

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**Programa de maestría en ciencias médicas, odontológicas y de la salud**  
**Área de concentración: Ciencias médicas.**



**“Efecto de la variante R230C del gen de la proteína transportadora de cassette ligante de ATP A1 (ABCA1) sobre los niveles séricos de HDL-Colesterol en la respuesta al tratamiento dietético en pacientes mexicanos”**

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**  
**MÉDICAS**

**PRESENTA:**  
**Diego Espinoza Peralta**

**Tutor:**  
**Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas**  
**Programa de Maestría en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud**

México, Distrito Federal. Noviembre 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

• Resumen.....	3
• Antecedentes.....	4
• Generalidades de las proteínas que contienen apolipoproteína A-I.....	6
• Colesterol HDL y riesgo cardiovascular.....	7
• Transportadores ABC.....	8
• Papel fisiológico y consideraciones patológicas del ABCA1 y el colesterol HDL.....	9
• Funcionalidad de la variante R230C de ABCA1.....	11
• Papel de la dieta y polimorfismos genéticos sobre la modificación en la concentración sérica de C-HDL.....	13
• Justificación.....	20
• Planteamiento del problema.....	21
• Objetivos.....	22
• Hipótesis.....	23
• Pacientes y métodos.....	24
• Análisis estadístico.....	31
• Consideraciones éticas.....	32
• Resultados.....	33
• Discusión y conclusiones.....	36
• Consentimiento informado.....	40
• Bibliografía.....	41
• Anexos.....	48

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** La hipoalfalipoproteinemia es la dislipidemia más frecuente en México. Existe una variante del gen de ABCA1 que es muy frecuente en población amerindia y se asocia con este fenotipo de dislipidemia debido a que se sabe que es una variante hipoactiva en el transporte reverso del colesterol. **OBJETIVO:** Evaluar la respuesta en las concentraciones séricas de HDL posterior de una dieta alta en grasas en individuos con el alelo C de la variante R230C del gen de la proteína transportadora del cassette ligante de ATP A1 (ABCA1) y aquellos con el alelo silvestre (R230R). **DISEÑO DEL ESTUDIO:** Estudio de 2 cohortes concurrentes, comparativas, de grupo paralelo, longitudinal, prolectivo. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Dos grupos de comparación, sujetos heterocigotos u homocigotos a la variante de riesgo (R230) con hipoalfalipoproteinemia capturados en el departamento de Endocrinología, que fueron intervenidos con una dieta alta en grasas (40% Carbohidratos-20 % Proteínas -40% Grasas, conteniendo 7% de SAFs, 10% de PUFAs, 20% de MUFAs del total de las kilocalorías y manteniendo constante el contenido de colesterol < 200 mg x día) durante 12 semanas para determinar su respuesta en incremento de HDL dependiendo si son portadores de la variante de riesgo o la silvestre. Se analizó la diferencia de concentración de HDL-Colesterol mediante U de Mann-Whitney. **RESULTADOS:** Se reclutaron un total de 60 sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión y que completaron la primera fase del estudio. De estos, 38 son de alelo R230R, 22 del alelo R230C. No hubo diferencias en las características basales entre los grupos. Posterior a 12 semanas de intervención, no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (Mediana e IIC, R 38 (35.35-42) mg/dL vs C 38(34.25-42) mg/dL (p=0.753). Cuando se analizó el cambio de HDL en los grupos comparando cifras basales al final de la intervención, tampoco se encontró diferencia estadísticamente significativa en los valores de C-HDL tanto en los portadores R230C como en los R230R. **CONCLUSIONES:** Con el presente estudio, y con el número actual de sujetos de estudio no se cuenta con el poder estadístico suficiente para establecer si la variante R230C tiene algún tipo de efecto en la modulación sobre la concentración de C-HDL posterior a 12 semanas de intervención.

## ANTECEDENTES

Las dislipidemias son un conjunto de enfermedades asintomáticas que tienen en común ser causa de concentraciones anormales de las lipoproteínas sanguíneas. En la práctica son detectadas midiendo la concentración sanguínea de los lípidos que transportan las lipoproteínas en su interior, es decir, por valores anormales de colesterol, triglicéridos y/o colesterol HDL.

El término “dislipidemias” incluye un grupo heterogéneo de condiciones asociadas a una amplia gama de riesgo cardiovascular. (1)

La prevalencia de las dislipidemias varía considerablemente entre los grupos étnicos y en el tiempo. Aun en un país es posible encontrar diferencias importantes entre sus regiones o en subgrupos de la población. Las poblaciones caucásicas tienen concentraciones mayores de colesterol, colesterol total y colesterol HDL comparado con otras poblaciones. En contraste, los asiáticos y las poblaciones indígenas americanas son los grupos con las concentraciones más bajas de colesterol HDL. Los indígenas americanos que viven en zonas urbanas son el grupo con la mayor prevalencia de hipertrigliceridemia (2). Las diferencias entre los grupos étnicos están determinadas por variaciones genéticas y por factores ambientales. Múltiples factores genéticos determinan la concentración de los lípidos sanguíneos. Sin embargo, el efecto individual de la mayoría de los polimorfismos es pequeño.

Recientemente, se describió que una variante no sinónima del gen de la proteína transportadora del cassette ligante de ATP A1 (ABCA1), altamente frecuente en población amerindia con concentraciones bajas de colesterol HDL (R230C, rs9282541) (3) –Cuadro I-. La variante R230C parece ser específica para poblaciones amerindias. El alelo C230 tuvo una frecuencia de 0.109 en mestizos, que corresponde a la mitad de la prevalencia encontrada en comunidades nativas mexicanas (0.28 en mayas, 0.214 en purépechas, 0.203 en yaquis y 0.179 en teenek). Esta mayor frecuencia en población amerindia ha permitido especular que existió una ventaja selectiva para la persistencia de esta mutación, por lo que aquellos individuos con la variante R230C, pudieron almacenar calorías en forma de grasa durante los tiempos de abundancia y sobrevivir períodos prolongados de hambruna. La selección natural llevaría a una mayor frecuencia de este genotipo “ahorrador de colesterol” en aquellas poblaciones que, de manera intermitente, pasaban por períodos de hambruna severa. Sin embargo, al encontrarse esta variante actualmente expuesta a un ambiente “obesogénico”, podría

condicionar el desarrollo de enfermedades agrupadas dentro del síndrome metabólico, lo que puede justificar la asociación de este polimorfismo con obesidad y comorbilidades relacionadas a ésta –Cuadro II-. Este genotipo ahorrador en nuestra población puede predisponer a una respuesta inadecuada o subóptima en HDL a cambios en el estilo de vida, como una modificación en la dieta, lo cual implicaría la necesidad de establecer parámetros y metas diferentes en personas portadoras de esta variante en comparación con personas homocigotos para la variante silvestre R230R.

**Cuadro I.- Frecuencias del genotipo y alelos R230C en individuos mexicanos con hiper e hipoalfalipoproteinemia.**

		HDL bajo	HDL alto	P
<b>Genotipo</b>	R230R	22 (55.0)	33 (97.1)	0.00006*
	R230C	15 (37.5)	1 (2.90)	--
	C230C	3 (7.5)	0	--
<b>Alelo</b>	R230	59 (73.8)	67 (98.5)	0.00002
	C230	21 (26.2)	1 (1.5)	--

Los datos son n (%). \* Valor de P comparando R230C/C230C vs R230R

-Tomado sin modificar de Villareal-Molina MT, Aguilar-SalinasCA, et al. Diabetes. 2007; 56: 1881-1887

**Cuadro II.- Parámetros clínicos y bioquímicos en portadores de R230C y no portadores en la población general de la Ciudad de México.**

Característica	R230R	R230C / C230C	P*
<b>Total de sujetos</b>	343	86	--
<b>Hombres (%)</b>	37	31.5	--
<b>Edad (años)</b>	40.1±12.8	40.2±10.5	0.767
<b>IMC (Kg/m2)</b>	27.1±5.3	29.3±6.4	0.005
<b>Cintura (cm)</b>	90.1±13.1	93.1±14.5	0.048
<b>Obesidad (%)</b>	38.5	64.8	0.003
<b>DM 2 (%)</b>	5.8	16.3	0.003
<b>C-HDL (mg/dL)</b>	48.7±13.8	44.4±11.1	0.024

-Tomado sin modificar de Villareal-Molina MT, Aguilar-SalinasCA, et al. Diabetes. 2007; 56: 1881-1887

## Generalidades de las lipoproteínas que contienen la apolipoproteína A-I

Las HDL, son un grupo heterogéneo de partículas. Son las lipoproteínas con el mayor contenido proteico y de mayor densidad. Su diámetro se encuentra entre 6-12 nm y su masa molecular desde 60,000 hasta 400,000 daltons. Su densidad varía desde 1.063 hasta 1.21 g/mL y hasta un cincuenta por ciento de su masa está constituida por proteínas. En la electroforesis de lipoproteínas tienen movilidad alfa (Figura 1). Cumplen varias funciones; la función más conocida es el transporte de los lípidos generados en los tejidos periféricos hacia el hígado para ser eliminados por la bilis. También se encargan del intercambio de lípidos entre las lipoproteínas circulantes; como resultado, los lípidos son transferidos a lipoproteínas con una vida media corta y son depurados en menos tiempo. Las HDL tienen actividad antiinflamatoria, regeneran partículas que han sufrido modificaciones (LDL oxidadas o acetiladas) y tienen efectos positivos sobre las células endoteliales (4, 5).

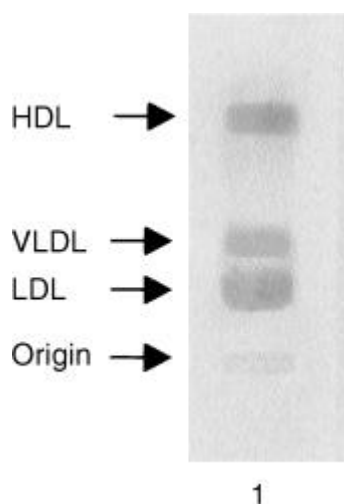


Figura 1.- Imagen de una electroforesis de lipoproteínas normal

Las recién formadas son de forma discoide y están constituidas primordialmente por proteínas. Al aumentar su tiempo de residencia en el plasma acumulan colesterol y otros lípidos hasta alcanzar una forma esférica. En esta fase, la HDL pierde su capacidad para almacenar más lípidos y debe ser depurada del plasma (mediante su interacción con el receptor eliminador clase B tipo I, SR-BI por sus siglas en inglés) o degradada por enzimas lipolíticas las cuales liberan las apolipoproteínas de la partícula (5). Estas proteínas formarán una nueva HDL o serán degradadas por el riñón (6). Esta

gama de partículas puede ser aislada con diversas técnicas; dependiendo del método se les han asignado distintos nombres. Las HDL maduras son conocidas como HDL-2 (densidad 1.063-1.21 g/mL). Las HDL maduras pueden ser clasificadas en subvariedades (HDL2a y HDL2b), las cuales se identifican por medio de la electroforesis en gradiente de poliacrilamida, ultracentrifugación en gradiente de densidad o movilidad iónica. Las HDL recién formadas son conocidas como HDL-3 (densidad 1.12-1.21 g/mL). A su vez se clasifican en HDL3a, 3b y 3c (7).

Las HDL pueden ser clasificadas por el tipo de apolipoproteínas que contienen. Sesenta por ciento de ellas contienen apoA-I y apoA-II, mientras que el resto sólo tienen apoA-I.

La expresión del gen de la apoA-I se regula por mecanismos transcripcionales y posttranscripcionales, y, entre sus distintos mecanismos de regulación existe un elemento de respuesta a la insulina (8); en esta región también existe un elemento de respuesta a carbohidratos (el cual inhibe la expresión)(9). Diversos nutrientes regulan también la expresión del gen. Por ejemplo, los ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans* suprimen la expresión interactuando con el elemento de respuesta a la insulina; además disminuyen la concentración del mRNA de la apoA-I. La dextrosa disminuye la transcripción del gen; en contraste, la soya y el alcohol la aumentan (10).

La apoA-I se sintetiza en el hígado e intestino, está compuesta por 243 aminoácidos; contiene una región aminoterminal globular de 43 aminoácidos, seguida de 10 alfa hélices, separadas entre sí por residuos de prolina. Su función es ser la proteína constituyente de las HDL y activar a la LCAT (11).

La apoA-II es la segunda apolipoproteína en importancia en el metabolismo de las HDL. Se expresa en el hígado y en menor cantidad en el intestino. Está constituida por 77 aminoácidos que forman hélices alfa formadas por 22 residuos (12).

### **Colesterol HDL y riesgo cardiovascular**

La correlación inversa que existe entre la concentración plasmática de C-HDL y riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica aterosclerosa presupone una asociación causal entre ambos. El análisis más extenso de esta asociación se realizó utilizando la base de datos de la *Colaboración de Factores de Riesgo Emergentes* (ERFC, por sus siglas en inglés). Dicho estudio incluyó más de 300,000 sujetos provenientes de más de 100 estudios de población prospectivos, con información sobre marcadores lipídicos e inflamatorios, factores de riesgo y morbilidad cardiovascular. Esto permitió evaluar la



asociación de las principales lipoproteínas (C-HDL, C-LDL), concentraciones de lípidos (Triglicéridos, colesterol no-HDL) y apolipoproteínas (apoA-I y apoB) con el riesgo de enfermedad cardiovascular. La ERFC identificó una relación logarítmica lineal inversa entre las concentraciones de HDL (y no-HDL) con el riesgo de enfermedad coronaria (13). Sin embargo, una paradoja existente se centra en que hay pacientes con niveles bajos de C-HDL y sin enfermedad cardiovascular en contraste con pacientes con niveles altos de C-HDL y eventos coronarios prematuros. En el estudio de Framingham original, se documentó que hasta 50% de los sujetos que tuvieron un evento cardiovascular, tenían concentración de HDL dentro de los parámetros normales (14). Una de las explicaciones propuestas es que las HDL poseen otras características anti-aterogénicas que no dependen exclusivamente de su concentración, sino de su estructura. Por ejemplo, uno de los mecanismos utilizados por las HDL para evitar la formación del ateroma es el transporte reverso de colesterol (TRC). Este es definido como el retorno del colesterol proveniente de las células periféricas hacia el hígado para su excreción o reciclaje (14).

### **Transportadores ABC**

El transportador ABC-A1 pertenece a la familia ABC (ATP-binding cassette) que es el mayor grupo de transportadores de membrana. Los 49 transportadores ABC se agrupan en siete categorías (denominadas de la A a la G). Utilizan ATP para generar la energía necesaria para transportar metabolitos a través de la membrana. Defectos en los transportadores ABC causan enfermedades como fibrosis quística, adrenoleucodistrofia, colestasis familiar progresiva, degeneración macular y diabetes neonatal. (15) Cuatro transportadores localizados en la membrana son capaces de transferir colesterol intracelular a las HDL (ABC-A1, ABC-A7, ABC-G1 y ABC-G8). El más importante es el ABCA1, el cual es uno de los 13 miembros de la familia ABCA. Se expresa en múltiples tejidos; su concentración es mayor en macrófagos y en el hígado. Es una proteína de 2,262 aminoácidos. Tiene 2 subunidades; cada una tiene una región transmembrana y una región que une nucleótidos. Transportan colesterol, fosfolípidos y diversas sustancias lipofílicas a través de la membrana donde se unen a HDL nacientes (16).

## Papel fisiológico y consideraciones patológicas del ABCA1 y el colesterol HDL.

El ABCA1 es una proteína de membrana que media el transporte de colesterol, fosfolípidos y otras moléculas lipofílicas a través de las membranas celulares, donde éstas son removidas de las células por lipoproteínas de HDL pobres en lípidos (17)(Figura 2). El HDL después transporta el colesterol hacia el hígado para su eliminación en la bilis (18-20) un proceso que es conocido como transporte reverso del colesterol. Las lipoproteínas HDL son las más pequeñas y densas del plasma. En su forma madura consisten en partículas esféricas con un centro hidrofóbico (principalmente ésteres de colesterol más una pequeña cantidad de triglicéridos) rodeado por una superficie molecular monocapa comprendiendo fosfolípidos, colesterol no esterificado y apolipoproteínas (21). Contienen dos principales apolipoproteínas: apoA-I, la cual es ligando de ABCA1, y apoA-II, que comprenden el 70% y 20% respectivamente del componente de proteínas de la molécula de HDL, el resto corresponde a varias otras apolipoproteínas menores. Las moléculas de HDL tienen diferentes tamaños, por lo que se han clasificado como pre $\beta$ -HDL, HDL1, HDL2 y HDL3; de éstas, sólo la pre $\beta$  y las dos últimas son encontradas en el humano. De acuerdo a esta clasificación también se les ha atribuido características de transporte del colesterol diferentes. También se han subclasificado las moléculas de HDL dependiendo de la apolipoproteína unida a ellas, y se dividen en HDL unidas a apoA-I y a apoA-I/apo A-II, con lo que se considera que HDL apoA-I es más efectiva que HDL apoA-I/A-II en promover el flujo de colesterol.

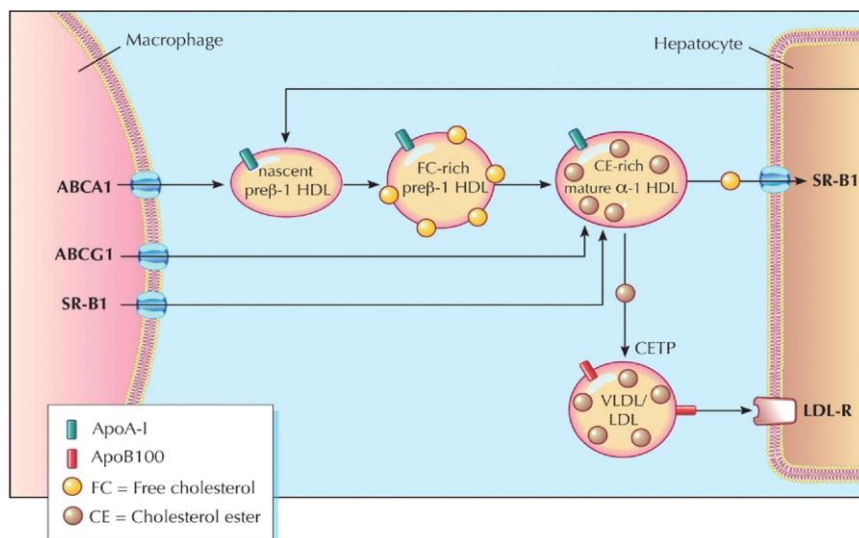


Figura 2.- Esquema representativo del papel de ABCA1 en la formación de partículas de HDL en el transporte reverso del colesterol. (Tomado de Referencia 22)

El ABCA1 parece actuar en dominios de membrana específicos para la secreción lipídica, y se han propuesto dos modelos para ésta función: el modelo de exocitosis que implica que el exceso de colesterol intracelular es empacado en vesículas de transporte o balsas, probablemente en el aparato de Golgi, que transloca hacia dominios en la membrana plasmática que contengan ABCA1 (23). Los lípidos son transportados a través de la membrana plasmática donde interactúan con apolipoproteínas y son removidos de la célula, formando partículas nuevas de HDL. Por otro lado, el modelo de retroendocitosis sugiere que ABCA1 y vesículas que contienen apolipoproteínas son endocitadas hacia depósitos lipídicos intracelulares. Los lípidos son transportados dentro del lumen de vesículas donde interactúan con apolipoproteínas, y los complejos lípidos-apolipoproteínas son liberados de las células mediante exocitosis (24, 25).

La transcripción de ABCA1 es marcadamente inducida por células sobrecargadas de colesterol, un proceso mediado a través de la activación de receptores nucleares como son: el receptor hepático X (LXR) y el receptor retinoide X (RXR) (26, 27). En los humanos el RNAm del ABCA1 se ha encontrado de manera más abundante en el hígado, la placenta, el intestino delgado y los pulmones (28). Sin embargo, los niveles de proteínas de ABCA1 en los tejidos mostraron discordancia con los tejidos con abundante RNAm (29), por lo que posiblemente la regulación postranscripcional juega un papel importante en la expresión tisular de ABCA1.

De acuerdo a los tejidos en los que se encuentra, el ABCA1 tiene diferentes funciones. Probablemente la función más importante es la referente al transporte reverso del colesterol, el cual es mediado por apoAI, sintetizado y secretado en el hígado. La apoA-I puede interactuar inmediatamente con el ABCA1 hepático, o bien, circular a la periferia donde interactúa con el ABCA1 en células cargadas de colesterol, particularmente los macrófagos (18, 20). Una vez formada la molécula madura de C-HDL, los ésteres de colesterol son secretadas en la bilis, una vez unida la partícula de C-HDL al receptor “basurero” B1 (SR-BI). Las células epiteliales de la vesícula biliar, también expresan ABCA1 en su membrana basolateral (30), pudiendo funcionar como una forma de reducir el contenido de colesterol biliar y por lo tanto proteger contra la formación de litos.

En el intestino, ABCA1 parece funcionar generando partículas de HDL que transporten colesterol de la dieta hacia el hígado (31). Se le han atribuido otras funciones, pero son teorías no demostradas (32-34).

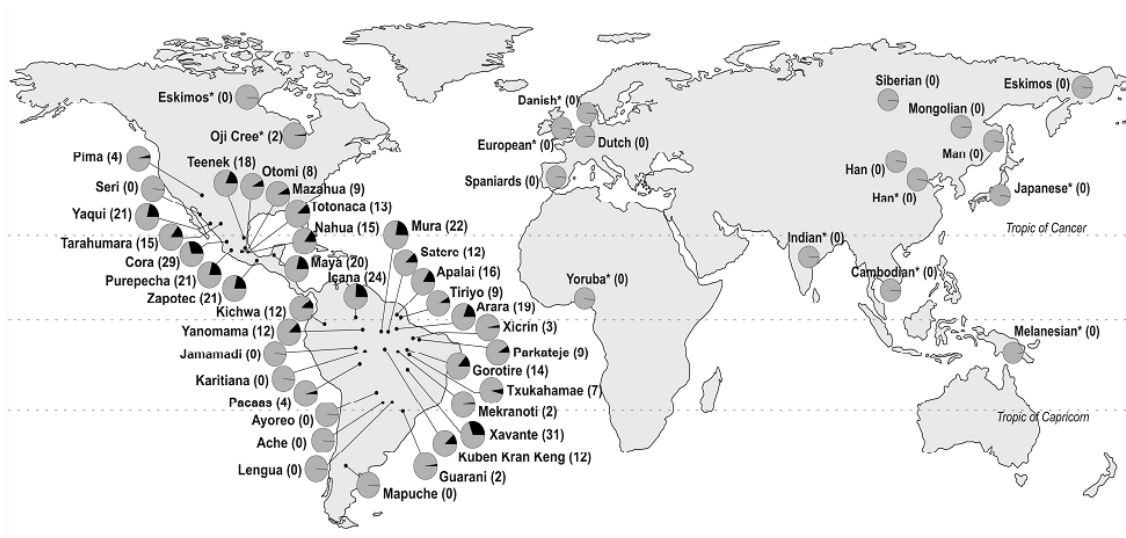
Por otro lado, mutaciones en ABCA1 pueden causar desórdenes como la llamada enfermedad de Tangier (35-38), que se caracteriza por niveles muy bajos de C-HDL, debido a una incapacidad del hígado y el intestino para lipidizar apoA-I sintetizado de novo por la vía del ABCA1 y que resulta en una apoA-I pobremente lipidizada que se cataboliza rápidamente por los riñones (39, 40). O bien, una situación clínica más común, la hipoalfalipoproteinemia familiar, un desorden heredado con un trazo autosómico dominante asociado con concentraciones de colesterol C-HDL por debajo de la 10ª percentila (<30 mg/dl en hombres y <38 mg/dl en mujeres) y una tasa acelerada de enfermedad arterial coronaria prematura (41,42).

### **Funcionalidad de la variante R230C de ABCA1**

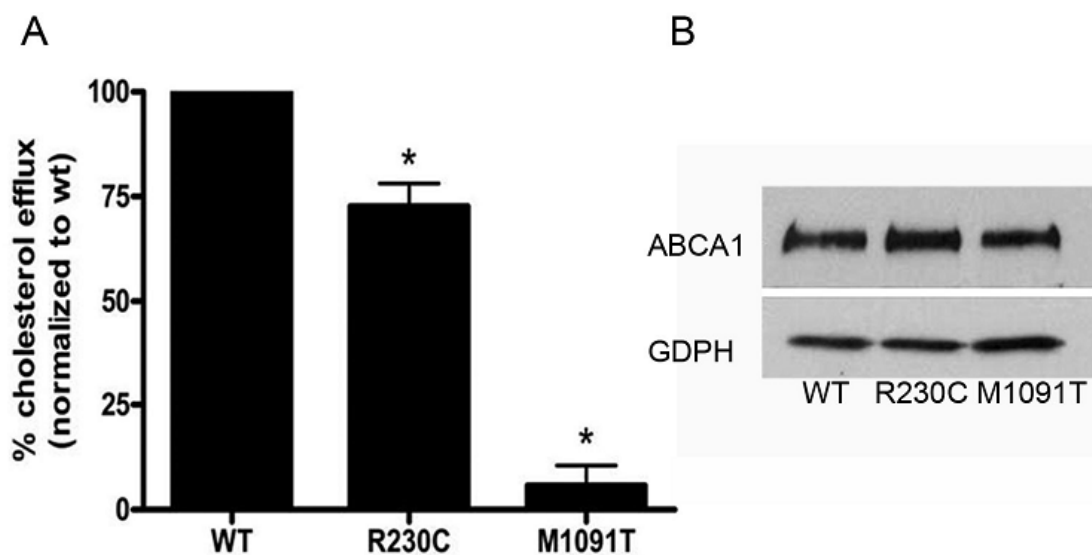
Recientemente se realizó un análisis extensivo de esta variante en un mayor número de sujetos para explorar el efecto de esta variante con los niveles de HDL y otros rasgos metabólicos (43) así como la valoración de su efecto funcional *in vitro* (44). Se encontró la variante en 29 de 36 grupos de nativos americanos, pero no en individuos europeos, asiáticos o africanos (Figura 3).

Para la evaluación funcional de las células R230C se generaron líneas celulares policlonales estables usando el sistema Flp-In (Invitrogen, Carlsbad, California) en células humanas de riñón (Flp-In-293).

Las células que expresaban el alelo C230 mostraron una reducción del 27% en el eflujo de colesterol ( $P < 0.001$ ), confirmando que esta variable tiene un efecto funcional *in vitro* (Figura 4). Más allá, el alelo C230 fue asociado con menores niveles de HDL-colesterol ( $P = 1.77 \times 10^{-11}$ ) y con mayor índice de masa corporal ( $P = 0.0001$ ) en el análisis combinado de poblaciones nativas americanas. Esta fue la primera evidencia de que R230C se trata de una variante hipoactiva con respecto al eflujo de colesterol.



**Figura 3.** Distribución de frecuencias del alelo C230 (% en área sombreada) en poblaciones nativas americanas, europeas, asiáticas y africanas.



**Figura 4.** Caracterización funcional de la variante R230C/ABCA1 por ensayo de eflujo de lípidos. A. Se generaron líneas estables policlonales expresando ABCA1 tipo-salvaje (WT), variante R230C y el mutante M1091T (conocido como deficiente eflujo lipídico). Los datos representan Media  $\pm$  DS de 2-5 experimentos como porcentaje del flujo de colesterol dependiente de apoA1 inducido por ABCA1 tipo-salvaje. Cada ensayo se realizó por triplicado. \* $P < 0.001$ : La expresión de proteína ABCA1 por WT, R230C y M1091T fue evaluado por inmunotransferencia. (Ref 47)

Resaltando los hallazgos mostrados en la figura 4, se observó que a pesar de que las 3 líneas celulares presentaban una misma expresión de ABCA1, la variante silvestre presentaba una eflujo normal de colesterol, como era esperable, y la otra mutación que

ya se conocía con hipoactividad M1091T (presente en la enfermedad de Tangier) también presentaba una disminución en el transporte de colesterol. La variante R230C, demostró también ser una variante hipoactiva, aunque de menor grado (27%) que la M1091T.

### **Papel de la dieta y polimorfismos genéticos sobre la modificación en la concentración sérica de C-HDL.**

Las recomendaciones actuales para la prevención de enfermedades cardiovasculares se centran particularmente en la reducción de los niveles elevados de lípidos séricos, objetivo que puede ser alcanzado mediante modificación en la dieta. Sin embargo, la respuesta en lípidos a los cambios dietéticos es influenciada por variación en los genes involucrados en el metabolismo de lípidos (45). Existen estudios clínicos donde se ha valorado el cambio en la concentración de lípidos séricos posterior a diversas intervenciones y valorando diferentes polimorfismos, con resultados diferentes y no comparables debido a que existe una gran variabilidad en las diferentes intervenciones realizadas (46) -Cuadro III-.

**Cuadro III.- Resumen de estudios observacionales y de intervención investigando la interacción gen-dieta publicados desde agosto 2003**

Referencia	Lugar	PoliM	Intervención/observación	Participantes	Hallazgos
Saito, et al	Japón	ApoE (Alelo E4)	Dieta de restricción calórica por 14 días	35 hombres y mujeres con DM2: 24 E3/3, 11 E3/4	E3/4 mayor disminución de CT y LDL que los E3/3
Atkinson, et al	Reino Unido	ApoE (E2/E3, E3/E3, E3/E4)	Isoflavonas derivadas del Trébol rojo vs placebo por 12 meses	159 mujeres: 25 E3/2, 91 E3/3, 43 E3/4	Disminución de CT y LDL en las E3/2 solamente
Lee, et al	Singapur	LPL S447X	Ingesta habitual de alcohol	1881 hombres: 1491 SS, 390 SX y XX 2176 mujeres: 1763 SS, 413 SX y XX	Mujeres: HDL difirió más entre mujeres SS y X que en no bebedoras.

Bricarello, et al	Brasil	ApoE (E2/E2, E3/E2, E3/E3, E3/E4, E4/E2)	1 litro de leche de soya o leche descremada por 6 semanas	59 hombres y mujeres con hipercolesterolemia: 48 E2/2, E3/2 y E3/3; 11 E3/4 y E4/2	Los pacientes sin el alelo e4 tuvieron la misma respuesta que la población general
Abreviaturas: PoliM: polimorfismo, DM2: Diabetes Mellitus tipo 2, CT: Colesterol total, LDL: Lipoproteína de baja densidad, LPL: Lipasa lipoprotéica,					

\*Tomado y modificado de Lindsey F. Masson and Geraldine McNeill. The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. *Current Opinion in Lipidology* 2005, 16:61–67.

El polimorfismo más investigado es el de apoE y se sabe que los portadores del polimorfismo  $\epsilon 4$  (E3/4 y E4/4) tienen un incremento del riesgo para enfermedad coronaria mayor comparado con los individuos E3/3 (47) y aquellos tienen una mayor respuesta lipídica a los cambios en la cantidad de grasa de la dieta en comparación a estos últimos (48). Esta utilidad de poder desarrollar estrategias más eficientes para prevención de enfermedad cardiovascular es un ejemplo del beneficio de continuar realizando estudios que evalúen la utilidad de la dieta en individuos portadores de otros polimorfismos, como es el caso de R230C de ABCA1.

Un ejemplo de la importancia que puede jugar R230C en la respuesta a la dieta se mostró en un trabajo (49), donde se evaluó el efecto de esta variante en cambios en la concentración de HDL-colesterol en respuesta a un portafolio dietario en un grupo de sujetos mexicanos con y sin los polimorfismos R230C y R129K de ABCA1. Al final de la intervención (3 meses), fue evidente que los portadores de R230C habían tenido una mejor respuesta en HDL-C en respuesta al tratamiento dietético en comparación a R230R (+4.6% vs +14.6%) ( $p=0.05$ ).

Es bien conocido que aunque existen muchas causas para el incremento mundial de la prevalencia de enfermedades cardiovasculares, los factores nutricionales, principalmente el consumo de grasas saturadas, parecen tener un papel importante promoviendo aterosclerosis de forma temprana. Sin embargo, cuando se han evaluado algunas dietas bajas en grasas saturadas y su efecto sobre el perfil de lípidos tienen un efecto no deseado sobre las concentraciones de HDL-C, disminuyéndolo (50) y teóricamente pudiendo disminuir el papel cardioprotector de la corrección de la hiperlipidemia.

Las concentraciones séricas tanto de C-HDL como de apoA-I se incrementan con el consumo de dietas enriquecidas con grasas saturadas, esto encontrado en varios estudios observacionales y de intervención (51). Este efecto ha sido atribuido principalmente a una disminución en el aclaramiento de HDL y posiblemente a otros cambios traduccionales o post-traduccionales en la expresión de los genes de apoA-I en ratones (52)-Cuadro IV-.

El consumo dietético de ácidos grasos saturados incrementan los niveles de C-HDL –Cuadro IV- por varios mecanismos. A diferencia de los ácidos grasos saturados, se ha visto que en hámster, el consumo de ácidos grasos poliinsaturados favorece la expresión hepática de SR-B1 e incrementan el transporte de C-HDL al hígado, disminuyendo como consecuencia su concentración (53).

**Cuadro IV.- Efectos de nutrientes selectos en niveles de C-HDL o apoA-I en varios modelos experimentales**

I. Grasa dietética	Cultivos	Animales	Humanos	Mecanismo predominante
Saturada	Sin cambio	Incremento	Incremento	Disminución de aclaramiento Género específico
PUFA	Sin cambio o Disminución	Disminución	Disminución	Incremento de aclaramiento. Disminución mRNA de apoA-I Disminución de Secreción de apoA-I
MUFA	Sin cambio	Incremento	Disminución HDL Sin cambio en apoA-I	Incremento en mRNA de apoA-I
Trans-FA	Sin cambio	Disminución	Disminución o Sin cambio	Disminución del promotor de apoA-I

Abreviaturas: SC: Sin cambio, Inc: Incremento, Dism: Disminución, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, Trans-FA: ácidos grasos trans, mRNA: ácido ribonucleico mensajero, HDL: lipoproteína de alta densidad, apoA-I: apolipoproteína A-I.

\* Tomado y modificado de referencia 10.



Se sabe que la expresión del gen de apo A-I se regula de forma transcripcional y posttranscripcional. El promotor de apoA-I contiene un motif parecido a TATA cerca del sitio de inicio de la transcripción y varios elementos cis que regulan la expresión del gen tanto positiva como negativamente en respuesta de varias señales hormonales o metabólicas. Diversos factores de transcripción se ensamblan en complejos multiprotéicos en zonas reguladoras claves del gen (54). El promotor silente de apo A-I contiene nucleosomas, con un sitio donde se une el receptor nuclear retinoide X (RXR), todo esto es seguido por una serie de pasos que concluyen con la exposición del inicio del sitio de transcripción con el complejo de factores de inicio de la transcripción. Comparado con las grasas saturadas, las grasas insaturadas regulan a la alta la expresión de SR-BI hepático e incrementan el transporte de ésteres de C-HDL al hígado, como consecuencia las concentraciones de C-HDL disminuyen (53).

La consecuencia metabólica de las grasas monoinsaturadas (MUFAs) son diferentes a las de las poliinsaturadas (PUFAs). En un estudio cruzado realizado en 38 voluntarios sanos (55) se investigó el efecto de dos dietas reducidas en grasa, una de ellas rica en MUFAs y otra rica en PUFAs. Ambas intervenciones resultaron en una disminución significativa en colesterol total, C-LDL, C-HDL. ApoA-I fue significativamente mayor en el grupo MUFA comparado con PUFA.

Por otra parte, el efecto de las grasas saturadas, parece ser género-específico. En mujeres, tanto C-HDL como apo A-I disminuyen más en mujeres que en hombres, cuando ingieren una dieta de segunda etapa del NCTP (56). En otro estudio, donde se evaluó el efecto de una dieta baja en grasa total, grasa saturada y colesterol contra una dieta estadounidense promedio en hombres y en mujeres nuevamente hubo diferencias entre géneros, siendo los hombres los que presentaron una mayor disminución en apo B en ayuno, pero también en otros parámetros de lipemia postprandial (LpAI y triglicéridos) (57).

En modelos experimentales se ha encontrado que una dieta alta en grasa incrementa los niveles de C-HDL en un 36% y 67% en ratas y ratones respectivamente, con hallazgos que sugieren que este fenómeno es independiente de la regulación transcripcional del gen de apoA-I (58) y se cree que una causa podría ser debido a la alteración del catabolismo de partículas de C-HDL por la dieta. En modelos de cultivos celulares, se ha encontrado que la infusión de ácidos grasos saturados inhibe la

expresión del gen de apoA-I que depende de insulina y del factor de transcripción humano Sp1 –Specific protein 1- (59), mientras que el efecto de los ácidos grasos insaturados es por mecanismos independientes de Sp1 y este efecto depende del grado de insaturación y no de la longitud de la cadena. Sin embargo se observa a largo plazo que, los ácidos grasos saturados tienen un efecto deletéreo sobre la expresión del gen de apoA-I, algo que no sucede con los ácidos grasos insaturados y que provee un argumento adicional a las recomendaciones de limitar en la dieta la ingesta de ácidos grasos saturados (59).

Con respecto a este último punto, se publicó un metaanálisis (60) de 60 estudios que evaluaron el efecto de los carbohidratos y ácidos grasos en la concentración de HDL, lípidos y apolipoproteínas. Uno de los datos a analizar era evaluar si un cambio en la proporción de nutrientes modificaba la relación Colesterol total:HDL y Colesterol total:otros lípidos. Cuando existía modificación de la dieta con un cambio de grasa saturada por carbohidratos, no se observaban cambios en la relación colesterol total:HDL, pero si se observaba una disminución de la misma relación cuando la sustitución se realizaba con ácidos grasos insaturados *cis*. (Figura 5)

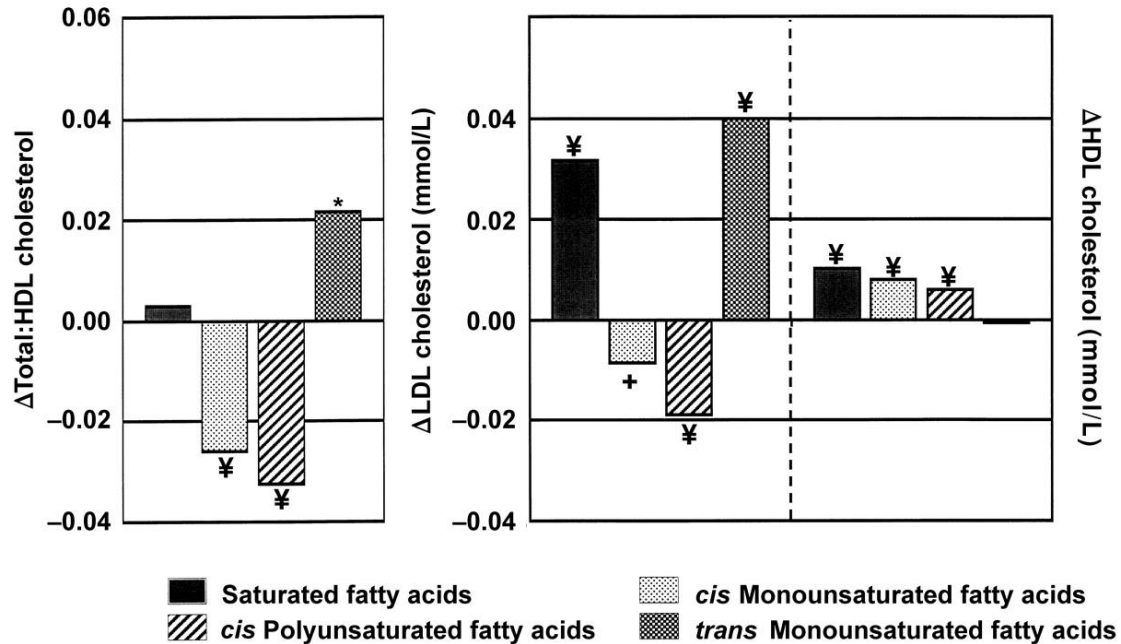


Figura 5.- Cambios en la relación Colesterol total:HDL y en la concentración de C-LDL y C-HDL cuando los carbohidratos correspondientes al 1% de la energía son sustituidos isoenergéticamente con ácidos grasos con distintos grados de saturación.

El otro punto a evaluar en el meta-análisis fue si los cambios en la calidad de las grasas en proporción isoenergética también ocasionaba diferencias en la relación CT:HDL. (Figura 6). Con la información aportada en este metaanálisis, se hace evidente que grasa aportada en la dieta tiene un efecto marcado en la concentración de C-HDL, tomando en cuenta también el tipo de grasa que se incluía en la dieta. La similitud con el presente estudio es que también se trató de una sustitución isocalórica con incremento de la proporción de grasa indicada en la dieta.

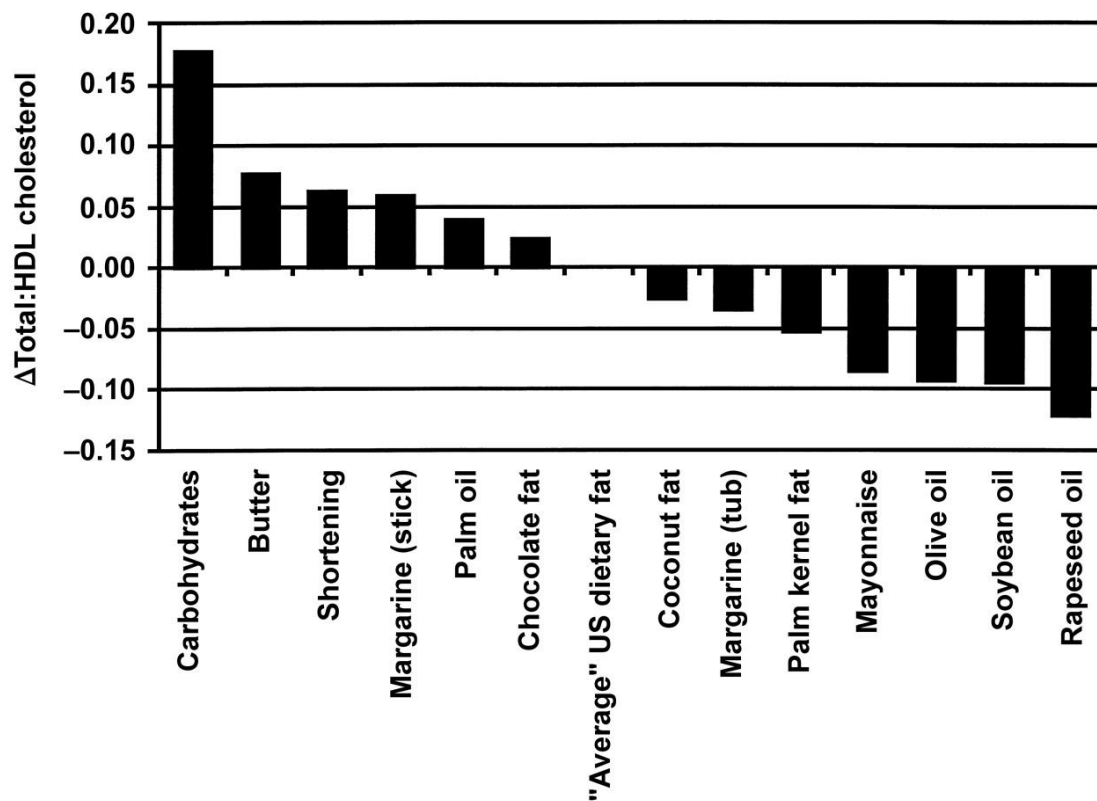


Figura 6.- Cambios en la relación CT:HDL cuando una mezcla de grasas constituyendo el 10% de la energía en una dieta estadounidense “promedio” era reemplazada isoenergéticamente por un tipo particular de grasa o carbohidratos.(58)

Una de las múltiples dificultades al comparar las intervenciones nutricionales, es la variabilidad de la definición de una dieta alta en grasas, la cual oscila desde una proporción del 40 al 60% del total de las calorías diarias, tanto en modelos experimentales como en intervenciones en humanos. Se estima que en poblaciones occidentales, el promedio de calorías provenientes de las grasas es del 40% de la energía total consumida (61). Debido a esto, para el presente estudio se consideró que, al menos en nuestra población el 40% quizá sea la proporción mínima de grasas que se

podría considerarse como una dieta alta en grasas que se ha demostrado que ocasiona un incremento en la secreción de adipocinas y disminuye la expresión de adiponectina a corto y mediano plazo.

## **JUSTIFICACIÓN**

La variante R230C es específica de la población amerindia y se ha asociado con hipoalfalipoproteinemia, así como con otros rasgos metabólicos desfavorables.

La elevada prevalencia de esta variante en sujetos con hipoalfalipoproteinemia la hacen relevante el estudio de la misma en la respuesta a intervenciones terapéuticas.

Los resultados del estudio permitirán conocer si el alelo R230 tiene un papel en la respuesta terapéutica y a entender las variaciones interindividuales frecuentemente observadas en respuesta al tratamiento dietético de las dislipidemias y poder establecer un mejor abordaje integral en estos individuos.

Una dieta alta en grasas, en teoría podría favorecer una mayor expresión de apoA1, y por lo tanto mayores concentraciones de Colesterol-HDL en situaciones normales, pero debido a que los pacientes con la variante R230C tienen una forma inactiva de la proteína, podrían tener una respuesta atenuada.

Actualmente el estudio de los efectos de la variante R230C de ABCA1 sobre el metabolismo es una de las líneas de investigación que se están desarrollando en el Instituto.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La hipoalfalipoproteinemia es la dislipidemia más frecuente en México (60.5%). Se ha demostrado una asociación con la variante R230C con rasgos asociados al síndrome metabólico y la obesidad y que esta misma es altamente prevalente en poblaciones amerindias no solamente en México.

Se desconoce si esta variable influye en una modificación en la respuesta en concentración de Colesterol-HDL posterior a una dieta alta en grasa.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la respuesta en las concentraciones séricas de Colesterol-HDL posterior de una dieta alta en grasas conteniendo 7% de SAFs, 10% de PUFAs, 20% de MUFAs (40 % carbohidratos, 20% proteínas, 40% grasas) en individuos portadores del alelo 230C del gen de la proteína con dominio de unión a ATP A1 (ABCA1) y en aquellos sujetos homocigotos portadores del alelo silvestre (R230R).

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

1. Describir el impacto de esta variante antes y durante el consumo de una dieta isocalórica alta en grasas sobre:
  - a. Las concentraciones sanguíneas de colesterol LDL, triglicéridos, apolipoproteína A-I y apolipoproteína B.

## **HIPÓTESIS**

**Hipótesis nula:** La variante R230C del gen de ABCA1 no modifica la respuesta de la concentración del colesterol HDL al tratamiento dietético en comparación con el alelo silvestre R230R.

**Hipótesis alterna:** La variante R230C del gen de ABCA1 se asocia a un menor incremento en la concentración del colesterol HDL posterior a un tratamiento dietético alto en grasas en comparación con el alelo silvestre R230R.



## **PACIENTES Y MÉTODOS**

### **Diseño de estudio.**

Tipo de estudio: Cohortes comparativas.

Selección: No aleatoria.

Grupo paralelo.

Asignación no aleatoria.

Seguimiento longitudinal.

### **Tamaño de muestra.**

Al calcular el tamaño de muestra mediante la fórmula para pruebas relacionadas el tamaño resultó:

$$n = \left( \frac{Sd (Z\alpha + Z\beta)}{Xd - \Delta 0} \right)^2$$

con los siguientes supuestos.

Tamaño de las diferencias	3 mg/dL
Error tipo I ( $\alpha$ )	0.05
Error tipo II ( $\beta$ )	0.1
Desviación estándar	$\pm 4$ mg/dL

n= 38 sujetos por grupo.

**Criterios de inclusión de los casos:**

- Adultos entre 20-65 años.
- Hipoalfalipoproteinemia. (Hombres HDL < 40 mg/dL, Mujeres HDL <50 mg/dL)
- Firma de consentimiento informado.
- Mexicanos mestizos.
- Demostrarse homocigoto o heterocigoto para la variante R230C del gen de ABCA1.
- IMC 25-35 kg/m<sup>2</sup>

**Criterios de inclusión de los controles:**

- Adultos entre 20 y 65 años.
- Hipoalfalipoproteinemia.
- Firma de consentimiento informado.
- Mexicanos mestizos.
- Demostrarse homocigoto para el alelo silvestre R230R del gen de ABCA1.

**Criterios de exclusión de casos y controles:**

- Pacientes con diabetes de cualquier tipo.
- Pacientes con enfermedades adquiridas que produzcan secundariamente obesidad.
- Tratamiento con medicamentos anorexigénicos o que aceleren la pérdida de peso.
- Que haya sufrido un evento cardiovascular en los 6 meses previos al ingreso del estudio.
- Pérdida de peso >3 kg en los últimos 3 meses.
- Uso de medicamentos esteroideos, quimioterapia, inmunosupresores, radioterapia o hipolipemiantes.
- Infecciones o enfermedades agudas concurrentes.
- Enfermedades catabólicas como cáncer, SIDA o estado de gravidez.
- Tabaquismo.

**Criterios de eliminación:**

- Faltar al 20% de sus citas de seguimiento.
- Desarrollar alguna de las enfermedades o iniciar la ingesta de alguno de los fármacos mencionados en los criterios de exclusión.

**Procedimientos.**

Se seleccionaron sujetos con hipoalfalipoproteinemia secuenciados, no emparentados, que cumplieron con los criterios de inclusión antes mencionados, captados en el departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ). Se les aplicaron cuestionarios estandarizados a ambos grupos para obtener información referente al nivel socioeconómico, historia clínica, antecedentes familiares, uso de medicamentos, alcoholismo y tabaquismo. Las mediciones antropométricas como peso, talla, circunferencia de cintura y cadera fueron tomados de acuerdo a la técnica de Lohman (62), por personas previamente estandarizadas, cegadas para el grupo en que se encuentra cada paciente y con el equipo que cumplía con las normas de calidad establecidas internacionalmente. Asimismo, mediante procedimientos estandarizados en el Laboratorio de Endocrinología del INCMNSZ (certificado por el Colegio Americano de Patólogos), en muestras de sangre periférica obtenidas después de 12 horas de ayuno y almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  se determinaron: niveles de glucosa, insulina, colesterol total, triglicéridos y HDL-C con métodos comerciales (Beckman). Los niveles de Apo A-I y Apo B se midieron por nefelometría (Beckman).

Inicialmente y en cada visita se determinó la ingestión alimentaria habitual por medio del recordatorio de 24 horas de 3 días, dos días entre semana y un día de fin de semana. Este procedimiento es un instrumento cuantitativo para evaluar el consumo de alimentos y bebidas en las últimas 24 horas. Personal capacitado y cegado para el grupo al que pertenecía cada paciente, aplicó los cuestionarios y convirtió cada alimento preparado notificado en cantidad de gramos o mililitros de alimento. La composición de la dieta habitual [ingesta calórica (kcal/día), fibra (gr/día), macronutrientes (gr/día y %), así como el total de ácidos grasos saturados (SFAs), monoinsaturados (MUFAs) y poliinsaturados (PUFAs) (gr/día)] fué calculado mediante el recordatorio de 24 horas. Se registró la actividad física habitual por medio del cuestionario de actividad física de Laval, previamente validado en población mexicana por el INSP (63), inicialmente y en

cada visita. Asimismo se aplicó un cuestionario de saciedad, inicialmente y en cada visita.

***Intervención con dieta modificada.*** Después de la evaluación inicial de la dieta habitual, los sujetos participantes fueron sometidos a una dieta isocalórica durante 2 semanas, con una distribución de 50% de hidratos de carbono, 20% de proteínas y 30% de lípidos (conteniendo 7% de SAFs, 10% de PUFAs, 20% de MUFAs del total de las kilocalorías y manteniendo constante el contenido de colesterol < 200 mg x día). Al final de este periodo, aquellos que tuvieron una adherencia mayor al 80% fueron incluidos en el estudio. Posterior a su inclusión se modificó la composición de la dieta isocalórica, con una distribución de 40% de carbohidratos, 20% de proteínas y 40% de grasa (conteniendo 7% de SAFs, 10% de PUFAs, 20% de MUFAs del total de las kilocalorías y manteniendo constante el contenido de colesterol < 200 mg x día), la cual siguieron por 12 semanas. Se programaron visitas cada 4 semanas para evaluar adherencia al tratamiento. Al inicio, a las semanas 4, 8 y 12 se midieron concentración de los lípidos sanguíneos y de las apolipoproteínas B y A-I. Se les pidió a los participantes que mantuvieran la actividad física habitual sin modificaciones y que registraran cualquier efecto que pudiera alterar el desenlace del estudio, como estrés, cambios en los hábitos de consumo de tabaco y alcohol.

## DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES

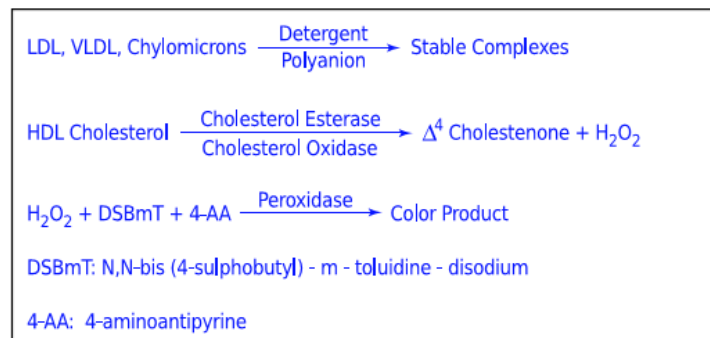
### Variable Independiente:

- Variante alélica R230C del gen de ABCA1: Genotipificado mediante ensayo Taqman y la discriminación alélica se hará en un aparato ABI Prism 7900 HT (Applied Biosystems). Variable cualitativa nominal

### Variable dependiente (de desenlace):

- Colesterol de Alta Densidad: Medido en miligramos por decilitro mediante un método comercial (Beckman Coulter). Variable cuantitativa discreta.

Este método es una cuantificación directa de las concentraciones de HDL, sin necesidad de un pretratamiento o centrifugación. Depende de un detergente único que solubiliza solamente las lipoproteínas de HDL y libera al HDL colesterol el cual reacciona con la enzima colesterol esterasa y colesterol oxidasa en presencia de cromógenos. El sistema monitoriza el cambio en la absorbancia a 560 nm, el cual es proporcional a la concentración de HDL en la muestra.



Se requiere una muestra de 0.5 mL

Unidades reportadas mg/dL: Rango analítico 5-135 mg/dL

Sensibilidad: 5 mg/dL

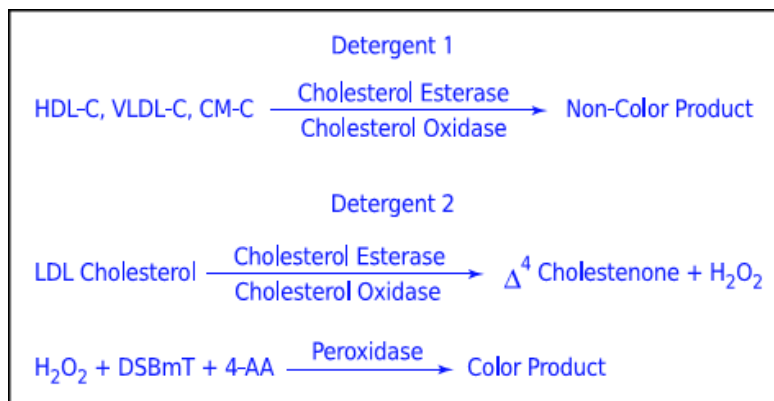
Precisión: Total: CV intraensayo 4.5%, Intraensayo: CV 3%

### Variables intermedias:

- Índice de masa corporal: Peso en kilogramos entre talla al cuadrado, se considerará entre 25 y 29.9 como medida de sobrepeso, y  $\geq 30$  como obesidad. Variable cuantitativa continua.

- Circunferencia de cintura: Medida en centímetros en el punto medio entre la cresta ilíaca y el arco subcostal, al final de una espiración normal mediante una cinta métrica ajustada milimétricamente. Variable cuantitativa continua.
- Índice cintura-cadera: Relación entre la medición de la circunferencia de cintura y la circunferencia de la cadera. Variable cuantitativa continua.
- Colesterol LDL: Niveles de colesterol LDL en suero, medido en mg/dl, mediante un kit comercial (Beckman Coulter). Variable cuantitativa discreta.

Este método es una cuantificación directa de las concentraciones de LDL, sin necesidad de un pretratamiento o centrifugación que se divide en dos fases. En la primera fase, un detergente solubiliza el colesterol de partículas que no son LDL. Este colesterol es consumido por la enzima colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa y 4-aminotriptilina, que genera una solución que no produce color. Posteriormente se añade un segundo detergente que libera al colesterol que se encuentra en las partículas de LDL y se añade un acoplador cromogénico que permite la formación de color. El sistema monitoriza el cambio en la absorbancia a 560 nm, el cual es proporcional a la concentración de LDL en la muestra.



Se requiere una muestra de 0.5 mL

Unidades reportadas mg/dL: Rango analítico 10-550 mg/dL

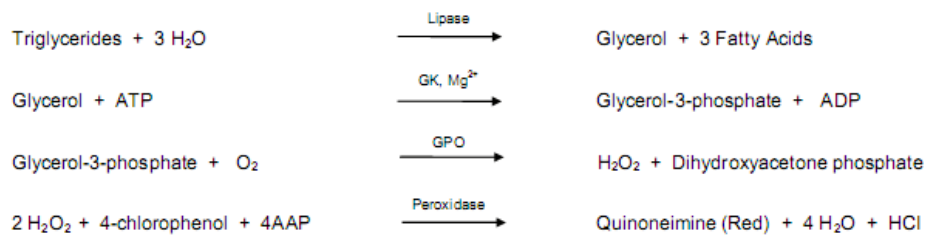
Sensibilidad: 8 mg/dL

Precisión: Total: CV intraensayo 3%, Intraensayo: CV 2%

- Triglicéridos: Niveles de triglicéridos en suero, medidos en mg/dl mediante un kit comercial (Beckman Coulter). Variable cuantitativa discreta.

El método de cuantificación se basa en una serie de reacciones enzimáticas acopladas. Los triglicéridos de la muestra son hidrolizados por una lipasa de bacteria que produce glicerol y ácidos grasos. El glicerol es fosforilado por la Glicerol Cinasa (GK) en

presencia de ATP para producir glicerol-3-fosfato (G3P). El G3P se oxida por la glicerolfosfatocinasa en presencia de oxígeno molecular que produce peróxido de hidrógeno y dihidroxiacetona fosfato. El peróxido de hidrógeno es utilizado para acoplar oxidativamente el p-clorofenol y 4-aminoantipirina catalizada por peroxidasa que da un color rojo con un máximo de absorbancia de 500 nm. Este incremento en la absorbancia es proporcional a la concentración de triglicéridos.



Se requiere una muestra de 0.3 mL

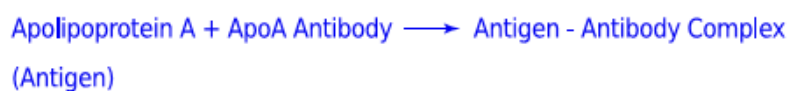
Unidades reportadas mg/dL: Rango analítico 10-1000 mg/dL

Sensibilidad: 10 mg/dL

Precisión: Total: CV intraensayo 5%, Intraensayo: CV 3%

- Apolipoproteína AI: Niveles de apolipoproteína AI, medida mediante nefelometría. Variable cuantitativa continua.

Para la cuantificación de ApoAI el método se basa en la combinación de ApoAI con un anticuerpo específico para formar un complejo antígeno-anticuerpo insoluble. El sistema Synchron automáticamente diluye la muestra y estima la proporción apropiada de muestra y reactivos. El sistema monitoriza los cambios en la absorbancia a 340 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de apolipoproteína A-1.



Se requiere una muestra de 0.3 mL

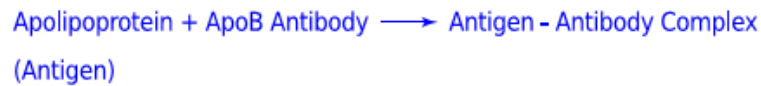
Unidades reportadas mg/dL: Rango analítico 25-300 mg/dL

Sensibilidad: 25 mg/dL

Precisión: Total: CV intraensayo 7.5%, Intraensayo: CV 5%

- Apolipoproteína B: Niveles de apolipoproteína B, medida mediante nefelometría. Variable cuantitativa continua.

Para la cuantificación de ApoB el método se basa en la combinación de ApoB con un anticuerpo específico para formar un complejo antígeno-anticuerpo insoluble. El sistema Synchron automáticamente diluye la muestra y estima la proporción apropiada de muestra y reactivos. El sistema monitoriza los cambios en la absorbancia a 340 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de apolipoproteína B.



Se requiere una muestra de 0.3 mL

Unidades reportadas mg/dL: Rango analítico 35-300 mg/dL

Sensibilidad: 35 mg/dL

Precisión: Total: CV intraensayo 7.5%, Intraensayo: CV 5%

#### **Variables confusoras:**

- Edad: Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta el momento del estudio. Variable cuantitativa discreta.
- Apego a la dieta: Valorado mediante preguntas directas durante la entrevista inicial y de seguimiento, expresado mediante porcentajes y medido con recordatorio de la dieta de 24 horas. Variable cuantitativa discreta.
- Actividad física: Se utilizará el cuestionario de actividad física de Laval (59) validado y estandarizado para lengua española y en población mexicana.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó estadística descriptiva para conocer las características generales demográficas y clínicas del grupo de casos y el grupo de controles. Se comprobó la distribución de las variables mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Las variables numéricas continuas se compararon entre los grupos mediante U de Mann-Whitney para la diferencia de los rangos de las concentraciones de HDL-C. El cambio dentro de los grupos en comparación con la concentración de HDL basal se hizo con la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas. El poder estadístico del estudio de >90% para las variables de desenlace.



## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este estudio se ajusta a las normas éticas institucionales, a la Ley General de Salud en materia de investigación y a la declaración de Helsinki. El consentimiento escrito y los propósitos del estudio en general le son informados al paciente en forma detallada en la entrevista inicial. Se respetará la privacidad y confidencialidad de los datos de los pacientes, se identificarán por clave y su identidad no será divulgada. Según la Ley General de Salud es un estudio de riesgo mínimo en relación a la punción venosa.

Se informó y entregó por escrito a los pacientes el resultado de la evaluación nutricia y de los análisis de laboratorio, en quienes correspondió se inició o modificó su tratamiento y se prescribió un plan de alimentación personalizado.

El protocolo fue evaluado y aprobado por el Comité Institucional de Investigación Biomédica e Humanos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Número de referencia 126 (03-Marzo-2010)

## RESULTADOS

Se realizó escrutinio a un total de 80 sujetos, de los cuales se reclutaron un total de 60 sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión y que completaron la primera fase del estudio. De estos, 38 son de alelo R230R, 22 del alelo R230C. Las características demográficas de los sujetos de R230R y R230C se muestran en el cuadro V.

<b>Cuadro V.- Comparación de las características basales posterior a dieta normal en los sujetos portadores de la variable silvestre versus variable de riesgo de ABCA1</b>			
<b>VARIABLES</b>	<b>R230R</b>	<b>R230C/C230C</b>	<b>p</b>
<b>Total</b>	38	22	
<b>Hombres* n(%)</b>	12 (31.57%)	8 (36.36%)	0.705
<b>IMC<sup>¥</sup> (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.07 (28-32.68)	27.30 (26.53-29.68)	0.133
<b>Edad<sup>¥</sup> años</b>	45 (36-54)	41.5 (40-51.5)	0.956
<b>Tg<sup>¥</sup> mg/dL</b>	192 (113.5-244.5)	234.5 (123.75-207.25)	0.613
<b>Colesterol<sup>¥</sup> mg/dL</b>	178 (157.5-203.25)	215 (161.75-217)	0.570
<b>HDL<sup>¥</sup> mg/dL</b>	35 (31.25-39.75)	34 (31-41.25)	0.776
<b>LDL<sup>¥</sup> mg/dL</b>	110 (84-124)	134.5 (95.5-147.5)	0.349
<b>Glucosa<sup>¥</sup> mg/dL</b>	92.5 (88.24-99)	102 (91.25-102.5)	0.213
<b>Insulina<sup>¥</sup> mcU/mL</b>	11.65 (7.85-17.35)	13.1 (10.7-16.7)	0.506
<b>Apo-A1<sup>¥</sup></b>	126 (116.25-142.7)	118 (109.5-125)	0.156
<b>Apo-B<sup>¥</sup></b>	95.5 (86.82-105)	134 (85.67-124)	0.338
* Descrito en total y porcentaje, comparado con Chi <sup>2</sup> de Pearson.			
¥: Descrito en Mediana (percentil 25-percentil 75), comparado con U de Mann-Whitney			

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguna de las características basales posterior a 2 semanas con dieta isocalórica (50-20-30).

Al final de la intervención (12 semanas) se volvieron a comparar las medianas de los parámetros bioquímicos en ambos grupos, pero tampoco se alcanzó la significancia estadística (Cuadro VI),

Considerando que los puntos de corte son diferentes en la definición operativa de hipoalfalipoproteinemia en hombres y mujeres, se comparó la diferencia entre los alelos considerando cambios relativos (porcentaje de cambio en comparación con la cifra inicial) y cambios absolutos en HDL. Cuadro VII.

**Cuadro VI.- Comparación de los parámetros bioquímicos posterior a 12 semanas de intervención con dieta alta en grasas en portadores de la variable silvestre versus variable de riesgo de ABCA1**

Variables	R230R	R230C/C230C	p
<b>Total</b>	38	22	
<b>Tg<sup>¥</sup></b>	163 (104.5-221.5)	139 (110.25-186.25)	0.560
<b>Colesterol<sup>¥</sup></b>	179 (160.25-214.5)	214 (164-206)	0.788
<b>HDL<sup>¥</sup></b>	38 (35.25-42)	38 (34.25-42)	0.753
<b>LDL<sup>¥</sup></b>	120 (96.85-138)	148.4 (98.25-142.25)	0.585
<b>Glucosa<sup>¥</sup></b>	99 (95-103)	96 (90.25-103.75)	0.739
<b>Apo-A1<sup>¥</sup></b>	129 (119-141.75)	115 (120-137)	0.506
<b>Apo-B<sup>¥</sup></b>	102 (84-120)	124 (86.6-121)	0.891
<b>¥: Descrito en mediana (percentil 25-percentil 75), comparado con U de Mann-Whitney</b>			

**Cuadro VII.- Comparación de cambios absolutos y proporcionales de HDL posterior a 12 semanas de la intervención dietética entre portadores de la variable silvestre versus variable de riesgo de ABCA1**

Variables	R230R	R230C/C230C	p
<b>Absoluto HDL<sup>¥</sup></b>	2 (-1 a 6.25)	2.5 (-3 a 5.25)	0.348
<b>Relativo HDL<sup>¥</sup>(%)</b>	5.79 (-2.42 a 17.34)	6.62 (-7 a 16.32)	0.311
<b>* Descrito en total y porcentaje.</b>			
<b>¥: Descrito en mediana (percentil 25-percentil 75), comparado con U de Mann-Whitney</b>			

Con estos datos, no es posible determinar si los portadores de la variable de riesgo (R230C) tienen un efecto atenuado en cuanto a incremento de C-HDL posterior a una dieta alta en grasas, que era lo esperable, al tratarse de una variable hipoactiva en el eflujo de colesterol intracelular. Daría la impresión, que contrario a lo esperado, los portadores de la variable de riesgo tienden a tener un mayor incremento de C-HDL al final de las 12 semanas de estudio, la falta de significancia puede ser debido a que se cuenta con un número menor al necesario para evidenciar esta diferencia en el efecto de

la variante sobre la respuesta, lo que trae como consecuencia una mayor dispersión en los resultados.

Cuando se comparó C-HDL dentro de cada grupo y los cambios del inicio con el final da una diferencia estadísticamente significativa el cambio, pero sólo en los portadores de la variante R230R, sólo con una probable tendencia a la significancia estadística en los sujetos R230C. Nuevamente, esta aparente diferencia en la respuesta puede ser debido a la diferencia en el número de sujetos incluidos en cada grupo.

<b>Cuadro VII.- Comparación de cambios en HDL inicio-final dentro de cada grupo de sujetos de investigación</b>			
<b>Variables</b>	<b>Inicio</b>	<b>Semana 12</b>	<b>P</b>
<b>R230R<sup>¥</sup></b>	35 (31.25-39.75)	38 (35.25-42)	0.001
<b>R230C<sup>¥</sup></b>	35.5 (31-41.25)	38 (34.25-42)	0.091
<b>¥: Descrito en mediana (percentila 25- percentila 75), comparado con rangos señalados de Wilcoxon</b>			

No se puede considerar, por lo tanto que clínicamente los sujetos con la variable R230C de ABCA1 son menos susceptibles a presentar un efecto en HDL posterior a una dieta alta en grasas por 12 semanas, aunque es necesario tener un mayor número de pacientes para que la diferencia sea estadísticamente significativa.

Se hizo un pareamiento por edad ( $\pm 5$  años) y sexo con sujetos de los grupos. Con un total de 20 sujetos por grupo (13 mujeres y 7 hombres), pero debido al tamaño de muestra, no se alcanzó significancia estadística en el cambio en concentración de C-HDL.

Hubo un buen apego al tratamiento en la dieta en todos los sujetos que concluyeron el protocolo de estudio. Ninguno de ellos tuvo consumo de tabaco. Se excluyó un paciente que presentó pérdida de peso debido a restricción calórica y a incremento de actividad física.

## **DISCUSIÓN.**

El presente estudio en el cual se trató de demostrar si la presencia de la variante R230C de ABCA1 modulaba de forma significativa la respuesta de incremento de colesterol HDL posterior a una dieta alta en grasas teniendo un control de las variables confusoras que pueden afectar la concentración del mismo (64, 65). Sin embargo, el efecto es más atenuado de lo inicialmente contemplado y con los resultados que se muestran no se pueden sacar conclusiones. Se había generado la hipótesis que los portadores de la variante R230C tendrían una menor respuesta en incremento de colesterol-HDL, y, aunque en el análisis preliminar parecía que así sería, en la medida que se reclutó un número mayor de pacientes, esta tendencia parecía atenuarse y los datos no alcanzaron significancia estadística. Durante las primeras fases en las que se encontraba el estudio se publicaron resultados que sostenían que el efecto de la misma variable iba en sentido contrario, con resultados donde se mostró que los portadores de la variable tenían mayor incremento porcentual de las cifras iniciales de C-HDL. (49), una de las limitantes de ese estudio es que no se consideró la hipertrigliceridemia basal, que en estudios prospectivos se ha demostrado que tiene más impacto sobre el incremento de HDL cuando se acompaña de disminución de los mismos (66). Tomando en cuenta esto, y a que, mediante un nuevo cálculo de muestra que toma en cuenta los hallazgos encontrados actualmente el protocolo continúa reclutando sujetos de estudio.

Esto es una muestra de la gran heterogeneidad en la respuesta en lípidos posterior a intervenciones dietéticas, ya que se involucran un gran número de probables genes responsables, no solo el de ABCA1.

Distinto al estudio publicado mencionado anteriormente, donde se les dio un portafolio dietético a los participantes, en este estudio constó de una dieta isocalórica con un cambio en la proporción de los macronutrientes, cambiando calorías provenientes de los carbohidratos por grasa, con control de las variables comentadas inicialmente, esto puede ser la causa por la cual el efecto se vió atenuado en este estudio, a pesar de tener un mayor número de participantes.

La diferencia en la calidad de las grasas también pudo haber participado en la atenuación de la diferencia, (60, 58) y en una situación donde no se tiene una homogeneidad en la calidad de la grasa insaturada puede tener un impacto en la dirección del efecto de C-HDL.

El cálculo del tamaño de muestra inicial era con un 90% de poder para detectar una diferencia de 4 mg/dL de C-HDL, sin embargo, aunque se alcanzó el número

calculado de participantes, la gran variabilidad de respuesta a la intervención de la dieta solo dio una diferencia media de HDL de 0.88 mg/dL, por lo que es necesario incrementar el tamaño de muestra para poder demostrarlo con significancia estadística. De la misma manera, el hecho de tener grupos asimétricos (con 22 sujetos con la variable R230C y el restante con la variable silvestre), puede estar contribuyendo a que se pierda la significancia estadística.

La importancia del estudio es el de poder tener datos iniciales de la respuesta en el efecto de C-HDL en esta variante con una dieta alta en grasas e isocalórica, que es una situación previamente inexplorada. Los estudios previamente publicados con esta variable es con dieta baja en grasas, dieta hipocalórica y con suplementación alimentaria.

Para el nuevo cálculo de muestra con el efecto demostrado en este estudio, con un poder del 90% con una diferencia de 1 mg/dL, sería de 85 sujetos por grupo. Actualmente se ha continuado con el reclutamiento del estudio, ya que se consideró que lo observado en respuesta de HDL en cada grupo por separado, amerita continuar con la exploración del efecto en la modulación en respuesta en una dieta alta en grasas en los portadores de la variante de riesgo.

La relevancia de continuar estudiando las implicaciones de esta variante va más allá de las cifras de colesterol HDL, ya que se ha asociado con un riesgo incrementado para otros componentes de síndrome metabólico, aunque con diferencias entre los distintos grupos étnicos (43). Se trata de una variante que sólo se ha identificado en el continente americano. La frecuencia de la variante es una oportunidad de realizar estudios que permitan confirmar si existe relación del tipo genotipo-fenotipo

Al existir evidencia de que existen diferencias en los rasgos fenotípicos en los portadores de R230C-ABCA1, y que se acompañan de distintas respuestas a diversos tratamientos como el de necesitar mayor dosis de hipoglucemiantes orales para lograr el mismo control glucémico que los portadores de la variante silvestre (67) Y que estos sujetos tienen menor riesgo a enfermedad cardiovascular prematura (68) refleja de que esta variante funcional tiene efectos clínicamente relevantes.

Los portadores de esta variante, tienen otros factores que modulan la respuesta a C-HDL, que, aunque se trató de controlar en este estudio, con disminución en la proporción de carbohidratos, fue similar en ambos grupos (69)

Con lo anteriormente comentado, podría haber también diferencia en las respuesta a las intervenciones dietéticas inclusive dentro de los mismos portadores de la

variante, se debe de considerar a futuro el extender la búsqueda de intervenciones que puedan impactar en la prevención de los diferentes componentes del síndrome metabólico, incluyendo ensayar una distribución diferente de los macronutrientes de la dieta, o sumar esta intervención a otra, por ejemplo, ejercicio.

Con el número de casos estudiados, se encontró un incremento significativo en la concentración del colesterol HDL durante el consumo de la dieta en estudio en las personas con la variante R230R; el mismo fenómeno no alcanzo significancia en los sujetos con la variante R230C.

## **FINANCIAMIENTO**

La realización del protocolo no tuvo ningún costo para el paciente, todos los gastos fueron solventados con recursos del departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”



## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de esta carta acepto que participar en el proyecto de investigación titulado:

**Efecto de la variante R230C del gen de la proteína transportadora de cassette ligante de ATP A1 (ABCA1) sobre los niveles séricos de HDL-Colesterol en la respuesta al tratamiento dietético en pacientes mexicanos.**

Estoy al tanto de que el objetivo del estudio es evaluar la influencia que tiene ésta variante en la respuesta de los niveles de HDL-Colesterol al tratamiento dietético, tanto en homocigotos como en heterocigotos para la variante, en comparación con pacientes homocigotos para el alelo silvestre R230R.

Me queda claro también que se hará una medición en sangre, para determinar el polimorfismo del gen de ABCA1 y algunas variables metabólicas como: Glucosa, Hemoglobina glucosilada, Insulina, Colesterol total, Triglicéridos, Colesterol HDL y LDL, Apo A-I, Apo B, leptina y adiponectina; y que se tomarán algunas medidas antropométricas como peso, estatura, circunferencia abdominal y de cadera. Asimismo, entiendo que se me realizará la toma de varias mediciones en sangre.

Declaro que se me ha informado ampliamente de los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio y que son los siguientes: Los riesgos potenciales son mínimos: Hematoma o infección en el sitio de punción.

Se realizará una punción venosa de 45 ml, por una persona capacitada. El ADN será usado sólo para los fines descritos en el proyecto

El resto de las mediciones antropométricas no implicarán ningún riesgo ni molestia para mí.

**Beneficios:** Recibiré atención médica y nutricional sin ningún costo. Se me informarán los resultados de laboratorio. Los resultados obtenidos servirán para elaborar estrategias de tratamiento de la obesidad y la diabetes útiles en población Mestizo-Mexicana.

El investigador principal se ha comprometido a responder dudas acerca de los procedimientos que se le realizarán, los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación, para lo cual se me proporcionan los números teléfonos pertinentes.

Entiendo que tengo el derecho de retirarme del estudio en el momento en que yo lo considere conveniente, sin que esto afecte la atención médica que recibo en el INCMNSZ.

El investigador principal me ha asegurado que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven del estudio, y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Así mismo, he leído, entendido y aclarado el "Informe de Consentimiento para participar el estudio: **"Efecto de la variante R230C del gen de la proteína transportadora de cassette ligante de ATP A1 (ABCA1) sobre los niveles séricos de HDL-Colesterol en la respuesta al tratamiento dietético en pacientes mexicanos"**.

Por lo tanto, **acepto libremente participar en este estudio.**

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Investigador principal.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

\*Una copia del consentimiento se entregará al paciente. TEL. 54870900 EXT. 2437 Y 2405.

## BIBLIOGRAFIA

1. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. *JAMA*. 2001; 285: 2486-2497
2. Cardoso-Saldaña G, De la Peña A, Zamora J, Gómez-Ortega R, Posadas-Romero C, Izaguirre-Avila R, et al. Ethnicity and lipoprotein (a) polymorphism in native Mexican population. *Ann Hum Biol*. 2006; 33: 202-212.
3. Villareal-Molina MT, Aguilar-Salinas CA, Rodríguez-Cruz M, Riaño D, Villalobos-Comparan M, Coral-Vazquez R, et al. 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*. 2007; 56: 1881-1887.
4. Van Lenten BJ, Reddy ST, Navab M, Fogelman AM. Understanding changes in high density lipoproteins during the acute phase response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:1806-1
5. Ansell BJ, Navab M, Watson KE, Fonarow GC, Fogelman AM. Anti-inflammatory properties of HDL. *Rev Endoc Metab Disor*. 2004; 5: 351-358.
6. Silver DL, Wang Nan, Xiao Xiao, Tall AR. High Density Lipoprotein (HDL) Particle Uptake Mediated by Scavenger Receptor Class B Type 1 Results in Selective Sorting of HDL Cholesterol from Protein and Polarized Cholesterol Secretion. *J. Biol. Chem*. 2001;276:25287-25293
7. Denis M, Haidar B, Marcil M, Bouvier M, Krimbou L, Genest J. Molecular and cellular physiology of apolipoprotein A-I lipidation by the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1). *J Biol Chem*. 2004; 279:7384-94.
8. Zheng XL, Matsubara S, Diao C, Hollenberg MD, Wong NCW. Epidermal growth factor induction of apolipoprotein A-I is mediated by the Ras-MAP kinase cascade and Sp1. *J. Biol. Chem*. 276: 13822–13829.
9. Murao, K., Wada, Y., Nakamura, T., Taylor, A. H., Mooradian, A. D., Wong, N. C. J. Effects of Glucose and Insulin on Rat Apolipoprotein A-I Gene Expression. *Biol. Chem*. 1998;273, 18959–18965

10. Mooradian AD, Haas MJ, Wong NC. The effect of select nutrients on serum high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I levels. *Endoc Rev.* 2006;27:2-16.
11. Frank PG, Marcel YL. Apolipoprotein A-I; structure-function relationships. *J Lipid Res.* 2000;41:853-872
12. Rotllan N, Ribas V, Calpe-Berdiel L, Martin-Campos JM, Blanco-Vaca F, Escola-Gil JC. Overexpression of human apolipoprotein A-II in transgenic mice does not impair macrophage-specific reverse cholesterol transport in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:e128-e132.
13. The Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Ray KK, Thompson A, et al. Major Lipids, Apolipoproteins, and Risk of Vascular disease. *JAMA* 2009; 302:1993-2000.
14. Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fogelman AM. Mechanisms of Disease: proatherogenic HDL—an evolving field. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006; 2: 504-511.
15. Dean M, Hamon Y, and Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* 2001; 42:1007–1017.
16. Oram JF, Heinecke JW. ATP-binding cassette transporter AI: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *Physiol Rev.* 2005;85:1343-1372.
17. Oram JF. HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:720-727.
18. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid res.* 1995;36:211-228.
19. Glomset JA. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res.* 1968;9:155-167.
20. Oram JF, Yokoyama S. Apolipoprotein-mediated removal of cellular cholesterol and phospholipids. *J Lipid Res.* 1996;37:2473-2491.
21. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis.* 1999;145:227-238.
22. Emil M. deGoma, MD; Rolando L. deGoma, MD; Daniel J. Rader, MD. Beyond High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels Evaluating High-Density Lipoprotein Function as Influenced by Novel Therapeutic Approaches. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:2199-2211

23. Oram JF, Lawn RM. ABCA1: the gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *J Lipid Res.* 2001;42:1173-1179.
24. Schwartz CC, Halloran LG, Vlahcevic ZR, et al. Preferential utilization of free cholesterol from high density lipoproteins for biliary cholesterol secretion in man. *Science.* 1978;200:62-64.
25. Takahashi Y, Smith JD. Cholesterol efflux to apolipoprotein A1 involves endocytosis and resecretion in a calcium-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:11358-11363.
26. Costet P, Luo Y, Wang N, Tall AR. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem.* 2000;275:28240-28245.
27. Schwartz K, Lawn RM, Wade DP. ABC1 gene expression and ApoA-I mediated cholesterol efflux are regulated by LXR. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;274:794-802.
28. Kielar D, Dietmaier W, Langmann T, Aslanidis C, Probst M, Naruszewicz M, et al. Rapid quantification of human ABCA1 mRNA in various cell types and tissues by real-time reverse transcription PCR. *Clin Chem.* 2001;47:2089-2097.
29. Wellington CL, Walker EK, Suarez A, Kwok A, Bissada N, Singaraja R, et al. ABCA1 RNA and protein distribution patterns predict multiple different roles and levels of regulation. *Lab Invest.* 2002;82:273-283.
30. Lee J, Shirk A, Oram JF, Lee SP, Kuver R. Polarized cholesterol and phospholipids efflux in cultured gallbladder epithelial cells: evidence for an ABCA1-mediated pathway. *Biochem J.* 2002;364:475-484.
31. Iqbal J, Anwar K, Hussain MM. Multiple independently regulated pathways of cholesterol transport across the intestinal epithelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278:31610-31620.
32. Wellington CL. Cholesterol at the crossroads: Alzheimer's disease and lipid metabolism. *Clin Genet.* 2004;66:1-16.
33. McNeish J, AielloRJ, Guyot D, Turi T, Gabel C, Aldinger C, et al. High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Natl Acad Sci .* 2000;97:4245-4250.
34. Christianse-Weber TA, Volland JR, Wu Y, Ngo K, Roland B, Nguyen S, et al. Functional loss of ABCA1 in mice causes severe placental malformation,

- aberrant lipid distribution and kidney glomerulonephritis as well as high density lipoprotein cholesterol deficiency. *Am J Pathol.* 2000;157:1017-1029.
35. Bodzioch M, Orso E, Klucken J, Langmann T, Bötcher A, Diederich W, et al. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet.* 1999;22:347-351.
  36. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, et al. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high density lipoprotein deficiency. *Nat Genet.* 1999;22:336-345.
  37. Lawn RM, Wade DP, Garvin MR, Wang X, Schwartz K, Porter JG, et al. The Tangier disease gene product ABC1 controls the cellular apolipoprotein mediated lipid removal pathway. *J Clin Invest.* 1999;104:R25-R31.
  38. Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amoura A, Piette JC, et al. Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nat Genet.* 1999;22:352-355.
  39. Schaefer EJ, Blum CB, Levy RI, Jenkins LL, Alaupovic P, Foster DM, et al. Metabolism of high density lipoprotein apolipoproteins in Tangier disease. *N Engl J Med.* 1978;299:905-910.
  40. Timmins JM, Lee JY, Boudyguina E, Kluckman KD, Brunham LR, Mulya A, et al. Targeted inactivation of hepatic ABCA1 cause profound hypoalphalipoproteinemia and kidney hypercatabolism of apoA-I. *J Clin Invest.* 2005;115:1333-1342.
  41. Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Jensen GB, Tybjaerg GB. Genetic variation in BC transporter A1 contributes to HDL cholesterol in the general population. *J Clin Invest.* 2004;114:1343-1353.
  42. Aguilar-Salinas CA, Olaiz G, Valles V, Torres JM, Gomez-Perez FJ, Rull JA, et al. High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nationwide survey. *J Lipid Res.* 2001;42:1298-1307.
  43. Aguilar-Salinas CA, Cruz-Bautista I, Mehta R, Villareal-Molina MT, Gómez-Perez FJ, Tusie-Luna MT, et al. The ATP-Binding Cassette Transporter subfamily A member 1 (ABC-A1) and type 2 diabetes: an association beyond HDL cholesterol. *Curr Diabet Rev.* 2007;3:264-267.
  44. Acuña-Alonzo V, Flores-Dorantes T, Kruit JK, Villareal-Molina T, Arellano-Campos O, Hünemeier T, et al. A functional ABCA1 gene variant is associated

- with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 2877-2955.
45. Masson LF, McNeill G, Avenell A. Genetic variation and the lipid response to dietary intervention: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1098–1111.
  46. Masson LF, McNeill G. The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. *Curr Opin Lipidol* 2005, 16:61–67.
  47. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004; 141:137–147.
  48. Saito M, Eto M, Nitta H, Kanda Y, Shigeto M, Nakayama K, et al. Effect of apolipoprotein E4 allele on plasma LDL cholesterol response to diet therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2004; 27:1276–1280.
  49. Guevara-Cruz M, Tovar AR, Larrieta E, Canizales-Quintero S, Torres N. Increase in HDL-C concentration by a dietary portfolio with soy protein and soluble fiber is associated with the presence of the ABCA1 R230C variant in hyperlipidemic Mexican subjects. *Mol Genet Metab.* 2010;101:268-272.
  50. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a metaanalysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1146–1155.
  51. Schwingshackl L, Hoffmann G, Comparison of effects of long-term low-fat vs high-fat diets on blood lipid levels in overweight or obese patients: a systematic review and meta-analysis. *J Acad Nutr Diet.* 2013;113:1640-61
  52. Srivastava RA, Tang J, Krul ES, Pflieger B, Kitchens RT, Schonfeld G. Dietary fatty acids and dietary cholesterol differ in their effect on the in vivo regulation of apolipoprotein A-I and A-II gene expression in inbred strains of mice. *Biochim Biophys Acta* 1992;1125: 251–261.
  53. Spady DK, Kearney DM, Hobbs HH. Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-BI) expression and HDL cholesteryl ester uptake in the hamster. *J Lipid Res* 1999;40:1384–1394.
  54. Malik S. Transcriptional regulation of the apolipoprotein AI gene. *Front Biosci* 2003;8:360–368
  55. Wahrburg U, Martin H, Sandkamp M, Schulte H, Assmann G Comparative effects of a recommended lipid-lowering diet vs a diet rich in monounsaturated

- fatty acids on serum lipid profiles in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 1992;56:678–683.
56. Walden CE, Retzlaff BM, Buck BL, Wallick S, McCann BS, Knopp. RH Differential effect of National Cholesterol Education Program (NCEP) Step II diet on HDL cholesterol, its subfractions, and apoprotein A-I levels in hypercholesterolemic women and men after 1 year: the beFIT Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1580–1587.
  57. Li Z, Otvos JD, Lamon-Fava S, Carrasco WV, Lichtenstein AH, McNamara JR, Ordovas JM, Schaefer EJ Men and women differ in lipoprotein response to dietary saturated fat and cholesterol restriction. *J Nutr* 2003; 133:3428–3433.
  58. Srivastava RA. Saturated fatty acid, but not cholesterol, regulates apolipoprotein AI gene expression by posttranscriptional mechanism. *Biochem Mol Biol Int* 1994;34:393–402.
  59. Haas MJ, Horani MH, Wong NC, Mooradian AD. Induction of the apolipoprotein AI promoter by Sp1 is repressed by saturated fatty acids. *Metabolism* 2004;53:1342–1348.
  60. Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1146-55.
  61. Oller do Nascimento CM, Ribeiro EB, Oyama LM. Metabolism and secretory function of white adipose tissue: effect of dietary fat. *An Acad Bras Cienc* 2009, Sep; 81: 453-66.
  62. Lohman, T.G., Roche, A.F., Martorell, R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign (IL): Human Kinetics Books, 1998.
  63. López-Alvarenga JC, Reyes Díaz S, Castillo-Martinez L, Davalos-Ibañez A, Gonzalez-Barranco J. Reproducibilidad y sensibilidad de un cuestionario de actividad física en población mexicana. *Salud Pública Mex.* 2001;43:306-312.
  64. Leon AS, Rice T, Mandel S, Despres JP, Bergeron J, Gagnon J, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism.* 2000;49:513–520.
  65. Hata Y<sup>1</sup>, Nakajima K, Life-style and serum lipids and lipoproteins. *J Atheroscler Thromb.* 2000;7:177-97

66. Tran ZV, Weltman A, Glass GV, Mood DP. The effects of exercise on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis of studies. *Med Sci Sports Exerc.* 1983;15:393-402.
67. Aguilar-Salinas CA, Muñoz-Hernández LL, Cobos-Bonilla M, Ramírez-Márquez MR, Ordoñez-Sánchez ML, Mehta R, Medina-Santillán R, et al.. The R230C variant of the ATP binding cassette protein A1 (ABCA1) gene is associated with a decreased response to glyburide therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2013;62:638-41.
68. Villarreal-Molina T, Posadas-Romero C, Romero-Hidalgo S, Antúnez-Argüelles E, Bautista-Grande A, Vargas-Alarcón G, et al The ABCA1 gene R230C variant is associated with decreased risk of premature coronary artery disease: the genetics of atherosclerotic disease (GEA) study. [PLoS One.](#) 2012;7(11):e49285.
69. Romero-Hidalgo S, Villarreal-Molina T, González-Barrios JA, Canizales-Quinteros S, Rodríguez-Arellano ME, Yañez-Velazco LB, et al. Carbohydrate intake modulates the effect of the ABCA1-R230C variant on HDL cholesterol concentrations in premenopausal women. [J Nutr.](#) 2012;142:278-83.



PLAN DE TRABAJO			
RECLUTAMIENTO	INICIO DE INTERVENCIÓN	SEMANAS 2-12	FINAL DE INTERVENCIÓN
<p>Historia clínica.</p> <p>Antropometría</p> <p>Determinación de variantes de ABCA1</p> <p>Determinación de: Glucosa, insulina, Colesterol total, triglicéridos, HDL-C, Apo AI, Apo B,</p> <p>Determinación de ingesta alimentaria.</p> <p>Registro de actividad física.</p> <p>Prescripción de dieta isocalórica (50-20-30).</p>	<p>Prescripción de dieta isocalórica (40-20-40)</p>	<p>Evaluación de apego al tratamiento.</p> <p>Semanas 4, 8 y 12:</p> <p>Determinación de lípidos sanguíneos y apolipoproteínas B y AI</p>	<p>Antropometría.</p> <p>Determinación de lípidos sanguíneos y apolipoproteínas.</p>

**ALELO R230C DEL GEN ABCA1 EN LA RESPUESTA A LA DIETA**

**HOJA DE RECOLECCION DE DATOS**

Fecha: ____/____/____	Registro	Clasif: ____/____	No.Exp.
Fecha nacimiento ____/____/____	Edad	Estado civil	
Nombre:		Teléfono	
Domicilio:			
Lugar de nacimiento:			

**ANTROPOMETRIA**

Peso	Talla	IMC	C. Abd	C Cadera	Índice Cintura/Cadera	P. Sistólica	P. Diastólica
Kg	Cm		Cm	Cm			

**ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GENETICA**

FECHA: \_\_\_\_\_

TG	CT	HDL	LDL	GLU	INS	HDL 2/3	Adi	Lep	HOMA	ApoA1	Apo B	Alelo ABCA1

**CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE ALIMENTOS**

- |   |                          |
|---|--------------------------|
| 1. Nunca o menos de una vez a la semana | 5. 5-6 veces a la semana |
| 2. 1-2 veces a la semana                | 6. Una vez al día        |
| 3. Una vez a la semana                  | 7. 2-3 veces al día      |
| 4. 3-4 veces a la semana                | 8. Mas de 3 veces al día |

Jugos de frutas		Fruta fresca / deshidratada	/
Verduras hoja verde		Café, té, atole	/ /
Arroz, pastas	/	Gelatina, nieve, helado, flan	/ /
Cereal, pan, tortilla	/ /	Refrescos (se excluyen dietéticos)	
Pan de dulce, galletas	/	Chocolate, pasteles, golosinas, azúcar	/ /
Carne de cerdo, vísceras	/	Alimentos fritos, empanizados, capeados	
Huevos, leguminosas	/	Zanahoria, chayote, papa	/ /
Queso, pollo, res	/ /	Aceite, mantequilla, crema, aderezos	/ /
Mariscos, pescados	/	Comida rápida (pizza, hamburguesa)	
Leche, yogurt	/	Cacahuates, nueces, pistaches	

**CANTIDAD Y TIPO DE ALIMENTOS QUE CONSUME HABITUALMENTE**  
**LUGAR**

<b>DESAYUNO</b> Hora: _____		
<b>COLACION</b> Hora: _____		
<b>COMIDA</b> Hora: _____		
<b>COLACION</b> Hora: _____		

CENA Hora: _____		
---------------------	--	--

**CONSUMO DE TABACO Y ALCOHOL**

¿Actualmente fuma?	Sí (1) NUNCA (0) _____ No (2)	
¿Cuántos cigarrillos fuma (fumaba) y con qué frecuencia?	Diario (1) Semanal (2) Mensual (3) Ocasional(4)	Frecuencia _____ Cantidad _____
¿Durante cuánto tiempo ha fumado regularmente?	Menos de un mes (0)	Años _____
¿Actualmente toma alcohol?	Nunca (0) Sí (1) No (2)	_____
Aproximadamente, ¿cuántas copas toma (tomaba), con que frecuencia, durante cuánto tiempo?	Diario (1) Semanal (2) Mensual (3) Ocasional (4)	Frecuencia _____ Cantidad _____ Meses _____ Años _____
<b>ACTIVIDAD FÍSICA</b> SI NO	¿Cuál?	
# VECES A LA SEMANA	¿Tiene alguna incapacidad para moverse?	
DURACIÓN	¿Cuántas horas duerme al día?	

**CUESTIONARIO ESTATUS SOCIOECONOMICO**

Clasificación: (INCMNSZ) (_____)		Ocupación: _____
Ingreso promedio: \$ _____ Mensual	Escolaridad:	Primaria _____ Secundaria _____ Preparatoria _____ Comercial _____ Profesional _____ Postgrado _____ Ninguna _____
Medio de transporte: Autobús _____ Pesero _____ TAXI _____ Metro _____ Auto Particular _____		
Vivienda: Tipo de vivienda: Propia _____ Rentada _____ Prestada _____ OTRO _____		

**ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES**

	¿Vive? (Si/No)	Edad (años)	Causa	DM (Si/no)	C. I (Si/no)	Nefrop. diabética (Si/no)	Dislipidemia (Si/no)	Obesidad (Sí/No)	Otra
Padre									
Abo p Aba p Madre									
Abo m Aba m Hermanos									
Otros									

**LUGAR DE NACIMIENTO**

**ESCOLARIDAD**

Padre	
-------	--

Madre				
Abuelo Paterno				
Abuela paterna				
Abuelo materno				
Abuela materna				
<b>ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS</b>				
<b>ANT. GINECO-OBSTETRICOS</b>	Menarca	años Frecuencia y duración de los ciclos _____ x _____ días		
Irregularidades menstruales	S N	¿Cuáles?		
Embarazos: _____ #	Edad 1er.embarazo: _____ años	Edad último embarazo _____ años		
Peso productos al nacer	_____, _____, _____, _____, _____, _____, _____, _____, _____			
Ha tenido algún aborto, óbito o alguno de los productos tuvo malformaciones?		____ S ____ N		
Fecha última menstruación	___/___/___ D/ M/A	Se encuentra en climaterio _____ S _____ N		
Edad de presentación	_____ años	Recibe sustitución estrogénica _____ S _____ N		
<b>COMORBILIDADES</b>				
<b>HIPERTENSION ARTERIAL</b>	¿Tiene HAS?	NO Fecha de diagnóstico: ___/___/___ D/M/A		
		SI Edad de diagnóstico _____ años		
<b>Tratamiento actual</b> Diurético (1) Betabloqueador (2) Inhibidor de ECA (3) Bloqueador de canales de calcio (4) Bloqueador de receptores A.T. II (5) Otro (6) _____		Opción: _____ Dosis: _____		
<b>ALBUMINURIA O MICROALBUMINURIA</b>	NO	Creatinina > 2 mg/dl	SI	NO
	SI	Edad de diagnóstico _____ años		
<b>OBESIDAD</b>	SI	NO	Edad de inicio años	Peso al nacer Kg
Peso > _____ Kg.	F: ___/___/___ D/M/A	Peso < _____ Kg	F: ___/___/___ D/M/A	
Peso más reciente Kg	Peso hace 1 año Kg.	Peso habitual Kg		
Cambio crónico de peso	NO	SI	¿CUANTO? Kg	tiempo

¿POR QUÉ?														
<b>Tratamiento</b>														
<b>DISLIPIDEMIA</b>			Alguna vez se le han medido las concentraciones de:											
			Colesterol	SI	NO	Concentración								mg/dl
			Triglicéridos	SI	NO	Concentración								mg/dl
			Colesterol HDL	SI	NO	Concentración								mg/dl
			Colesterol LDL	SI	NO	Concentración								mg/dl
¿Recibe algún tratamiento hipolipemiante?				SI	NO	<b>OTROS MEDICAMENTOS</b>								
Estatinas (1) Fibratos (2) Estatina + Fibratos (3) Acido nicotínico (4) Resinas (5)														
ENTREVISTADOR:														
<b>SEGUIMIENTO</b>														
Fecha:				I.D.				No. Visita:						
<b>ANTROPOMETRIA</b>														
Peso		Talla		IMC		C. Abd		C Cadera		Indice Cintura/Cadera		P. Sistólica		P. Diastólica
Kg		Cm				Cm		Cm						
<b>ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GENETICA</b>											FECHA:			
TG	CT	HDL	LDL	GLU	INS	HDL 2/3	Adi	Lep	HOMA	ApoA1	Apo B	Alelo ABCA1		
<b>CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE ALIMENTOS</b>														
1. Nunca o menos de una vez a la semana							5. 5-6 veces a la semana							
2. 1-2 veces a la semana							6. Una vez al día							
3. Una vez a la semana							7. 2-3 veces al día							
4. 3-4 veces a la semana							8. Mas de 3 veces al día							
Jugos de frutas								Fruta fresca / deshidratada				/		
Verduras hoja verde								Café, té, atole				/ /		
Arroz, pastas				/				Gelatina, nieve, helado, flan				/ /		
Cereal, pan, tortilla				/ /				Refrescos (se excluyen dietéticos)						
Pan de dulce, galletas				/				Chocolate, pasteles, golosinas, azúcar				/ /		
Carne de cerdo, vísceras				/				Alimentos fritos, empanizados, capeados						
Huevos, leguminosas				/				Zanahoria, chayote, papa				/ /		
Queso, pollo, res				/ /				Aceite, mantequilla, crema, aderezos				/ /		

Mariscos, pescados	/	Comida rápida (pizza, hamburguesa)	
Leche, yogurt	/	Cacahuates, nueces, pistaches	
<b>CANTIDAD Y TIPO DE ALIMENTOS QUE CONSUME HABITUALMENTE</b>			
<b>LUGAR</b>			
<b>DESAYUNO</b> Hora:_____			
<b>COLACION</b> Hora:_____			
<b>COMIDA</b> Hora:_____			
<b>COLACION</b> Hora:_____			
<b>CENA</b> Hora:_____			
<b>CONSUMO DE TABACO Y ALCOHOL</b>			
¿Actualmente fuma?	Sí (1)      NUNCA (0) No (2)	_____	
¿Cuántos cigarrillos fuma (fumaba) y con qué frecuencia?	Diario (1) Semanal (2) Mensual (3) Ocasional(4)	_____	Frecuencia Cantidad
¿Durante cuánto tiempo ha fumado regularmente?	Menos de un mes (0)	Años _____	
¿Actualmente toma alcohol?	Nunca (0) Si (1) No (2)	_____	
Aproximadamente, ¿cuántas copas toma (tomaba), con que frecuencia, durante cuánto tiempo?	Diario (1) Semanal (2) Mensual (3) Ocasional (4)	Frecuencia _____	Cantidad _____ Meses _____ Años _____
<b>ACTIVIDAD FÍSICA</b>	SI	¿Cuál?	
NO			
# VECES A LA SEMANA		¿Tiene alguna incapacidad para moverse? ¿Cuántas horas duerme al día?	