

RESUMEN ENVIADO AL "51 ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS"

SAN DIEGO, CALIFORNIA: OCTOBER 12-16 2001

APOLIPOPROTEIN E POLYMORPHISM IN ANGIOGRAPHICALLY VERIFIED PATIENTS FROM THE ARGENTINE POPULATION

Bañares VG¹², Peterson G¹, Espeche M¹, Bardach G¹, Gulayin R³, Sisu E³, Ruiz ME⁴, Bravis Lopez E⁴, Pivetta OH², Tavella MJ¹⁵.

1 Programa de Prevencion del Infarto en la Argentina, Universidad Nacional de La Plata,

2 Centro Nacional de Genética Médica, ANLIS "Carlos Malbran",

3 Servicio de Hemodinamia, 4 Laboratorio Central, Instituto del Torax, La Plata,

5 Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Argentina.

Several studies have indicated an association between the e4 allele of the apolipoprotein E and coronary heart disease in some populations.

We determined the apo E genotype as described Hixon y col. in 185 samples, 123 belonging to patients with atherosclerotic injury (L) and 62 without atherosclerotic injury (NL) both facts verified by angiography and under-61-year-old.

The chi² test showed no significant differences when we compared the apo E e4 allele distribution between L vs. NL.

Since the n of our control group was considerably small, we compared the allele distribution between our general population (previously reported) and the L group. The chi² test shown significant differences (p=0.015).

We conclude that these dates suggest that the e4 allele could be one factor contributing to increase the susceptibility to coronary heart disease in our population.

Abstract topics: genetic apidemiology and population genetics.

Keywords: cardiovascular system, polymorphism.

INTRODUCCION

Los mecanismos involucrados en el desarrollo de la aterosclerosis, la mayor causa de las enfermedades coronarias, aún no son bien comprendidos.

Los genes que codifican para los componentes de las lipoproteínas plasmáticas son candidatos para buscar en ellos polimorfismos que permitan predecir CHD. Uno de los genes mas estudiados es el de la apolipoproteína E (apo E).

The human apo E gene is localized on the long arm of the chromosome 19 (19q13.2). Presenta 3 formas alélicas principales ε2, ε3 y ε4. La isoforma E3 es la más frecuente. Las frecuencias alélicas reportadas para nuestra población¹ son, 0.07 para ε2, 0.85 para ε3 y 0.09 para ε4.

En la población finlandesa se encontró que la isoforma E4 era 1.4 veces mas frecuente (p<0.05) en 91 pacientes, menores de 60 años, con enfermedad cardiovascular angiográficamente demostrada con respecto a la distribución de frecuencias en la población general finlandesa. Un estudio longitudinal en esta población mostró un aumento significativo del riesgo de enfermedad arterial coronaria para los portadores del alelo ε4.

Teniendo en cuenta estos y otros estudios y trabajos previos del grupo decidimos comparar la distribución de los genotipos de la apo E entre patients with atherosclerotic injury (L) and without atherosclerotic injury (NL) both facts verified by angiography in our population.

Población y muestra

En el presente trabajo evaluamos una grupo de pacientes de la población de la zona sur de la provincia de Buenos Aires, con aterosclerosis coronaria angiográficamente demostrada (L). Como controles empleamos: el grupo de pacientes que no muestra lesión (NL) aterosclerótica en la angiografía, y las frecuencias genotípicas reportadas para nuestra población (sobre una muestra de 216 individuos, 61 % males and 39 % females, de 18 a 55 años).

Materiales y Métodos

A partir de muestras de sangre periférica, con EDTA como anticoagulante, se obtuvo el ADN con la técnica de "Salting Out" descrita por Miller y colaboradores.

Para la identificación de los distintos alelos de la apo E se emplearon las técnicas de: PCR, digestión con la enzima de restricción Hha I como lo describieron Hixon y col. Los segmentos resultantes se separaron en gel de poliacrilamida al 12 % y las bandas obtenidas se visualizaron por tinción con plata.

A partir de muestras de suero se determinaron los valores de colesterol total (CT), colesterol de alta densidad (HDLC) y triglicéridos (TG) por métodos enzimáticos.

El test de chi cuadrado se realizó con el programa Epiinfo 6.2 agrupando los genotipos con el alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 4$ y $\epsilon 4/\epsilon 4$) vs. los genotipos sin el alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 3$ y $\epsilon 2/\epsilon 2$).

Resultados

Se recolectaron un total de 411 muestras de sangre, de las cuales en 291 casos se pudo obtener el ADN y los datos clínicos (angiografía, sexo y edad a la cual se realizó la angiografía).

Las edades varían entre los 30 y los 80 años, la edad media y las medianas de cada grupo, L y NL separando por sexo, se encuentran por debajo de los 61 años (*tabla 1*).

Se seleccionaron 185 muestras de pacientes menores de 61 años; 123 con lesión (L) y 62 de pacientes en los cuales no se observó lesión (NL). La distribución entre sexos resultó: 32/123 mujeres y 91/123 varones con lesión; 23/62 mujeres y 42/62 varones sin lesión.

Tabla 1: se indican las edades, el número (n) de muestras, la media y la mediana para los grupos con y sin lesión vascular aterosclerótica, teniendo en cuenta los sexos.

	Con lesión (L)		Sin Lesión (NL)	
	Varones	Mujeres	Varones	mujeres
Edades	30-78	31-80	33-77	38-76
n	143	46	52	50

Media	58.08 ± 8.62	55.95 ± 10.31	54.65 ± 9.80	58.88 ± 9.36
Mediana	52	51 53 56 60	57	51

La distribución de los genotipos obtenidos entre los grupos L y NL teniendo en cuenta el sexo se muestra en la *tabla 2*.

Tabla 2: Distribución de los genotipos entre los grupos con y sin lesión aterosclerótica, para los menores de 61 años, teniendo en cuenta los sexos. Entre paréntesis se indican los porcentuales. También se muestran los valores reportados para la población argentina¹.

Genotipos	Con lesión aterosclerótica (L)			Sin lesión aterosclerótica (NL)			Población gral.
	varones	mujeres	Totales	varones	mujeres	totales	Pobl. gral
3/3	60	23	83 (67.5)	31	19	50 (80.6)	159 (73.6)
3/4	23	6	29 (23.6)	6	3	9 (14.6)	28 (12.9)
2/3	4	2	6 (4.9)	2	0	2 (3.2)	20 (9.2)
2/4	1	1	2 (1.6)	1	0	1 (1.6)	1 (0.5)
4/4	1	0	1 (0.8)	0	0	0	4 (1.9)
2/2	2	0	2 (1.6)	0	0	0	4 (1.9)
totales	91 (74%)	32 (26%)	123 (100)	40 (65%)	22 (35%)	62 (100)	216 (100) (61 % males)

El test de chi cuadrado entre los grupos L vs. NL, no muestra diferencias significativas. El test de chi cuadrado entre el grupo L y la población general da un valor de 5.83 (p=0.015). Si consideramos solo los varones menores de 61 años el valor del chi cuadrado resulta 6.21 (p=0.012).

Los valores medios de colesterol total, triglicéridos y HDL colesterol obtenidos se resumen en la *tabla 3*.

Tabla 3: Valores medios de CT, HDLC y TG obtenidos para cada grupo, L y NL menores de 61 años. Entre paréntesis se indica en número de muestras (n).

Condicio	CT		HDLC		TG	
	e3/e3	e3/e4	e3/e3	e3/e4	e3/e3	e3/e4
Varones	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)
L	1.98 ± 0.71 (47)	2.03 ± 0.42 (13)	0.42 ± 0.11 (32)	0.38 ± 0.06 (7)	1.85 ± 1.07 (47)	2.12 ± 0.56 (13)
NL	1.95 ± 0.94 (25)	1.49 ± 0.49 (3)	0.47 ± 0.16 (15)	1.44 (1)	1.52 ± 0.57 (25)	2.4 ± 0.65 (3)
Mujeres	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)	X ± σ (n)
L	2.24 ± 0.92 (16)	2.34 ± 0.96 (4)	0.49 ± 0.08 (9)	0.37 ± 0.07 (3)	2.12 ± 0.94 (17)	2.82 ± 2.09 (4)
NL	1.93 ± 0.58 (14)	3.27 ± 2.01 (4)	0.53 ± 0.27 (11)	0.48 ± 0.03 (2)	1.23 ± 0.53 (14)	2.26 ± 0.30 (4)

Conclusiones

Como en todas las poblaciones reportadas hasta el momento, en nuestra muestra de estudio el alelo $\epsilon 3$ de la apo E resulta el mas frecuente, seguido por el alelo $\epsilon 4$ y el alelo $\epsilon 2$.

Si bien no alcanzamos diferencias significativas al comparar los grupos L y NL debemos considerar que el n de los controles (NL) es reducido y debemos aumentarlo para arribar a un resultado final.

Encontramos que el alelo $\epsilon 4$ se encuentra significativamente ($p=0.015$) mas frecuentemente en el grupo de pacientes menores de 61 años que en la población general.

¹ Sorroche P, Legal S Gutt S, Brandi P, Oyhamburu JM, da Graca L. Fenotipos de apolipoproteina E: frecuencia y relacion con los lipidos en dadores de sangre. Bioq. Y Pat Clin 1997 vol 61; 2:277.

Este trabajo fue realizado con aportes de: la Fundación Alberto J. Roemmers, PROPIA (Programa de Prevención del Infarto en la Argentina) y ANLIS (Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud).