



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas

Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Médicas

Presenta:

Dra. Linda Liliana Muñoz Hernandez.

Nombre del Proyecto:

**“Búsqueda de asociación de la variante alélica C del polimorfismo rs1349411 y la magnitud de la lipemia postprandial en una cohorte de pacientes con hiperlipidemia familiar combinada”.**

Tutor:

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas

México, Distrito Federal, Enero 2012



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.

## Contenido.

Portada	2
Marco teórico.	
Hiperlipidemia Familiar Combinada	3
Diagnóstico diferencial con el Síndrome Metabólico	5
El papel de la APOBEC-1 en el metabolismo de los lípidos	5
Lipemia postprandial	6
Planteamiento	8
Hipótesis	8
Objetivos	9
Métodos	
Diseño general	9
Prueba de tolerancia a comida mixta	10
Mediciones	10
Cálculo de muestra	11
Criterios de inclusión	11
Criterios de exclusión	11
Criterios de eliminación	12
Análisis estadístico	12
Resultados	13
Discusión	15
Conclusiones	19
Citas bibliográficas	19
Cuadros y figuras	22

Búsqueda de asociación de la variante alélica C del polimorfismo rs1349411 y la magnitud de la lipemia postprandial en una cohorte de pacientes con hiperlipidemia familiar combinada.

### Marco teórico.

#### Hiperlipidemia familiar combinada.

La hiperlipidemia familiar combinada (HLFC) es una dislipidemia primaria originalmente descrita en 1973 por Goldstein en familias de sobrevivientes a un infarto del miocardio, por la presencia de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia en los familiares afectados, por lo que desde entonces se le asoció a riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular prematura. La entidad fue descrita en forma simultánea por dos grupos adicionales. El aumento del riesgo cardiovascular ha sido replicado en estudios prospectivos<sup>1,2</sup>, en específico en sujetos antes de los 60 años de edad, aunque evidencia reciente sugiere que este riesgo está incrementado incluso a edades tan tempranas como antes de los 40 años<sup>3</sup>. Hasta la fecha su diagnóstico continúa siendo motivo de discusión<sup>4</sup>. La definición más aceptada incluye la existencia de dos o más familiares de primer grado con niveles de triglicéridos y colesterol por arriba de la percentila 90 de acuerdo a edad y género, ya sea en combinación o de manera aislada. El fenotipo tiene una variación intraindividual e intrafamiliar característica, que puede fluctuar a lo largo del tiempo desde hipercolesterolemia aislada, hipertrigliceridemia aislada, dislipidemia tipo IIb (probablemente el fenotipo más común)<sup>5</sup> o incluso una concentración de lípidos normal. Tales anormalidades más la presencia de antecedentes familiares de cardiopatía isquémica prematura y niveles de apolipoproteína B por arriba de la percentila 90 son datos confirmatorios. El diagnóstico precisa de conocer el perfil de lípidos de los familiares de primer grado<sup>6,7</sup>. Otras características de la enfermedad y que de forma interesante se expresan en cualquier fenotipo lipídico son un aumento en la concentración sérica de apolipoproteína B (apo B) y un incremento en el número de partículas LDL pequeñas y densas comparadas con sujetos sanos<sup>8</sup>. La HLFC es muy común, se considera la hiperlipidemia primaria más frecuente y su prevalencia en la población general se estima de 0.5 a 2% y es de 40% entre los sobrevivientes a un infarto del miocardio si no se consideran límites de edad<sup>7</sup>. En México, al analizar los datos obtenidos en la encuesta nacional de salud del 2006 (ENSA 2006)<sup>9</sup> y se consideran como afectados aquellos pacientes con dislipidemia mixta o hipertrigliceridemia más niveles de apo B arriba de la percentila 90 para mexicanos (99 mg/dL en mujeres y 108 mg/dL en hombres), la prevalencia se acerca a 9%.

Una alteración frecuentemente encontrada en esta dislipidemia es el aumento de la concentración de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de la apo B. El incremento en las VLDL-apo B se debe a un aumento en la síntesis hepática. Algunos autores sugieren que este aumento está relacionado a alteraciones en la incorporación de ácidos grasos en los triglicéridos (TG) y/o alteraciones en el metabolismo postprandial de las VLDL. El aumento de la secreción de las VLDL juega un papel central en el incremento de la concentración de las subclases pequeñas y densas de las VLDL. Además, también se ha mostrado que el incremento en las VLDL en pacientes con HLFC esta relacionado a defectos en la actividad de la lipasa lipoproteíca (LPL),

lecitin-colesterol acil-transferasa (LCAT) y lipasa hepática (LH). En el 2007, Evans y col encontraron que el defecto principal parece ser una sobreproducción de triacilglicerol (TAG) por el hígado, debido a una disminución en la oxidación de ácidos grasos que conduce a un exceso de ácidos grasos dirigidos a la síntesis de triglicéridos y además en sus experimentos observaron una disminución de la acción de la lipasa lipoproteica y una re-esterificación de los ácidos grasos libres alterada en el tejido adiposo<sup>7,10</sup>.(ver figura 1)

Desde el punto de vista genético la HLFC es heterogénea y tal característica complica la identificación de genes subyacentes, independientemente del diseño del estudio<sup>11</sup>. En los 30 años anteriores, se han realizado varios estudios de genes candidatos y de ligamiento para identificar genes de HLFC. Tres regiones cromosómicas, 1q21-23<sup>12</sup>, 11p<sup>13</sup> y 16q<sup>14</sup>, con evidencia significativa de ligamiento se replicaron en distintas muestras de estudio de sujetos con HLFC de diferentes poblaciones. En el 2010 se reportaron tres nuevas regiones, una en el cromosoma 4q32.3, mediante análisis de asociación y ligamiento, esta región se encontró relacionada con niveles altos de apo B en familias con HLFC y por otro lado en población Mexicana se identificaron dos variantes genéticas en el cromosoma 6 y 12 que contribuyen a la concentración de apo B en pacientes con HLFC<sup>11,15</sup>.

Por otra parte, el mapeo fino de la región 1q21-23 resultó en la caracterización del gen que codifica para el factor de transcripción río arriba 1, USF1 (upstream transcription factor1), el gen de susceptibilidad más importante para la HLFC<sup>16</sup> y que además se ha replicado en Mexicanos<sup>17</sup>. Las asociaciones con el gen de la lipasa lipoproteica y el gen del grupo de las apolipoproteínas A1/C3/A4/A5 también se han replicado en varios estudios para HLFC<sup>18</sup>, sin embargo, el número total de variantes y su contribución relativa a la susceptibilidad para desarrollar HLFC aún se desconoce.

Varios estudios epidemiológicos han mostrado que la población mexicana tiene una predisposición aumentada para la hiperlipidemia combinada y enfermedad cardiovascular prematura<sup>19,20</sup>, sin embargo se sabe poco acerca de los factores genéticos que les confiere esta susceptibilidad.

En el 2009 el grupo de Pajukanta y cols<sup>15</sup> identificaron dos variantes genéticas que se asociaron con las concentraciones de apo B en mexicanos usando ligamiento del genoma ampliado seguido de asociación basado en familias y replicación de las señales de asociación en un estudio de casos y controles no relacionados. Este análisis genético mostró asociación significativa después del ajuste para múltiples pruebas con la variante rs1424032 localizada en la región 16q21 y el polimorfismo de nucleótido único rs1349411 ( $2.72 \times 10^{-4}$ ) en la región 12p13.31 (MAF, minor allele frequency C 0.30) para hiperlipidemia familiar combinada y 0.35 para hipertrigliceridemia de otro origen (T/C, mayor, minor allele)] en un total de 1998 individuos mexicanos, 567 de ellos pertenecientes a 57 familias con hiperlipidemia familiar combinada y 1446 derivados de un estudio de casos y controles con hipertrigliceridemia moderada (ver cuadro1). El locus 16q21 corresponde a una región no codificadora altamente conservada y el locus 12p13.31, donde se encontró el polimorfismo rs1349411, se encuentra cercano al gen de la *APOBEC-1* (400 kb río abajo). En resumen, el alelo C, se asoció a una concentración menor de Apo B en ayunas, con un

tamaño del efecto  $z = -3.6$ , y de acuerdo a ancestría, este alelo se considero como el silvestre<sup>15</sup> (ver cuadro 1), por lo tanto, el estudio concluyó que el gen de *APOBEC-1* podría ser un excelente candidato plausible explicar variaciones en la concentración de apo B.

#### Diagóstico diferencial con el síndrome metabólico.

Los criterios diagnósticos del síndrome metabólico (al menos 3 de los siguientes: obesidad abdominal, en hombres  $>102$  cm y en mujeres  $>88$  cm; triglicéridos mayor de 150mg/dL, colesterol-HDL  $<$  de 40 mg/dL para hombres y  $<$  de 50 mg/dL para mujeres; presión arterial  $>$  de 130/85 mmHg y glucosa  $>$  de 100mg/dL) propuestos por la NCEP (National Cholesterol Education Program) en el 2001 causan una gran sobreposición con la HLFC. El síndrome metabólico (SM) fue identificado en 65% de pacientes con HLFC al comparalos con 19% de individuos controles (razón de momios de 3.3,  $P 0.0001$ )<sup>7</sup>.

Las características comunes que comparten estas dos condiciones son:

- Hipertrigliceridemia moderada con concentraciones de colesterol-HDL bajas.
- Asociación frecuente con factores de riesgo cardiovascular no lipídicos como hipertensión, obesidad abdominal y disminución en la tolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina.
- Riesgo cardiovascular incrementado.

Por otro lado, sus principales distinciones son:

- Las concentraciones de apo B están constantemente altas en HLFC y, los valores de colesterol-LDL con frecuencia son normales en el SM.
- El fenotipo lipídico es más variable en la HFC (tanto en el individuo como en las familias).
- La heredabilidad es más evidente en la HLFC, en contraste, los factores del estilo de vida o medio ambiente son mucho menos relevantes, a diferencia del SM.
- Las manifestaciones de laboratorio son más tempranas en la HLFC.
- Inflamación de grado bajo (concentraciones altas de proteína C reactiva y moléculas de adhesión) y/o condiciones procoagulantes (concentraciones mayores de fibrinógeno, PAI-I) se asocian con más frecuencia al síndrome metabólico.

La variabilidad marcada del perfil de lípidos, no explicada por dieta o variaciones en el peso corporal, puede representar el mejor criterio diagnóstico a favor de la HLFC.<sup>7</sup>

#### El papel de APOBEC-1 en el metabolismo de los lípidos.

En humanos, circulan dos isoformas de apo B, la apo B-100, que se produce en el hígado y transporta el colesterol y triglicéridos endógenos y la apo B-48 que en el intestino media la absorción y transporte de los lípidos provenientes de la dieta. La apo B-100 y B-48 derivan del mismo gen ubicado en el cromosoma 2, esto gracias a la acción de la APOBEC-1, una enzima de la familia de enzimas con actividad citidin-deaminasa, y que se encarga del proceso de edición del RNA mensajero de apo B para promover que un mismo gen pueda generar dos proteínas con funciones distintas. Este proceso de edición es un evento post-traducciona temprano donde la deaminación de citidina ubicada en la posición 6666 produce un cambio a uridina en el RNAm

de la apo B-100 y esto convierte el codón de glutamina 2153(CAA) en un codón de paro (UAA) generando así la isoforma apo B-48<sup>21</sup>(ver figura 3). A diferencia de otras enzimas con actividad citidin-deaminasa, la APOBEC-1 requiere de forma obligada de la interacción de cofactores tales como ACF (apobec-1 complemetation factor) y/o su variante ASF (apobec-1 stimulating protein) para formar una holoenzima multicomponente y complementar la acción de edición de la APOBEC-1. La mutación por delección de ACF indicó que se une a la APOBEC1 a través de su región amino terminal y esta región también es el sitio de unión del RNAm. La ACF comparte una secuencia de homología significativa con la proteína de unión del RNA, GRY-RBP, ambas proteínas tienen tres RRM motivos no idénticos; así mientras que la ACF complementa la actividad de APOBEC1, GRY-RBP inhibe la edición, esto sugiere que la actividad de APOBEC1 puede estar regulada por la acción coordinada de estas dos proteínas<sup>22</sup>.

En los humanos la edición del RNAm de la apo B ocurre predominantemente en el intestino delgado y no en el hígado, debido a la expresión tejido-específico de la APOBEC-1. En contraste, las ratas y ratones expresan APOBEC-1 en múltiples tejidos incluyendo el hígado, como resultado, secretan lipoproteínas que contienen apo B-100 y 48 en el hígado y la proporción de lipoproteínas con la apo B-100 es menor, esto los hace más resistentes a la aterosclerosis que deriva de una dieta aterogénica al compararlos con otras especies. Las lipoproteínas que contienen la apo B-48 tienen múltiples copias de apoE, esto facilita su depuración por el receptor LDL y el receptor de la proteína relacionada al rLDL. En consecuencia las partículas que contienen apo B-48 son eliminadas del plasma más rápidamente que las que contienen apo B-100. Como la APOBEC-1 determina la proporción relativa de las dos isoformas de apo B, los mecanismos involucrados en esta regulación son de considerable interés, lo que ha originado investigación en modelos animales transgénicos, donde la sobre-expresión de la actividad de esta enzima en el hígado se relacionó con la reducción de lipoproteínas aterogénicas como las LDLs y la lipoproteína (a). Si bien varios reportes han demostrado que la sobreexpresión de APOBEC-1 en ratones transgénicos disminuyen las concentraciones de colesterol-LDL, una expresión constitutiva alta resultó en carcinogénesis y displasia hepática lo que en un principio eliminó el interés de investigar este modelo con fines de originar una terapia capaz de modular las concentraciones de lípidos. Sin embargo, estudios de biología molecular, han demostrado que esta sobre-expresión puede eliminarse para hacer más específica la mutación que promueve una ganancia en la función en la APOBEC-1, y estos hallazgos han convertido de nuevo a esta línea de investigación en un camino prometedor hacia el descubrimiento de nuevas terapias que modulen el metabolismo de los lípidos<sup>23,26,27</sup>.

#### Lipemia postprandial.

La lipemia postprandial se refiere a un incremento transitorio en los lípidos sanguíneos, particularmente triacilgliceroles (TG), lo cual ocurre después de un alimento que contiene grasa. Los lípidos de la dieta son empaquetados en quilomicrones en el enterocito y transportados hacia la circulación vía el conducto torácico. Los quilomicrones son lipoproteínas grandes, ricas en triglicéridos que contienen apo B-48, apoproteína esencial para el ensamblaje inicial y

secreción de estas partículas. En el plasma, los quilomicrones adquieren diferentes clases de apolipoproteínas tales como la apo A y C así como a la apo E. La apo CII es un activador de la lipasa lipoproteica que estimula la hidrólisis de triglicéridos contenidos en los quilomicrones lo que resulta en la formación de remanentes de quilomicrones, mientras que los fosfolípidos, colesterol libre y apo C son transferidos a las HDL. Los remanentes de quilomicrones, ricos en colesterol, son removidos de la circulación al ser incorporados al hígado por el receptor de LDL que reconoce a la apo E (ver figura 4). Una vez en el hígado, los ácidos grasos derivados de los triglicéridos pueden ser usados como fuente de energía o para la síntesis de lípidos complejos como los fosfolípidos. Alternativamente, pueden ser re-sintetizados hacia triglicéridos y empaquetados junto con colesterol y fosfolípidos en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL's) y retornar a la circulación con la apo B-100 como apoproteína estructural principal. Puesto que la secreción hepática de VLDL esta incrementada en el postprandio, la lipemia postprandial es causada por niveles incrementados de quilomicrones, remanentes de quilomicrones y VLDL's que son conocidas colectivamente como lipoproteínas ricas en triglicéridos.

La lipemia postprandial es reconocida como un predictor independiente de enfermedad cardiovascular y cada vez mas investigadores aceptan que las lipoproteínas ricas en triglicéridos son importantes en el riesgo a desarrollar aterosclerosis<sup>22</sup>. La lipemia postprandial consiste en un grupo heterogéneo de partículas ricas en triglicéridos de diferentes composiciones y orígenes (ver figura 2, metabolismo normal de lípidos exógenos). Para explicar la asociación de una mayor lipemia postprandial y riesgo cardiovascular incrementado en pacientes con síndrome se han propuesto dos mecanismos posibles, el primero es un mecanismo directo que postula una falta de supresión postprandial de la producción de VLDL's por parte del hígado la cual es mediada por insulina así como una vía de señalización de insulina alterada a nivel de PI3 que es un paso clave para suprimir la liberación de VLDL-tg, asimismo mediante esta vía directa, se expone a la circulación a un mayor tiempo de residencia de partículas potencialmente aterogénicas. Por otro lado, el segundo mecanismo propone una vía indirecta que favorece en el periodo postprandial un estado inflamatorio condicionado por la activación de la vía del complemento C3 y de otras citocinas proinflamatorias que ocasionan que el espacio subendotelial sea más susceptible a la formación de placas de ateroma<sup>23</sup>. Una mayor lipemia postprandial, con las consecuencias arriba descritas se ha demostrado en pacientes con diabetes mellitus 2 y síndrome metabólico y en estos grupos de pacientes se sabe que este retardo en el aclaramiento postprandial de los lípidos es ocasionado por resistencia a la insulina/obesidad. El perfil de lípidos característico de los pacientes con HLFC tiene gran similitud al de los pacientes con síndrome metabólico, sin embargo las concentraciones de apo B en pacientes con HLFC son mayores, lo que sustenta la posibilidad de que mecanismos alternativos originen este rasgo. La lipemia postprandial también es mayor en pacientes con HLFC al compararlos con sujetos sanos por lo que se puede asumir que tendría las mismas consecuencias que lo descrito para pacientes con diabetes/resistencia a la insulina/obesidad. El hallazgo de la asociación de las concentraciones más bajas de apo B entre los pacientes portadores del alelo C del rs1349411

podría tener su origen a nivel postprandial, por una probable ganancia de función de la *APOBEC-1*.

### Planteamiento

Los resultados de varios estudios epidemiológicos prospectivos han mostrado que las concentraciones de apo B son mejores predictores de riesgo cardiovascular al compararlas con las concentraciones de colesterol total (CT) y colesterol LDL (C-LDL). Esto es debido a que la apo B está presente en todas las partículas de lipoproteínas potencialmente aterogénicas; cada partícula contiene una molécula de apo B por lo que su medición representa el número total de partículas aterogénicas. La apo B existe en dos formas, la apoB100 y la apoB48 gracias a la existencia de la *APOBEC-1* y la apoB 48 es un componente esencial de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen exógeno (quilomicrones y remanentes de quilomicrones).

La hiperlipidemia familiar combinada es la dislipidemia primaria más frecuente. Se caracteriza por concentraciones altas de apolipoproteína B en plasma. Un estudio de asociación identificó en Mexicanos que el polimorfismo rs1349411 es un determinante de la concentración de la apolipoproteína B. El polimorfismo de secuencia única se encuentra próximo al gen de la *APOBEC-1*, enzima que participa en la síntesis de los quilomicrones. Por lo tanto, este gen es un excelente candidato para modular el metabolismo postprandial de lipoproteínas y las concentraciones de apo B.

Aunque existen numerosos estudios de asociación de marcadores genéticos con rasgos cuantitativos de diversos parámetros del perfil de lípidos, estos estudios no están diseñados para ofrecer una explicación de los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la alteración de dichos rasgos ni para establecer un impacto biológico de tales asociaciones, sino que esto requiere de estudios subsecuentes dirigidos a buscar un cambio en la función o metabolismo de las proteínas derivadas de los genes candidatos asociados a la variante genética.

Ya que la apoB48 incrementa después de una comida rica en grasa, el objetivo del presente estudio fue comparar la lipemia postprandial y la concentración postprandial de apoB48 en relación a apoB100, entre los grupos que tienen el genotipo del alelo común (TT) y los que tienen el genotipo con el alelo de menor frecuencia (CC/CT), relacionado previamente con concentraciones menores de apo b. Esto con el objetivo de valorar si hay algún cambio que sea significativo en el metabolismo postprandial de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y con esto determinar si existen implicaciones que ameriten futuros estudios de fisiopatología y clínicos.

### Hipótesis.

**Hipótesis Nula:** Los sujetos con HLFC con el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC -1* tendrán una lipemia postprandial similar comparados con aquellos casos sujetos con HLFC pareados por edad, género y la concentración de triglicéridos de ayuno de individuos que no tienen este alelo.

**Hipótesis alterna:** Los pacientes con HLFC con el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1* tendrán una lipemia postprandial mayor comparados con aquellos casos con HLFC pareados por edad, sexo y la concentración de triglicéridos de ayuno de individuos que no tienen tal variante.

### Objetivos.

#### **Objetivo general:**

Determinar si la presencia de la variante C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen de *APOBEC-1* se asocia a una mayor lipemia postprandial en sujetos con hiperlipidemia familiar combinada.

#### **Objetivos específicos:**

1. Comparar la concentración postprandial de triglicéridos en pacientes con HLFC con y sin la variante alélica C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
2. Comparar la concentración postprandial de colesterol total en pacientes con HLFC con y sin la variante alélica C en el polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
3. Comparar la concentración postprandial de HDL-C en pacientes con HLFC con y sin la variante alélica C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
4. Comparar la concentración postprandial de apo B-48 en pacientes con HLFC con y sin la variante alélica C en el polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
6. Comparar la concentración postprandial de apo B-100 en pacientes con HLFC con y sin el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
7. Comparar la concentración postprandial de apo A-V en pacientes con HLFC con y sin el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
8. Comparar la concentración postprandial de insulina en pacientes con HLFC con y sin el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.
9. Comparar la concentración postprandial de glucosa en pacientes con HLFC con y sin el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*.

### Métodos.

#### **Diseño General.**

Estudio observacional, comparativo, transversal y pareado.

Se invitó a los pacientes de la cohorte de HLFC existente desde el 2004 en la Clínica de Dislipidemias del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán que cumplieron con los criterios de inclusión. Los participantes forman parte de las familias de la cohorte y tienen por lo tanto los criterios de HLFC, en la visita de escrutinio se realizó historia clínica y examen físico, se buscaron datos como presencia de xantomas o signos de hipotiroidismo o cualquier otra enfermedad concomitante que impidiera la realización de la prueba oral de comida mixta. Se les entregó consentimiento informado del estudio. El día de la prueba se les aplicó un cuestionario estandarizado, mediciones antropométricas (peso, talla, IMC, perímetro de cintura y cadera, relación cintura-cadera, presión arterial) en dos ocasiones y se tomó el promedio. Se determinó la ingestión alimentaria habitual por medio del recordatorio de 24 horas de 3 días, dos días entre semana y un día en fin de semana, se realizó por una nutrióloga que convirtió cada alimento preparado notificado en cantidad de gramos o mililitros de alimento y determinó las kilocalorías y nutrientes de la dieta.

Los parámetros sanguíneos se midieron en el departamento de endocrinología y metabolismo del INCMNSZ (certificado por el Colegio Americano de Patólogos), en muestras de sangre periférica obtenidas después de 12 horas de ayuno. Se realizaron mediciones basales y postprandiales como se indica a continuación: Basal, 3, 4, 5, 6 y 8 horas.

#### **Prueba de tolerancia a comida mixta.**

Se realizó la curva de tolerancia a una comida mixta:

Se pidió a los sujetos que acudieran al Departamento de Endocrinología y Metabolismo con un ayuno de 12 horas, se les proporcionó una dieta que constó de: hamburguesa cuarto de libra con queso, 70 gramos de papas fritas, leche entera (240 mL) y mayonesa (una cucharada). Dicha dieta contiene: 79.5grs de carbohidratos, 37.12grs de proteínas, 48.13grs de grasa (poliinsaturada/saturada). El contenido energético total es de 906.5kcal. Personal calificado colocó una línea periférica para la extracción de sangre. Las muestras sanguíneas para medición de lípidos y apolipoproteínas, glucosa e insulina se tomaron al inicio, 3, 4, 6 y 8 horas después de la dieta indicada. La sangre venosa se colectó en tubos que contienen EDTA y se sometieron a separación del plasma mediante centrifugación a 3000 g por 15 minutos a 4 C de temperatura. Las muestras se mantuvieron frías desde el momento de ser colectadas y después de preparar las alícuotas se congelaron a -70° C. A los pacientes sólo se les permitió ingerir agua después de la carga oral de alimentos hasta que se finalizó con la última toma de muestra. No se reportaron efectos adversos graves durante o después de la prueba oral de tolerancia a una comida mixta.

**Mediciones.** En la determinación de colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y glucosa se emplearon métodos enzimáticos colorimétricos, Beckman Coulter (CV  $\leq$  5%). La determinación de LDL se estimó por la fórmula de Friedewald. Se midió insulina por MEIA, Abbott (CV 8%). La apo B se midió por el método inmunturbidimétrico, Image Beckman Coulter ( $\leq$  5%). La apo B-48 se midió con un ELISA (cortesía de la Dra Taskinen, Facultad de Medicina de la Universidad de Helsinki, Finlandia). El contenido de lípidos y apolipoproteínas de las VLDL's

se midió con los mismos métodos después de su aislamiento mediante la técnica de ultracentrifugación por gradiente de densidad en centrifuga Beckman (Palo Alto, Ca).

### **Cálculo del tamaño de la muestra:**

La variable dependiente sobre la cual se realizó el cálculo de muestra fue el área bajo la curva incremental de triglicéridos. Se utilizó la fórmula para diferencia de medias entre dos muestras dependientes debido al diseño pareado del estudio. No existen estudios previos que evalúen el impacto del polimorfismo de secuencia única rs1349411, por lo cual se tomaron los resultados (medias y desviación estándar) de un estudio previo que evaluó la lipemia postprandial en sujetos con resistencia a la insulina (rasgo común de los pacientes con HLFC) y sujeto sanos.<sup>26</sup>

$$n = \left[ \frac{\sigma_d (z_\alpha + z_\beta)}{\Delta - 0} \right]^2$$

alpha = 0.0500 (two-sided)  
power = 0.9000  
alternative m = 6.43  
sd = 3.83

N= 17 pares

34 pacientes.

### **Criterios de inclusión.**

Expuestos

1. Individuos mayores de 18 años con diagnóstico de HLFC con el alelo C del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1*, que acepten participar en el estudio.

No expuestos

1. Individuos mayores de 18 años con diagnóstico de HLFC con el alelo T del polimorfismo rs1349411 cercano al gen *APOBEC-1* pareados por la concentración de triglicéridos ( $\pm 30$ mg/dl) edad ( $\pm 5$  años) y sexo con los expuestos, que acepten participar en el estudio.

### **Criterios de exclusión.**

1. Enfermedad coronaria.
2. Diabetes mellitus.
3. Alcoholismo (más de dos raciones al día)
4. Obesidad extrema IMC mayor de 40 kg/m<sup>2</sup>
5. Nivel de triglicéridos mayor de 1000 mg/dl
6. Enfermedad aguda en las seis semanas previas.

7. Uso de estatinas, fibratos o medicamentos que alteren el perfil de lípidos.

### **Criterios de eliminación.**

1. Retiro voluntario del paciente durante la prueba de lipemia postprandial
2. Que no se cuente con todas las muestras de una curva de lipemia postprandial.
3. Efectos secundarios del desayuno o durante la prueba que ameriten suspensión de la curva.

#### **-Variables dependientes**

Concentración postprandial de triglicéridos

Concentración postprandial de apo B-48

Concentración postprandial de apo B-100

Concentración postprandial de colesterol total

Concentración postprandial de C-HDL

Concentración postprandial de colesterol No HDL

Concentración postprandial de apo A-V

Concentración postprandial de glucosa

Concentración postprandial de insulina

Concentración postprandial del contenido de triglicéridos en quilomicrones

Concentración postprandial del contenido de apo B-48 en quilomicrones

#### **-Variable independiente.**

Genotipos CC+CT y TT.

#### **-Variables confusoras.**

Colesterol total, apo B, insulina, tabaquismo, presión arterial sistólica, cintura y sedentarismo.

### **Análisis estadístico.**

Las variables dimensionales se describieron como medias y desviación estándar o mediana y rango intercuartil 25-75, de acuerdo a la distribución de las variables.

Se hizo transformación a mmol/L de triglicéridos, glucosa y colesterol total para calcular las áreas bajo la curva total e incremental.

Se calcularon las áreas bajo la curva total e incremental de triglicéridos, glucosa, insulina, CT, C-HDL, colesterol no HDL, apo A-V, apo B y apoB 48 para contar con una medida de resumen integral del comportamiento de estos parámetros durante la curva. Para el área bajo la curva total se usó la fórmula de los trapezoides y en el caso del área bajo la curva incremental se restó el valor basal a cada tiempo para después usar la misma fórmula.

Las diferencias en las características basales de las variables dimensionales entre los grupos pareados se estimaron con pruebas de T pareada o rangos señalados de Wilcoxon según la distribución de la variable.

Se realizó comparación del área bajo la curva total e incremental de triglicéridos, apo B-48, apo B, apo A-V, CT, C-HDL, glucosa e insulina entre los dos grupos pareados con pruebas de T pareada o rangos señalados de Wilcoxon de acuerdo al sesgo de las variables.

Se realizó el mismo análisis pero con pruebas para muestras independientes (T de Student o U-Mann-Whitney), según el sesgo de la variable, en la comparación de los dos grupos de la N total no pareada.

Se realizó un modelo de regresión lineal múltiple y simple de las variables dependientes del área bajo la curva total e incremental de apo B-48, respectivamente. Se incluyeron en el modelo multivariado las variables independientes que en el análisis bivariado tuvieron una *P* menor de 0.15 que fueron colesterol total, apo A-V y presión arterial sistólica.

Se tomó como significativo cualquier diferencia menor de 0.05.

Se usó STATA versión 11.

### Resultados

Del 10 de Junio del 2009 al 31 de Octubre del 2011 se invitó a participar a 102 sujetos cuyos contactos se obtuvieron a partir de la base de datos de Hiperlipidemia Familiar Combinada de la clínica de dislipidemias del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, conformada por 3000 sujetos, miembros de 252 familias. De forma inicial ninguno de los participantes presentó los criterios de exclusión establecidos, lo cual se investigó por interrogatorio vía telefónica o en una consulta médica, así que se realizó la prueba de tolerancia a una comida mixta a los 102 participantes. Durante la prueba, se identificaron 5 casos con cifras de glucosa en rangos de diabetes, por lo cual, después de la prueba de tolerancia a comida mixta se les realizó una prueba de tolerancia oral a la glucosa y hemoglobina glucosilada estableciéndose diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 según criterios de la ADA. Dos casos presentaron una concentración de triglicéridos basal superior a 1000 mg/dL el día de la curva. Otro caso presentó náusea y vómito por lo que la curva de tolerancia a comida mixta se suspendió y finalmente dos pacientes decidieron abandonar el estudio. Los 10 casos fueron eliminados, quedando un total de 92 casos analizables. Sin embargo, debido al diseño pre-establecido con pareamiento por concentración de triglicéridos, edad y sexo, en el análisis principal quedaron incluidos 33 pares de sujetos (N=66) de los 92 casos disponibles. El diagrama de flujo de la selección de pacientes se muestra en la figura 5. Las características clínicas de los 66 pacientes en el estado basal no mostraron diferencias estadísticamente significativas, los resultados se muestran en el cuadro 2; las características bioquímicas tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas a excepción de la concentración de insulina y el HOMA-IR que fueron mayores en el genotipo de la variante común TT, 7.6 vs 10.7 mU/L y 1.89 vs 2.69, con un valor de  $P=0.037$  y  $0.052$ , respectivamente (debido al diseño del estudio no

fueron necesarios ajustes posteriores), ver cuadro 2. Las áreas bajo la curva total e incremental de triglicéridos, colesterol, glucosa, insulina y el resto de los parámetros de lípidos medidos durante la curva tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas, (ver cuadro 3).

Se analizó un subgrupo de 30 pacientes a los que se les determinaron concentraciones de apo B, apo B-48 y apo A-V a lo largo de la curva; este grupo no se ha pareado aún, por lo tanto para las comparaciones se utilizaron pruebas para muestras independientes. La distribución de genotipos en este grupo fue de 14 con el genotipo CC+CT y 16 con el genotipo TT. Las características clínicas y bioquímicas basales entre los dos grupos comprendidos en este subgrupo no mostraron diferencias estadísticamente significativas (ver cuadro 4) y a diferencia del grupo completo, la concentración de insulina no mostró diferencia estadísticamente significativa. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el área bajo la curva total e incremental de apo B-48, 5258 vs 2934  $\mu\text{g} \times \text{min}/\text{mL}$  y 1955 vs 1132  $\mu\text{g} \times \text{min}/\text{mL}$ ,  $P= 0.049$  y  $0.01$ , respectivamente. La diferencia durante la curva de las concentraciones de apo A-V, apo B y el resto de los lípidos postprandiales no mostraron una diferencias significativas entre los grupos (ver cuadro 5).

Después del análisis del grupo pareado, de forma secundaria se realizó un análisis con el grupo que comprende la N total ( $N=92$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características clínicas basales. En las variables bioquímicas basales el grupo de la variante común TT mostró mayores concentraciones de insulina y de HOMA-IR con una  $P= 0.014$  y  $0.035$ , respectivamente. No se encontraron diferencias de las concentraciones de lípidos, glucosa e insulina postprandiales (ver cuadro 6).

Se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para buscar un posible impacto de confusores y medir el tamaño del efecto del genotipo como variable independiente (CC+CT y TT). El modelo se realizó en el subgrupo de 30 sujetos (ya que sólo ellos tienen determinadas las concentraciones de apo B-48, variable dependiente de interés y con diferencia estadísticamente significativa). Como variables independientes se incluyeron colesterol total basal, presión arterial sistólica y apo A-V basal. El modelo no fue estadísticamente significativo ( $P= 0.23$ ) y no fue explicativo ( $R^2= 0.06$ ), la única variable que mostró una tendencia significativa fue el genotipo con un tamaño del efecto ( $z$ ) para la variable común TT de  $-2.02$  con  $P= 0.055$  (ver cuadro 7). El modelo de regresión lineal simple del área bajo la curva incremental de apo B-48 fue más explicativo ( $R^2= 0.15$ ) y estadísticamente significativo ( $P= 0.023$ ), el tamaño del efecto ( $z$ ) para el genotipo TT fue de  $-2.41$ , (ver cuadro 8).

## Discusión

Este estudio tuvo como objetivo buscar un posible impacto de la variante rara C (CC/CT) del polimorfismo rs1349411 sobre la lipemia postprandial. El estudio demostró que los sujetos con la variante rara (CC/TC) tienen una concentración postprandial mayor de apo B-48 y que es independiente del fenotipo lipídico basal, y de acuerdo al modelo multivariado, es un efecto sólo atribuible al genotipo. El marcador genético se encontró asociado a concentraciones de apo B en un grupo de pacientes mexicanos con HLFC en un estudio previo<sup>15</sup>. Esta variante genética se encuentra ubicada en el brazo corto del cromosoma 12, en cercanía a la región que codifica para el gen de *APOBEC-1*, y la proteína que produce, APOBEC1, es responsable de la edición del RNAm de la apoB para dar lugar a la isoforma apo B-48; esta apoproteína es un componente esencial de los quilomicrones, partículas que derivan de la dieta, lo cual justificó buscar un cambio en la lipemia postprandial entre los portadores de la variante rara y la común.

La hiperlipidemia familiar combinada es una de las dislipidemias más frecuentes en México y la hiperlipidemia primaria más común en población mundial, con una herencia predominantemente dominante, estas características la convierten en una dislipidemia de interés y numerosos estudios de asociación genética se han realizado para encontrar y estudiar los potenciales genes que podrían explicar la enfermedad, pese a esto, las bases genéticas de su compleja fisiopatología no están bien definidas

El marcador genético rs1349411 se encontró en un grupo de pacientes mexicanos con HLFC sin tratamiento hipolipemiante y se asoció a niveles de apo B en ayunas (tamaño del efecto  $z$  -3.6 en la regresión lineal múltiple), los hallazgos se replicaron en una muestra de casos y controles de pacientes mexicanos con hipertrigliceridemia<sup>15</sup>. Esta variante genética se encuentra ubicada en el cromosoma 12p13.31, 400 kb río abajo de la región que codifica para el gen de *APOBEC-1* y en desequilibrio de ligamiento con este sitio, hallazgos que colocan al gen de *APOBEC-1* como un candidato para explicar la asociación con las concentraciones de apo B.

La APOBEC-1 es una enzima que pertenece al grupo de enzimas citidin-deaminasa (CDARs, cytidine deaminases active on RNA) y se encarga de editar el RNAm de la apo B a través de catalizar la deaminación del nucleótido citidina<sub>666</sub> del RNAm de la apo B para convertirlo en uridina generando un cambio del codón de glutamina a un codón de paro (ver figura 3); de esta forma, la expresión de apoB genera RNAm que codifica para las isoformas apo B-100 (forma no editada) o apo B-48 (forma editada), esta enzima requiere para su adecuado funcionamiento de la interacción de factores como el ACF (apobec-1 complementation factor) y/o su variante ASF (apobec-1 stimulating protein) con los que forma una holoenzima activa que reconoce el RNAm de la apo B. Aunque la apoB-100 y la apo B-48 tienen una habilidad similar para transportar lipoproteínas ricas en triglicéridos, las lipoproteínas que contienen la apoB-48 (quilomicrones y remanentes de quilomicrones) son más grandes, por lo que tienen una capacidad mayor para almacenar triglicéridos, tienen un mayor contenido de apo E, son depuradas con mayor rapidez de la circulación y no se asocian con la apolipoproteína a <apo(a)>. Debido a estas

características, algunos estudios en animales consideran que concentraciones mayores de lipoproteínas que contienen la apo B-48 podrían reducir el riesgo aterogénico<sup>26,27</sup>. Existen estudios transgénicos en ratones, dirigidos a condicionar una mayor actividad de APOBEC-1 en el hígado, tejido donde normalmente no se expresa esta enzima en el humano, y los resultados mostraron que la actividad de esta enzima a nivel hepático favorece menores concentraciones de VLDL/apoB-100 a expensas de un incremento en la concentración de apo B-48/VLDL, lipoproteína que logra ser depurada de la circulación de manera más eficiente. Estos resultados plantean la posibilidad de que terapias dirigidas a modular la función de edición del RNAm de la apo B pueden ser potenciales blancos terapéuticos para el manejo de la hiperlipidemia<sup>22,23,26,27</sup>. Sin embargo, estos experimentos y sus resultados no se pueden traspolar al humano, puesto que en el humano no se ha identificado expresión de la APOBEC-1 en el hígado, de tal forma que nuestros resultados no se pueden explicar por los mecanismos previamente descritos en los modelos murinos.

La hipótesis planteada fue que observaríamos una diferencia en la magnitud del aumento de la lipemia postprandial, principalmente en la apo B-48, especulando un cambio en la función de edición de la APOBEC-1, en específico una ganancia de la función de esta enzima en los pacientes portadores de la variante rara (CC/CT), ya que en el estudio previo la variante rara se asoció a una menor concentración de apo B, sugiriendo que estos pacientes pueden tener un cambio en la proporción de apo B-100/apo B-48 a favor de esta última, vía APOBEC-1.

La asociación con concentraciones menores de apo B del estudio precedente no se reprodujo, sin embargo la diferencia encontrada en el área bajo la curva incremental de apo B-48 de 1955 (1416-3385) vs 1132(515-1499)  $\mu\text{g} \times \text{min}/\text{mL}$   $P= 0.01$ , se puede explicar por una ganancia en la función de APOBEC-1. Un adecuado funcionamiento de APOBEC-1 no sólo depende de que su gen esté íntegro, esta enzima requiere de otras proteínas que actúan como co-factores (ACF y ASF) por lo que estudios futuros se pueden dirigir a buscar cambios en estas proteínas o en los genes que las codifican.

En general los pacientes de la variante rara mostraron una tendencia a concentraciones menores de colesterol total y apo A-V, ( $P 0.07$  y  $0.08$ , respectivamente) ver cuadro 5. Una probable explicación a este fenotipo más favorable es que al tener una ganancia de la función en la APOBEC-1, presentan mayor cantidad de apoB-48 disponible para el transporte más eficiente y depuración más rápida de lípidos, por lo cual el colesterol y lípidos potencialmente aterogénicos tienen una vida media más corta en la circulación.

Más allá de las especulaciones en cuanto a un probable fenotipo protector conferido por la variante rara, es importante destacar que la única diferencia con significancia estadística encontrada en el estudio (que fue en las concentraciones de apo B-48) podría redundar en una disminución en el riesgo cardiovascular ya que se sabe que también las lipoproteínas ricas en triglicéridos provenientes de la dieta son capaces de penetrar el espacio subendotelial y dar lugar a la aterogénesis<sup>32</sup>. Sin embargo este estudio no se diseñó para demostrar eso y para ese fin, es

decir, para comprobar una teoría de disminución en la aterogénesis y eventualmente riesgo cardiovascular, se requieren estudios de investigación básica con modelos que se aproximen más a lo que sucede en el humano, por ejemplo, generar un modelo con sobre-expresión de APOBEC-1 pero sólo a nivel intestinal, seguido de estudios de investigación clínica, prospectivos y a gran escala para dar un seguimiento a pacientes con dislipidemia y alto riesgo cardiovascular expuestos a los dos genotipos, y esclarecer si los portadores de la variante rara presentan una disminución en el riesgo cardiovascular.

Por otro lado el metabolismo postprandial de los lípidos es complejo y no depende únicamente de que exista una relación normal entre la proporción de apo B-48 y apo B-100. Este estudio no buscó alteraciones en otros pasos clave para el metabolismo postprandial de los lípidos, por ejemplo, la actividad de las enzimas(o sus cofactores) que se encargan de la hidrólisis de los triglicéridos contenidos en las lipoproteínas, o de las enzimas encargadas del intercambio de lípidos entre las lipoproteínas para optimizar su metabolismo, particularmente su depuración. Por lo cual, alteraciones en elementos como la lipasa lipoproteica, apo C y apo E no pueden ser descartados.

Los pacientes con HLFC tienen una depuración menor de apo B-48 y apo B-100, y esto ha sido demostrado en estudios previos al compararlos con controles sanos<sup>30</sup>, en este estudio ambos grupos de pacientes tienen HLFC por lo que una diferencia en el estatus de enfermedad no explicaría los hallazgos. Otros investigadores han estudiado de forma extensa el comportamiento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos en distintos grupos de riesgo (ej. síndrome metabólico, diabetes e incluso en sujetos sanos con familiares de primer grado con diabetes)<sup>33,34</sup> y han demostrado que estos pacientes tienen una lipemia postprandial mayor. Los factores que se han asociado a estos hallazgos en los modelos multivariados y de correlación, han sido la resistencia a la insulina, las concentraciones de insulina y la obesidad. Los principales parámetros de lipemia postprandial usados en estos estudios han sido los triglicéridos y el contenido de estos así como de apolipoproteínas B-100 y B-48 en las lipoproteínas ricas en triglicéridos. En virtud de que un fenotipo metabólico con niveles de triglicéridos e insulina altos, así como obesidad, han sido los principales predictores de la lipemia postprandial en los estudios previamente citados, decidimos hacer un diseño pareado para que este estudio tuviese la fortaleza de comparar pacientes similares en cuanto a las características que se conoce que tienen un impacto en el perfil de lípidos y la lipemia postprandial. Los grupos se sometieron a un pareamiento estricto por género, concentración de triglicéridos y edad. No obstante, un hallazgo de interés fue una diferencia estadísticamente significativa en el nivel de insulina basal (7.6 vs 10.7 mU/L  $P= 0.03$ ), a pesar de esto, no se encontró una diferencia significativa en el incremento postprandial de los triglicéridos como se hubiera esperado y como ha sido demostrado en estudios previos. Es importante mencionar que las diferencias en las concentraciones de insulina y HOMA-IR se encontraron en el grupo total de pacientes, pero no en el subgrupo de pacientes que cuentan con la determinación de apo B-48, por lo cual las diferencias encontradas en el área bajo la curva incremental de apo B-48 no pueden ser un efecto de la insulina (ver cuadro 3 y 4).

Desde el análisis bivariado, y gracias al pareamiento de los grupos se observó que no había potenciales confusores que de forma independiente pudieran predecir o dar explicación a la diferencia en la magnitud postprandial de apoB-48 encontrada. No obstante, se realizó un análisis multivariado con un modelo de regresión lineal múltiple, donde sólo se incluyó el genotipo, colesterol total, apo A-V y presión arterial sistólica como variables independientes para no incurrir en un “sobre-pareamiento” o “sobre-ajuste” del análisis estadístico. El modelo que mejor explicó la diferencia en la magnitud del aumento de la apo B-48 fue el de regresión lineal simple, es decir, el genotipo de los pacientes fue la única variable que estadísticamente influyó en el resultado. No podemos descartar que existan variables adicionales que no fueron medidas y que puedan predecir el resultado observado, por ejemplo nivel de actividad física e índice tabáquico, ya que estas intervenciones han mostrado disminuir la respuesta postprandial a una comida grasa.

La cohorte de pacientes con HLFC de la clínica de dislipidemias del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” cuenta con 252 familias que comprenden 3,000 pacientes que se empezaron a reclutar desde el año 2004, de los cuales 567 (que forman parte de 52 familias) contaban con la determinación del genotipo de interés (rs1349411) y durante el presente estudio se obtuvo el genotipo de 20 pacientes más que aceptaron participar. A lo largo de 16 meses se sometió a la prueba de tolerancia a una comida mixta a 92 pacientes, mismos que fueron pareados por edad, sexo y concentración de triglicéridos, surgiendo así 33 pares de pacientes (N=66) con lo cual se alcanzó un poder mayor al 90% para mostrar una diferencia entre la concentración postprandial de triglicéridos y apo B-48 medidas como área bajo la curva incremental, sin embargo es importante señalar que la concentración entre concentraciones de apo B-48 se realizó sólo en un subgrupo de 30 pacientes. No obstante y sólo como un objetivo secundario, también se presenta en este reporte un análisis no pareado de los 92 sujetos que conformaron la N total.

Algunos estudios de lipemia postprandial toman como medida de resumen el área bajo la curva total, o bien el resultado de cada tiempo de la curva como una variable aislada para después hacer un análisis para muestras independientes; nosotros consideramos que existe una clara dependencia del nivel basal de cada variable en su posterior comportamiento postprandial y que además las mediciones de cada tiempo durante una curva no pueden considerarse como “independientes” ya que cada nuevo valor obtenido durante la curva tiene cierta influencia del valor previo, es por esto que se consideró que ninguna de estas dos medidas de resumen describe de forma fidedigna el comportamiento de la curva de tolerancia a una comida mixta. Bajo este fundamento se emplearon las áreas bajo la curva incremental como variables dependientes, ya que representa una medición más integral y objetiva del comportamiento de una prueba dinámica y consideramos que este diseño y análisis estadístico fortalecen nuestra investigación<sup>35,36</sup>.

### Conclusiones

- La variante C (CC/CT) del polimorfismo rs1349411 se asoció a un área bajo la curva total e incremental de apo B-48 mayor en comparación con la variante común TT en el periodo postprandial después de un desayuno alto en grasa.
- A pesar de una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de insulina de forma basal, no se encontró diferencia en la concentración postprandial de triglicéridos.
- La diferencia en las concentraciones de apo B-48 durante la curva entre los grupos no tuvo relación con otro parámetro de la lipemia postprandial o con el fenotipo basal de los pacientes por lo cual se puede concluir que estos hallazgos sólo se asocian al genotipo, probablemente vía APOBEC-1.

### Citas bibliográficas.

- 1.- Goldstein J, Schrott H, Hazzard W, Bierman E and Motulsky A. Hyperlipidemia in coronary heart disease, II: genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973;52:1544-1568.
- 2.- Austin M, McKnight B, Edwards K, Bradley C, McNeely M, Psaty B et al. Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: a 20-year prospective study. *Circulation* 2000;101:2777-2782.
- 3.- Wiesbauer F, Blessberger H, Azar D, Goliash G, Wagner O, Gerhold L et al. Familial combined hyperlipidaemia in very young myocardial infarction survivors ( $\leq 40$  years of age). *Eur Heart J* 2009;30:1073-1079.
- 4.- Aguilar-Salinas C, Zamora M and Gómez-Díaz R. Familial combined hyperlipidemia: controversial aspects of its diagnosis and pathogenesis. *Semin Vasc Med* 2004;4:203-209.
- 5.- Arai H, Ishibashi S, Bujo H, Hayashi T, Yokoyama S, Oikawa S, et al. Management of type IIb dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2011;1-10 (advance publication, online Dic 3 2011).
- 6.- Aguilar-Salinas C, Gómez R y Tusié-Luna T. Cincuenta años de estudio de las hiperlipidemias primarias: El caso de la hiperlipidemia familiar combinada. *Invest Clin* 2010; 51(2):145-158.
- 7.- Gaddi A, Cicero A, Odo F, Poli A, Paoletti R and On behalf of the Atherosclerosis and Metabolic Diseases Study Group. Practical guidelines for familial combined hyperlipidemia diagnosis: an up-date. *Vascular Health and Risk Management* 2007;3(6):877-886.
- 8.- Ayyobu A, McGladdery S, McNeely M, Austin M, Motulsky A and Brunzell. Small, dense LDL and elevated apolipoprotein B are the common characteristics for the three major lipid phenotypes of familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1289-1294.
- 9.- Villalpando S, De la Cruz V, Rojas R, Shamah-Levi T, Avila MA, Gaona B et al. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population. A probabilistic survey.

Salud Pública de México 2010;52 suppl:s19-s26.

- 10.- Evans K, Burdge GC, Wootton S, Collins JM, Clark M, Tan G. et al. Tissue-specific stable isotope measurements of postprandial lipid metabolism in familial combined hyperlipidaemia. *Atherosclerosis*;2008;197(1):164-170.
- 11.- Wijsman E, Rothstein J, Igo R, Brunzell J, Motulsky A and Jarvik G. Linkage and association analyses identify a candidate region for apoB level on chromosome 4q32.3 in FCHL families. *Hum Genet* 2010;122(6):705-719.
- 12.- Pajukanta P, Nuotio I, Terwilliger J, Porkka KV, Ylitatio K, Pihlajamaki J, et al. Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23. *Nat Gen* 1998;18:369-373.
- 13.- Naoumova R, Eichenbaum-Voline S, Patel H, Jones B, Jones EL, Amey J, et al. Confirmed locus on chromosome 11p and candidate loci on 6q and 8p for the triglyceride and cholesterol traits of combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:2070-2077.
- 14.- Pajukanta P, Allayee H, Krass K, Soro A, Lilja H, Taskinen M, et al. Combined analysis of genome scans of Dutch and Finnish families reveals a susceptibility locus for high-density lipoprotein cholesterol on chromosome 16q. *Am J Hum Genet* 2003;72:903-991.
- 15.- Weissglas D, Huertas-Vázquez A, Cruz-Bautista I, Aguilar-Salinas C, Tusie-Luna T, Pajukanta P, et al. Identification of two common variants contributing to serum apolipoprotein B levels in Mexicans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:353-359.
- 16.- Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusa A, Naukkarinen J et al. Familial combined hiperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet* 2004;36:371-376.
- 17.- Huertas-Vázquez A, Aguilar Salinas C, Riba-Ramírez L, Jokiaho A, Tusie-Luna T, Pajukanta P et al. Familial combined hiperlipidemia in Mexicans: Association with Upstream Transcription Factor 1 and linkage on chromosome 16q24.1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(9):1985-1991.
- 18.- Suviolahti E, Lilja HE and Pajukanta P. Unraveling the complex genetics of familial combined hyperlipidemia. *Ann Med* 2006;38:337-351.
- 19.- Meaney E, Lara-Esqueda A, Ceballos-Reyes G, Vela A, Martínez-Marroquín, López V et al. Cardiovascular risk factors in the urban Mexican population: the FRIMEX study. *Public Health* 2007;12:378-384.
- 20.- Paramsothy P, Knopp R, Bertoni A, Tsai M, Rue T, Heckbert S, et al. Combined hyperlipidemia in relation to race/ethnicity, obesity, and insulin resistance in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis. *Metabolism* 2009;58:212-219.
- 21.- Blanc V and Davidson N. APOBEC-1-mediated RNA editing. *Rev Syst Biol Med* 2010; 2(5):594-602.
- 22.- Chester A, Weinreb V, Carter C and Navaratnam. Optimization of apolipoprotein B mRNA editing by APOBEC1 apoenzyme and the role of its auxiliary factor, ACF. *RNA* 2004;10:1399-1411.
- 23.- Chen Z, Eggerman T, Bocharov A, Baranova I, Vishnyakova A, Csako G, et al. Hypermutation induced by APOBEC-1 overexpression can be eliminated. *RNA* 2010;16:1040-

1052.

24.- Zilversmit D. Atherogenesis: A postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-485.

25.- Alipour A, Elte J, Zaanen V, Rietveld A and Castro-Cabezas; Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; supp 9:39-44.

26.- Van Oostrom A Alipour, T.P.Sijmonsma, C Verdeysen, M Castro Cabezas, et al, Comparison of different methods to investigate postprandial lipaemia. *Neth J Med* 2009;67(1):13-20.

27.- Dance G, Sowden M, Cartegni L, Cooper E, Krainer A and Smith H, Two proteins essential for apolipoprotein B mRNA editing are expressed from a single gene through alternative splicing. *J Biol Chem* 2002;277(15):12703-12709.

28.- Teng B, Blumenthal S, Forte T, Navaratnam N, Scott J, Gotto A and Chan L. Adenovirus-mediated gene transfer of rat apolipoprotein B mRNA-editing protein in mice virtually eliminates apolipoprotein B-100 and normal low density lipoprotein production. *J Biol Chem* 1994; 269(47):29395-29404.

29.- Yang Y, Ballatori N and Smith H, Apolipoprotein B mRNA editing and the reduction in synthesis and secretion of the atherogenic risk factor, apolipoprotein B100 can be effectively targeted through TAT mediated protein transduction. *Mol Pharmacol* 2002;61(2):269-276.

30.-Verseyden S, Meijssen and Castro Cabezas; Postprandial changes of apoB-100 and apoB-48 in TG rich lipoproteins in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2002;43(2):274-280.

31.- Sato I, Ishikawa I, Ishimoto A, Katsura S, Toyokawa A, Hayashi F, et al. Significance of measuring seric concentrations of remnant lipoproteins and apolipoprotein B-48 in fasting period. *J Atheroscler Thromb* 2009;16:12-20.

32.- Tanaka A; Postprandial Hyperlipidemia and atherosclerosis. *J Athroscler Thromb* 2004; 11:322-329.

33.- Axelsen M, Smith U, Eriksson J, Taskinen M and Jansson P; Postprandial Hypertriglyceridemia and insulin resistance in normoglycemic first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 1999;131:27-31.

34.- Johanson E, Jansson P, Gustafson B, Lo L, Smith U, Taskinen M and Axelsen M; Early alterations in the postprandial VLDL1 apoB-100 and apoB-48 metabolism in men with strong heredity for type 2 diabetes. *Journal of Internal Medicine* 2004;255:273-279.

35.- Castersen M, Thomsen C and Hermansen K; Incremental area under response curve more accurately describes the triglyceride response to an oral fat load in both healthy and type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2003;52:1034-1037.

36.- Matthews J, Douglas G, Campell M and Royston P; Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ* 1990;300:230-235.

Cuadros y figuras.

Cuadro 1. Asociación de los polimorfismos rs1439411 y rs424032 con concentraciones de apo B en pacientes con hiperlipidemia familiar combinada e hipertrigliceridemia.

Hiperlipidemia familiar combinada

cromosoma	Posición Kb	SNP	Alelo mayor/menor	MAF €	Valor z	Valor P
12	7393	rs1349411	T/C	0.30	-3.6	2.72 x 10 <sup>-4</sup>
16	62,967	rs1424032	A/G	0.26	-4.5	6.07s 10 <sup>-6</sup>

Hipertrigliceridemia (casos y controles)

cromosoma	Posición Kb	SNP	Alelo mayor/menor	MAF	Valor z	Valor P
12	7393	rs1349411	T/C	0.35	-2.4	0.016
16	62,967	rs1424032	A/G	0.25	-2.0	0.04

MAF= Alelo de menor frecuencia

SNP= Polimorfismo de nucleótido único

€ Frecuencia en fundadores

Cuadro 2. Características clínicas y bioquímicas basales de los dos grupos de estudio (G es el alelo de menor frecuencia)

Características clínicas y bioquímicas	CC+CT n= 33	TT n= 33	Valor de P *
Edad	45 (33-58)	48 (31-55)	0.8
Sexo, femenino/masculino (%)	25/8 (76/24)	25/8 (76/24)	1
Peso kg	72.29 ±12.57	70.07 ±14.28	0.45
Índice de masa corporal kg/m <sup>2</sup>	28.16 ±4.72	27.82 ±4.30	0.72
PA sistólica mmHg	120 (110-120)	110 (110-124)	0.75
PA diastólica mmHg	77.5 (70-90)	70 (70-80)	0.40
Cintura cm	89.5 (82-93.5)	87 (79-93.25)	0.28
Tabaquismo	38%	57%	0.42
Glucosa mg/dL	99 (92-107)	97 (92-105)	0.84
Triglicéridos mmol/L	2.45 ±1.13	2.46 ±1.24	0.97
mg/dL	217.09 ±110.5	217.96 ±110.24	
Colesterol Total mg/dL	215 (192-231)	221 (191-257)	0.31
Colesterol HDL mg/dL	41 (36-47)	44 (37-52)	0.34
Colesterol No HDL mg/dL	172 (153-185)	182 (147-208)	0.43
Apo B mg/dL	114 ±22.86	117 ±26.5	0.54
Insulina mU/L	7.6(5.6-11.4)	10.7(7.6-13.4)	0.037
HOMA-IR	1.89(1.35-2.73)	2.69(1.83-3.3)	0.052

\*Se uso prueba de T pareada o rangos señalados de Wilcoxon (debido al diseño pareado del estudio) según la distribución de la variable.

PA= Presión arterial.

Los valores se expresan como media ±DE (desviación estándar) o como medianas y rango intercuartil (25-75).

Cuadro 3. Lipemia postprandial, glucosa e insulina en la prueba oral de tolerancia a una comida mixta, expresado en área bajo la curva total (AUCt) y área bajo la curva incremental (AUCi), grupos pareados.

Lipemia, glucosa e insulina postprandial	CC+CT n= 33 *	TT n=33 *	Valor de P*
AUCt Triglicéridos mmol x min/L	1660 ±736	1626 ±757	0.75
AUCi Triglicéridos mmol x min/L	386(287-615)	421(252-541)	0.89
AUCt Colesterol HDL mmol x min/L	505 ±141	532 ±129	0.29
AUCi Colesterol HDL mmol x min/L	-26.37(-41— -5.4)	-17.06(-56— -6.2)	0.80
AUCt Colesterol total mmol x min/L	2582 ±381	2720 ±462	0.31
AUCi Colesterol total mmol x min/L	-65(-148— -19)	-51(-134—48)	0.63
AUCt Glucosa mmol x min/L	2626 ±295	2617 ±331	0.91
AUCi Glucosa mmol x min/L	-11(-144— 93)	-18(-108—85)	0.96
AUCt Insulina mU x min/ L	10893(6912-16230)	12441(8877-14538)	0.70
AUCi Insulina mU x min/ L	7773(3462-11430)	6648(4596-8730)	0.78

\* Para calcular valor de P se usó prueba de T pareada o rangos señalados de Wilcoxon, según la distribución de la variable

Los valores se expresan como media ±DE (desviación estándar) o como medianas y rango intercuartil (25-75).

Cuadro 4. Características clínicas y bioquímicas del subgrupo de 30 sujetos con medición de apo B-48, apo A-V y apo B.

Características bioquímicas	CC/CT 14	TT 16	P*
Edad	46 (40-61)	48 (35-63)	0.46
Sexo femenino/masculino (%)	11/3 (72/28)	12/4 (67/33)	0.81
PA sistólica mmHg	120(125-125)	110(107-122)	0.12
PA diastólica mmHg	77.5(70-90)	71(64-80)	0.44
Peso kg	67(59-81.5)	65.9(60-80.75)	0.78
Cintura cm	85(81.5-91)	86(80-93)	0.92
Insulina mU/mL	8.8(7.2-11.9)	10.05(7.25-12.5)	0.83
Glucosa mg/dL	94(83-101)	94(88-99)	0.96
Colesterol total mg/dL	212 (190-223)	224 (200-252)	0.07
Colesterol No HDL	171.5(152-183)	184(164-209)	0.08
Colesterol HDL	38.5(31-44)	39(34-43)	0.55
Apo B-48 µg/dL	5.69 ±2.44	5.26 ±3.79	0.34
Apo B mg/dL	112(100-125)	121.5(99-132)	0.4
Apo A-V ng/mL	295(219-362)	365(286-428)	0.24

\*El valor de P se calculó con pruebas independientes, (T de Student o rangos sumados de Wilcoxon).

Los valores se expresan como media ±DE (desviación estándar) o como medianas y rango intercuartil (25-75).

Cuadro 5. Lipemia, glucosa e insulina postprandial de un subgrupo de 30 pacientes que cuentan con mediciones de apo B-48, apo A-V y apo B.

<b>Lipemia, glucosa e insulina postprandial</b>	<b>CC/ CT 14</b>	<b>TT 16</b>	<b>P*</b>
<b>AUCt triglicéridos mmol x min/L</b>	1891(1113-2256)	1775(1054-2469)	0.99
<b>AUCi triglicéridos mmol x min/L</b>	451(307-904)	455(341-740)	0.96
<b>AUCt colesterol total mmol x min/L</b>	2597(2318-2726)	2780(2403-3035)	0.08
<b>AUCi colesterol total mmol x min/L</b>	-40.34(-88.44—21.72)	-38.01(-85.33—57.40)	0.67
<b>AUCt glucosa mmol/ x min/L</b>	2500(2308-2761)	2550(2313-2743)	0.70
<b>AUCi glucosa mmol x min/L</b>	-14.66(-144—73.33)	68.33(-27—145)	0.26
<b>AUCt insulina <math>\mu</math>u x min/mL</b>	12904(6489-16662)	10329(8013-13927)	0.64
<b>AUCi insulina <math>\mu</math>u x min/mL</b>	8320(3225-11430)	5409(3924-8235)	0.58
<b>AUCt Apo B-48 <math>\mu</math>g x min/dL</b>	5285(3577-6082)	2934(1885-4526)	0.049
<b>AUCi Apo B-48 <math>\mu</math>g x min/dL</b>	1955(1416-3385)	1132(515-1400)	0.01
<b>AUCt Apo A-V ng x min/mL</b>	183139(135936-260238)	217552(175939-238569)	0.22
<b>AUCi Apo A-V ng x min/mL</b>	42424(4356-92028)	41830(17848-85425)	0.9
<b>AUCt Apo B mg x min/dL</b>	52877 $\pm$ 7801	55936 $\pm$ 10533	0.37
<b>AUCi Apo B mg x min/dL</b>	-1215(-2280—60)	-1065(-2715—1005)	0.72

\*El valor de *P* se calculó con pruebas independientes, (T de Student o rangos sumados de Wilcoxon)

Los valores se expresan como media  $\pm$ DE (desviación estándar) o como medianas y rango intercuartil (25-75).

### Resultados de todo el grupo (N=92)

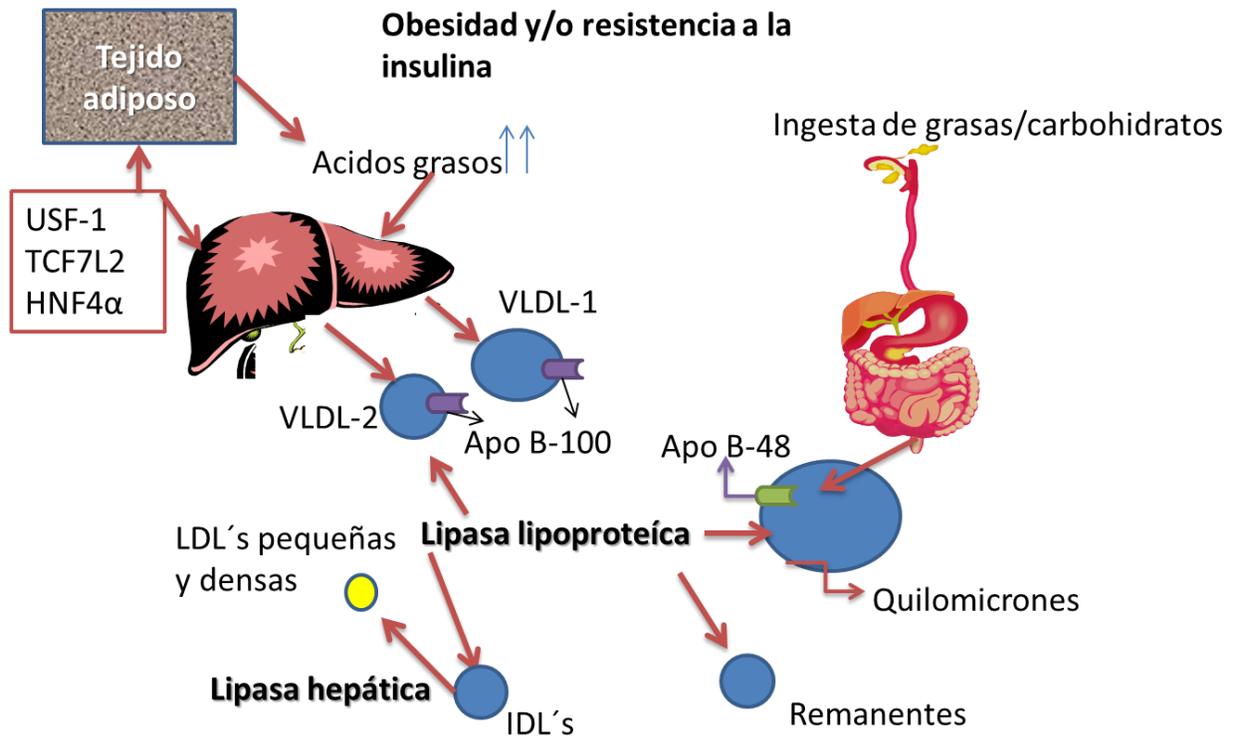
Cuadro 6. Características clínicas y bioquímicas basales del grupo completo de los sujetos de estudio y resultados de lipemia postprandial(92)

Característica	CC+CT	TT	Valor de P*
Frecuencia alélica	43	49	
Edad	43(33-59)	48(31-55)	0.3
Sexo mujer/hombre (%)	29/14(67/33)	31/18(63/37)	0.67
TA sistólica mmHg	120(110-125)	110(110-127)	0.46
TA diastólica mmHg	80(70-90)	80(70-80)	0.66
Peso kg	72.47 ±12.06	70(12.91)	0.42
Índice de masa corporal kg/m <sup>2</sup>	28.14 ±4.65	27.47 ±3.98	0.45
Tabaquismo	35%	81%	0.06
Glucosa mg/mL	99 ±12.02	97 ±9.69	0.51
Insulina mU/mL	7.4(5.6-11.6)	10.3(7.7-12.5)	0.014
HOMA IR	1.8(1.35-3.14)	2.58(1.8-3.17)	0.035
Triglicéridos mg/d/L	188(126-293)	233(149-335)	0.067
Colesterol Total mg/dL	213 ±32.97	228 ±40.18	0.062
Colesterol HDL mg/dL	41(36-50)	42(36-52)	0.65
Colesterol No-HDL mg/dL	170 ±32.68	184 ±38.19	0.07
Apo B mg/dL mg/dL	112(95-129)	121(98-137)	0.24
AUCt glucosa mmol x min/L	2610 ±284	2582 ±296	0.65
AUCi glucosa mmol x min/L	-25(-186—93)	-63(-188—85)	0.95
AUCt insulina mU x min/L	9387(6564-16230)	11976(8502-14307)	0.66
AUCi insulina mU x min/L	6165(3426-11430)	6381(4041-8691)	0.58
AUCt triglicéridos mmol x min/L	1461(926-2071)	1893(1133-2571)	0.09
AUCi triglicéridos mmol x min/L	374(278-663)	454(296-640)	0.5
AUCt Colesterol total mg x min/dL	99354 ±15235)	106050 ±18463	0.063
AUCi Colesterol total mg x min/dL	-2520(-6690—180)	-2520(-6150—900)	0.73

\*El valor de *P* se calculó con pruebas de hipótesis para grupos independientes, se usó T de student o U Mann-Whitney, según la distribución de la variable.

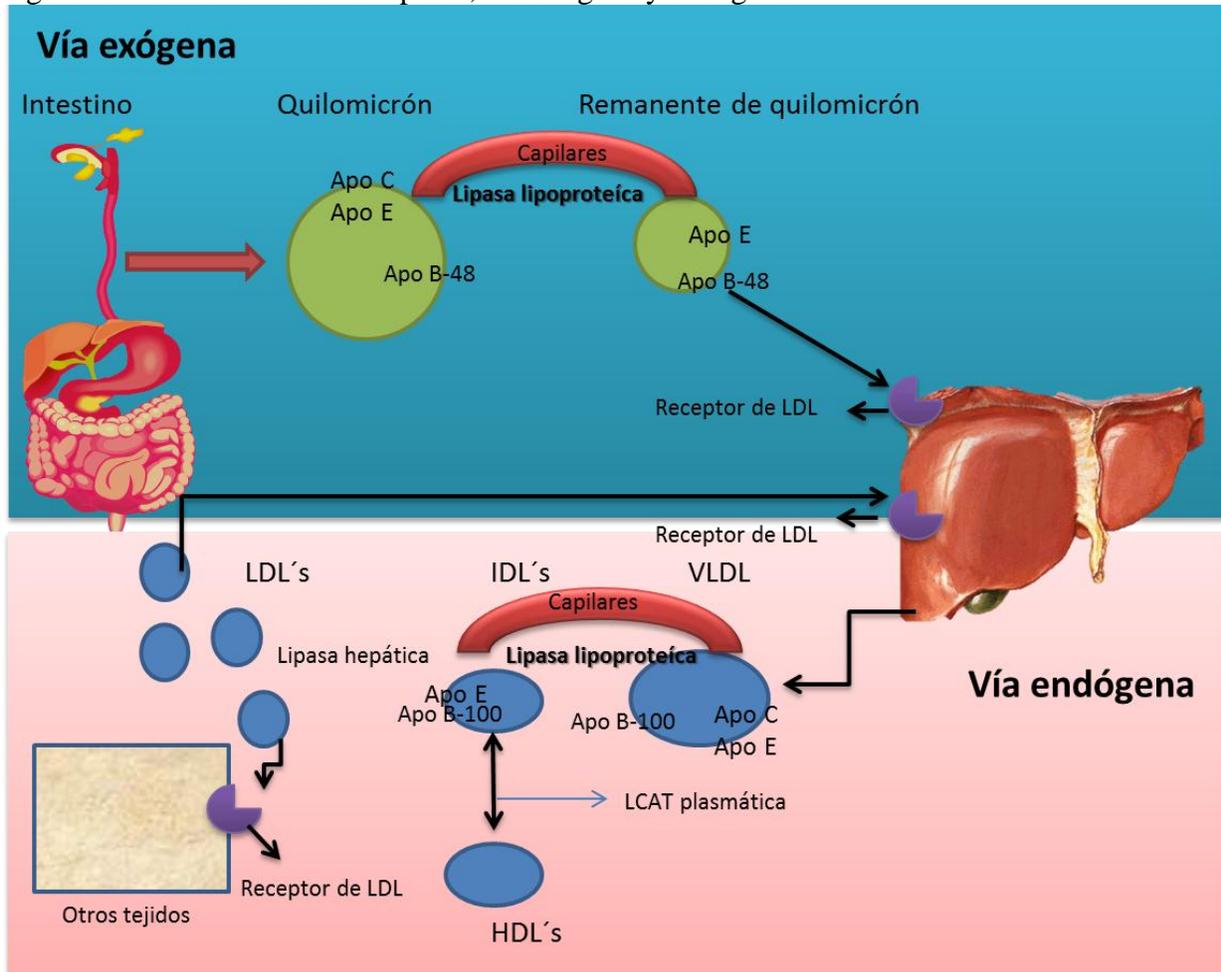
Los valores se expresan como media ±DE (desviación estándar) o como medianas y rango intercuartil (25-75).

Figura 1. Fisiopatología del metabolismo de lípidos en la HLFC.



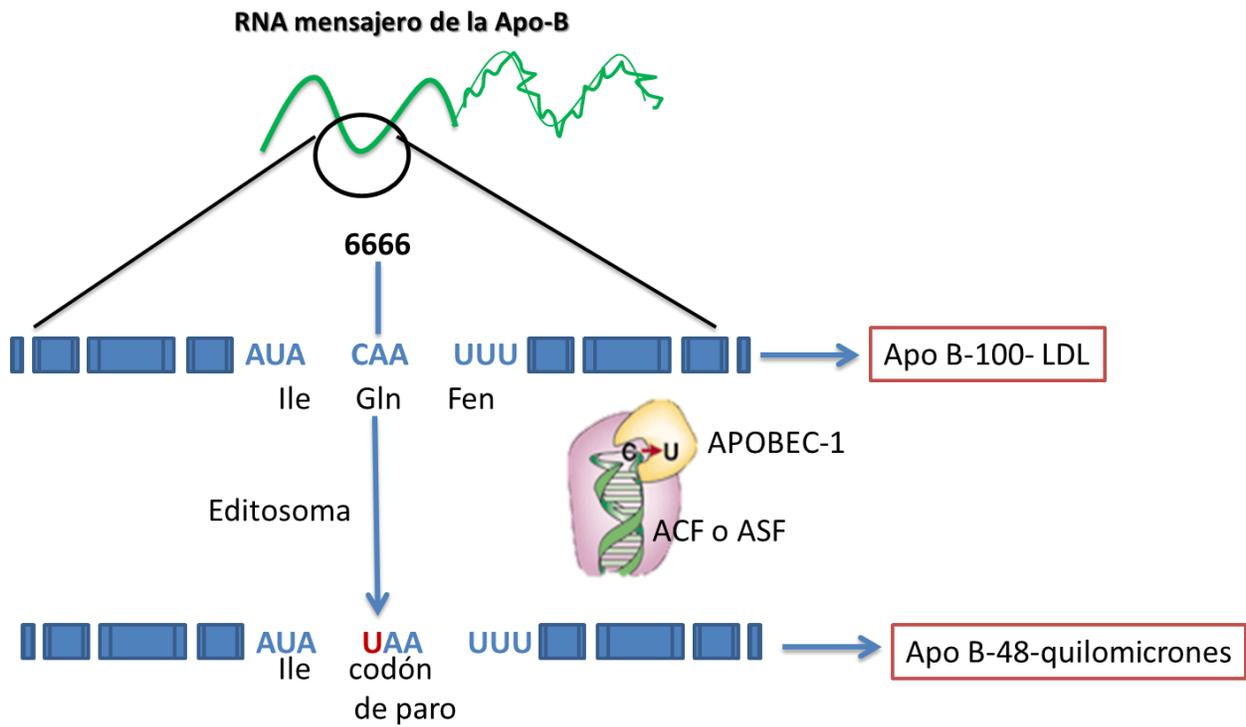
Esquema de la fisiopatología de la HLFC. Parte de la fisiopatología de los lípidos en la HLFC se comparte con el síndrome metabólico (obesidad y resistencia a la insulina). La resistencia a insulina genera mayor disposición de ácidos grasos libres que llegan al hígado para ser usados para la producción de VLDLs, a su vez, el hígado, que preserva la sensibilidad a la insulina, aumenta la lipogénesis ya que la insulina sirve como elemento de respuesta para activar enzimas lipogénicas, exacerbando la producción de VLDL. La dieta normalmente frena este proceso, sin embargo en la presencia de resistencia a la insulina, no existe una inhibición de la lipólisis del tejido adiposo, lo que favorece mayor acúmulo de ácidos grasos libres, además las lipoproteínas provenientes de la dieta (quilomicrones y remanente de quilomicrones) tienen un retardo en su aclaramiento.

Figura 2. Metabolismo de los lípidos, vía exógena y endógena.



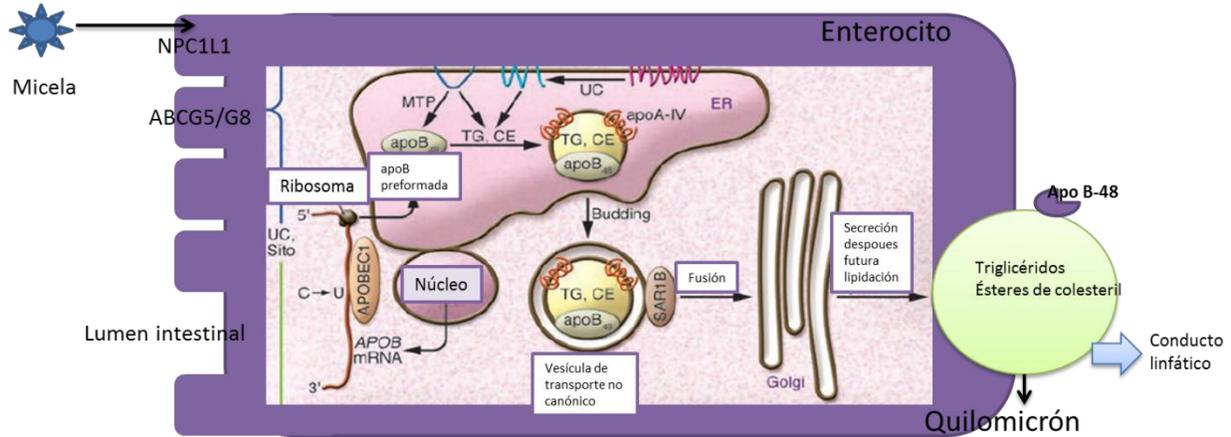
El esquema muestra el metabolismo normal de los lípidos, la vía exógena y la vía endógena. En la primera, se forman los quilomicrones con la apoB-48 como componente estructural y se van degradando bajo la acción de la lipopasa lipoproteica hasta convertirse en remanentes de quilomicrones y ser captados por el hígado para su depuración. La vía endógena comienza con la formación de VLDL/ApoB que son degradadas y van perdiendo triglicéridos y ganando colesterol debido a la acción de enzimas como la lipoproteína lipasa y lipasa hepática entre otras, y ser convertidas en LDL para ser capturadas de nuevo en el hígado por el receptor de LDL que reconoce a la apoB y apoE que contienen estas lipoproteínas.

Figura 3. Función de la enzima APOBEC-1.



La APOBEC-1 es una enzima que pertenece a la familia de enzimas con acción citidin-deaminasa. Edita el RNA mensajero de la apo B al hacer un cambio en el codón 6666 de citidina por uridina generando a partir de este codón (glutamina) un codón de paro. Para su función de edición, por fuerza requiere de proteínas auxiliares como la ACF o ASF (apobec-1 complementation factor, apobec-1 stimulation factor). El resultado final es producir apo B-48 a partir de apo B-100.

Figura 4. Vía exógena de los lípidos, formación de quilomicrones.



Los lípidos de la dieta, incluyendo macronutrientes como grasa y micronutrientes como antioxidantes solubles en lípidos son absorbidos en el intestino, empaquetados en quilomicrones en el enterocito y transportados hacia la circulación vía conducto torácico. Los quilomicrones son lipoproteínas grandes, ricas en triglicéridos que contienen apo B-48, apoproteína esencial para el ensamblaje inicial y secreción de estas partículas. En el plasma, los quilomicrones adquieren diferentes clases de apolipoproteínas A y C así como a la apo E.

Figura 5. Diagrama de flujo de la selección de pacientes.

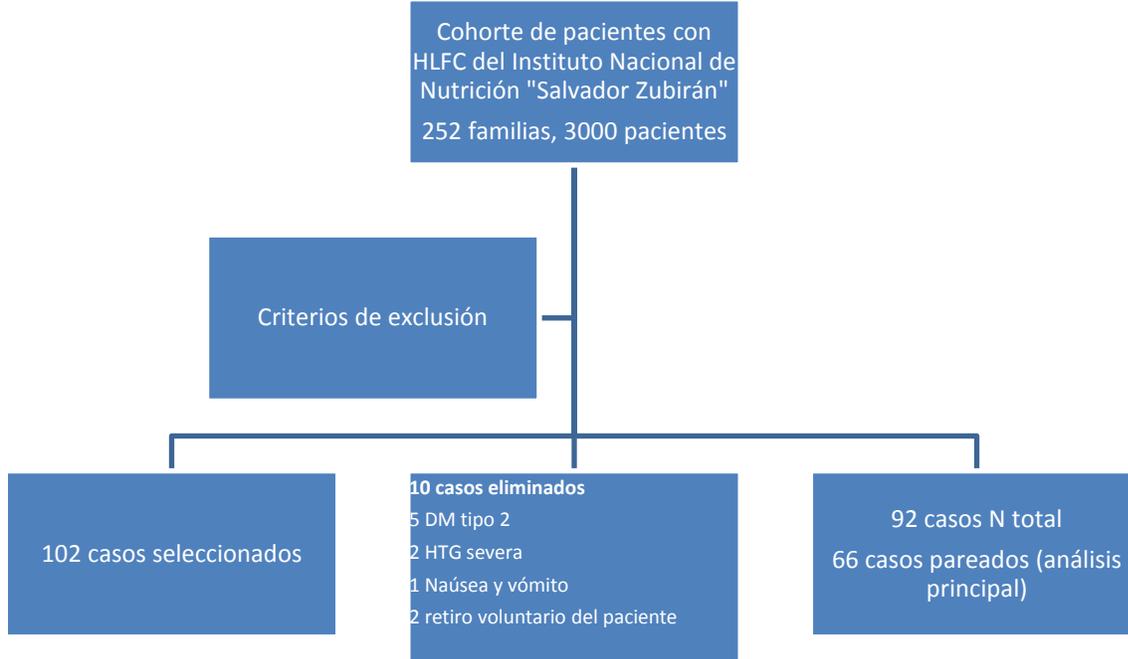


Figura 6. Concentración postprandial de apo B-48 entre los dos grupos de estudio

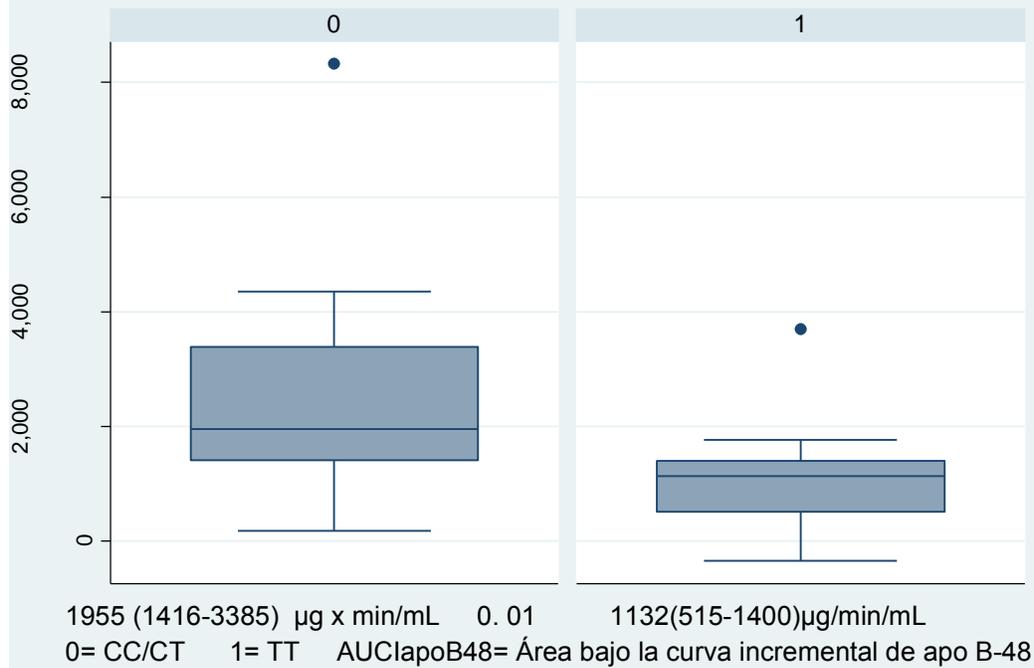
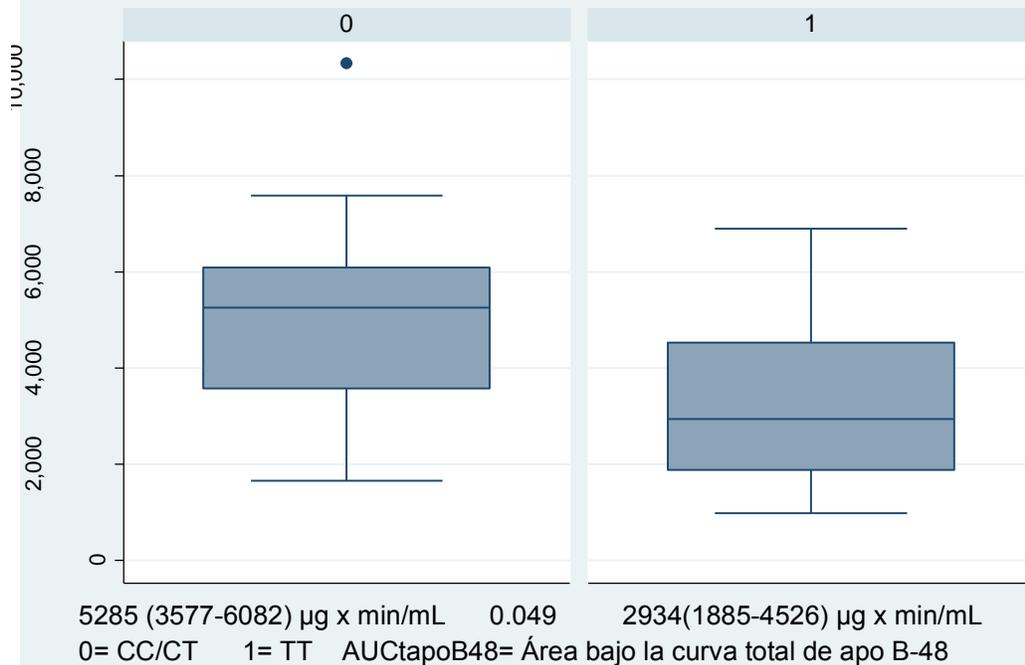


Figura 7. Concentración de apo B 48 entre los dos grupos de estudio



Cuadro 7. Regresión lineal múltiple del área bajo la curva incremental de apo B-48

Source	SS	df	MS			
Model	15852852.8	4	3963213.2	Number of obs =	29	
Residual	63759132.9	24	2656630.54	F( 4, 24) =	1.49	
Total	79611985.7	28	2843285.2	Prob > F =	0.2360	
				R-squared =	0.1991	
				Adj R-squared =	0.0656	
				Root MSE =	1629.9	

auciapob48	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
genotipo	-1477.309	731.2761	-2.02	0.055	-2986.589	31.97069
ct0	9.05354	12.6002	0.72	0.479	-16.952	35.05908
apoav0	-.7109163	2.886019	-0.25	0.808	-6.667367	5.245534
tasist	3.062047	26.31556	0.12	0.908	-51.2506	57.3747
_cons	453.2112	3069.13	0.15	0.884	-5881.162	6787.584

Auciapob48= Área bajo la curva incremental de triglicéridos.

Genotipo= CC+CT y TT.

ct0= Colesterol total basal.

tasist= Presión arterial sistólica.

Apoav0= Apo A-V basal

t= Tamaño del efecto estimado para el genotipo TT

Cuadro 8

. Regresión lineal simple del área bajo la curva incremental de apo B48

Source	SS	df	MS			
Model	14072718.9	1	14072718.9	Number of obs =	29	
Residual	65539266.8	27	2427380.25	F( 1, 27) =	5.80	
Total	79611985.7	28	2843285.2	Prob > F =	0.0232	
				R-squared =	0.1768	
				Adj R-squared =	0.1463	
				Root MSE =	1558	

auciapob48	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
genotipo	-1394.05	578.9729	-2.41	0.023	-2582.004	-206.0957
_cons	2471.85	416.3944	5.94	0.000	1617.479	3326.221

Auciapob48= Área bajo la curva incremental de apo B-48.

Genotipo: CC/CT y TT.

t=Tamaño del efecto (estimado para genotipo TT)



## AGRADECIMIENTOS.

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas. Por ser un gran ejemplo como investigador y un auténtico tutor, al cual le debo mi crecimiento como profesionista en los últimos dos años.

Dr. Francisco J. Gómez Pérez. Porque su apoyo en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo del INNSZ han sido invaluableles.

Dra. Ivette Cruz. Por su amistad, consejos y ayuda.

Lic. T.S Magdalena Delgado y el equipo del laboratorio del Departamento de Endocrinología y Metabolismo.

Departamento de Biología Molecular de INNSZ.

Dra.Paivi Pajukanta y Dra. Takisnen.

