



Actividad de la proteína transportadora de ésteres de colesterol. Polimorfismos del gen en pacientes colombianos con enfermedad coronaria

Activity of cholesteryl ester transfer protein. Gene polymorphism in colombian patients with coronary artery disease

Alejandra M. Giraldo, MSc.^(1,2) Nelsy Loango, MSc.^(1,3); Hugo Castaño, MD.⁽¹⁾; Patricia Landázuri, PhD.⁽¹⁾

Armenia-Quindío, Colombia.

INTRODUCCIÓN: la literatura relaciona la actividad de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) con enfermedad coronaria, por reducir el colesterol en las lipoproteínas de alta densidad. Adicionalmente, estudios recientes han identificado variaciones en el gen de la CETP, aunque el papel funcional de algunas de estas variantes sobre la actividad enzimática y la enfermedad coronaria, es desconocido.

OBJETIVO: examinar la asociación de los polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI* del gen de la CETP y la actividad de la enzima con enfermedad coronaria.

MÉTODOS: se evaluó la asociación entre la actividad de la enzima y los polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI*, en pacientes con obstrucción coronaria documentada por angiografía.

RESULTADOS: la angiografía permitió clasificar a los pacientes en dos grupos: uno (213 individuos) con obstrucción coronaria no significativa ($OC < 50\%$) y otro (346 individuos) con obstrucción coronaria significativa ($OC \geq 50\%$). La edad fue significativamente mayor en el último grupo en comparación con el primero. La actividad de la CETP fue 95,8 y 94,7 pmol/ μ L.h, para los grupos $OC < 50\%$ y $OC \geq 50\%$, respectivamente. Solo se encontró diferencia significativa entre los alelos M1 y M2 en la población general.

CONCLUSIÓN: no se halló asociación entre la actividad de la CETP, los polimorfismos *TaqBI*, *MspI*, *RsaI* y la obstrucción coronaria. En este trabajo se describen por primera vez los niveles de CETP en los polimorfismos *TaqIB*, *MspI*, *RsaI* para un grupo de pacientes colombianos. Se debe refinar la descripción del evento coronario, el contexto metabólico de los pacientes y el estudio de haplotipos para encontrar relaciones con enfermedad coronaria.

PALABRAS CLAVE: enfermedad coronaria, enzimas, polimorfismo, genética.

(1) Grupo de Investigación en Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Quindío. Armenia-Quindío, Colombia.

(2) Programa de Licenciatura en Biología y Educación ambiental. Facultad de Educación. Universidad del Quindío. Armenia-Quindío, Colombia.

(3) Programa de Biología. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Universidad del Quindío. Armenia-Quindío, Colombia.

Correspondencia: Dra. Patricia Landázuri, Calle 22 No. 19-68. Telefax: (576) 746 0158, Armenia Quindío. Correo electrónico: plandazu@uniquindio.edu.co

Recibido: 28/09/2011. Aceptado: 29/06/2012.

INTRODUCTION: literature links the activity of cholesteryl ester transfer protein (CETP) with coronary heart disease by lowering cholesterol in high density lipoproteins. Additionally, recent studies have identified variations in the CETP gene, although the functional role of some of these variants on enzyme activity and coronary heart disease is unknown.

OBJECTIVE: to examine the association of polymorphisms *TaqIB*, *MspI* and *RsaI* in CETP gene, and the enzyme activity with coronary disease.

METHODS: we assessed the association between enzyme activity and polymorphisms *TaqIB*, *MspI* and *RsaI* in patients with coronary obstruction documented by angiography.

RESULTS: angiography allowed classification of patients into two groups: one (213 patients) with no significant coronary obstruction (CO <50%) and one (346 patients) with significant coronary obstruction ($\geq 50\%$ CO). Age was significantly higher in the latter group compared to the first. CETP activity was 95.8 and 94.7 pmol/ μ L.h for groups CO <50% and $\geq 50\%$ CO, respectively. Significant difference was found only between the alleles M1 and M2 in the general population.

CONCLUSION: no association was found between the activity of CETP, *TaqIB*, *MspI*, *RsaI* polymorphisms and coronary obstruction. In this paper we describe for the first time CETP levels in *TaqIB* polymorphisms, *MspI*, *RsaI* for a group of Colombian patients. The description of the coronary event, the metabolic context of patients and the study of haplotypes must be improved in order to find relations with coronary disease.

KEYWORDS: coronary heart disease, enzymes, polymorphism, genetics.

(Rev Colomb Cardiol 2012; 19(4): 172-179)

Introducción

Debido a que las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el mundo occidental, la identificación de individuos con alto riesgo de padecerlas es relevante en la prevención de la mortalidad y morbilidad generada por éstas. Entre los factores de alto riesgo cardiovascular que permiten identificar estos individuos, se han incluido bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y algunos polimorfismos en los genes que codifican para enzimas y proteínas que participan en el metabolismo de las lipoproteínas; entre ellas se incluye la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP por sus siglas en inglés= cholesteryl ester transfer protein) (1, 2). Las HDL se identifican como un factor protector cardiovascular, porque entre otras acciones desempeñan un papel importante en el eflujo del exceso de colesterol desde los tejidos hacia el hígado, proceso conocido como transporte reverso del colesterol (TRC) (2-4). En el TRC, la CETP transfiere ésteres de colesterol desde las HDL hacia las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL), en un intercambio con triglicéridos (3, 4). En esta función la CETP es considerada pro-aterogénica al reducir los niveles de HDL y aumentar los de LDL (4). La evidencia ha mostrado que algunas mutaciones o polimorfismos en el gen que

codifica para la CETP, causan deficiencia de la proteína, lo cual produce una elevación en los niveles de HDL (5, 6). El polimorfismo del gen de la CETP más estudiado es el *TaqIB* (7); el alelo B2 del este polimorfismo se ha asociado con altos niveles de HDL y bajos niveles de CETP. Otros polimorfismos incluyen el *MspI* y el *RsaI* (8, 9) pero aun existe controversia sobre su efecto en la actividad de la CETP y el metabolismo de los lípidos. Trabajos del grupo que lidera esta investigación, así como de otros grupos, han descrito bajos niveles de HDL en la población colombiana sin conocerse la causa (10, 11). Es así como, en busca de mecanismos que expliquen estos hallazgos, se planteó este estudio con el fin de establecer una relación entre los polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI* en el gen de la CETP, la actividad de la proteína y la obstrucción coronaria documentada por angiografía.

Materiales y métodos

Población y muestra

Se incluyeron pacientes de ambos géneros, admitidos de manera secuencial en el Centro de Hemodinámica del Quindío, entre 2008 y 2009, con necesidad clínica de angiografía coronaria e historia de isquemia cardiaca, y al

menos un evento cardiovascular mayor. No se incluyeron embarazadas o pacientes con disbetalipoproteinemia, hiperlipidemia, hipertensión no controlada, daño renal o síndrome nefrótico idiopático no tratado. Todos los pacientes fueron incluidos de forma prospectiva. Antes de la angiografía firmaron un consentimiento informado y llenaron una encuesta para obtener los datos demográficos básicos (edad, sexo, dieta, antecedentes médicos personales y familiares y otros factores de riesgo cardiovascular). Se contó con la aprobación del comité de bioética de la Universidad del Quindío.

Angiografía coronaria

Se llevó a cabo de acuerdo con métodos estándar y estuvo a cargo de un médico intervencionista. Las lesiones se evaluaron por el método de análisis cuantitativo coronario (QCA) por dos observadores independientes que desconocían los resultados del laboratorio. La variabilidad inter-observador fue de 3,8%. Se definió enfermedad obstructiva significativa de las arterias coronarias como una o más estenosis $\geq 50\%$ en una arteria coronaria mayor o en cualesquiera de sus ramificaciones principales.

Este procedimiento permitió clasificar a los pacientes en dos grupos: uno con obstrucción coronaria mayor e igual a 50% (OC $\geq 50\%$) y otro con obstrucción coronaria entre cero y menor a 50% (OC $< 50\%$).

Muestras sanguíneas y análisis bioquímicos

Las muestras se obtuvieron después de ocho a doce horas de ayuno durante el procedimiento angiográfico y fueron enviadas al laboratorio. El personal del laboratorio no conocía la información de los pacientes y solo podía identificar las muestras por un número. El suero se obtuvo por centrifugación a 2.500 g por 15 minutos, a 4°C, separado en microtubos y almacenado a -20°C hasta su uso.

Perfil lipídico

Los parámetros del perfil lipídico se determinaron a partir del suero, usando como valores de referencia el Adults Treatment Panel III (ATP III) (12). El colesterol total (CT), los triglicéridos y el c-HDL, se midieron por métodos enzimáticos (kit Sera-Pak plus® de Bayer). Para quienes tenían los triglicéridos inferiores a 400 mg/dL, el c-LDL se calculó con la ecuación de Friedewald (13) y las VLDL = TGA/5.

Proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP)

La actividad de la CETP se midió utilizando el kit fabricado por Roar Biomedical Inc.; se leyó en un espectrofotómetro de fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 465 nm y una de emisión de 535 nm (14).

Genotipificación

El ADN genómico se extrajo mediante el estuche comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit® (Promega), a partir de los leucocitos de la sangre obtenida en tubos con EDTA, siguiendo las indicaciones del fabricante. Para determinar los polimorfismos TaqIB (intron 10 A/G), MspI (intron 8 A/G) y RsaI (exón 14, Ile405Val, A/G), se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), bajo las siguientes condiciones: A la solución tampón (10 mmol/L Tris-HCl (pH 9,0), 50 mmol/L KCl 0,1%; 1,5 mmol/L MgCl₂; 1% de Triton X-100), se agregaron dNTPs a concentraciones finales de 100 a 200 mmol/L, 0,5 mmol/L de los oligonucleótidos, 0,5 unidades de Taq polimerasa y 100 a 500 ng de DNA genómico en un volumen total de 50 μ L. Después de la denaturación inicial (5 minutos, 95°C), se realizaron 30 ciclos de amplificación a 95°C (30 segundos), 60°C (40 segundos) y 72°C (1 a 2 minutos) con una extensión final de 10 minutos a 72°C. El 20% del producto de la reacción de PCR fue utilizado para digestión con 2 a 3 U de las endonucleasas respectivas, en un volumen final de 20 μ L, por 12 horas a 37°C. Los fragmentos obtenidos fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio (8) y visualizados en un transiluminador UV.

Análisis estadístico

Se realizó mediante el programa SPSS v17. Se utilizó una prueba de Kolmogorov para determinar si las muestras presentaban o no una distribución Normal. Para las comparaciones entre los polimorfismos y la actividad de la CETP, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, mientras que para las comparaciones entre los alelos o entre la enfermedad y las demás variables se realizó una prueba de Mann-Whitney. Para determinar si los alelos se comportan como factores de riesgo, se realizó una prueba de razón de disparidad (OR) con un valor de significancia $< 0,05$. Las frecuencias alélicas fueron determinadas por conteo directo; para el equilibrio de Hardy-Winberg se utilizó un análisis de χ^2 para las variantes génicas del gen CETP estudiadas.

Resultados

Características generales de la población

El estudio incluyó 559 individuos, 361 hombres (edad promedio 61,5 (rango 60,3–62,7) años) y 198 mujeres (edad promedio 62,9 [rango 61,5 – 64,5] años), sin diferencias significativas para la edad entre géneros, pero sí dentro del mismo género (Tabla 1).

Análisis angiográfico

De 559 pacientes evaluados, 346 (61,9%) tenían OC $\geq$ 50% (246 hombres y 100 mujeres) y 213 (38,1%) tenían OC < 50% (115 hombres y 98 mujeres). El promedio de edad fue mayor en hombres y mujeres con OC $\geq$ 50%, (62,3 y 64,9 años respectivamente) que en hombres y mujeres con OC < 50% (59,8 y 61,0 años respectivamente), con diferencias significativas en las edades entre los grupos de obstrucción, $p < 0,009$.

Perfil lipídico

Los resultados muestran que en ambos grupos de estudio los valores de CT, TAG, c-VLDL y c-LDL estuvieron en el rango de normalidad. Los niveles plasmáticos de estas variables fueron más altos en el grupo OC $\geq$ 50%

que en el grupo OC < 50%, aunque sólo los valores de c-LDL tuvieron diferencias significativas. Para el c-HDL los niveles fueron significativamente más bajos en el grupo OC < 50%, en relación con el grupo OC $\geq$ 50%; no obstante los valores determinados en ambos grupos son bajos según la descripción del ATP III (Tabla 1).

Actividad de la CETP en suero

Por razones de disponibilidad de muestra, de los 559 individuos del estudio sólo a 546 se les determinó la actividad de CETP, la cual fue en promedio de 95,1 pmol/ μ L.h. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio o entre géneros, aunque los hombres presentaron valores de CETP mayores que las mujeres ($p=0,105$) (Tabla 2).

Polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI* del gen de la CETP

En la tabla 3 se observan las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI* para el gen de la CETP, los cuales no pudieron ser determinados en todos los individuos estudiados. Las frecuencias observadas para dichos polimorfismos no se distribuyen de acuerdo con el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 1.
EDAD Y FACTORES DE RIESGO LIPÍDICO EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA.

Variable	OC < 50% (n=213)		OC $\geq$ 50% (n=346)		p
	Media	IC 95%	Media	IC 95%	
Edad (años) hombres	57,4	(54,8 - 60)	63,7	(62,2 - 65,1)	0,00
Edad (años) mujeres	60,6	(58,3 - 62,9)	65	(63,4 - 67,4)	0,00
Colesterol (mg/mL)	164,1	(157,9 - 170,3)	168,6	(164,1 - 173,2)	NS
Triglicéridos (mg/mL)	150,2	(139,6 - 160,7)	160,1	(151,1 - 169)	NS
c-HDL (mg/dL)	41,4	(39,9 - 42,8)	38,4	(37,4 - 39,5)	0,00
c-VLDL (mg/dL)	29,2	(27,3 - 31,1)	32,2	(30,2- 34,1)	NS
c-LDL (mg/dL)	92,8	(86,8 - 98,8)	98,1	(93,9 - 102,3)	0,03

Tabla 2.
ACTIVIDAD DE CETP EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA.

CETP (pmol/ μ L.h)	Total (n=546)	OC <50% (n=198)	OC $\geq$ 50% (n=348)	p
Población	95,1 (90,3 - 99,9)	95,8 (87,2 - 104,4)	94,7 (89,0 - 100,5)	0,678
Hombres	(n=355) 97,5 (91,6 - 103,4)	(n= 104) 101,1 (89,3 - 112,8)	(n=251) 96,0 (89,2 - 102,8)	0,631
Mujeres	(n= 191) 90,7 (82,5 - 98,9)	(n=94) 89,9 (77,2 - 102,6)	(n=97) 91,5 (80,8 - 102,2)	0,847

OC = obstrucción coronaria. Valores expresados como la media y el intervalo de confianza (IC).

Se encontró que los polimorfismos más frecuentes en los individuos estudiados fueron B1B2 para el *TaqIB*, M1M1 para *MspI* y R2R2 para *RsaI*. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas y genotípicas entre los dos grupos de estudio.

Polimorfismos *TaqIB*, *MspI* y *RsaI* del gen de la CETP y su relación con la actividad de la enzima en la población de estudio

Polimorfismo *TaqIB*

El genotipo B1B1 mostró mayor actividad de CETP que los otros genotipos, en individuos con OC $\geq$ 50%; este genotipo también presentó mayor actividad de CETP. No se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio ni dentro de cada uno de ellos, como tampoco entre los alelos.

Polimorfismo *MspI*

Para la población en general y en el grupo OC $\geq$ 50%, el genotipo M1M2 presentó mayor actividad de CETP, mientras que para el grupo OC < 50% fue el genotipo M2M2. Respecto a los alelos, el M1 presentó menor actividad de CETP, en todos los grupos, con diferencias significativas sólo para los alelos de la población total y no entre los grupos de obstrucción coronaria (Tabla 4).

Polimorfismo *RsaI*

En este polimorfismo el genotipo homocigoto R1R2 tuvo los valores más altos de actividad CETP, tanto para la población total como para el grupo con OC < 50%. No se observaron diferencias significativas entre genotipos del mismo grupo de estudio y entre los dos grupos de pacientes (Tabla 4).

El cálculo del riesgo relativo (OR) no arrojó diferencias significativas entre los grupos en cada uno de los polimorfismos, así: *TaqIB*: OR = 1,14 (IC 95%: 0,8-1,64), $p=0,4$; *MspI*: OR=1,04 (IC 95%: 0,6-1,8), $p=0,88$. *RsaI*: OR= 1,11 (IC 95%: 0,6-1,82) $p=0,68$.

Discusión

Este estudio fue realizado en un grupo de pacientes que asistieron a un centro de hemodinámica por necesidad clínica de angiografía. Los resultados confirman dos riesgos típicos de la enfermedad coronaria como son género y edad; así, en el estudio fue mayor el número de hombres con obstrucción coronaria que el de mujeres, y la obstrucción coronaria significativa ($\geq$ 50%) fue más frecuente en hombres y mujeres de mayor edad que en los individuos más jóvenes de ambos géneros. Las mujeres con OC $\geq$ 50% tenían más edad que los hombres del mismo grupo, lo que supone que igualaron el riesgo de éstos al aumentar la edad, como ya ha sido

Tabla 3.
DISTRIBUCIÓN ALÉLICA Y GENOTÍPICA DE LOS POLIMORFISMOS DE LA CETP EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Polimorfismos	Total (%)	OC < 50%	OC $\geq$ 50%	P
<i>TaqIB</i>	n=552	n=209	n=343	
B1B1	126 (22,8)	42 (20,1)	84 (24,5)	0,516
B1B2	300 (54,4)	120 (57,4)	180 (52,5)	
B2B2	126 (22,8)	47 (22,5)	79 (23,0)	
B1	276 (50,0)	102 (48,8)	174 (50,7)	
B2	276 (50,0)	107 (51,2)	160 (49,3)	
<i>MspI</i>	n=394	n=142	n=252	
M1M1	260 (66,0)	94 (66,2)	166 (65,8)	0,700
M1M2	127 (32,2)	45 (31,7)	82 (32,6)	
M2M2	7 (1,8)	3 (2,1)	4 (1,6)	
M1	324 (82,2)	117 (83,4)	207 (82,1)	
M2	70 (17,8)	25 (16,6)	46 (17,9)	
<i>RsaI</i>	n=355	n=142	n=213	
R1R1	46 (12,0)	15 (10,5)	31 (14,6)	0,978
R1R2	87 (24,5)	39 (27,5)	48 (22,5)	
R2R2	222 (62,5)	88 (62,0)	134 (62,9)	
R1	89 (25,1)	34 (24,0)	55 (25,8)	
R2	266 (74,9)	108 (76,0)	158 (74,2)	

OC= obstrucción coronaria. Los datos son expresados como el número de observaciones (porcentaje).

establecido. El perfil lipídico mostró un riesgo adicional que es el c-HDL bajo; sin embargo, ambos grupos tenían niveles de HDL riesgosos.

Hasta donde se conoce, este es el primer estudio en el país que mide la actividad de la CETP en una población con enfermedad coronaria evidenciada por angiografía. Así mismo, en el mundo no existe consenso sobre cuáles son los niveles normales de CETP en humanos, y en algunas investigaciones se describen los niveles de la proteína en concentración (mg/L) (15, 16) y en otras en actividad (nmol/h) (17, 16), lo cual supone una dificultad adicional para comparar resultados. Vasan y colaboradores (17), describen, para una población de 1.978 participantes (algunos de ellos con enfermedad cardiovascular), una actividad de CETP promedio de 149 ± 85 nmol/h, 1,6 veces mayor a la descrita en el presente estudio (95,1 nmol/h), mientras que Stein y colaboradores (18), en un estudio con individuos con enfermedad coronaria o con factores de riesgo equivalentes, obtuvieron un promedio de actividad CETP de 26,1 nmol/mL/h, lo que representa 3,5 menos que lo descrito en el presente trabajo. Las diferencias entre las poblaciones son notorias a pesar de que los tres trabajos usan la misma técnica de medición y fabricante del reactivo; estas diferencias podrían sugerir, entre otros hechos, que hay influencia genética,

ambiental y del estado metabólico en los niveles de CETP y la necesidad de una estandarización de las medidas en población sana.

Por otro lado, la funcionalidad de la actividad o de la concentración de la CETP como marcador de riesgo cardiovascular aun es controvertida; en este estudio no se encontró asociación entre los niveles de CETP y el grado de obstrucción coronaria, similar a lo hallado por Borggreve y colaboradores (19) en un estudio de casos y controles de individuos en enfermedad coronaria. Pero, contrario a Zeller y colaboradores (16), quienes avalan la hipótesis que una elevada actividad de transferencia de ésteres de colesterol en suero se asocia con el inicio temprano de la enfermedad coronaria en individuos que sufren un infarto del miocardio, Vasan y colaboradores (17), encontraron una asociación inversa entre los niveles de CETP y la incidencia de eventos cardiovasculares. Aun más, en población japonesa donde es común una mutación en el gen que codifica para la CETP, la cual causa bajos niveles de la proteína y altos niveles de HDL, la prevalencia de enfermedad cardiovascular es alta (20), lo cual sugiere que la actividad CETP, además de ser población específica, es altamente influenciada por factores metabólicos y ambientales (21, 22).

Tabla 4.
RELACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS EN EL GEN DE LA CETP CON LA ACTIVIDAD DE CETP EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Polimorfismos		Total (%)		OC < 50%		OC ≥ 50%
		CETP pmol/μL.h.		CETP pmol/μL.h.		CETP pmol/μL.h.
<i>TaqIB</i>	n		n		n	
B1B1	110	102,4 (6,1)	41	106,7 (12,1)	69	99,8 (6,5)
B1B2	273	92,3 (3,4)	103	90,5 (5,4)	170	93,3 (4,5)
B2B2	116	98,5(5,1)	41	106,1 (10,2)	75	94,3 (5,5)
B1	246	96,8 (2,7)	92,5	97,7 (4,8)	154	96,3 (3,2)
B2	253	95,1 (2,5)	92,5	97,4 (4,4)	160	93,8 (3,0)
<i>MspI</i>						
M1M1	244	93,3 (3,5)	92	91,8 (6,1)	152	94,2 (4,2)
M1M2	120	111,7 (6,2)	43	108,3(11,0)	77	113,5 (7,5)
M2M2	6	93,6 (15,1)	2	116,7 (9,3)	4	82,1 (20,5)
M1	304	96,5(2,3)*	114	94,9 (4,1)	191	98,2 (2,8)
M2	66	110,0 (5,7)	23	109,1(10,1)	43	110,6(7,0)
<i>RsaI</i>						
R1R1	43	97,7 (11,5)	16	96,1 (21,1)	27	98,7 (13,6)
R1R2	83	106,8 (6,1)	37	110,1 (9,4)	46	104,3 (8,1)
R2R2	203	104,8 (4,3)	80	100,2 (7,2)	123	107,8 (5,3)
R1	84	105,1 (2,7)	34	103,6 (8,4)	50	101,2 (6,4)
R2	245	102,2 (5,1)	99	102,1 (4,5)	146	107,2 (3,4)

Valores expresados como la media y error estándar; CETP: proteína transportadora de ésteres de colesterol. NS: no significativo, nivel de confianza del 95%. *p<0,05 entre los grupos.

En relación con la variación genética de la enzima y su influencia sobre la enfermedad cardiovascular, se han identificado varios polimorfismos en el gen; en la presente investigación se estudió la relación entre los polimorfismos TaqIB, MspI y RsaI en el gen y la actividad de la proteína considerando como variable dependiente la enfermedad coronaria. Los resultados muestran que las frecuencias genotípicas vistas en los tres polimorfismos, son diferentes a las esperadas (no estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg), lo que supone una presión evolutiva sobre la población de estudio que no fue investigada en este trabajo; sin embargo, para el polimorfismo TaqIB la frecuencias fueron similares a lo encontrado por Porchay-Balde'relli y colaboradores (23) para una población de pacientes con diabetes tipo 2, con riesgo cardiovascular; donde el polimorfismo B1B2 fue el más frecuente. Esta similitud en las frecuencias posiblemente obedece a que en ambos estudios las poblaciones fueron seleccionadas para una patología o riesgo cardiovascular específico, contrario a lo descrito por Kuivenhoven y colaboradores (8) para una población escogida por los niveles de HDL, donde se evidenció que las frecuencias de los tres polimorfismos sí estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

De igual forma, el trabajo que se expone no encontró asociación entre la enfermedad coronaria y las frecuencias genéticas y alélicas, resultados que son sustentados por varias investigaciones, entre ellas la de Horne y colaboradores (9), quienes clasificaron al polimorfismo TaqIB como un pobre marcador de enfermedad coronaria. Sin embargo es pertinente mencionar que existen otros trabajos que describen lo contrario, y asocian el alelo B1 con enfermedades cardiovasculares (24, 25). Pese a que los polimorfismos MspI y RsaI son menos estudiados, algunos trabajos los han relacionado con enfermedad coronaria; así, el alelo M1 y el alelo R1 son factores de riesgo de enfermedad coronaria (9, 26). Por el contrario, en el presente trabajo el alelo M1 mostró menor actividad de CETP que el alelo M2, pero no se encontró relación con el grado de obstrucción coronaria; es posible que en nuestra población un estudio de haplotipos pudiera generar mejores resultados, como lo demostró Horne (9) en el trabajo citado anteriormente para el polimorfismo MspI en conjunto con otras mutaciones en el gen.

En el presente trabajo no se encontró relación entre los polimorfismos y la actividad de CETP, aunque la literatura describe que los polimorfismos TaqIB, MspI y RsaI dan cuenta de 10,6%, 18,8% y 3,6%, respectivamente, de la

variabilidad en la concentración de CETP en plasma (8). El estudio también encontró que la actividad de CETP para estos polimorfismos fue igual, resultados que difieren de lo descrito por Ikewaki (25) y colaboradores en un estudio multicéntrico en población japonesa, en donde se muestra que la actividad CETP era B1B1 > B1B2 > B2B2. Por su parte, Bruce y colaboradores (26) encontraron también diferencias en la concentración de CETP para los alelos del polimorfismo RsaI (I405V).

No es sorprendente, entonces, que el presente trabajo no encuentre relación entre polimorfismos y enfermedad coronaria, si en esta población las variaciones genéticas no marcaron una diferencia en la actividad de la enzima en plasma; como se había mencionado antes, nuestros resultados sustentan y justifican la hipótesis que los polimorfismos y los niveles de CETP por sí solos no son marcadores de riesgo cardiovascular y que el contexto metabólico del individuo, de la población estudiada y su carga genética, son determinantes en estas relaciones (3).

Posiblemente las limitaciones de ese estudio apoyan esta hipótesis: primero la definición del grupo con OC < 50% incluye individuos sin estenosis, o con estenosis no significativas (< 50%) en una arteria coronaria mayor o en cualesquiera de sus ramificaciones principales; segundo, no se especifica el tipo de evento (infarto, angina u otro.), que llevó al individuo a requerir angiografía; tercero, en los pacientes con obstrucción significativa, el tipo de vaso obstruido, el número y el grado de obstrucción en cada vaso, pueden ser relevantes. Por último, no fue posible tener el mismo número de muestras para cada polimorfismo debido a la dificultad de amplificación de algunas de las mismas, lo que posiblemente limita la herramienta estadística.

En conclusión, nuestro trabajo no encontró asociación entre la actividad de la CETP, los polimorfismos TaqIB, MspI, RsaI y la obstrucción coronaria documentada por angiografía. Este trabajo describe por primera vez la actividad de CETP en los polimorfismos mencionados para un grupo de pacientes colombianos. Finalmente, son necesarios estudios futuros que consideren el contexto metabólico y el estudio de haplotipos para encontrar el aporte de estas variaciones genéticas a la enfermedad.

Financiación

La investigación es parte del proyecto 111340820436-304-2007 financiado por Colciencias y la Universidad del Quindío, proyecto 376-2007.

Agradecimientos

A los pacientes que accedieron a participar en el proyecto.

Bibliografía

- Schechter CB, Barzilai N, Crandall JP, Atzmon G. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) genotype and reduced CETP levels associated with decreased prevalence of hypertension. *Mayo Clin Proc.* 2010; 85 (6): 522-526.
- Weissglas-Volkov D, Pajukanta P. Genetic causes of high and low serum HDL-cholesterol. *J Lipid Res.* 2010; 51: 2032-2057.
- Vergeer M, Holleboom AG, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA. The HDL hypothesis: does high-density lipoprotein protect from atherosclerosis? *J Lipid Res.* 2010; 51: 2058-2073.
- Chapman MJ, Goff WL, Guerin M, Kontush A. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J.* 2010; 31: 149-164.
- McCaskie PA, Beilby JP, Chapman CM, Hung J, McQuillan BM, Thompson PL, et al. Cholesteryl ester transfer protein gene haplotypes, plasma high-density lipoprotein levels and the risk of coronary heart disease. *Hum Genet.* 2007; 121: 401-411.
- Nagano M, Yamashita S, Hirano K-I, Ito M, T. Maruyama M, Ishihara Y, et al. Two novel missense mutations in the CETP gene in Japanese hyperalphalipoproteinemic subjects: high-throughput assay by Invader® assay. *J Lipid Res.* 2002; 43: 1011-1018.
- Boekholdt SM, Thompson JF. Natural genetic variation as a tool in understanding the role of CETP in lipid levels and disease. *J Lipid Res.* 2003; 44: 1080-1093.
- Kuivenhoven JA, de Knijff P, Boer JMA, Smalheer HA, Botma GJ, Seidell JC, et al. Heterogeneity at the CETP Gene Locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1997; 17: 560-568.
- Horne BD, Camp NJ, Anderson JL, Mower CP, Clarke JL, Kolek MJ, et al. Multiple less common genetic variants explain the association of the cholesteryl ester transfer protein gene with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49: 2053-2060.
- Landázuri P, Loango N, Gallego ML. Factores de riesgo cardiovascular en consanguíneos de pacientes hipertensos. *Colomb Med.* 2011; 42: 17-25.
- Poveda E, Callas N, Baracaldo C, Castillo C, Hernández P, Guerra M. Evaluación de las concentraciones de lípidos y apoproteínas A-I y B-100 en un grupo de escolares de cinco departamentos del centro-oriente de Colombia. *Biomédica* 2007; 27: 385-99.
- National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education program Adult Treatment III. *JAMA* 2001; 285: 2486-98.
- Friedewald WF, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1977; 18: 499-502.
- Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein-TaqIB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk: the Framingham study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 1323-1329.
- Mazzucco S, Agostini F, Mangogna A, Cattin L, Biolo G. Prolonged inactivity up-regulates cholesteryl ester transfer protein independently of body fat changes in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 2508-2512.
- Zeller M, Masson D, Farnier M, Lorgis L, Deckert V, Pais de Barros JP, et al. High serum cholesteryl ester transfer rates and small high-density lipoproteins are associated with young age in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 50: 1948-1955.
- Vasan RS, Pencina MJ, Robins SJ, Zachariah JP, Kaur G, D'Agostino RB, et al. Association of circulating cholesteryl ester transfer protein activity with incidence of cardiovascular disease in the community. *Circulation.* 2009; 120: 2414-2420.
- Stein EA, Roth EM, Rhyne JM, Burgess T, Kallend D, Robinson JG. Safety and tolerability of dalcetapib (RO4607381/JTT-705): results from a 48-week trial. *Eur Heart J.* 2010; 31: 480-488.
- Borggreve SE, Hillege HL, Dallinga-Thie GM, de Jong PE, Wolffenbuttel BR, Grobbee DE, et al. High plasma cholesteryl ester transfer protein levels may favour reduced incidence of cardiovascular events in men with low triglycerides. *Eur Heart J.* 2007; 28: 1012-1018.
- Hirano K, Yamashita S, Nakajima N, Arai T, Maruyama T, Yoshida Y, et al. Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency is extremely frequent in the Omagari area of Japan; marked hyperalphalipoproteinemia caused by CETP gene mutation is not associated with longevity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1053-1059.
- Tsujita Y, Nakamura Y, Zhang Q, Tamaki S, Nozaki A, Amamoto K, et al. The association between high-density lipoprotein cholesterol level and cholesteryl ester transfer protein TaqIB gene polymorphism is influenced by alcohol drinking in a population-based sample. *Atherosclerosis.* 2007; 191 (1): 199-205.
- de Grooth GJ, Klerkx AHM, Stroes ESG, Stalenhoef AFH, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA. A review of CETP and its relation to atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2004; 45: 1967-1974.
- Porchay-Bald'erelli I, P'ean F, Bellili N, Jaziri R, Marre M, Fumeron F, for the DIA-BHYCAR STUDY GROUP. The CETP TaqIB polymorphism is associated with the risk of sudden death in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30: 2863-2867.
- Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA, Zwiderman AH, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. *Eur Heart J.* 2008; 29: 2792-2799.
- Ikewaki K, Mabuchi H, Teramoto T, Yamada N, Oikawa S, Sasaki J, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein activity and TaqIB polymorphism with lipoprotein variations in Japanese subjects. *Metabolism* 2003; 52 (12): 1564-1570.
- Bruce C, Sharp DS, Tall AR. Relationship of HDL and coronary heart disease to a common amino acid polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein in men with and without hypertriglyceridemia. *Lipid Res.* 1998; 39: 1071-1078.