

---

---

## **Polimorfismo -219 G/T en el gen APOE en relación con los niveles de colesterol y la enfermedad aterosclerótica en Argentina.**

*Virginia Bañares<sup>1,2</sup>, Diego Wyszynski<sup>3</sup>, Laura Schreier<sup>4</sup> y Marcelo Tavella<sup>2,5</sup>.*

<sup>1</sup>Centro Nacional de Genética Médica, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos Malbrán", Buenos Aires,

<sup>2</sup>Programa de Prevención del Infarto en Argentina (PROPIA), Universidad Nacional de La Plata, Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Provincia de Buenos Aires, La Plata,

<sup>3</sup>Genetics Program, Boston University School of Medicine, Boston, Massachusetts, USA,

<sup>4</sup>Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires e

<sup>5</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, La Plata. Argentina.

**Palabras clave:** Apolipoproteína E, factores de riesgo, aterosclerosis, colesterol.

**Resumen.** El alelo  $\epsilon 4$  del gen APOE se asocia con riesgo aumentado de Enfermedad Cardiovascular Aterosclerótica (ECA) y con mayores concentraciones de colesterol total (CT) y de LDL (c-LDL) en plasma; sin embargo, algunos estudios no reprodujeron esos resultados. Esta controversia señala que otros factores, genéticos y/o ambientales podrían actuar sobre estas asociaciones. Variaciones cuantitativas en los niveles de expresión del gen originadas por polimorfismos en el promotor, como el -219G/T, podrían tener un rol como factor de riesgo de la enfermedad. Previamente los autores del presente trabajo hemos reportado la asociación entre el alelo  $\epsilon 4$  y la presencia de lesiones ateroscleróticas en varones. En este trabajo se investiga si hay asociación entre el polimorfismo APOE -219G/T, la ECA y los niveles de lípidos en plasma. Se estudiaron 380 muestras de ADN de pacientes con estudios angiográficos realizados, provenientes de la zona sur de la provincia de Buenos Aires. El análisis con regresiones logísticas mostró diferencias no significativas en las distribuciones del alelo T y del alelo G entre casos y controles, aún después de estratificar por sexo y por edad. Con regresiones lineales se observó que: hay diferencias no significativas entre los niveles de CT y c-LDL y la presencia/ausencia del alelo T, pero el alelo G se asoció con valores más elevados de CT ( $p=0,001$ ) y de c-LDL ( $p=0,020$ ) en varones. Entre mujeres no hubo diferencias significativas. Estos resultados señalan que el alelo G del polimorfismo -219 del gen APOE se asocia con valores mayores de CT y LDL-c en varones,

pero este polimorfismo no actuaría como un factor de riesgo de ECA en la población argentina.

### **APOE -219G/T Polymorphism related to serum lipid levels in atherosclerotic patients from Argentina.**

*Invest Clin 2010; 51(1): 17 - 26*

**Key words:** Apolipoprotein E, APOE, risk factor, cholesterol, genetics.

**Abstract.** APOE  $\epsilon$ 4 allele is associated with increased risk for Coronary Artery Disease and higher concentrations of total-cholesterol and low-density-lipoprotein-cholesterol; however, some studies could not reproduce these results. This fact suggests that other genetic or environmental factors are acting on these associations. Quantitative variations of gene expression, conferred by polymorphisms in the promoter area, as -219G/T, could play also a role as a risk factor for CAD. Since, in a previous study, we found an association between the APOE  $\epsilon$ 4 allele and atherosclerotic lesions in males of our population, we investigated now whether the APOE promoter polymorphism -219 G/T is also associated with the presence of atherosclerotic lesions and plasma lipid levels. Genotypes were obtained from 380 DNA samples from patients undergoing an angiography study. Logistic regression analysis showed no significant associations between T allele, or G allele, and the presence of atherosclerotic lesions. Lineal regression analysis showed association between G allele and higher TC ( $p=0.002$ ) and LDL-c ( $p=0.022$ ) levels. After stratified by sex: TC ( $p=0.001$ ) and LDL-c ( $p=0.020$ ) for males, females showed no significant differences. For cases and controls groups, the allele G has still been associated with higher levels of TC ( $p=0.007$ ,  $p=0.048$  respectively). No associations for T allele were observed. We conclude that G allele of polymorphism -219 on the promoter of APOE gene is associated with higher TC and LDL-c levels in males, but this polymorphism is not acting as a risk factor of CAD in our population.

*Recibido: 10-12-2008. Aceptado: 08-07-2009.*

## **INTRODUCCIÓN**

En Argentina, las cifras de morbi-mortalidad causadas por enfermedades cardiovasculares están entre las más altas de América (1).

El fin del estudio genético de la Enfermedad Cardiovascular Aterosclerótica (ECA) es determinar las variaciones en el genoma que puedan ser utilizadas para predecir el

riesgo del individuo de presentar la enfermedad, su grado de progresión y su severidad (2). Los factores de riesgo de tipo genético pueden mejorar la predicción de riesgo de ECA y al no modificarse con la progresión de la enfermedad pueden brindar una valoración más precisa.

La apolipoproteína E (apo E) tiene un rol esencial en el control homeostático de la concentración del colesterol (3, 4). En

los humanos, apo E es un componente estructural tanto de los quilomicrones como de los remanentes de las VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) y también está presente en las HDL (lipoproteínas de alta densidad) interviniendo en el transporte reverso del colesterol. En las células de las lesiones ateroscleróticas humanas hay expresión del gen APOE (5) y ésta influye en la excreción del colesterol de estas células (6). El gen APOE fue estudiado en varias poblaciones y más allá de las contradicciones de algunos reportes (7), hoy hay una nutrida evidencia de la asociación entre el alelo  $\epsilon 4$  y el aumento en el riesgo y la severidad de la Enfermedad Cardiovascular Aterosclerótica (8-10) y con los niveles de lípidos en plasma (11, 12). También hay resultados opuestos respecto de la relación entre el genotipo de APOE y la respuesta lipoproteica a las modificaciones en la dieta (13-16). Estas discrepancias que surgen entre distintos estudios, sugieren que otros factores genéticos y/o ambientales están actuando sobre estas asociaciones.

En la zona reguladora del gen APOE hay polimorfismos genéticos descriptos que presentan distinta actividad transcripcional basal para sus variantes polimórficas o alelos (14). Se observaron distintas concentraciones de apoproteína E en plasma para los dos alelos, G y T, del polimorfismo -219, y distinta respuesta a la dieta (15). El alelo T se asoció con el aumento de riesgo de sufrir un infarto de miocardio en la población francesa (15) y de enfermedad coronaria en la población finlandesa (16).

Se puede esperar, que además de las modificaciones cualitativas de los alelos  $\epsilon$  sobre la estructura de las proteínas, variaciones cuantitativas en la expresión del mRNA también jueguen un rol como factor de riesgo de enfermedad coronaria.

En el trabajo actual se investiga si el polimorfismo -219 G/T, en la zona reguladora de este gen, se asocia con la enferme-

dad cardiovascular aterosclerótica y con los niveles de lípidos plasmáticos en una muestra de la población Argentina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras de sangre de pacientes de ambos géneros, con indicación de estudio angiográfico, residentes en la zona sur de la provincia de Buenos Aires, reclutados consecutivamente entre los años 1998 y 2000 en el Servicio de Hemodinamia del Instituto del Tórax de La Plata, Buenos Aires. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado acorde a los lineamientos institucionales locales. La indicación del estudio se realizó, tanto por sospecha clínica de enfermedad cardiovascular aterosclerótica, como por evaluación prequirúrgica en casos de cirugías valvulares. Todos los estudios angiográficos se realizaron con el mismo aparato y con el mismo equipo de trabajo. Según el informe de la cineangiocoronariografía se clasificaron como casos, aquellos que presentaron estenosis arterial mayor o igual al 50% y como controles, aquellos con informe de angiografía normal (17, 18). Los pacientes con estenosis menor al 50% fueron excluidos. Las muestras de sangre se extrajeron de pacientes con 8 a 12 h de ayuno, en dos tubos de plástico, uno de ellos con EDTA como anticoagulante para la extracción del ADN y el otro sin anticoagulante para separar posteriormente el suero. Se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Sobre 390 muestras recolectadas, 263 fueron casos: 68 (25,9%) mujeres, 195 (74,1%) varones y las restantes 127 fueron controles: 62 (48,8%) mujeres y 65 (51,2%) varones.

El ADN se purificó a partir de 390 muestras de sangre anticoagulada con EDTA con la técnica de "Salting Out" descripta por Miller y col. (19). Los genotipos se obtuvieron en 380 muestras con PCR-RFLP. Se utilizó un "primer" con un

cambio de base para introducir un sitio de corte para la enzima Bstzn I cuando el alelo G estuviese presente. Los segmentos de ADN se separaron en gel de poliacrilamida al 15%, a 4°C y tampón TBE 1X. Se visualizaron por tinción con plata.

Los valores de colesterol total (CT), colesterol de LDL (c-LDL) y de colesterol de HDL (c-HDL) se determinaron con métodos estandarizados en 339 muestras de suero.

El análisis estadístico se realizó con el software Stata, version 9.2 (Stata Corporation, 2006). Se realizaron regresiones múltiples, regresión logística para obtener "odds ratios" (OR) y sus intervalos con un 95% de confianza para evaluar casos y controles y regresión lineal para examinar los valores de lípidos plasmáticos. En ambos casos los genotipos se agruparon por un lado, según la presencia/ausencia del alelo T (número de individuos con genotipo TT o GT vs. número de individuos con genotipo GG) y por otro lado, por la presencia/ausencia del alelo G (número de individuos con genotipo GG o GT vs. número de indivi-

duos con genotipo TT). En el cálculo de las medias lipídicas se eliminaron los datos de los individuos que tomaban hipolipemiantes. Las edades se compararon mediante la prueba de ANOVA.

## RESULTADOS

Las características generales de la muestra están presentadas en la Tabla I. La comparación entre casos y controles reveló que entre los casos hubo mayor proporción de fumadores,  $p=0,008$  (OR=2,12 95% IC 1,21-3,71); mayor proporción de varones  $p< 0,0001$  (OR=2,74 95% IC 1,75-4,26); y valores más elevados de colesterol total ( $p=0,0108$ ) y colesterol de LDL ( $p=0,0042$ ) y menor valor de colesterol de HDL ( $p=0,0020$ ).

La distribución de los genotipos, del alelo T y del alelo G del polimorfismo -219 G/T, entre casos y controles, para varones y mujeres está resumida en la Tabla II. El análisis estadístico mostró diferencias no significativas en la presencia/ausencia del alelo T entre casos y controles, ajustado por

**TABLA I**  
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA ESTUDIADA

	Casos* (n = 263)	Controles (n = 127)	p	OR (95% IC)
Edad (media, 95% IC)	57,0 (55,8-58,2)	56,5 (54,8-58,2)	0,6520	-
Fumadores	87 (53,4%)	27 (35,1%)	<b>0,0080</b>	2,12 (1,21-3,71)
Sexo, varones	195 (74,1%)	65 (51,2%)	<b>&lt;,0001</b>	2,74 (1,75-4,26)
Hipolipemiantes	10 (6,10%)	0 (0,00%)	<b>0,0330</b>	-
Diabetes	32 (19,4%)	10 (13,0%)	0,2203	1,61 (0,75-3,48)
Hipertensión	98 (59,8%)	36 (48,0%)	0,0893	1,61 (0,93-2,79)
Colesterol Total mg/dL (media, 95% IC)	221,2 (214,6-227,9)	206,3 (196,9-215,6)	<b>0,0108</b>	-
Colesterol de LDL mg/dL (media, 95% IC)	146,8 (140,2-153,4)	129,8 (120,3-139,3)	<b>0,0042</b>	-
Colesterol de HDL mg/dL (media, 95% IC)	41,6 (39,8-43,4)	46,7 (44,1-49,3)	<b>0,0020</b>	-

\* Sujetos con enfermedad cardiovascular aterosclerótica. IC intervalo de confianza.

**TABLA II**  
DISTRIBUCIÓN ALÉLICA Y GENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO -219 G/T EN EL GEN APOE

		Alelo T		Alelo G		Genotipo		
		Con alelo T	Sin alelo T	Con alelo G	Sin alelo G	GG	GT	TT
Casos	Mujeres	49	18	50	17	18	32	17
		73,1%	26,9%	74,6%	25,4%	26,9%	47,8%	25,4%
	Varones	134	57	150	41	57	93	41
		70,2%	29,8%	78,5%	21,5%	29,8%	48,7%	21,5%
	Total	183	75	200	58	75	125	58
		70,9%	29,1%	77,5%	22,5%	29,1%	48,4%	22,5%
Controles	Mujeres	41	18	48	11	18	30	11
		69,5%	30,5%	81,4%	18,6%	30,5%	50,8%	18,6%
	Varones	47	16	43	20	16	27	20
		74,6%	25,4%	68,3%	31,7%	25,4%	42,9%	31,7%
	Total	88	34	91	31	34	57	31
		72,1%	27,9%	74,6%	25,4%	27,9%	46,7%	25,4%

Se indica el número de individuos observado y el porcentaje.

sexo y edad,  $p=0,732$  (IC 95%, 0,559 -1,502). Al agrupar por la presencia/ausencia del alelo G, también se observaron diferencias no significativas,  $p=0,471$  (IC 95%, 0,720-2,029). Al estratificar la muestra por sexo y por edad se obtuvieron diferencias no significativas.

El valor medio de la edad, agrupando por cada genotipo resultante fue:  $57,97 \pm 8,88$ ,  $56,36 \pm 9,24$  y  $56,60 \pm 9,27$  años entre los casos y  $54,12 \pm 11,14$ ,  $57,95 \pm 8,83$  y  $54,87 \pm 11,87$  años entre los controles para los genotipos GG, GT y TT respectivamente. La prueba de ANOVA mostró que las diferencias no fueron significativas ( $p=0,467$ ) para los casos ni ( $p=0,177$ ) para los controles.

Los valores medios de CT, c-LDL y c-HDL para portadores y no portadores del alelo T mostraron diferencias no significativas,  $p=0,483$  (IC 95%, -7,735 - 16,333),  $p=0,630$  (IC 95%, -8,994 - 14,822) y  $p=0,309$  (IC 95%, -5,011 - 1,593) respectivamente.

Al agrupar por la presencia/ausencia del alelo G, los valores de CT y c-LDL fueron significativamente más altos,  $p=0,002$  (IC 95%, -33,199 - -7,509) y  $p=0,022$  (IC 95%, -28,699 - -2,207) respectivamente cuando el alelo G está presente. Al estratificar por el género, solo en el grupo de los varones las diferencias resultaron significativas, CT,  $p=0,001$  y c-LDL,  $p=0,020$  (Tabla III). Al estratificar por edad, CT,  $p=0,044$  y c-LDL,  $p=0,046$  para los menores de 61 años, mientras que para los mayores de 60 años, CT,  $p=0,001$  y c-LDL,  $p=0,08$ . Los valores medios de c-HDL entre los portadores y no portadores del alelo G mostraron diferencias no significativas,  $p=0,305$  (IC 95%, -5,324 - 1,669).

## DISCUSIÓN

La finalidad de este estudio fue evaluar si el polimorfismo -219 G/T en la zona promotora del gen APOE actuaría como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular ate-

**TABLA III**  
VALORES MEDIOS DE COLESTEROL TOTAL (CT), COLESTEROL DE LDL (c-LDL), COLESTEROL DE HDL (c-HDL) EN VARONES Y MUJERES PORTADORES Y NO PORTADORES DEL ALELO G

		CT			c-LDL			c-HDL		
		con alelo G	sin alelo G	p	con alelo G	sin alelo G	p	con alelo G	sin alelo G	P
Mujeres	Media	228,36	217,00	NS	145,78	133,93	NS	46,47	43,61	NS
		80	23		66	20		76	23	
	DE	51,03	65,59		40,19	52,50		15,06	15,79	
Varones	Media	217,02	191,20	0,001	144,29	126,21	0,20	42,36	40,88	NS
		169	51		140	36		161	51	
	DE	50,56	41,14		49,98	36,36		13,79	11,69	
Total	Media	220,66	199,22	0,002	144,77	128,96	0,022	43,68	41,73	NS
		249	74		206	56		237	74	
	DE	50,89	50,99		46,97	42,51		14,31	13,05	

Valores expresados en mg/dL. DE: desviación estándar. n: número de muestras. NS: no significativo.

rosclerótica en la población argentina. La población de este estudio mostró las características propias de una muestra de este tipo (20), entre los casos hubo mayor proporción de varones, 3 por cada mujer, más fumadores, valores más elevados de colesterol total y de LDL y menor valor de colesterol de HDL.

La distribución del polimorfismo entre individuos con lesiones ateroscleróticas (casos) fue semejante a la de los individuos sin lesiones (controles). Esta semejanza se mantuvo cuando se evaluaron sólo los varones, solo las mujeres o cuando se seleccionaron grupos por edad, menores de 61 años y mayores de 60. Entonces, este polimorfismo no actuaría como un factor de riesgo de aterosclerosis en esta muestra de nuestra población. Esta afirmación concuerda con el hecho de que las edades medias de los individuos agrupados por los genotipos, tanto entre los casos como entre los controles, fueron semejantes. Cuando un alelo se asocia como un factor de riesgo para una enfermedad, se puede esperar que la edad a la

cual se manifieste la enfermedad sea menor entre los portadores de dicho alelo.

Los valores de colesterol total, de LDL y colesterol de HDL para los portadores del alelo T y los no portadores fueron semejantes. Estos resultados concuerdan con los hallados en otras poblaciones, finlandesa (16, 21) y francesa (15). Cuando se agruparon considerando la presencia o no del otro alelo, el G, los valores de colesterol de HDL no mostraron diferencias, sin embargo los niveles de colesterol total y de LDL fueron más elevados en los portadores del alelo G. Las diferencias en los valores de colesterol total se mantuvieron cuando se consideró la edad y la enfermedad, pero al separar por el sexo sólo los varones conservaron las diferencias. Esta relación entre colesterol más alto asociado al alelo G en este estudio es llamativa. Este alelo se asoció con mayor actividad transcripcional y mayor expresión de apo E por lo cual se esperarían menores niveles de colesterol. Sin embargo, hay que tener presente que esos estudios se realizaron en cultivos de tejidos provenientes de

pacientes con Enfermedad de Alzheimer (17). Por otro lado Lambert también encontró un resultado llamativo, observó mayor concentración de apo E plasmática sin variación en los niveles de colesterol entre pacientes que sufrieron infarto de miocardio (15). Los presentes resultados se asemejan a los del estudio de Ye y col. (22) en la población inglesa con aterosclerosis y los de Viiri y col. (21) en la población general finlandesa, porque en ambos los valores de colesterol fueron mayores en los individuos con genotipo GG respecto del TT, aunque esas diferencias no alcanzan la significancia y no hay datos de agrupación por el alelo G ni de concentración de apo E plasmática.

En el estudio ECTIM en la población francesa Lambert y col. (15) propusieron que el alelo T aumenta el riesgo de infarto de miocardio en asociación con menores concentraciones de apo E plasmáticas, pero no encontró diferencias en los niveles de colesterol. Este estudio y el presente tienen varias diferencias: en el actual se analizan ambos géneros mientras que en el de Lambert solo incluyeron varones; las edades de la muestra actual presentaron un rango más amplio (30-80 años) que las del trabajo mencionado (25-64 años), aunque nosotros estratificamos por género y por edad en el análisis. La principal diferencia es que Lambert y col. (15) estudiaron pacientes sobrevivientes de infarto de miocardio, es decir que sufrieron un evento trombótico, mientras que nuestra muestra fue de pacientes con estenosis mayor o igual al 50%. Como señalaron los autores, los mecanismos por los cuales este polimorfismo actuaría sobre un evento trombótico no se conocen y deben ser investigados, pero dado que los niveles de lípidos no estaban elevados esos mecanismos podrían ocurrir en la pared de las arterias e influir en la progresión y/o la estabilidad de las placas ateroscleróticas y no involucrarían necesariamente el metabo-

lismo lipoproteico y los niveles de colesterol plasmático.

Ye y col. en el estudio de Southampton en la población inglesa (22), observaron que entre los casos con aterosclerosis más severa, expresada por el número de vasos con estenosis, el alelo T era más frecuente que entre los casos más leves, por lo cual propuso una relación de asociación entre el alelo T y la severidad de la enfermedad coronaria, pero esa relación no involucraría los niveles plasmáticos de colesterol porque no observó diferencias en ellos. Este estudio y el actual tienen una gran diferencia, en ese trabajo solo se evalúa la severidad de la enfermedad, mientras que en el nuestro sólo se evalúa presencia o ausencia de la enfermedad o enfermos vs. "sanos" (sin aterosclerosis). De todos modos, se puede pensar que si en nuestro caso el alelo T también estuviese influyendo sobre la evolución de las lesiones ateroscleróticas se tendría un enriquecimiento en la frecuencia del alelo entre las más severas y disminución de la misma entre las más leves, como esos dos grupos no se separaron esas diferencias se compensarían y no se detectarían su efecto. A nivel funcional una posible explicación sería que el polimorfismo no tendría influencia en el inicio de la enfermedad, pero una vez iniciada sí podría tener efecto en su progresión.

Es de esperarse que otros factores de riesgo estén influyendo y modulando tanto sobre el inicio como sobre el progreso de las lesiones ateroscleróticas. En este sentido se evaluó la prevalencia de la hipertensión arterial y la diabetes, entre los genotipos y se observó mayor proporción de pacientes con hipertensión y con diabetes entre los que tenían genotipo GG respecto de los otros genotipos, pero sólo en el caso de los diabéticos esas diferencias fueron significativas ( $p=0,044$ ) (datos no mostrados).

En la bibliografía hay estudios donde observaron relación entre este polimorfis-

mo, los niveles de colesterol y la dieta, la cual a su vez también es un factor de riesgo de ECA. En individuos sanos los niveles de colesterol varían en forma diferente en respuesta a distintas dietas según los alelos presentes y según el género (15). Los mecanismos de acción no se conocen y estas observaciones se realizaron en individuos sanos y jóvenes.

Viitanen y col. (16) observaron que entre pacientes con aterosclerosis prematura el alelo T era más frecuente respecto de la población general finlandesa, sin embargo no encontraron relación entre el alelo y los niveles plasmáticos de colesterol. En ese trabajo y el presente, las frecuencias genotípicas del alelo T entre los casos son muy similares, pero cuando se observan los grupos controles de ambos estudios, en el actual hay mayor presencia del alelo T. Es decir que las diferencias entre ambos resultados podrían deberse a posibles diferencias entre los grupos controles. Los controles de este estudio fueron pacientes con angiografía normal, a quienes en general se les indicó el estudio antes de una cirugía valvular, mientras que el grupo control del otro trabajo fue de la población general. Ambos estudios contienen varones y mujeres, evaluación angiográfica de los casos y si bien las edades fueron más amplias, en el análisis de los datos se realizó estratificación por edad. Una diferencia importante a tener en cuenta es que en el estudio de Viitanen y col. (16) los casos provenían de familias con antecedentes de enfermedad coronaria prematura, mientras que en el actual ese no fue un criterio de inclusión en la selección de la muestra. Por otro lado, los ambientes de ambos estudios, expresados principalmente por las dietas y las costumbres de ambas poblaciones fueron distintos.

El estudio presente tiene la limitación de no contar con un gran número de muestras, pero hay que resaltar la alta homogeneidad de las mismas, en especial por su

procedencia, una zona geográfica única y pequeña, la zona sur de los alrededores de la Ciudad de La Plata en la provincia de Buenos Aires, con individuos de condiciones culturales y socio-económicas muy semejantes. El rango de edades amplio (30 a 80 años) sumado a un tamaño muestral reducido también limita en la posibilidad de construir haplotipos con los alelos épsilon de este gen (datos disponibles en parte de un estudio previo) con el fin de evaluar posibles efectos sinérgicos entre ambos *loci*. Esta limitación se exagera en especial si tenemos presente que el alelo  $\epsilon 4$  actúa como un factor de riesgo de la enfermedad en forma dependiente de la edad (9, 23), por esta razón no se realizó ese análisis y solo se evaluó el polimorfismo -219 G/T que actúa en forma independiente de los alelos épsilon (18, 24).

En la bibliografía no hay reportes en los cuales se evalúe directamente al alelo G de este polimorfismo, con excepción de un estudio reciente en la población belga en el cual se asoció al alelo G con la ocurrencia de accidente cerebrovascular pero no con la severidad de la aterosclerosis (24), los autores especularon que el polimorfismo podría actuar a nivel de la estabilidad de las placas ateroscleróticas intracraneales.

La enfermedad aterosclerótica es una afección multifactorial con un fuerte componente ambiental, los mecanismos involucrados aún no están comprendidos y es de esperarse que en distintos contextos, generados por diferencias geográficas y culturales, más allá de la etnia, el peso de cada uno de ellos sea distinto.

En conclusión el alelo G del polimorfismo -219 en el promotor del gen APOE se asociaría en la población argentina a valores más elevados de colesterol total y LDL en varones, independientemente de la edad pero no actuaría como un factor de riesgo en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica.



### AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Alberto J. Roemmers que apoyó económicamente esta investigación.

A la Méd. Fabiana Quesada por su enorme dedicación y colaboración en el laboratorio.

### REFERENCIAS

1. **Dirección de Estadísticas e Información de Salud (2004)**. DEIS: Dir. Lic. Elida Marconi, Ministerio de Salud y Ambiente de La Nación, www.deis.gov.ar.
2. **Sing CF, Zerba KE, Reilly SL**. Traversing the biological complexity in the hierarchy between genome and CAD endpoints in the population at large. *Clin Genet* 1994; 46:6-14.
3. **Mahley RW**. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-630.
4. **Siest G, Pillot T, Regis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmet J, Galteau M, Visvikis S**. Apolipoprotein E: An important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem* 1995; 41:1068-1086.
5. **Rosenfeld ME, Butler S, Ord VA, Lipton BA, Dyer CA, Curtiss LK, Palinski W, Witztum JL**. Abundant expression of apoprotein E by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1382-1389.
6. **Zhang WY, Gaynor PM, Kruth HS**. Apolipoprotein E produced by human monocyte-derived macrophages mediates cholesterol efflux that occurs in the absence of added cholesterol acceptors. *J Biol Chem* 1996; 271:28641-28646.
7. **Elosua R, Ordovas JM, Cupples LA, Fox CS, Polar JF, Wolf PA, D'Agostino RA, O'Donnell CJ**. Association of APOE genotype with carotid atherosclerosis in men and women: the Framingham Heart Study. *J Lipid Res* 2004; 45:1868-1875.
8. **Kuusi T, Nieminen MS, Ehnholm C, Yki-Järvinen H, Valle M, Nikkilä EA, Taskinen MR**. Apoprotein E polymorphism and coronary artery disease: Increased prevalence of apolipoprotein E4 in angiographically verified coronary patients. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 237-241.
9. **Ilveskoski E, Perola M, Lehtimäki T, Laippala P, Savolainen V, Pajarinen J, Penttilä A, Lalu KH, Männikkö A, Liesto KK, Koivula T, Karhunen PJ**. Age-dependent association of apolipoprotein E genotype with coronary and aortic atherosclerosis in middle-aged men: An autopsy study. *Circulation* 1999; 100:608-613.
10. **Corbo RM, Scacchi R, Vilardo T, Ruggeri M**. Polymorphisms in the apolipoprotein E gene regulatory region in relation to coronary heart disease and their effect on plasma apolipoprotein E. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(1):2-6.
11. **Lehtinen S, Lehtimäki T, Sisto T, Salenius JP, Nikkilä M, Jokela H, Koivula T, Ebeling F, Ehnholm C**. Apolipoprotein E polymorphism, serum lipids, myocardial infarction, and severity of angiographically verified coronary artery disease in men and women. *Atherosclerosis* 1995; 114:83-91.
12. **Volcik KA, Barkley RA, Hutchinson RG, Mosley TH, Heiss G, Sharrett AR, Ballantyne CM, Boerwinkle E**. Apolipoprotein E Polymorphisms Predict Low Density Lipoprotein Cholesterol Levels and Carotid Artery Wall Thickness but Not Incident Coronary Heart Disease in 12,491 ARIC Study Participants. *Am J Epidemiol* 2006; 15; 164(4): 342-348.
13. **Weggemans RM, Zock PL, Ordovas JM, Pedro-Botet J, Katan MB**. ApoE genotype and the response of serum cholesterol to dietary fat, cholesterol and cafestol. *Atherosclerosis* 2001; 154: 547-555.
14. **Artiga MJ, Bullido MJ, Sastre I, Recuero M, Garcia MA, Aldudo J, Vazquez J, Valdivieso F**. Allelic polymorphisms in the transcriptional regulatory region of apolipoprotein E gene. *FEBS Lett* 1998; 9; 421(2):105-108.
15. **Lambert JC, Brousseau T, Defosse V, Evans A, Arveiler D, Ruidavets JB, Haas B, Cambou JP, Luc G, Ducimetiere P, Cambien F, Chartier-Harlin MC, Amouyel P**. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with in-

- creased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations-The ECTIM study. *Hum Mol Genet* 2000; 1; 9(1): 57-61.
16. **Viitanen L, Pihlajamaki J, Miettinen R, Karkkainen P, Vauhkonen I, Halonen P, Kareinen A, Lehto S, Laakso M.** Apolipoprotein E gene promoter (-219G/T) polymorphism is associated with premature coronary heart disease. *J Mol Med* 2001; 79(12): 732-737.
  17. **Judkin M, Gander MP.** Prevention of complications of coronary arteriography. *Circulation* 1974; 49: 599-602.
  18. **Gensini G.** *Coronary Arteriography*. Ed. Mount Kisco (NY): Futura Pub; 1975, p 488.
  19. **Miller SA, Dykes DD and Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res* 1988; 16 (3):1215.
  20. **Rodríguez T, Malvezzi M, Chatenoud L, Bosetti C, Levi F, Negri E, La Vecchia C.** Trends in mortality from coronary heart and cerebrovascular diseases in the Americas: 1970-2000. *Heart* 2006; 92:453-460.
  21. **Viiri L, Loimaala A, Nenonen A, Islam S, Vuori I, Karhunen P, Lehtimäki T.** The association of the apolipoprotein E gene promoter polymorphisms and haplotypes with serum lipid and lipoprotein concentrations. *Atherosclerosis* 2005; 179:161-167.
  22. **Ye S, Dunleavy L, Bannister W, Day L, Tapper W, Collins A, Day I, Simpson I.** Independent effects of the -219G/T and  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  polymorphisms in the apolipoprotein E gene on coronary artery disease: The Southampton Atherosclerosis Study. *Eur J Hum Genet* 2003; 11:437-443.
  23. **Bañares VG, Peterson G, Aguilar D, Gulayin R, Sisu E, Pivetta OH, Tavella MJ.** The association between the apoe  $\epsilon 4$  allele and atherosclerosis is age-dependent among argentine males. *Hum Biol* 2005; 77:247-256.
  24. **Abboud S, Viiri LE, Lütjohann D, Goebeler S, Luoto T, Friedrichs S, Desfontaines P, Gazagnes MD, Laloux P, Peeters A, Seelldrayers P, Lehtimäki T, Karhunen P, Pandolfo M, Laaksonen R.** Associations of apolipoprotein E gene with ischemic stroke and intracranial atherosclerosis. *Eur J Hum Genet* 2008; 16(8): 955-960.