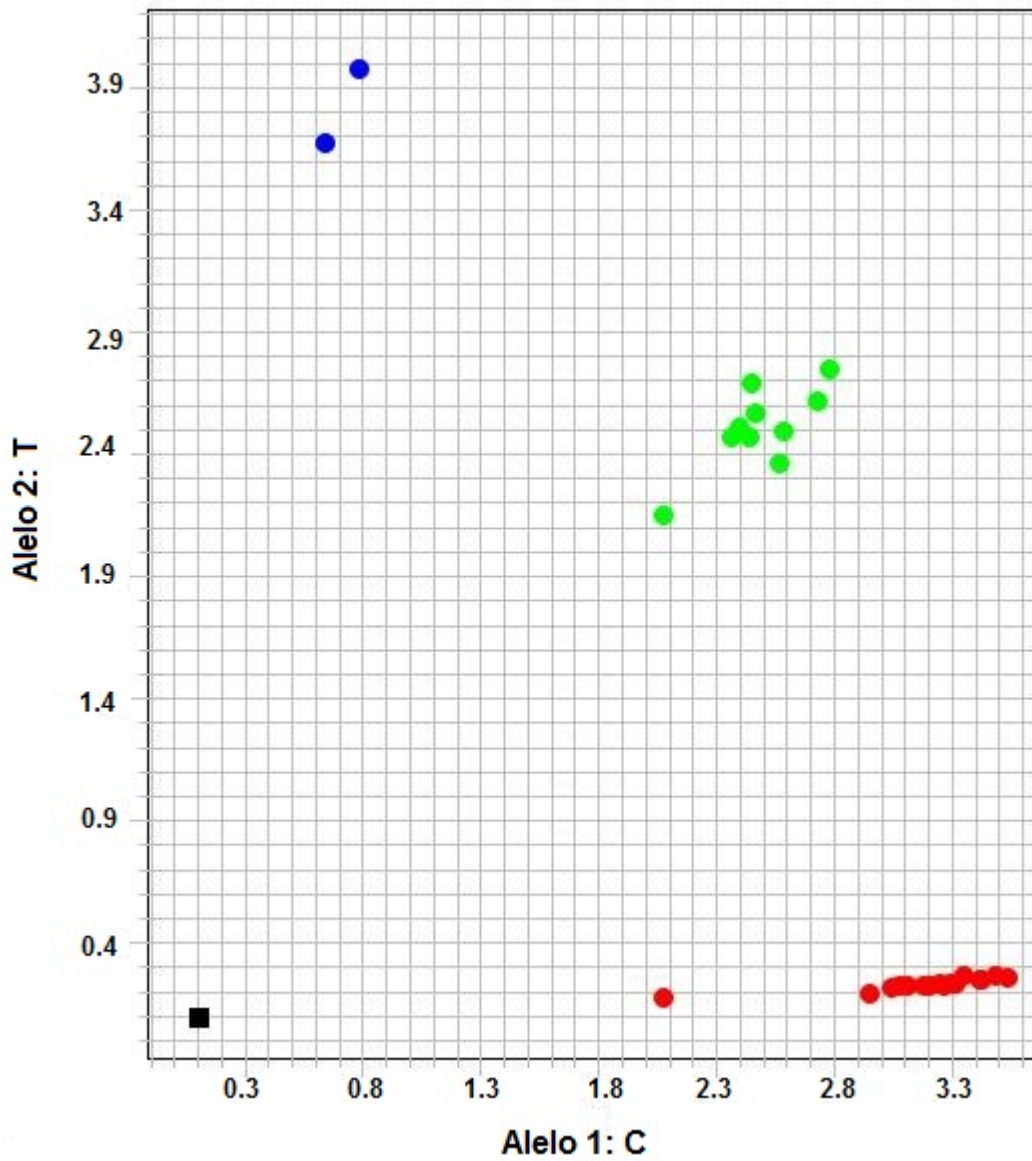


Fig. 5 Gráfica representativa de la discriminación alélica del SNP R1587K del gen *ABCA1* por la fluorescencia de sondas TaqMan. Cada punto de la gráfica representa una muestra; los homocigotos K1587K aparecen como un punto azul, los homocigotos R1587R como un punto rojo, y los heterocigotos R1587K aparecen como un punto verde. El cuadro negro representa el control negativo.

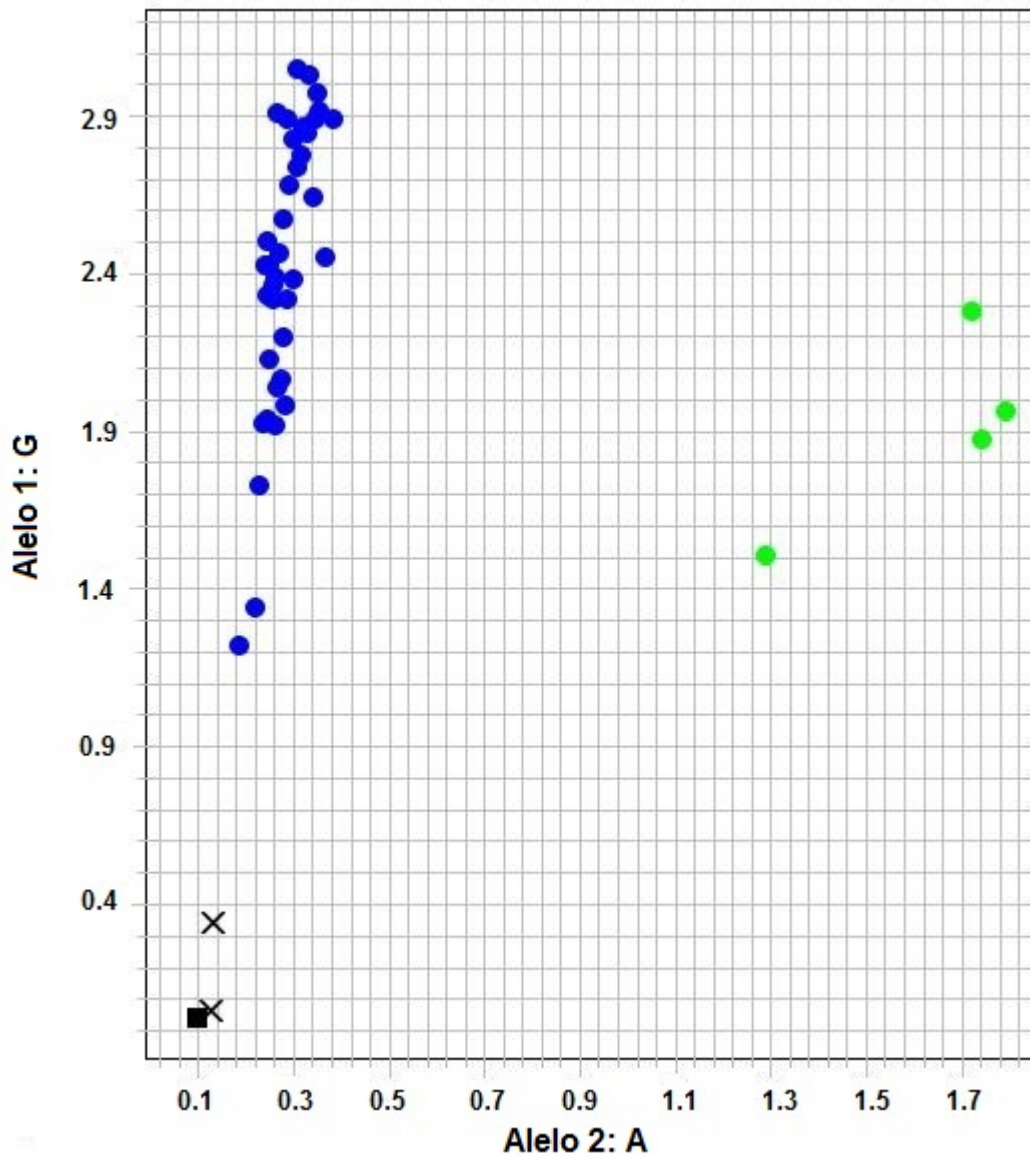


Fig. 6 Gráfica representativa de la discriminación alélica del SNP R230C del gen *ABCA1* por la fluorescencia de sondas TaqMan. Cada punto de la gráfica representa una muestra; los homocigotos R230R aparecen como un punto azul, los heterocigotos R230C aparecen como un punto verde. El cuadro negro representa el control negativo, y las "X" representan muestras indeterminadas.

Frecuencias genotípicas y alélicas de R230C y R1587K en población Sonorense

A la proporción de individuos con cada genotipo posible de acuerdo a cada variante se le denomina frecuencia genotípica, mientras que las frecuencias alélicas son la proporción de cada alelo en la cuenta total de cromosomas. El análisis de las 76 muestras reportó diferentes frecuencias genotípicas y alélicas para ambas variantes (Tabla 5).

En el análisis de la variante R230C se encontró que 67 sujetos son homocigotos R230R, 9 son heterocigotos R230C, y ninguno resultó homocigoto para C230C. Para el SNP R1587K, el análisis reportó que 47 individuos son homocigotos R1587R, 22 son heterocigotos R1587K y 7 individuos son homocigotos K1587K. De todos los sujetos estudiados, uno de ellos presentó el genotipo heterocigoto de ambos SNPs, y en otro individuo se observó la presencia del genotipo heterocigoto R230C, a la vez del homocigoto mutante K1587K. De igual forma, se calcularon las frecuencias genotípicas por sexo, en donde 34 mujeres y 33 hombres son homocigotos R230R, y 4 mujeres y 5 hombres son heterocigotos (R230C). Por parte del SNP R1587K, se encontró que 28 mujeres y 19 hombres son homocigotos R1587R; 7 mujeres y 15 hombres son heterocigotos (R1687K); por último, 3 mujeres y 4 hombres presentan el genotipo homocigoto K1587K.

Tabla 5. Frecuencias genotípicas y alélicas de R230C y R1587K.

	Genotipo	Frecuencia	Alelo	Frecuencia	
SNP	R230C	RR	0.881	R	0.940
		RC	0.118	C	0.059
		CC	0		
	R1587K	RR	0.618	R	0.762
		RK	0.289	K	0.236
		KK	0.092		

En la Tabla 6 se presenta la distribución de las frecuencias alélicas de los sujetos analizados en este estudio, en comparación a las frecuencias reportadas en otras poblaciones mexicanas de la variante R230C. Considerando al alelo C230, la población sonoreense en estudio presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) al ser comparada con las poblaciones amerindias mexicanas. De igual manera, se realizó un análisis de la distribución de las frecuencias alélicas del SNP R1587K en los sujetos de estudio, en comparación a las frecuencias en otras poblaciones a nivel mundial (Tabla 7). Los resultados obtenidos mostraron que no existen diferencias significativas de la frecuencia del alelo K1587 entre la población del presente estudio respecto a la reportada para poblaciones de países europeos ($p > 0.05$). Por el contrario, si se encontraron diferencias significativas con respecto a población asiática ($p < 0.05$).

Tabla 6. Frecuencias de alelos del SNP R230C en la población sonoreense evaluada en el presente estudio y otras poblaciones mexicanas.

Población	Alelos		p
	R230	C230	
Sonora*	0.940	0.059	---
Yaquis ϕ	0.79	0.210	0.012
Seris ϕ	1.0	0	0.02
Zapotecas ϕ	0.79	0.210	0.008
Mexicanos mestizos \cup	0.891	0.109	0.247

Significancia estadística al comparar por X^2 la población sonoreense en estudio respecto a otras poblaciones mexicanas ($p < 0.05$). *Presente estudio; ϕ Acuña-Alonzo et al (2010); \cup Villarreal-Molina et al (2007).

Tabla 7. Frecuencia de alelos del SNP R1587K en la población sonoreense evaluada en el presente estudio y otras poblaciones a nivel mundial.

Población	Alelos		p
	R1587	K1587	
Sonora*	0.762	0.236	---
Española ϕ	0.794	0.205	0.656
Holandesa \yen	0.740	0.259	0.669
Danesa \ominus	0.760	0.238	0.965
Francesa \S	0.737	0.262	0.610
Reino Unido \ddagger	0.759	0.241	0.916
Descendencia europea en gral \ast	0.800	0.200	0.643
Japonesa β	0.601	0.399	0.004

Significancia estadística al comparar por X^2 ($p < 0.05$) la población sonoreense en estudio contra otras poblaciones. *Presente estudio; ϕ Rodríguez-Rodríguez et al (2007); \yen Clee et al (2001); \ominus Frikke-Schmidt et al (2008); \ast Lanthaler et al (2013); \ddagger Pasdar et al (2007); β Nakamura et al (2013); \S Porchay-Balderelli et al (2009).

Asociación Entre El Genotipo y Los Niveles De HDL-C

Para este análisis, la concentración de HDL-C obtenida de los sujetos de estudio, se dividió en terciles quedando bajo, moderado y elevado. Así, las frecuencias alélicas obtenidas de los SNPs R230C y R1587K se pusieron en contexto de las concentraciones de HDL-C (Tabla 8). En el grupo con bajas concentraciones de HDL-C (≤ 40 mg/dL), se encontraron 2 individuos con el alelo C230 y 20 con el alelo R230; para el alelo K1587 se encontraron 12 individuos, y 10 con el alelo R1587. En el grupo con valores intermedios de HDL-C (40 – 50 mg/dL) se determinó que 41 individuos presentan el alelo R230 y 7 el C230; respecto al alelo R1587, se encontraron 33 sujetos y 15 con el K1587. Por último, para el grupo con niveles altos de HDL-C (≥ 60 mg/dL) se observaron 6 individuos con el alelo R230 y ningún individuo con el C230; para el caso de R1587 se encontraron 4 sujetos con este alelo, y 2 presentaron el K1587. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tres grupos de HDL-C respecto al alelo.

Tabla 8. Frecuencias alélicas de los polimorfismos R230C y R1587K respecto a niveles de HDL-C

SNP	Alelo	Frecuencia alélica			p
		Bajo HDL-C ≤40 mg/dL (n = 22)	Moderado HDL-C 40 – 50 mg/dL (n = 48)	Alto HDL-C ≥ 60 mg/dL (n = 6)	
R230C	R230	(20) 0.909	(41) 0.854	(6) 1	0.5
	C230	(2) 0.09	(7) 0.142	0	
R1587K	R1587	(10) 0.454	(33) 0.687	(4) 0.666	0.1
	K1587	(12) 0.545	(15) 0.312	(2) 0.333	

Significancia estadística al comparar por χ^2 las frecuencias alélicas obtenidas para cada nivel de HDL-C ($p < 0.05$).

Asociación entre R230C con los niveles de HDL-C y otras variables

Se realizó un análisis de sensibilidad para evaluar el impacto de los valores extremos de las concentraciones de HDL-C por genotipo (R230R vs R230C). Al incluir estos valores en el análisis no muestran diferencias significativas entre los genotipos ($p = 0.214$), sin embargo al omitirlos del análisis los resultados obtenidos cambiaron significativamente. Por lo tanto, el análisis estadístico se realizó sin considerar a esos valores extremos.

Los parámetros bioquímicos, antropométricos y de estilo de vida evaluados en los individuos en relación a su genotipo se muestran en la Tabla 9. No se encontraron individuos con el genotipo C230C. Los niveles de IMC, presión arterial (sistólica y diastólica), triglicéridos y colesterol total fueron más elevados en los individuos con el genotipo R230C, sin embargo no se encontraron diferencias

significativas ($p > 0.05$) entre genotipos. El porcentaje de individuos con obesidad ($\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$) fue mayor en aquellos que portan el genotipo R230C, en comparación a los que portan el genotipo homocigoto R230R (55.5% vs 28.3%, respectivamente). A pesar de que se no se encontraron diferencias significativas, se observó una tendencia ($p = 0.09$).

Uno de los puntos importantes en el presente estudio fue el de evaluar la concentración de HDL-C en relación al genotipo presente. En la Tabla 9 se muestran los promedios obtenidos de HDL-C en cada uno de los genotipos encontrados. Los resultados señalan que los individuos que presentan el genotipo R230C tienen 5.6 mg/dL menos de HDL-C que los portadores del genotipo R230R. Sin embargo, dado que la mayor cantidad de sujetos evaluados para este caso se encuentran situados en el genotipo R230R ($n = 67$) vs R230C ($n = 9$), no se logró obtener una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Tabla 9. Valores antropométricos, clínicos y de estilo de vida de acuerdo al genotipo del SNP R230C.

Parámetro	R230R	R230C	<i>p</i>
Observaciones (76)	67	9	---
Sexo			
Mujeres (%)	50.7	44.4	---
Hombres (%)	49.2	55.5	---
Edad (años)	37.7 ± 1.2	36.5 ± 3.5	0.7
IMC (Kg/m²)	27.7 ± 0.58	29.3 ± 1.6	0.33
Obesidad (%)	28.3	55.5	0.09*
PAS (mmHg)	112.9 ± 1.7	119.3 ± 4.8	0.2
PAD (mmHg)	79.8 ± 1.4	83.8 ± 4.0	0.3
Tabaquismo	0.88 ± 0.24	0.25 ± 0.65	0.3
AF (mMB)	1.66	1.67	0.7**
CT (mg/dL)	208.1 ± 4.9	210.8 ± 13.5	0.8
TG (mg/dL)	102.93	112.65	0.6**
LDL-C (mg/dL)	137.2 ± 4.66	146.0 ± 12.7	0.5
HDL-C (mg/dL)	47.2 ± 1.1	41.6 ± 3.2	0.1

Se muestra la media ± EE, a excepción de TG donde se muestra la mediana. Comparación de los genotipos R230R vs R230C por ANOVA ($p < 0.05$). *Prueba exacta de Fisher. **Kruskal-Wallis. Abreviaturas: PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; AF, actividad física; CT, colesterol total; TG, triglicéridos; HDL-C, colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

Para establecer una asociación entre la variante R230C y los niveles de HDL-C en la población sonoreense estudiada, se realizó un análisis de regresión lineal simple. Los niveles de HDL-C se tomaron como la variable dependiente, y el genotipo R230C como variable independiente (Tabla 10). Los resultados mostraron una asociación negativa, estadísticamente significativa, entre el genotipo y la concentración ($\beta = -5.637$, $p = 0.1$), lo cual indica que en individuos que portan el genotipo R230C la concentración de HDL-C es 5.63 mg/dL menor, respecto a los individuos que no la presentan, es decir, aquellos con el genotipo R230R. Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple donde se evaluaron variables confusoras, determinándose que el IMC y el sexo modificaban de mayor forma a HDL-C. Después de ajustar por estas variables, la asociación permaneció significativa ($b = -5.107$, $p = 0.09$), es decir existe una asociación entre el genotipo R230C y las bajas concentraciones de HDL-C.

Tabla 10. HDL-C y su relación con el genotipo R230C por regresión lineal.

Variable predictora	β	p
R230C*	-5.637	0.1
R230C**	-5.107	0.09

*Asociación independiente ($p < 0.1$); **Ajustado por IMC y sexo ($p < 0.1$).

Asociación entre R1587K con los niveles de HDL-C y otras variables

En la Tabla 11 se muestran los parámetros bioquímicos, antropométricos y de estilo de vida evaluados en los sujetos de estudio, en relación al SNP R1587K. De las variables antropométricas y bioquímicas evaluadas, los triglicéridos, el colesterol total y el LDL-C mostraron una tendencia a ser más elevados en los sujetos portadores del genotipo R1587K con respecto al genotipo R1587R, sin embargo estadísticamente no fue significativa. De igual manera, se observó una tendencia similar al comparar los niveles de IMC respecto a los genotipos R1587R vs R1587K. Por otra parte, debido a que la cantidad de sujetos analizados en el estudio que presentan el genotipo K1587K es muy baja ($n = 7$) en comparación a aquellos que portan el R1587R ($n = 47$) no se logró obtener diferencias estadísticamente significativas en los parámetros evaluados ($p < 0.05$). Por lo tanto, debido al bajo número de individuos con K1587K, se decidió no tomar en cuenta a este genotipo para análisis estadísticos posteriores.

Como punto importante a evaluar, fueron las concentraciones de HDL-C respecto al genotipo presente en los individuos. En la Tabla 11 se muestran los promedios de HDL-C en cada uno de los genotipos encontrados. Los resultados establecen que los sujetos que presentan el genotipo R1587K tienen 5.4 mg/dL menos de HDL-C que los portadores del genotipo R1587R, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0.02$).

Tabla 11. Valores antropométricos, clínicos y de estilo de vida de acuerdo al genotipo del SNP R1587K.

Parámetro	R1587R	R1587K	p^1	K1587K	p^2
Observaciones (76)	47	22	---	7	---
Sexo					
Mujeres (%)	59.5	31.8	---	42.8	---
Hombres (%)	40.4	69.1	---	58.1	---
Edad (años)	36.6 ± 1.5	38.3 ± 2.2	0.5	41.5 ± 4.0	0.2
IMC (Kg/m²)	27.4 ± 0.6	29.5 ± 1.0	0.1	26.0 ± 1.7	0.4
Obesidad (%)	29.78	45.45	0.2*	0	0.09*
PAS (mmHg)	112.9 ± 2.1	116.0 ± 3.1	0.4	111.7 ± 5.5	0.8
PAD (mmHg)	80.5 ± 1.7	80.2 ± 2.6	0.9	78.8 ± 4.6	0.7
Tabaquismo	0.40 V 0.27	1.0 ± 0.39	0.11	2.7 ± 0.70	<0.01
AF (mMB)	1.65	1.69	0.7**	1.68	0.5**
CT (mg/dL)	207.1 ± 5.9	209.0 ± 8.7	0.85	215.8 ± 15.4	0.6
TG (mg/dL)	96.66	131.82	0.1**	100.94	0.5**
LDL-C (mg/dL)	137.09 ± 5.7	139.7 ± 8.4	0.7	141.7 ± 14.4	0.7
HDL-C (mg/dL)	48.3 ± 1.3	42.9 ± 1.9	0.02	48.4 ± 3.4	0.9

Se muestra la media ± EE, a excepción de TG y AF donde se muestra la mediana. p^1 : Comparación del genotipo R1587R vs R1587K por ANOVA ($p < 0.05$). p^2 : Comparación del genotipo R1587R vs K1587K por ANOVA ($p < 0.05$). *Prueba de χ^2 . **Kruskal-Wallis. Abreviaturas: PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; AF, actividad física; CT, colesterol total; TG, triglicéridos; HDL-C, colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

Para establecer una asociación entre el SNP R1587K y los niveles de HDL-C en la población estudiada, se realizó un análisis de regresión lineal. Los niveles de HDL-C se tomaron como la variable dependiente, y los genotipos R1587R y R1587K como variables independientes (Tabla 12). Los resultados mostraron una asociación negativa estadísticamente significativa entre el genotipo R1587K y la concentración de HDL-C ($\beta = -5.414$, $p = 0.02$), es decir la concentración de HDL-C en los portadores de este genotipo es 5.4 mg/dL menor, respecto a los que presentan el genotipo R1587R. Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple donde se evaluaron variables confusoras, determinándose que el IMC, el sexo y la actividad física afectaban el comportamiento de HDL-C. Después de ajustar por estas variables, la asociación permaneció significativa ($\beta = -3.815$, $p = 0.09$), es decir existe una asociación entre el genotipo R1587K y las bajas concentraciones de HDL-C.

Tabla 12. HDL-C y su relación con el genotipo R1587K por regresión lineal.

Variable predictora	β	p
RK*	-5.414	0.020
RK**	-3.815	0.099

*Asociación independiente ($p < 0.1$); **Ajustado por IMC, sexo y actividad física. ($p < 0.1$).

DISCUSIÓN

Las características antropométricas de los sujetos establecieron que el 43.42% de la población presentó sobrepeso y el 26.31% obesidad, de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2000). El problema de sobrepeso tuvo mayor frecuencia en hombres (47.36%) que en las mujeres (39.47%). El informe de la ENSANUT (2012) sobre el estado de Sonora señala que la prevalencia de sobrepeso en adultos es de 37.6% y la de obesidad de 36.1%. Las cifras obtenidas en el presente estudio no son del todo concordantes con dicha encuesta, y esto puede ser debido a que este estudio no fue diseñado para determinar este aspecto, ni se tiene representatividad estatal. Sin embargo, en ambos estudios se concuerda que la presencia de sobrepeso y obesidad es una realidad en esta población.

La actividad física registrada en este estudio mostró que el 60.27% son adultos inactivos, presentando niveles de actividad física que clasifican como ligera (1.66 mMB). La mayor parte de los participantes se desenvuelven en actividades que les exigen estar gran parte del día sentado, ya sea frente a una computadora o tras el volante del coche, y que además no realizan actividad física extra. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los reportados previamente en adultos sonorenses (Valenzuela, 2010), donde se encontró un promedio de actividad física de 1.65 mMB. La importancia de realizar actividad física se debe a que si la ingestión calórica es elevada, y la actividad física es baja, ésta se convierte en un factor que contribuye al desarrollo de la obesidad debido a un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las gastadas, permitiendo así la acumulación de grasa. Por el contrario, una de las ventajas de realizar actividad física, además de ayudar a mantener el peso corporal, es el hecho de que ayuda a mejorar las concentraciones de HDL-C, la cual es

considerada por si sola un factor de riesgo independiente de padecer enfermedad cardiovascular (O'Donnell y Elosua, 2008).

La dieta de la población estudiada es hipercalórica (2333.39 ± 828.75 kcals). Los alimentos consumidos con mayor aporte de energía son ricos en azúcares, tales como bebidas azucaradas y carbonatadas, así como altos en grasas, como las tortillas de harina de trigo, los frijoles guisados, ya sea con aceite vegetal o manteca, además de huevo guisado y carnes. Todos ellos característicos de la dieta regional.

El porcentaje de energía aportado por las grasas fue de 32.83%, superando el 30% recomendado por la OMS (2003). La grasa saturada superó las recomendaciones de consumo (<10%) para una dieta saludable, las cuales tienden a elevar las concentraciones de colesterol total. Los ácidos grasos saturados con mayor aterogenicidad son el láurico (C12:0), el mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0). En el caso de las grasas poliinsaturadas, omega 3 y omega 6, se encontraron muy por debajo de los recomendado, 1 – 2% y 5 – 8%, respectivamente (OMS, 2003). Sin embargo, estos resultados son característicos de la población sonoreense en edad escolar y adulta (Amaya, 2011; Guillot, 2012; Valenzuela, 2010).

El consumo de ácidos grasos trans ($1.87 \pm 1.19\%$) superó a las recomendaciones de la OMS, los cuales no deben rebasar el 1% del total de las calorías consumidas. Los consumos de ácidos grasos trans obtenidos en el presente estudio son inferiores a lo reportado en investigaciones previas (Guillot, 2012; Valenzuela, 2010) en adultos sonorenses (3.47% y 3.03% respectivamente). Una posible explicación de esta diferencia, es que los sujetos de estudio que participaron en la presente investigación pertenecen, en su mayoría, a clase media alta, lo cual en teoría les permite acceder a alimentos más sanos y con menos contenidos de AGT. Por el contrario, los estudios de Valenzuela (2010) y Guillot (2012) fueron realizados en personas de clase media baja y también de bajo nivel socioeconómico. Esta observación se cree importante debido a que el consumo de AGT se considera aún más perjudicial que la grasa saturada, ya que incrementa los niveles de LDL-C, triglicéridos, fibrinógeno y lipoproteína (a), y sobre todo

disminuye la concentraciones de HDL-C (Rubio, 2002). Algunos de los alimentos consumidos por la población estudiada aportadores de AGT son el aceite de cocina, tortillas de harina de trigo, frijoles guisados y carne asada.

La energía proveniente de carbohidratos fue de 49.2% de la energía total, encontrándose por debajo de la recomendada por la OMS (2003), la cual debe ser del 55 – 75% de la energía total consumida. Igualmente, tratando de explicar este bajo consumo, se considera pudiera estar asociado al conocimiento de las personas de cuáles son los alimentos ricos en azúcares, por lo que los evitan como forma de controlar el peso. Otro componente importante en la dieta, es la fibra dietaria total (FDT), la cual tuvo un consumo de 24.48 g diarios, encontrándose dentro de lo recomendado (20 – 35 g diarios) por la *American Dietetic Association* (Marlett et al, 2002). De esta cantidad de FDT consumida, 4.80 g son de fibra soluble y 11.03 g son de fibra insoluble. La fibra dietaria por sus propiedades fisiológicas puede actuar como un factor de protección en enfermedades cardiovasculares, lo cual ha sido demostrado en población sonoreense (Ballesteros et al, 2001).

Dentro de los marcadores clínicos evaluados se encuentra la presión arterial. Los resultados de ésta, mostraron a un grupo de adultos que en promedio presentan presión arterial normal (NNHLBI, 2003). Sin embargo, se observó que un 22.4% de los sujetos de estudio padecen hipertensión, ya sea sistólica o diastólica. Adicionalmente, cabe hacer notar que 11 de los participantes se encontraban bajo tratamiento médico para controlar la hipertensión arterial. Por lo que considerando esta situación, el 36.8% de los participantes sufre de hipertensión.

El perfil de lípidos formó parte de los marcadores bioquímicos evaluados. Su análisis determinó que la población estudiada presenta alteraciones en los lípidos sanguíneos (Tabla 2). Más del 50 % tiene concentraciones elevadas de colesterol total y de LDL-C, y un 22.4% tiene triglicéridos elevados. En los tres casos hay una mayor proporción de hombres (84.2%) que de mujeres (48.7%) con dichas alteraciones. La LDL es considerada como una partícula aterogénica, debido a que promueve la formación y el progreso de un ateroma, el cual puede

desarrollarse hasta la aparición de enfermedades cardiovasculares más peligrosas, tales como el infarto al miocardio y cerebrovasculares, entre otras. Su elevación es promovida en parte por la dieta rica en ácidos grasos saturados. En este grupo de población, son los hombres en los que se observan concentraciones más elevadas, lo que conlleva a que aumente el riesgo de sufrir ECV. De igual forma, los triglicéridos elevados también constituyen un problema en el sexo masculino, pues del total un 36.8 % tiene concentraciones elevadas, aunándose a los valores elevados de LDL-C.

Un aspecto importante de esta investigación tuvo que ver con la lipoproteína HDL. La concentración promedio de HDL-C obtenida tanto en hombres como en mujeres, estuvo en los límites de lo considerado normal. Sin embargo, del total de sujetos evaluados el 50% de las mujeres y el 45% de los hombres presentaron valores bajos (<50 mg/dL en mujeres y <40 mg/dL en hombres) (NCEP, 2002). Es decir, la mitad de la población estudiada tiene valores bajos. Además, al analizar más a detalle se encontró que el 11.9% tiene valores muy bajos (<35 mg/dL) que los clasifican con problemas de hipoalfalipoproteinemia. Es importante hacer notar que la mayoría de los casos de hipoalfalipoproteinemia corresponden al sexo masculino (10.5%). Los triglicéridos son un factor que contribuye a la disminución de HDL-C, y en este estudio se observó que los hombres presentan una relación inversa entre la concentración de triglicéridos y las de HDL-C. Este aspecto no se observó en las mujeres, probablemente debido al papel protector de los estrógenos.

Las dislipidemias observadas en los individuos sugieren que la población se encuentra en riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Adicionalmente, se encontraron otros factores que pueden exacerbar el problema tales como tabaquismo, hipertensión arterial, consumo de alcohol así como actividad física ligera.

La pérdida de peso y de masa adiposa pueden disminuir las concentraciones de triglicéridos y de LDL-C, aumentando por consiguiente, los niveles plasmáticos de HDL-C. De igual forma, al disminuir el peso corporal (5 kg), se refleja en una reducción de las concentraciones de colesterol total de 10 mg/dL.

Otro aspecto importante en las variaciones de lípidos plasmáticos, es la actividad física, ya que el incremento de ésta disminuye también los niveles de triglicéridos y aumenta las concentraciones de HDL-C cuando se realiza con una intensidad moderada y de forma regular, mejorando así la salud cardiovascular (O'Donnell y Elosua, 2008).

De forma independiente, el HDL-C ha sido considerado como un factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, y aumentos en las concentraciones de éste, se han aceptado como una estrategia terapéutica para la disminución de la incidencia de enfermedad cardiovascular (O'Donnell y Elosua, 2008). La Organización Mundial de la Salud ha predicho que la tasa de mortandad por enfermedades cardiovasculares en América Latina aumentará hasta un 60% entre los años 2000 – 2020 (Aguilar-Salinas et al, 2009). Las anomalías lipídicas en Hispanos son diferentes al resto de otras poblaciones, siendo la hipoalfalipoproteinemia (< 35 mg/dL) y los valores bajos de HDL-C las más frecuentes entre los riesgos cardiovasculares.

La Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición (NHANES, por sus siglas en inglés) realizada en los Estados Unidos de América en el periodo 2007 – 2010, determinó que los ciudadanos México-Americanos presentaron niveles más bajos de HDL-C en comparación a otros grupos étnicos analizados (blancos y negros sin ascendencia hispana), siendo estos niveles 49.4 mg/dL (ambos sexos), 45.4 mg/dL en hombres y 53.7 mg/dL en mujeres (Carroll et al, 2012). Los resultados obtenidos para población sonoreense en la presente investigación concuerdan a los reportados por NHANES (46.76 mg/dL vs 49.4 mg/dL, respectivamente). Sin embargo, los hallazgos en población sonoreense tienen una diferencia de aproximadamente 8.0 mg/dL de HDL-C, al ser comparados por los reportados en diversas encuestas nacionales población mexicana mestiza (Aguilar-Salinas et al, 2010; Aguilar-Salinas et al, 2001; Barquera et al, 2007). Asimismo, en el reporte realizado por Aguilar-Salinas et al (2001), se señala que alrededor del 50% de los adultos mexicanos (ambos sexos) padecen hipoalfalipoproteinemia, cifra muy por encima de los valores obtenidos en la presente investigación (11.82%).

Por otra parte, al contrastar los valores observados en el presente estudio respecto a un trabajo realizado sobre riesgo cardiovascular en España (Gutiérrez-Fuentes et al, 2000), considerando dos tipos de estudios (transversal y longitudinal), se obtuvieron prevalencias similares, 11.82% vs 7.6% y 11.6%, respectivamente. Si bien la población mexicana es el resultado de un mestizaje entre europeos y población amerindia, existe una gran heterogeneidad entre las diferentes regiones del país. Tal es el caso de Sonora, donde su población mestiza tiene una proporción ancestral más cercana a la europea (61.6%) que a la amerindia (36.2%) (Silva-Zolezzi et al, 2009). Estas observaciones sugieren que diversos factores pueden tener la explicación para las diferencias encontradas, tales como las medioambientales mencionados previamente, y variaciones a nivel genético.

Prevalencias de los polimorfismos R230C y R1587K en población sonoreense

Con base en la distribución alélica para ambos polimorfismos, se pudo observar que el SNP R1587K tuvo una mayor frecuencia en la población analizada respecto a R230C (38.15% vs 11.84%, respectivamente).

Al comparar la frecuencia obtenida en población sonoreense del alelo C230 respecto a otras poblaciones mexicanas (Tabla 6), se pudo observar que no se asemeja a las reportadas previamente para población amerindia, pero si a la población mexicana mestiza (Acuña-Alonzo et al, 2010; Villarreal-Molina et al, 2007). Las poblaciones amerindias, Yaqui y Zapoteca, presentan una frecuencia del alelo casi cuatro veces mayor que la observada en el presente estudio (0.210 vs 0.059). Incluso, la población mexicana mestiza duplica la observada (0.109 vs 0.059).

De acuerdo al estudio realizado por Acuña-Alonso y colaboradores (2010), el alelo C230 se encuentra en la mayoría de las poblaciones Nativas Americanas, pero ausente en poblaciones europeas, asiáticas y africanas. Esto sugiere que

dicho alelo es exclusivo de poblaciones amerindias o que descienden de ellas. Debido a esto, es de entenderse que en población sonorense este alelo se haya observado en tan baja proporción. Estos hallazgos concuerdan con los reportados en otras poblaciones amerindias de Chile y Paraguay, conquistadas por grupos españoles, donde la variante R230C no ha sido encontrada (Acuña-Alonzo et al, 2010).

Por su parte, el alelo K1587 tiene una alta frecuencia en poblaciones caucásicas, principalmente europeas (Clee et al, 2001; Lanthaler et al, 2013; Pasdar et al, 2007; Porchay-Balderelli et al, 2009; Rodriguez-Rodriguez et al, 2007). Al comparar estas frecuencias ya reportadas con la obtenida en el presente estudio (Tabla 7), se pudo observar que son muy similares. Para robustecer estos hallazgos, se compararon las frecuencias absolutas obtenidas de los genotipos del SNP R1587K en población sonorense, respecto a las reportadas para una población del norte de España (Rodriguez-Rodriguez et al, 2007). Se observó que las frecuencias absolutas (Fig. 7) son similares entre ambos estudios, ya que del total de los 68 españoles analizados el 64.7% son homocigotos para el genotipo R1587R, 30.88% son heterocigotos (R1587K) y 4.41% son homocigotos para K1587K. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la presente investigación (61.84%, 28.94% y 9.21%, respectivamente). De igual forma, se contrastó con valores reportados para población japonesa (Nakamura et al, 2013) observándose que existe una diferencia en las frecuencias alélicas de ambas poblaciones (Tabla 7).

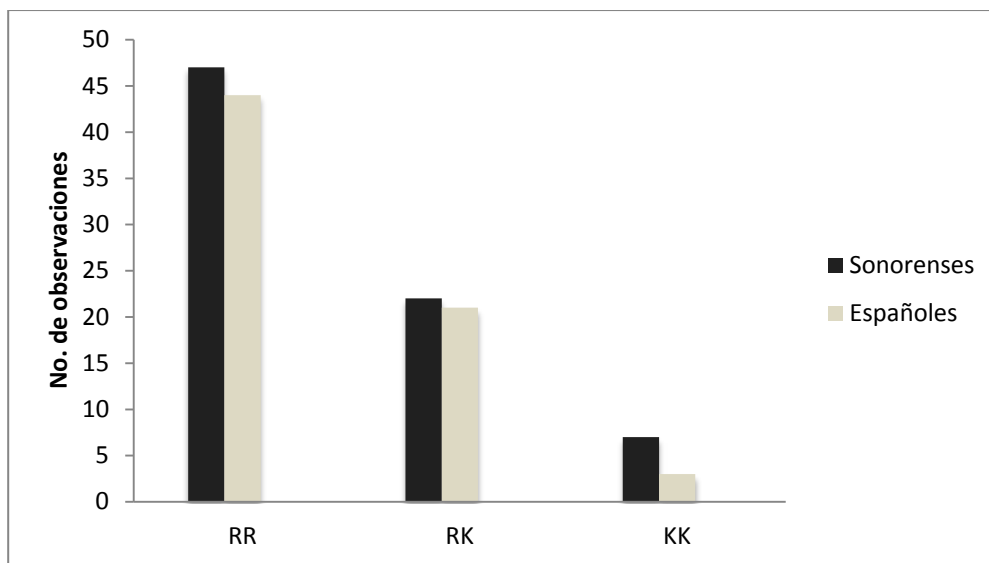


Fig. 7 Frecuencia absoluta de los genotipos del SNP R1587K en población sonorenses y española (Rodríguez-Rodríguez et al, 2007).

Las frecuencias observadas de ambos polimorfismos (R230C y R1587K) en la población sonorenses respecto a otras poblaciones, tanto mexicanas como de otro origen, se deben a las diferencias genéticas presentes en esta población. Cabe señalar que a la fecha, no se han encontrado reportes de registros de frecuencias alélicas del SNP R1587K en población latinoamericana.

Asociación entre el genotipo y los niveles de HDL-C

El objetivo principal de este estudio fue determinar si las variantes genéticas R230C y R1587K en el gen *ABCA1* están relacionadas con las variaciones de HDL-C en población sonorenses.

Esta investigación determinó que tanto el alelo C230 como el alelo K1587 están presentes en esta población. También se encontró que en los individuos que tienen bajas concentraciones de HDL-C (Tabla 8), el alelo C230 se encuentra en más baja proporción que el alelo K1587, incluso su frecuencia es menor que la reportada por Villarreal-Molina y colaboradores (2007) en población mexicana (0.09 vs 0.262).

De manera importante se observó que la frecuencia del alelo K1587 en los individuos con bajas concentraciones de HDL-C son similares a la encontradas en población caucásica (Frikke-Schmidt et al, 2004; Slatter et al, 2008).

El efecto de algunas mutaciones del gen *ABCA1* sobre los niveles plasmáticos de HDL-C es bien conocido (Frikke-Schmidt, 2010; Wang et al, 2000), pudiendo contribuir desde una mínima disminución en la concentración hasta abolir completamente los niveles de HDL-C.

El análisis de asociación entre la presencia del alelo C230 y las bajas concentraciones de HDL-C resultó en un valor de $\beta = -5.107$, esto quiere decir que en presencia de este alelo la concentración de HDL-C disminuye hasta 5.107 mg/dL independientemente de factores confusores, como lo son el IMC y el sexo. Esta variación en los niveles de HDL-C es similar a la reportada por Aguilar-Salinas y colaboradores (2001), quienes incluso señalan que el riesgo atribuible de la variante R230C para hipoalfalipoproteinemia en población mexicana es del 12.2%. Sin embargo, en nuestro estudio no fue posible calcular dicho riesgo en población sonoreense debido al pequeño tamaño de muestra logrado. Se piensa que este alelo fue el resultado de una selección positiva, derivado de un efecto de sobrevivencia de las poblaciones amerindias, ya que al disminuir el eflujo de colesterol les confería la capacidad de almacenar energía para posteriormente ser empleada en diversas funciones biológicas (Acuña-Alonzo et al, 2010; Aguilar-Salinas et al, 2011; Villarreal-Molina et al, 2007).

Adicionalmente, el alelo C230 está asociado con el incremento en el IMC de aquellas personas portadoras. En nuestro estudio observamos que el promedio del IMC presenta una tendencia no significativa a ser mayor en los portadores del alelo C230. Ahora bien, analizando sólo a las personas con problemas de obesidad, se encontró que un mayor número de éstas son portadoras del alelo C230, no se encontraron diferencias significativas con respecto a los portadores del alelo R230, pero si una tendencia ($p=0.09$).

Por otra parte, la evaluación realizada para medir la asociación entre el genotipo R1587K y las concentraciones de HDL-C determinó una $\beta = -3.815$ lo que significa que en presencia del genotipo la concentración de HDL-C disminuye

3.815 mg/dL, aún después de ajustar por IMC, sexo y actividad física. Los resultados obtenidos en el presente estudio son consistentes con los reportados previamente, donde se ha visto que en diferentes poblaciones la presencia del alelo K1587 ha sido asociado significativamente con niveles bajos de HDL-C. Por otro lado la misma asociación no pudo ser establecida para el genotipo K1587K debido al bajo número de personas que son portadoras en la muestra estudiada.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que existe una asociación entre los polimorfismos R230C y R1587K del gen *ABCA1* y los niveles bajos de HDL-C ($p = 0.09$) en población sonoreense.

Estudios previos han descrito una relación de las variantes genéticas R230C y R1587K con valores en extremo bajos de HDL-C (< 35 mg/dL) ((Frikke-Schmidt, 2010; Wang et al, 2000), sin embargo con los resultados de la presente investigación no pueden confirmarse esos datos. Lo anterior, debido que al analizar más detalladamente la información obtenida, se observó que no todos los individuos que presentan alguno de los alelos de riesgo analizados (C230 y/o K1587) tienen concentraciones bajas de HDL-C (< 40 mg/dL), incluso algunos de estos portadores exhiben niveles elevados de HDL-C (> 60 mg/dL) (Tabla 8). Esto demuestra que la disminución de la concentración de HDL-C no es dependiente totalmente de la dosis génica (es decir, si el genotipo del individuo es heterocigoto u homocigoto). El fenotipo observado en los sujetos de estudio que aún a pesar de presentar uno de los alelos de riesgo tienen concentraciones elevadas de HDL-C, podría deberse a otro gen involucrado en la regulación de HDL y que presente dominancia funcional. Tales genes podrían ser de la proteína de transferencia de colesterol esterificado (CETP) o lipasa hepática, causando un aumento en las concentraciones de HDL-C y compensando el efecto negativo de los polimorfismos (Villarreal-Molina et al, 2007).

Para precisar a qué se deben estas variaciones en las concentraciones de HDL-C es necesario realizar un análisis de funcionalidad de la proteína *ABCA1*, respecto a las variantes estudiadas y conocer así sus consecuencias funcionales. R230C y R1587K se localizan en dos de los principales lazos de la proteína *ABCA1*, los cuales son importantes para la interacción con apoA-1 y para el eflujo

del colesterol (Brunham, 2007; Frikke-Schmidt et al, 2004). Esta interacción podría verse afectada por la naturaleza de los aminoácidos resultantes debido al cambio nucleotídico por la mutación. El cambio para R230C es de arginina por cisteína, mientras que para R1587K es de arginina por lisina.

A pesar de que la disminución en la concentración de HDL-C debido a las variantes fueron modestas entre los genotipos homocigoto silvestre y heterocigoto, estas variaciones pueden aumentar la velocidad en la que se puede desarrollar aterosclerosis, y otras afecciones como cardiopatía isquémica (Frikke-Schmidt et al, 2008). Esto es consistente con lo reportado por Porchay-Balderelli et al (2009), donde se observó que variaciones de ABCA1 en macrófagos no produjeron un gran cambio en las concentraciones de HDL-C, sin embargo estuvieron asociadas con enfermedad coronaria al modificar el transporte reverso del colesterol. Adicionalmente, se ha comprobado que con el aumento de 1mg/dL de HDL-C se puede reducir el riesgo de enfermedad arterial coronaria de un 2 a 3% (Gotto y Brinton, 2004).

CONCLUSIONES

Se concluye que los polimorfismos R230C y R1587K del gen *ABCA1* están presentes en la población sonoreense estudiada.

El SNP R1587K se encuentra en mayor proporción que el R230C, confirmando la ancestría europea de la población sonoreense reportada por el análisis de diversidad genómica mexicana.

El presente estudio determinó que ambos polimorfismos están asociados con las concentraciones plasmáticas de HDL-C, contribuyendo a los bajos niveles en población sonoreense.

Del total de personas evaluadas en este estudio el 18.4% de los portadores de los alelos de riesgo (C230 y K1587) tienen bajas concentraciones de HDL-C, lo que significa, que no todos los portadores de estos alelos van a exhibir dicho fenotipo. Estos hallazgos señalan la posibilidad de que estén involucrados otros genes del metabolismo de HDL, contrarrestando el efecto negativo de los alelos.

Adicionalmente, este estudio determinó que en esta población están presentes factores de riesgo cardiovascular de tipo ambiental, como un elevado consumo de grasa saturada y de ácidos grasos trans, así como bajos niveles de actividad física, los cuales pueden exacerbar las bajas concentraciones de HDL-C derivando en enfermedades cardiovasculares.

REFERENCIAS

Acuña-Alonzo V, Flores-Dorantes T, Kruit JK, Villarreal-Molina T, Arellano-Campos O, Hunemeier T, Moreno-Estrada A, Ortiz-Lopez MG, Villamil-Ramirez H, Leon-Mimila P, Villalobos-Comparan M, Jacobo-Albavera L, Ramirez-Jimenez S, Sikora M, Zhang LH, Pape TD, Granados-Silvestre Mde A, Montufar-Robles I, Tito-Alvarez AM, Zurita-Salinas C, Bustos-Arriaga J, Cedillo-Barron L, Gomez-Trejo C, Barquera-Lozano R, Vieira-Filho JP, Granados J, Romero-Hidalgo S, Huertas-Vazquez A, Gonzalez-Martin A, Gorostiza A, Bonatto SL, Rodriguez-Cruz M, Wang L, Tusie-Luna T, Aguilar-Salinas CA, Lisker R, Moises RS, Menjivar M, Salzano FM, Knowler WC, Bortolini MC, Hayden MR, Baier LJ, Canizales-Quinteros S (2010) A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Human molecular genetics* **19**: 2877-2885

Aguilar-Salinas CA, Canizales-Quinteros S, Rojas-Martinez R, Mehta R, Rodriguez-Guillen R, Ordonez-Sanchez ML, Riba L, Tusie-Luna MT (2011) The non-synonymous Arg230Cys variant (R230C) of the ATP-binding cassette transporter A1 is associated with low HDL cholesterol concentrations in Mexican adults: a population based nation wide study. *Atherosclerosis* **216**: 146-150

Aguilar-Salinas CA, Canizales-Quinteros S, Rojas-Martínez R, Mehta R, Villarreal-Molina MT, Arellano-Campos O, Riba L, Gómez-Pérez FJ, Tusié-Luna MT (2009) Hypoalphalipoproteinemia in populations of Native American ancestry: an opportunity to assess the interaction of genes and the environment. *Curr Opin Lipidol* **20**: 92-97

Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Rull J, Villalpando S, Barquera S, Rojas R (2010) Prevalence of dyslipidemias in the Mexican national health and nutrition survey 2006. *salud pública de méxico* **52**: S44-S53

Aguilar-Salinas CA, Olaiz G, Valles V, Ríos-Torres JM, Gómez-Pérez FJ, Rull JA, Rojas R, Franco A, Sepulveda J (2001) High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nationwide survey. *Journal of lipid research* **42**: 1298-1307

Allain C, Poon L, Chan C, Richmond W, Fu P (1974) Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical chemistry* **20**: 470-475

Amaya M (2011) Evaluación del patrón de predominancia de las subfracciones de la lipoproteína HDL y su asociación con el riesgo cardiovascular en niños de edad escolar. Maestría en ciencias Thesis, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora

Applied-Byosystems. (2006) 5' Nuclease assay process. In Experiments ABSaSR-TPS-G (ed.).

Ballesteros MN, Cabrera RM, Saucedo MS, Yepiz-Plascencia GM, Ortega MI, Valencia ME (2001) Dietary fiber and lifestyle influence serum lipids in free living adult men. *Journal of the American College of Nutrition* **20**: 649-655

Barquera S, Flores M, Olaiz-Fernández G, Monterrubio E, Villalpando S, González C, Rivera JÁ, Sepúlveda J (2007) Dyslipidemias and obesity in Mexico. *salud pública de méxico* **49**: s338-s347

Brunham L, Singaraja R, Pape T, Kejarawal A, Thomas P, Hayden M (2005) Accurate prediction of the functional significance of single nucleotide polymorphisms and mutations in the ABCA1 gene. *PLoS genetics* **1**: e83

Brunham LR (2007) THE IMPACT OF GENETIC VARIATION IN ABCA 1 ON CHOLESTEROL METABOLISM, ATHEROSCLEROSIS AND DIABETES. University of British Columbia,

Cabre A, Babio N, Lazaro I, Bullo M, Garcia-Arellano A, Masana L, Salas-Salvado J (2012) FABP4 predicts atherogenic dyslipidemia development. The PREDIMED study. *Atherosclerosis* **222**: 229-234

Carroll M, Kit B, Lacher D, Shero S, Mussolino M. (2012) Trends in Lipids and Lipoproteins in US Adults, 1988-2010. In NHANES (ed.).

Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Zwarts KY, Molhuizen HOF, Roomp K, Jukema JW, van Wijland M, van Dam M, Hudson TJ, Brooks-Wilson A, Genest J, Kastelein JJP, Hayden MR (2001) Common Genetic Variation in ABCA1 Is Associated With Altered Lipoprotein Levels and a Modified Risk for Coronary Artery Disease. *Circulation* **103**: 1198-1205

Criqui MH, Wallace RB, Heiss G, Mishkel M, Schonfeld G, Jones GT (1980) Cigarette smoking and plasma high-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* **62**: IV70

de Grooth GJ, Klerkx AH, Stroes ES, Stalenhoef AF, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA (2004) A review of CETP and its relation to atherosclerosis. *Journal of lipid research* **45**: 1967-1974

Dwyer T, Calvert GD, Baghurst KI, Leitch DR (1981) Diet, other lifestyle factors and HDL cholesterol in a population of Australian male service recruits. *Am J Epidemiol* **114**: 683-696

El Bouhassani M, Gilibert S, Moreau M, Saint-Charles F, Treguier M, Poti F, Chapman MJ, Le Goff W, Lesnik P, Huby T (2011) Cholesteryl ester transfer protein expression partially attenuates the adverse effects of SR-BI receptor deficiency on cholesterol metabolism and atherosclerosis. *The Journal of biological chemistry* **286**: 17227-17238

ENSANUT. (2012) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición: Resultados por entidad federativa. Instituto Nacional de Salud Pública, p. 112.

FAO/WHO/ONU. (2001) Human Energy Requirements. In Protection AaC (ed.), Roma.

Fasano T, Zanoni P, Rabacchi C, Pisciotta L, Favari E, Adorni MP, Deegan PB, Park A, Hlaing T, Feher MD, Jones B, Uzak AS, Kardas F, Dardis A, Sechi A, Bembi B, Minuz P, Bertolini S, Bernini F, Calandra S (2012) Novel mutations of ABCA1 transporter in patients with Tangier disease and familial HDL deficiency. *Molecular genetics and metabolism* **107**: 534-541

Fitzgerald ML, Morris AL, Rhee JS, Andersson LP, Mendez AJ, Freeman MW (2002) Naturally occurring mutations in the largest extracellular loops of ABCA1 can disrupt its direct interaction with apolipoprotein A-I. *The Journal of biological chemistry* **277**: 33178-33187

Fitzgerald ML, Okuhira K, Short GF, 3rd, Manning JJ, Bell SA, Freeman MW (2004) ATP-binding cassette transporter A1 contains a novel C-terminal VFNFA motif that is required for its cholesterol efflux and ApoA-I binding activities. *The Journal of biological chemistry* **279**: 48477-48485

Friedewald W, Levy R, Fredrickson D (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry* **18**: 499-502

Frikke-Schmidt R (2010) Genetic variation in the ABCA1 gene, HDL cholesterol, and risk of ischemic heart disease in the general population. *Atherosclerosis* **208**: 305-316

Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Jensen GB, Steffensen R, Tybjaerg-Hansen A (2008) Genetic variation in ABCA1 predicts ischemic heart disease in the general population. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **28**: 180-186

Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Jensen GB, Tybjaerg-Hansen A (2004) Genetic variation in ABC transporter A1 contributes to HDL cholesterol in the general population. *J Clin Invest* **114**: 1343-1353

Glomset JA (1968) The plasma lecithin:Cholesterol acyltransferase reaction. *Journal of lipid research* **9**

Glueck CJ, Heiss G, Morrison JA, Khoury P, Moore M (1981) Alcohol intake, cigarette smoking and plasma lipids and lipoproteins in 12--19-year-old children. The Collaborative Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Circulation* **64**: III 48

Gómez-Coronado D (2010) Salida celular y transporte reverso de colesterol. *Clínica e investigación en Arteriosclerosis* **22**: 12-16

Gotto AM, Brinton EA (2004) Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart diseaseA working group report and update. *Journal of the American College of Cardiology* **43**: 717-724

Grijalva Haro MI, Caire G, Sánchez A, Valencia M (1995) Composición química, fibra dietética y contenido de minerales en alimentos de consumo frecuente en el noroeste de México. *Arch latinoam nutr* **45**: 145-150

Grundey SM (1995) Atherogenic dyslipidemia: lipoprotein abnormalities and implications for therapy. *The American journal of cardiology* **75**: 45B-52B

Guillot E (2012) Contenido de ácidos grasos trans en tejido adiposo subcutáneo y visceral como factor de riesgo cardiovascular y diabetes Mellitus. Maestría en Ciencias Thesis, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora

Gutiérrez-Fuentes J, Gómez-Jerique J, Gómez de la Cámara A, Ángel Rubio M, García Hernández A, Arístegui I (2000) Dieta y riesgo cardiovascular en España

(DRECE II). Descripción de la evolución del perfil cardiovascular. *Medicina clínica* **115**: 726-729

Haggarty P, Valencia M, McNeill G, González N, Moya S, Pinelli A, Quihui L, Saucedo M, Esparza J, Ashton J (1997) Energy expenditure during heavy work and its interaction with body weight. *Br J Nutr* **77**: 359-374

Heiss G, Haskell W, Mowery R, Criqui MH, Brockway M, Tyroler HA (1980a) Plasma high-density lipoprotein cholesterol and socioeconomic status. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* **62**: IV108

Heiss G, Johnson NJ, Reiland S, Davis CE, Tyroler HA (1980b) The epidemiology of plasma high-density lipoprotein cholesterol levels. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. Summary. *Circulation* **62**: IV116

Holleboom AG, Vergeer M, Hovingh GK, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA (2008) The value of HDL genetics. *Current Opinion in Lipidology* **19**: 385-394

Jelliffe DB, Jelliffe EF, Zerfas A, Neumann CG (1989) Community nutritional assessment with special reference to less technically developed countries.

Jiang Z, Zhou R, Xu C, Feng G, Zhou Y (2011) Genetic variation of the ATP-binding cassette transporter A1 and susceptibility to coronary heart disease. *Molecular genetics and metabolism* **103**: 81-88

Kruglyak L, Nickerson DA (2001) Variation is the spice of life. *Nature genetics* **27**: 234-235

Lahoz C, Mostaza JM, Tranche S, Martin-Jadraque R, Mantilla MT, Lopez-Rodriguez I, Monteiro B, Sanchez-Zamorano MA, Taboada M (2012) Atherogenic dyslipidemia in patients with established coronary artery disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* **22**: 103-108

Lanthaler B, Steichen-Gersdorf E, Kollerits B, Zschocke J, Witsch-Baumgartner M. (2013) Maternal ABCA1 genotype is associated with severity of Smith-Lemli-Opitz syndrome and with viability of patients homozygous for null mutations. *European journal of human genetics : EJHG*, Vol. 21, pp. 286-293.

Lewin B (2008a) The content of the genome. In *Genes IX*, 4, pp 55-75. United States of America: Jones and Barlett Publishers, LLC

Lewin B (2008b) Genes are DNA. In *Genes IX*, 9 edn, 1, pp 1-22. United States of America: Jones and Barlett Publishers, LLC

Lewin B (2008c) Genes code for proteins. In *Genes IX*, 2, pp 23-36. United States of America: Jones and Barlett Publishers, LLC

Linusson EE, Sanjur D, Erickson EC (1974) Validating the 24-hour recall method as a dietary survey tool. *Arch Latinoam Nutr* **24**: 277-294

Marlett JA, McBurney MI, Slavin JL (2002) Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the American Dietetic Association* **102**: 7

Martinez LM (2010) Análisis del contenido y tipo de ácidos grasos trans de los principales alimentos incluidos en la dieta sonoreense. Licenciatura Thesis, Ciencias químico-biológicas, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora

Moreno-Esteban B, Gallardo-Fernández MA, Lopez de la Torre-Cásares M. (1997) Diagnóstico y tratamiento en enfermedades metabólicas. In Díaz de Santos SA (ed.), Madrid, España, p. 680.

Nakamura A, Niimura H, Kuwabara K, Takezaki T, Morita E, Wakai K, Hamajima N, Nishida Y, Turin TC, Suzuki S (2013) Gene-Gene Combination Effect and Interactions among ABCA1, APOA1, SR-B1, and CETP Polymorphisms for Serum High-Density Lipoprotein-Cholesterol in the Japanese Population. *PloS one* **8**: e82046

NCEP AI. (2002) Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). National Institutes of Health, p. 284.

NNHLBI (2003) The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **289**: 2560-2571

O'Donnell CJ, Elosua R (2008) Cardiovascular Risk Factors. Insights From Framingham Heart Study. *Revista Española de Cardiología (English Edition)* **61**: 299-310

OMS (2003) DIETA, NUTRICIÓN Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES CRÓNICAS.

Oram JF (2003) HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **23**: 720-727

Osei-Hwedieh DO, Amar M, Sviridov D, Remaley AT (2011) Apolipoprotein mimetic peptides: Mechanisms of action as anti-atherogenic agents. *Pharmacology & therapeutics* **130**: 83-91

Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Stefanadis C (2004) Status and management of blood lipids in Greek adults and their relation to socio-demographic, lifestyle and dietary factors: the ATTICA Study Blood lipids distribution in Greece. *Atherosclerosis* **173**: 353-361

Pasdar A, Yadegarfar G, Cumming A, Whalley L, St Clair D, MacLeod MJ (2007) The effect of ABCA1 gene polymorphisms on ischaemic stroke risk and relationship with lipid profile. *BMC medical genetics* **8**: 30

Pierce BA (2006) *Genética: un enfoque conceptual*. Editorial Médica Panamericana S.A.

Popa OM, Bojinca M, Bojinca V, Ciofu C, Bara C, Popa LO (2009) Introduction to SNP genotyping by Real-Time PCR. *Travaux du museum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa* **52**: 515-522

Porchay-Balderelli I, Pean F, Emery N, Maimaitiming S, Bellili N, Travert F, Mohammedi K, Roussel R, Marre M, Fumeron F (2009) Relationships between common polymorphisms of adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1 and high-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease in a population with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental* **58**: 74-79

Rader D, Alexander E, Weibel G, Billheimer J, Rothblat G (2009) The role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *Journal of lipid research* **50 Suppl**: S189-194

Ramírez C (2012) Presencia del síndrome metabólico en niños escolares de 6 a 9 años en zonas urbana y rural del estado de Sonora. Maestría en Ciencias Thesis, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora

Rodriguez-Rodriguez E, Mateo I, Llorca J, Sanchez-Quintana C, Infante J, Garcia-Gorostiaga I, Sanchez-Juan P, Berciano J, Combarros O (2007) Association of

genetic variants of ABCA1 with Alzheimer's disease risk. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* **144B**: 964-968

Rubio MA (2002) Enfermedad cardiovascular y grasas: "amigo o villano". *Endocrinología y Nutrición* **49**: 145-167

Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular cloning. A laboratory manual.*, Vol. 1, 3 edn. Plymouth.

Santamarina-Fojo S, Peterson K, Knapper C, Qiu Y, Freeman L, Cheng J-F, Osorio J, Remaley A, Yang X-P, Haudenschild C (2000) Complete genomic sequence of the human ABCA1 gene: analysis of the human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 7987-7992

Santamarina-Fojo S, Remaley AT, Neufeld EB, Brewer HB (2001) Regulation and intracellular trafficking of the ABCA1 transporter. *Journal of lipid research* **42**: 1339-1345

Schwartz K, Lawn RM, Wade DP (2000) ABC1 gene expression and ApoA-I-mediated cholesterol efflux are regulated by LXR. *Biochemical and biophysical research communications* **274**: 794-802

Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, Balam-Ortiz E, del Bosque-Plata L, Velazquez-Fernandez D, Lara C, Goya R, Hernandez-Lemus E, Davila C, Barrientos E, March S, Jimenez-Sanchez G (2009) Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 8611-8616

Slatter T, Jones G, Williams M, van Rij A, McCormick S (2008) Novel rare mutations and promoter haplotypes in ABCA1 contribute to low-HDL-C levels. *Clinical genetics* **73**: 179-184

Tchoua U, D'Souza W, Mukhamedova N, Blum D, Niesor E, Mizrahi J, Maugeais C, Sviridov D (2008) The effect of cholesteryl ester transfer protein overexpression and inhibition on reverse cholesterol transport. *Cardiovascular research* **77**: 732-739

Tsai MY, Li N, Sharrett AR, Shea S, Jacobs DR, Jr., Tracy R, Arnett D, Arends V, Post W (2009) Associations of genetic variants in ATP-binding cassette A1 and cholesteryl ester transfer protein and differences in lipoprotein subclasses in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Clinical chemistry* **55**: 481-488

Tsompanidi EM, Brinkmeier MS, Fotiadou EH, Giakoumi SM, Kypreos KE (2010) HDL biogenesis and functions: role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. *Atherosclerosis* **208**: 3-9

Valenzuela LS (2010) Consumo de ácidos grasos trans y su asociación con las concentraciones de HDL-C en población sonoreense. Maestría en Ciencias Thesis, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora

Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics, selection, evolution : GSE* **34**: 275-305

Villarreal-Molina M, Aguilar-Salinas C, Rodriguez-Cruz M, Riano D, Villalobos-Comparan M, Coral-Vazquez R, Menjivar M, Yescas-Gomez P, Konigsoerg-Fainstein M, Romero-Hidalgo S, Tusie-Luna M, Canizales-Quinteros S (2007) The ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant affects HDL cholesterol levels and BMI in the Mexican population: association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes* **56**: 1881-1887

Wang J, Burnett J, Near S, Young K, Zinman B, Hanley AJ, Connelly P, Harris S, Hegele R (2000) Common and rare ABCA1 variants affecting plasma HDL cholesterol. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **20**: 1983-1989

Warnick G, Benderson J, Albers J (1982) Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of High-density-lipoprotein cholesterol. *Clinical chemistry* **28**: 1379-1388

WHO (2000) *Obesity: preventing and managing the global epidemic*: World Health Organization.

Zannis V, Chroni A, Krieger M (2006) Role of apoA-I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J Mol Med* **84**: 276-294