



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA VARIANTE R230C DEL GEN  
ABCA1 EN PERSONAS DE LA ETNIA  
SARAGURO– ECUADOR**

**Previo a la obtención del título  
de Bioquímico Farmacéutico**

**AUTORA:**

Lupe Carolina Espinoza Tituana

**DIRECTORA:**

Bq. Ana Paulina Arévalo Jaramillo

Loja- Ecuador  
2010

Bq.  
Ana Paulina Arévalo Jaramillo  
**DIRECTORA DE TESIS**

**CERTIFICA:**

Que una vez revisado el proyecto de investigación efectuado por la Sra. Lupe Carolina Espinoza Tituana, previo a la obtención del Título de BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO, se autoriza su presentación final para la evaluación correspondiente.

Loja, Octubre 2010

Bq. Ana Paulina Arévalo Jaramillo  
**DIRECTORA**

## **AUTORÍA**

Las ideas, conceptos y resultados desarrollados en el presente trabajo de investigación son de absoluta responsabilidad de su autor.

Lupe Carolina Espinoza Tituana

## **DEDICATORIA**

Dedico el presente trabajo a Dios por las bendiciones recibidas, por darme la oportunidad de vivir y luchar por alcanzar mis sueños.

A mi padre porque a pesar de su ausencia, su recuerdo vive dentro de mi corazón y está presente en cada momento de mi vida.

A mi madre, suegros, hermanos y cuñados, por su apoyo incondicional, por su ayuda y consejos que me impulsaron a seguir adelante.

A mi esposo e hijo por ser la inspiración que necesito para hacer posible todos los proyectos de mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Técnica Particular de Loja, en la persona del Ph. D. Luis Miguel Romero Fernández y ahora del Ph. D. José Barbosa, por abrirme sus puertas y permitirme recibir una formación académica y espiritual que es la base para enfrentar la nueva etapa de mi vida.

A la escuela de Bioquímica y Farmacia, bajo la Dirección de la Dra. Paula Torres B. y ahora del Dr. Omar Malagón, así como del personal administrativo y docente, por su ayuda y dedicación en hacer posible que adquiriera los conocimientos necesarios para mi desempeño como profesional.

Al licenciado Víctor Figueroa, por su apoyo incondicional y consejos que me motivaron a seguir adelante.

A todos quienes forman parte del Centro de Biología Celular y Molecular, por permitirme ser parte de este grupo y compartir conmigo su experiencia y conocimiento.

A la Bq. Paulina Arévalo por haberme guiado como Directora de Tesis, por su paciencia, sus enseñanzas y su apoyo que hicieron posible la realización de este trabajo.

A mi esposo e hijo por su comprensión y ayuda, por ser la motivación para no dejarme vencer por las adversidades y estar presentes en cada momento de mi vida.

A mi padre porque su confianza en mí hizo que me sienta capaz de lograr este y todos los objetivos de mi vida.

A mi madre, suegros, hermanos y cuñados por su preocupación y apoyo en todo momento.

A mis compañeros del Área Biomédica y a todos quienes de alguna manera colaboraron en la ejecución de este proyecto en especial a Cristian, Andrea y en su momento Michel.

## **CONTRATO DE CESIÓN DE DERECHO DE TESIS**

Yo, Lupe Carolina Espinoza Tituana conoedora del estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja Art. 67 acepto la disposición de la misma que textualmente dice: “Forma parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

Lupe Carolina Espinoza T.  
**TESISTA**

Bq. Ana Paulina Arévalo J.  
**DIRECTORA DE TESIS**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>CERTIFICACIÓN</b>	I
<b>AUTORÍA</b>	II
<b>DEDICATORIA</b>	III
<b>AGRADECIMIENTO</b>	IV
<b>CONTRATO DE CESIÓN DE DERECHO DE TESIS</b>	V
<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	VI
<b>RESUMEN</b>	X
<b>ABSTRACT</b>	XI
<b>OBJETIVOS</b>	XII
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	2
1.1. FAMILIA DE PROTEÍNAS ABC	3
1.2. ABCA1	3
1.3. ESTRUCTURA DE ABCA1	4
1.4. FUNCIÓN DE LA PROTEÍNA ABCA1	5
1.4.1. Modelo del Transporte de Lípidos	6
1.5. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ABCA1	7
1.6. POLIMORFISMOS EN EL GEN ABCA1	8
1.7. TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS CON LA VARIANTE R230C EN EL GEN ABCA1	10
1.8. R230C EN EL GEN ABCA1 EN POBLACIONES AMERINDIAS	11
1.8.1. Población Indígena del Ecuador	
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	13
2.1. Población	13
2.2. Parámetros Bioquímicos y Antropométricos	13

2.3. Extracción de ADN	15
2.4. Identificación de la variante R230C	16
2.5. Análisis Estadístico	
<b>3. RESULTADOS</b>	<b>17</b>
3.1. Características Clínicas y antropométricas de la población Saraguro del Ecuador.	17
3.2. Identificación del polimorfismo R230C en el gen ABCA1	18
3.3. Frecuencias alélicas y genotípicas de R230C	18
3.4. Asociación de R230C con los diferentes parámetros bioquímicos y antropométricos.	19
3.5. Asociación de R230C con Obesidad y Síndrome Metabólico.	21
3.6. Identificación del polimorfismo R219K en el gen ABCA1	22
3.7. Frecuencias alélicas y genotípicas de R219K	22
3.8. Asociación de R219K con los diferentes parámetros bioquímicos y antropométricos.	23
<b>4. DISCUSIÓN</b>	<b>25</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>29</b>
<b>6. PERSPECTIVAS</b>	<b>30</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>31</b>



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura Nº 1.</b>	Distribución de genes ABCA en el genoma.	3
<b>Figura Nº 2.</b>	Estructura de la proteína ABCA1.	4
<b>Figura Nº 3.</b>	Modelo de la actividad de ABCA1 en la translocación de lípidos.	6
<b>Figura Nº 4.</b>	Mecanismos potenciales mediante los cuales la disminución del transportador ABCA1 puede favorecer la aparición de algunos de los componentes del síndrome metabólico.	10
<b>Figura Nº5.</b>	Electroferograma de un individuo heterocigoto para la variante R230C. La flecha indica la presencia de 2 nucleótidos diferentes. La curva azul indica la presencia de citosina para un alelo, y la curva roja superpuesta indica la presencia de timina para el otro.	18
<b>Figura Nº 6.</b>	Electroferograma de un individuo heterocigoto para la variante R219K. La flecha indica la presencia de 2 nucleótidos diferentes en la posición 969 del transcrito. La curva negra indicala presencia de guanina para un alelo, y la curva verde superpuesta indica la presencia de adenina en el otro.	22

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Pueblos indígenas del Ecuador	11
<b>Tabla 2.</b>	Criterios de la ATP-III para el síndrome metabólico.	14
<b>Tabla 3.</b>	Parámetros clínicos y antropométricos en la población indígena Saraguro del Ecuador.	17
<b>Tabla 4.</b>	Frecuencia alélica y genotípica de la variante R230C en la población indígena Saraguro del Ecuador.	18
<b>Tabla 5.</b>	Comparación de los parámetros antropométricos y bioquímicos en la población indígena Saraguro del Ecuador según la presencia de la variante R230C del gen <i>ABCA1</i> .	20
<b>Tabla 6.</b>	Asociación de R230C, obesidad y síndrome metabólico.	21
<b>Tabla 7.</b>	Frecuencia alélica y genotípica de la variante R219K en la población indígena Saraguro del Ecuador.	22
<b>Tabla 8.</b>	Comparación de los parámetros antropométricos y bioquímicos en la población indígena Saraguro del Ecuador según la presencia de la variante R219K del gen <i>ABCA1</i> .	24

## RESUMEN

ABCA1 desempeña un papel en la etapa inicial de la eliminación de colesterol del cuerpo. El polimorfismo R230C del gen ABCA1 ha sido asociado con niveles bajos de HDL, obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico; esta variante es aparentemente exclusiva de poblaciones amerindias o que descienden de ellas. Por otro lado, también se han reportado SNPs en el gen ABCA1 que parecen constituir alelos protectores, entre estos el polimorfismo R219K ha sido asociado con disminución de triglicéridos, incremento de HDL, disminución en la progresión de aterosclerosis y reducción en el riesgo de eventos coronarios. El objetivo de este trabajo fue conocer la presencia y frecuencia del polimorfismo R230C en la población amerindia ecuatoriana y buscar alguna asociación con los parámetros bioquímicos y antropométricos. Para ello se analizaron 103 sujetos de la población indígena Saraguro del Ecuador, encontrándose una frecuencia del 29.1% de dicha variante, y una asociación con concentraciones bajas de HDL, además, también se identificó el polimorfismo R219K con una frecuencia del 70.9%, por lo que se consideró importante su inclusión en el presente estudio, este SNP estuvo asociado a un ligero incremento en los niveles de HDL.

**Palabras clave:** ABCA1, SNP, Polimorfismo, R230C, R219K.

## **ABSTRACT**

ABCA1 plays a role in the initial stage of removing cholesterol from the body via cholesterol efflux. R230C polymorphism of ABCA1 gene has been significantly associated with low HDL-C levels, obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome; this variant is apparently exclusive to Amerindian and Amerindian-derived populations. Moreover, other studies have shown some single nucleotide polymorphisms of the *ABCA1* gene that appear to be protective alleles, specifically, the R219K polymorphism has been shown to be associated with decreased TG levels, a slightly higher HDL concentration and a decreased severity of CHD. The aim of this project was to know the presence and frequency of the R230C polymorphism in the Ecuadorian Amerindian population and to search any association with the biochemical and anthropometric parameters. For this, we determined the presence of this genetic variant in a group of 103 subjects of Saraguro population from Ecuador. We found R230C variant in our population with a frequency of 29.1% and this was associated with a decreased HDL concentration, moreover, we also observed R219K variant with a frequency of 70.9%, for this, we considered important its inclusion in this work, this SNP was associated with a slight increase of these particles.

**Keywords:** ABCA1, SNP, Polymorphism, R230C, R219K

## **OBJETIVOS:**

### **General:**

- Identificar la presencia y estimar la frecuencia de la variante R230C en el gen ABCA1 en la población indígena Saraguro del Ecuador.

### **Específicos:**

- Amplificar y secuenciar el exón 7 del gen ABCA1 para identificar R230C.
- Contrastar los resultados de frecuencia de la variante R230C del gen ABCA1 con los reportados en la literatura.
- Buscar posibles asociaciones entre la variante y los distintos rasgos antropométricos y/o bioquímicos como el índice de masa corporal, el diámetro de cintura o los niveles de glucosa en ayuno.

## 1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, la humanidad ha experimentado cambios drásticos en su entorno, su comportamiento y su estilo de vida. Estos cambios han derivado en un alarmante incremento global de la incidencia de enfermedades comunes como: dislipidemias, síndrome metabólico, diabetes y obesidad. El alivio del trabajo manual por la mecanización, el aumento de consumo de calorías y las mejoras del transporte son algunos de los factores que han contribuido a la aparición de estas amenazas a nivel mundial; los malos hábitos como el aumento del consumo de alimentos y bebidas con un alto contenido en grasas y azúcares y el descenso de la actividad física han pasado a formar parte de la vida cotidiana, por estos motivos estas enfermedades están cobrando cada vez mayor importancia, convirtiéndose en un tema urgente a conocer, prevenir y tratar (Alegría *et al.* 2008).

Diversas investigaciones sustentan que estas afecciones tienen un fondo genético condicionado por la alteración de un conjunto de genes, así como por la participación de factores ambientales. La identificación de los genes y las variantes en la secuencia que condicionan la susceptibilidad a estas enfermedades son indispensables para entender el proceso fisiopatológico subyacente (Tusié 2007).

El uso de distintas herramientas genéticas entre las que están el análisis de ligamiento genético, la asociación genómica, los perfiles de expresión diferencial y los modelos animales con desactivación selectiva de genes (animales *knockout*) han contribuido a la identificación de algunos genes que están relacionados con el desarrollo de estas afecciones (Tusié 2008).

La búsqueda de genes candidatos ha logrado identificar diversas regiones génicas de susceptibilidad a dislipidemias, diabetes, obesidad y síndrome metabólico, entre estos se encuentra el gen ABCA1 que codifica para una proteína, cuya función es el transporte inverso de colesterol, la variante R230C del gen ABCA1 ha sido asociada a niveles bajos de HDL, diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico y obesidad. Estudios del

polimorfismo R230C en poblaciones indígenas mexicanas sugieren cierta exclusividad a individuos con componente amerindio (Villarreal 2007).

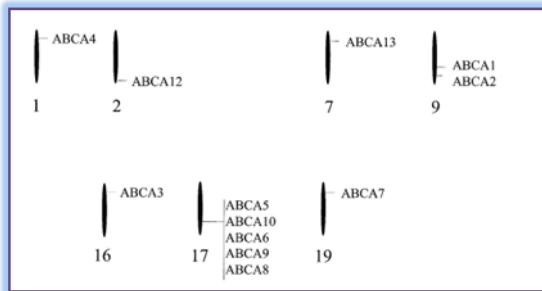
Debido a la escasa información sobre el componente genético local y al incremento de estas enfermedades, resulta de trascendental importancia determinar si nuestra población presenta el polimorfismo R230C del gen ABCA1, ya que su identificación podría orientar a la prevención y tratamiento de un modo específico y de esta manera traducir el descubrimiento de genes en beneficios clínicos.

### **1.1. FAMILIA DE PROTEÍNAS ABC**

Los transportadores ABC representan una de las familias más grandes identificadas hasta la fecha; son proteínas de membrana que hidrolizan ATP para el movimiento de una variedad de moléculas a través de la membrana plasmática (Fitzgerald *et al.* 2001), así como de membranas intracelulares (retículo endoplasmático, peroxisoma y mitocondria) (Dean *et al.* 2001).

Existen 48 genes ABC humanos conocidos, dentro de estos la subfamilia ABCA está compuesta de 12 transportadores divididos en dos subgrupos (Figura N° 1). El primer grupo (ABCA1 - A4, A7, A12, A13) incluye siete genes en seis cromosomas diferentes, mientras que, el segundo grupo (ABCA5 - A6, A8-A10) incluye cinco genes organizados sobre el cromosoma 17q24. La expresión de los genes ABCA en el cromosoma 17 es limitado, de esta manera, ABCA5 y ABCA10 se expresan en músculo esquelético, ABCA9 en el corazón, ABCA8 en el ovario y ABCA6 en el hígado (Dean *et al.* 2001; Oram y Heinecke 2006).

Mutaciones en genes ABC causan una variedad de enfermedades, incluyendo fibrosis cística, degeneración macular de Startgardt y alteración en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas (Oram y Heinecke 2006).



**Figura Nº 1.** Distribución de genes ABCA en el genoma. (Dean *et al.* 2001)

## 1.2. ABCA1

Este gen se localiza en el locus 9q31, tiene 147.153 pares de bases y 50 exones, codifica para una proteína transmembranal, de 2.261 aminoácidos, que regula el flujo de lípidos de las células periféricas a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Silva *et al.* 2009; Villarreal 2007), esta proteína de membrana dependiente de ATP funciona como un transportador o bomba de colesterol tanto en la membrana citoplásmica como en membranas intracelulares (Tusié 2008; Cenarro *et al.* 2004; Cenarro *et al.* 2003). El gen ABCA1 ha sido relacionado recientemente con niveles bajos de HDL, diabetes mellitus tipo 2, obesidad y síndrome metabólico (Villarreal 2007).

Su papel está muy bien documentado en el transporte inverso del colesterol; su función como gen de susceptibilidad para DT2 se reveló mediante la generación de un modelo animal (ratón) con la desactivación selectiva de ABCA1 en la célula  $\beta$  pancreática. En estos animales, al eliminar el gen se observó un depósito anormal de lípidos en la célula  $\beta$ , lo cual pone en riesgo su capacidad secretoria de insulina (Tusié 2007).

## 1.3. ESTRUCTURA DE ABCA1

ABCA1 comprende dos mitades de estructura similar (Figura Nº 2). Cada mitad tiene un dominio transmembrana que contiene



seis hélices y un dominio de unión a nucleótidos (NBD) (Bungert *et al.* 2001) que contienen dos regiones peptídicas Walker A y Walker B conservadas en muchas proteínas que utilizan ATP, además una región Walker C presente únicamente en los transportadores ABC. Se predice que ABCA1 tiene un NH<sub>2</sub> terminal orientado hacia el citosol y dos asas extracelulares grandes que son altamente glicosiladas unidas por uno o más residuos de cisteína (Dean *et al.* 2001).

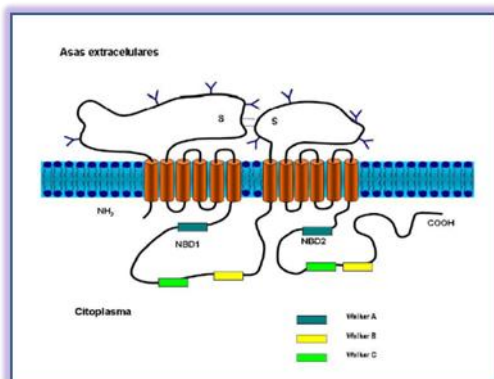


Figura Nº 2. Estructura de la proteína ABCA1. (Bungert *et al.* 2001)

#### 1.4. FUNCIÓN DE LA PROTEÍNA ABCA1

ABCA1 media el transporte de colesterol, fosfolípidos y otras moléculas lipofílicas a través de la membrana celular, donde estos son removidos de las células por las lipoproteínas de alta densidad HDL. Su homología con otros transportadores ABC sugieren que ABCA1 forman un canal en la membrana que promueve la salida de lípidos del interior al exterior de la membrana por un proceso dependiente de ATP (Oram y Heinecke 2006).

Aunque la función más conocida de ABCA1 se relaciona con la formación de partículas HDL y el flujo de colesterol, esta proteína es ampliamente expresada en muchos tejidos animales (lumen intestinal, vesícula biliar, célula  $\beta$  pancreática y tejido adiposo),

donde puede tener múltiples y diversas funciones (Silva *et al.* 2009; Villarreal *et al* 2007).

#### **1.4.1. Modelo del transporte de lípidos**

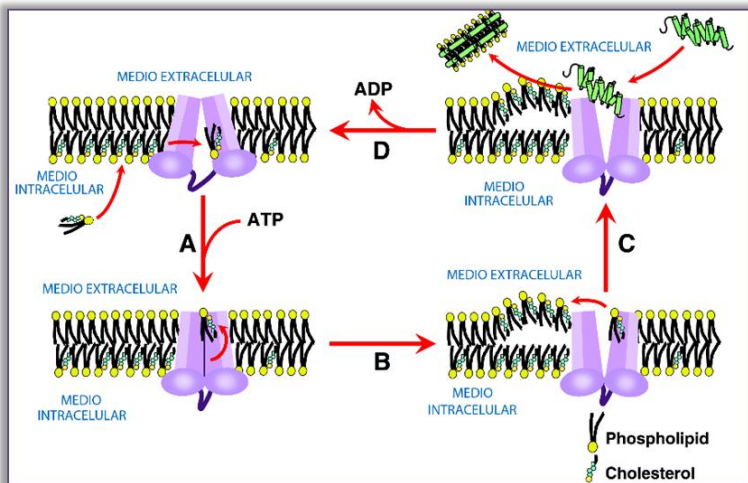
A pesar de algunos desacuerdos sobre los mecanismos involucrados, se sugiere que dos asas transmembrana simétricas forman un canal que permite que el colesterol y fosfolípidos puedan salir, esto involucra una serie de cambios conformacionales en la proteína ABC que es probablemente manejada por los dominios NBD.

Según este modelo el exceso de colesterol celular junto a fosfolípidos se acumulan dentro de dominios en la parte citosólica de la membrana plasmática o de membranas de vesículas intracelulares, este colesterol no es accesible para las apolipoproteínas y por lo tanto deben ser translocadas a la superficie celular (Oram 2003; Oram y Heinecke 2006).

Este modelo predice que el canal transmembrana de ABCA1 está inicialmente abierto en su parte interna. Los lípidos en la parte interna de la membrana son transportados en el canal por un proceso que es facilitado por sitios de unión a fosfolípidos de alta afinidad. Este reconocimiento de fosfolípidos induce unión de ATP a los NBDs, lo cual promueve su dimerización y así cierra el canal (Figura N°3, paso A). Las interacciones de la cabeza polar de fosfolípidos con aminoácidos cargados en el canal voltean los lípidos atrapados hacia la parte externa. La hidrólisis de ATP por los NBDs forma un intermediario unido a ADP que cambia la conformación de los dominios transmembrana, abriendo el canal hacia la cara externa (Figura N° 3, paso B). A causa de una disminución de la afinidad a fosfolípidos, los dominios lipídicos son expulsados del canal sobre la superficie celular, quedando disponibles para ser removido por las apolipoproteínas de partículas nacientes de HDL (Figura N° 3, paso C). La estructura del canal de ABCA1 revierte a su conformación inicial después de que el ADP se disocia del NBD (Figura 3, paso D).

Para la eliminación de lípidos primero las apolipoproteínas se unen a ABCA1 y luego solubilizan los lípidos transportados desde el interior al exterior de la célula por la proteína ABCA1. Aunque

este es un posible modelo es necesario más evidencias para confirmar su aplicación (Oram y Heinecke 2006).



**Figura Nº 3.** Modelo de la actividad de ABCA1 en la translocación de lípidos. (modificado de Oram y Heinecke 2006).

### 1.5. REGULACION DE LA EXPRESIÓN DE ABCA1

La expresión celular de ABCA1 es altamente regulada. En los macrófagos la expresión de las proteínas ABCA1 incrementa notablemente en presencia de sobrecarga de colesterol, con la finalidad de eliminar su exceso de las células. (Wang *et al.* 2003). La regulación de este gen está mediada por activadores PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ , además intervienen también los receptores nucleares hepáticos (LXR) y el receptor retinoide X (RXR), los cuales forman heterodímeros que son activados por oxisteroles y ácido retinoico respectivamente; la unión de uno o ambos ligandos puede activar la transcripción de ABCA1 (Wang *et al.* 2004). LXR forma heterodímeros con RXR para activar el promotor ABCA1. Los LXR actúan como sensores de los niveles de colesterol ya que responden a elevadas concentraciones de esteroides y, por consiguiente, transactivan un conjunto de genes que modulan el transporte, catabolismo y eliminación del colesterol (Uehara *et al.* 2002).

Una familia de factores de transcripción llamados proteínas de unión al elemento de respuesta a esteroides (SREBPs), regulan genes involucrados en la síntesis de esteroides y ácidos grasos. Los esteroides al ser ligandos de LXR activan la transcripción de ABCA1 y los ácidos grasos pueden antagonizar estos ligandos, ya que en estudios realizados se encontró que el tratamiento de células con ácidos grasos incrementó la degradación de ABCA1, suprimiéndose la eliminación de colesterol mediado por ABCA1 (Wang y Oram 2001).

### **1.6. POLIMORFISMOS EN EL GEN ABCA1**

Estudios en población mexicana reportaron el polimorfismo R230C del gen ABCA1 asociado a un mayor riesgo para el síndrome metabólico y algunos de sus componentes (obesidad, colesterol -HDL bajo y diabetes). Este polimorfismo fue descrito por primera vez en un individuo Oji-Cree, considerándose una mutación que causó hipo $\alpha$ -lipoproteinemia familiar (Wang *et al.* 2000). Cabe recalcar que la variante no ha sido encontrada en otras poblaciones estudiadas como: africana, europea, china y sudasiática, lo cual sugiere mayor tendencia a presentar el polimorfismo en algunos grupos étnicos (Canizales 2007; Villarreal *et al.* 2007; López y Rodríguez 2008).

R230C corresponde a un cambio de una citosina por una timina que origina un cambio de una arginina (R) por una cisteína (C) en la posición 230 de la proteína ABCA1 (Villarreal 2007).

Los mecanismos por los que la variante R230C del transportador ABCA1 se asocia con el síndrome metabólico y la diabetes probablemente están en relación con los efectos deletéreos resultantes de la acumulación de colesterol en el interior de las células (Figura N° 4), ya que esta acumulación de colesterol en las células  $\beta$  disminuye la secreción de insulina, confirmandose riesgo para desarrollar la enfermedad (Aguilar *et al.* 2007).

Por otro lado, también se han reportado SNPs en el gen ABCA1 que parecen constituir alelos protectores, entre estos el polimorfismo R219K ha sido asociado con disminución de triglicéridos, incremento de HDL, disminución en la progresión de aterosclerosis y reducción en el riesgo de eventos coronarios,

efectos compatibles con un aumento en la función de ABCA1 (Brooks et al. 1999; Marcil *et al.* 1999; Clee *et al.* 2000; Cenarro *et al.* 2003).

Este polimorfismo corresponde al cambio de una guanina (G) por una adenina (A) que origina un cambio de una arginina (R) por una lisina (K) en la posición 219 de la proteína (Villarreal 2007).

### **1.7. TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS CON EL POLIMORFISMO R230C EN EL GEN ABCA1**

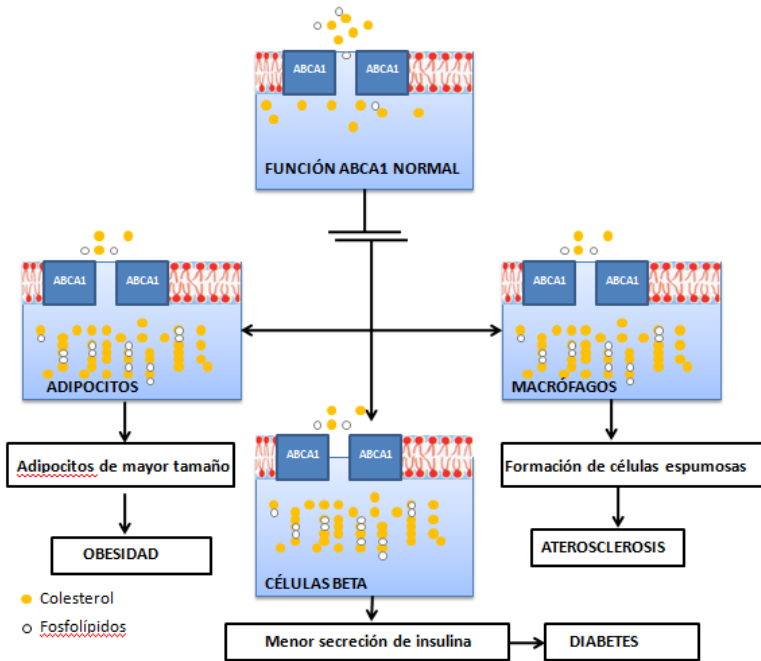
Se sabe que los niveles plasmáticos de HDL-C son un rasgo complejo, que resulta de la interacción de numerosos factores ambientales y variantes alélicas de muchos genes. Entre los polimorfismos de genes asociados a la variación en la concentración de HDL se encuentra la variante R230C del gen ABCA1, ya que la presencia de esta variante en forma heterocigota u homocigota ha sido asociada de una manera significativa con niveles bajos de HDL en población mexicana (Villarreal 2008).

El papel de ABCA1 en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2, ha sido analizado a partir de estudios en ratón con inactivación de este gen en las células pancreáticas, mostrándose acumulación de colesterol en éstas, lo cual pone en riesgo su capacidad secretoria de insulina (Villarreal *et al.* 2008). La variante R230C del transportador ABCA1 ha sido asociado con diabetes mellitus tipo 2 en población mexicana, este polimorfismo podría estar disminuyendo la función de la proteína y de esta manera, la acumulación de colesterol en los islotes pancreáticos disminuye la secreción de insulina, confiriéndose riesgo para desarrollar la enfermedad (Aguilar *et al.* 2007; Canizales 2007).

También se ha propuesto que ABCA1 es un gen candidato para el síndrome metabólico, en el que el polimorfismo R230C se asocia a resistencia a la insulina además de su relación con los niveles séricos de HDL-C y riesgo cardiovascular (Villarreal 2007). El síndrome metabólico no se trata de una simple enfermedad, sino de un grupo de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al

estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y la ausencia de actividad física; de forma que el exceso de grasa corporal (particularmente la abdominal) y el sedentarismo favorecen al desarrollo de insulinoresistencia (Lopez *et al.* 2007).

Finalmente, ABCA1 al regular el flujo de colesterol ha sido estudiado como posible gen que confiere susceptibilidad a desarrollar obesidad, identificándose la variante R230C en mestizos mexicanos obesos (López *et al.* 2008). Análisis detallados sugieren que algunos grupos étnicos, como el Áfrico-Americano y el hispano, presentan mayor susceptibilidad para desarrollar obesidad (Ogden *et al.* 2004). En este aspecto, es necesario tomar en cuenta que la susceptibilidad para desarrollar la expresión fenotípica de obesidad está determinada por la interacción entre factores genéticos y un medio ambiente obesogénico, de tal manera que resulta difícil identificar la contribución independiente de cada uno de estos factores, porque en la mayoría de los casos el medio ambiente es también diferente entre los diferentes grupos raciales (López *et al.* 2008).



**Figura Nº 4.** Mecanismos potenciales mediante los cuales la disminución del transportador ABCA1 puede favorecer la aparición de algunos trastornos metabólicos (Aguilar *et al.* 2007).

### 1.8. R230C EN EL GEN ABCA1 EN POBLACIONES AMERINDIAS

Estudios del polimorfismo R230C del gen ABCA1 revelaron que en casi todas las poblaciones indígenas mexicanas analizadas (Yaqui, Mazahua, Teneek, Perepecha, y Maya), la frecuencia alélica de esta variante fue de aproximadamente el doble que la observada en mestizos mexicanos, lo cual sería esperado por el mestizaje, además este polimorfismo no ha sido encontrado en otras poblaciones estudiadas como: africana, europea, china y sudasiática, sugiriéndose exclusividad de la variante en poblaciones indígenas de América o que descienden de ellas (Canzales 2007; Villarreal *et al.* 2007; López y Rodríguez 2008).

### 1.8.1. POBLACIÓN ÍNDIGENA DEL ECUADOR

El término indígena está relacionado a la presencia de los primeros habitantes de América antes de la llegada de los invasores europeos, quienes fueron tratados como una clase inferior, explotados, denigrados como seres humanos, una raza condenada a desaparecer o someterse a la transformación (INEC 2006).

Los pueblos indígenas ecuatorianos se definen como "colectividades originarias, conformadas por comunidades o centros con identidades culturales que les distinguen de otros sectores de la sociedad ecuatoriana, regidos por sistemas propios de organización social, económico, político y legal" (Tiban 2001). En el siguiente cuadro, se describen los 15 pueblos que han sido reconocidos por el Consejo de Desarrollo de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador (CODENPE).

**Tabla 1. PUEBLOS ÍNDIGENAS DEL ECUADOR**

PUEBLO	LENGUA	UBICACIÓN GEOGRÁFICA
Saraguro	Quichua	Loja, Zamora Chinchipe
Cañari	Quichua	Cañar
Puruhá	Quichua	Chimborazo
Waranka	Quichua	Bolívar
Chibuleo	Quichua	Tungurahua
Salasaca	Quichua	Tungurahua
Panzaleo	Quichua	Cotopaxi, Tungurahua
Quitua Cara	Quichua	Pichincha
Cayambí	Quichua	Pichincha, Imbabura
Caranqui	Quichua	Imbabura y Pichincha
Natabuela	Quichua	Imbabura
Otavalo	Quichua	Imbabura
Quichuas de la Amazonía	Quichua	Pastaza, Napo, Sucumbíos y Orellana
Manta	Castellano	Manabí
Huancavilca	Castellano	Guayas

CODENPE 2006



Entre estos pueblos indígenas se encuentra la población Saraguro cuyo idioma materno es el quichua. No existe una etimología definida para el término Saraguro; por el contrario, se dan diversas interpretaciones. Para algunos, el nombre proviene de sara (maíz) y guru (gusano), por tanto, Saraguro significaría gusano del maíz. Para otros, su denominación haría referencia a las mazorcas secas de maíz, o provendría de sara y jura (germinado), es decir, significaría maíz que germina o crece. Lo que sí está claro, independientemente de su significado, es que su nombre está estrechamente ligado al maíz y reafirma la importancia económica, social y simbólica que este producto tiene en la vida del pueblo Saraguro.

El pueblo Saraguro se encuentra asentado en un vasto territorio que, en sentido horizontal, se extiende desde el extremo noroccidental de la provincia de Loja en la región Interandina, hasta las cercanías de la Cordillera del Cóndor en la provincia de Zamora Chinchipe en la región Amazónica. Se estima que el pueblo Saraguro abarca una población que fluctúa entre los 37 000 y 60 000 habitantes, organizados en alrededor de 183 comunidades.

Se sostiene que los actuales Saraguros descienden del linaje de los Incas. Otra hipótesis afirma que los Saraguros son originarios de Bolivia, basándose fundamentalmente en las similitudes en la vestimenta con los Paquizhapas, indígenas de la zona Boliviana de Urdaneta (INEC 2010)

Actualmente, el pueblo quichua Saraguro es una de las etnias más conservadas del país ya que a diferencia de otras, la cultura de los Saraguros preserva su identidad, sus tradiciones y costumbres ancestrales, sin embargo pese a ello, la influencia de la vida moderna ha cambiado en parte el estilo de vida de este pueblo tanto en actividad física como alimentación (Amanki 2008).

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS:**

### **2.1. Población**

Se estudiaron un total de 103 individuos pertenecientes al grupo indígena Saraguro del sur del Ecuador, de los cuales, 43 sujetos viven en sus comunidades pertenecientes a la provincia de Loja en la sierra ecuatoriana y los 60 restantes en sectores de la provincia de Zamora Chinchipe en el oriente ecuatoriano, el grupo de personas evaluadas se encuentran entre 15 y 68 años de edad.

Los criterios de inclusión que se tomaron en cuenta fueron: pertenecer a la etnia Saraguro, ser oriundos del lugar (tomando en cuenta tres generaciones atrás), y no ser familiares en primer grado de otro participante del estudio.

A todos los individuos participantes se les tomó una muestra de sangre periférica en ayuno de aproximadamente 8 - 12 horas para medir parámetros bioquímicos y extraer DNA genómico. Estas muestras fueron tomadas previa aceptación de los participantes a través de la firma de un consentimiento informado.

### **2.2. Parámetros Clínicos, Bioquímicos y Antropométricos**

Todas las mediciones bioquímicas se realizaron en el "Laboratorio Clínico de la Unidad de Medicina Familiar UTPL", utilizando procedimientos estandarizados y reactivos comerciales. La glucosa sérica, los niveles plasmáticos de colesterol total (CT), HDL, LDL y triglicéridos (TG), se midieron utilizando el equipo "Cobas C111", los niveles de hemoglobina glicosilada se determinaron a través del kit comercial "Glycohemoglobin HbA1-Test"

El índice de masa corporal (IMC) e índice cintura-cadera (ICC) se determinaron según las siguientes fórmulas:

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg)} / \text{Estatura}^2 \text{ (m)}$$

$$\text{ICC} = \text{diámetro de la cintura en cm} / \text{diámetro de la cadera en cm.}$$

Se analizó la presencia de diabetes mellitus tipo 2 (DT2), síndrome metabólico (SM) y obesidad según los siguientes criterios:

- De acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud, se diagnostica DT2 a todos aquellos individuos con glucemia en ayuno  $\geq 126$ mg/dL (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 2009).
- Para el diagnóstico de SM se utilizó el criterio establecido por “National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults” (Adult Treatment Panel III [ATP-III]) (Grundy *et al.*, 2004), según la siguiente tabla:

**Tabla 2.** Criterios de la ATP-III para el síndrome metabólico.

<b>Obesidad central</b>	<b>Cintura &gt; 102cm en hombres, &gt;88cm en mujeres.</b>
<b>Niveles bajos de HDL-C</b>	HDL-C < 40 mg/dl en hombres, < 50mg/dl en mujeres.
<b>Hipertrigliceridemia</b>	Triglicéridos séricos $\geq 150$ mg/dl
<b>Hipertensión arterial</b>	Presión arterial $\geq 138/85$ o uso de medicamentos antihipertensivos.
<b>Glucosa plasmática en ayuno</b>	Glucemia $\geq 100$ mg/dl o uso de hipoglucemiantes.

La presencia de al menos 3 de estos criterios en un individuo es diagnóstico de Síndrome Metabólico (Grundy *et al.*, 2004).

- La determinación de obesidad o sobrepeso se hizo en base a la clasificación de la obesidad según el IMC de la Organización Mundial de la Salud, en la cual, se

diagnostica sobrepeso u obesidad a los individuos con un IMC $\geq$ 25kg/m<sup>2</sup>

### **2.3. Extracción de DNA**

Se extrajo DNA genómico a partir de las muestras de sangre, utilizando el kit comercial “Wizard Genomic DNA Purification” de Promega y se verifico mediante electroforesis en geles de agarosa 0.8% y tinción con bromuro de Etidio.

### **2.4. Identificación de la variante R230C**

El exón 7 de ABCA1 (290pb) fue amplificado por PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), usando primers específicos diseñados a través del programa FastPCR, para la revisión de los mismos se utilizó el programa Oligocalc:

- Forward: 5'GACCCAGCTTCCAATCTTCATAA- 3'
- Reverse:5'-TTCCGAAAGCATTAGTGCTTGA-3'

Las condiciones de la PCR fueron: desnaturalización inicial a 96°C por 7 minutos, 37 ciclos que consistieron en desnaturalización a 95°C por 30 segundos, anillamiento a 60°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 30 segundos y extensión final a 72°C por 10 minutos.

Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa 2% y purificados siguiendo las instrucciones del kit comercial “Wizard SV gel and PCR Clean-Up System” (Promega). La secuenciación de éstos se realizó en la empresa Macrogen y en la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran (México). Las secuencias se analizaron utilizando los programas Bioedit y Codon Code Aligner.

## 2.5. Análisis Estadístico

Se utilizó el programa estadístico SPSS v15.0 para analizar los resultados. Se calcularon medias y desviación estándar de los distintos parámetros. Se determinó las frecuencias genóticas y alélicas, y el equilibrio de Hardy Weinberg utilizando el recurso online del Instituto de Genética Humana de Munich Alemania (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). Para evaluar la asociación entre la variante y los parámetros bioquímicos y antropométricos, luego de normalizados los datos correspondientes a presión arterial, niveles de glucosa, TG, HDL y LDL se utilizó el MLG Univariante y el análisis de asociación del polimorfismos con obesidad y síndrome metabólico se realizó mediante regresión logística. Se consideró como nivel de significancia estadística  $p < 0.05$ .

### 3. RESULTADOS:

#### 3.1. Características Clínicas y antropométricas de la población Saraguro del Ecuador.

En la tabla 3 se muestra una estimación de los parámetros clínicos y antropométricos del grupo estudiado, según el sexo.

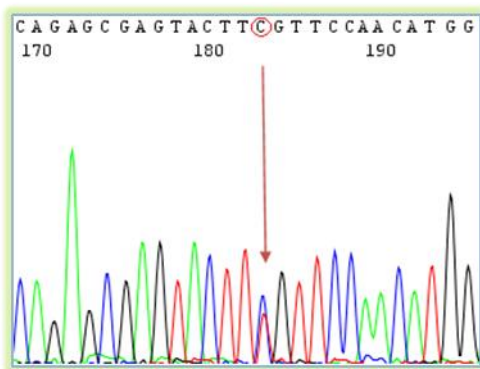
**Tabla 3. Parámetros clínicos y antropométricos en la población indígena Saraguro del Ecuador.**

PARÁMETROS	Población General (n=103)		SEXO				Valores de referencia
	Media	D.E.	MUJER (n=76)		HOMBRE (27)		
Edad	40,31	17,5	40,2	17,06	40,5	19,09	
IMC (Kg/m2)	<b>25,8</b>	<b>3,8</b>	26,7	3,8	23,39	2,62	<25*
Cintura (cm)	84,4	9,9	84,78	10,48	83,15	8,16	<102hombres / <88mujer **
IIC	0,86	0,07	0,85	0,07	0,88	0,06	<1 hombre / <0,85mujer**
PAS (mmHg)	115,17	24,2	115,38	20,79	114,56	32,45	120/80.*
PAD (mmHg)	74,6	12,2	75,039	11,74	73,41	13,68	
Glucosa (mg/dl)	79,9	11,7	80,3	11,64	78,8	12,04	70-100 **
TG (mg/dl)	<b>152,4</b>	<b>109,5</b>	153,2	106,8	150,2	11,03	<150**
CT (mg/dl)	171,23	38,24	171,12	37,56	171,5	40,8	<200**
HDL (mg/dl)	43,13	12,05	42,87	11,96	43,8	12,5	40-59**
LDL (mg/dl)	96,8	28,2	96,95	28,99	96,4	26,26	<100**
HbA1c (%)	5,56	0,99	5,59	0,96	5,45	1,07	<5,7***

IMC=Índice de masa corporal, IIC=Índice cintura-cadera, PAS= Presión arterial sistólica, PAD=Presión arterial diastólica, TG=Triglicéridos, CT=Colesterol total, HDL=Lipoproteína de alta densidad, LDL=Lipoproteína de baja densidad, HbA1c=Hemoglobina glicosilada. Valores de referencia (\*OMS, \*\*ATP-III, \*\*\*ADA)

### 3.2. Identificación del polimorfismo R230C en el gen ABCA1

Analizados los electroferogramas se identificó la presencia de R230C que corresponde al cambio de una citosina por una timina, lo que origina un cambio de una arginina (R) por una cisteína (C) en la posición 230 de la proteína (R230C) (Figura 5). La frecuencia de esta variante en la población fue del 29,1% (Tabla 4).



**Figura Nº 5.** Electroferograma de un individuo heterocigoto para la variante R230C. La flecha indica la presencia de 2 nucleótidos diferentes. La curva azul indica la presencia de citosina para un alelo, y la curva roja superpuesta indica la presencia de timina para el otro.

### 3.3. Frecuencias alélicas y genotípicas de R230C

**Tabla 4.** Frecuencia alélica y genotípica de la variante R230C en la población indígena Saraguro del Ecuador.

ABCA1/R230C Población Saraguro del Ecuador	FRECUENCIA GENOTÍPICA			FRECUENCIA ALELICA	
	CC	CT	TT	C	T
<b>N(%)</b>	73(70,9)	27(26,2)	3(2,9)	173(83,98)	33(16,02)
<b>Frecuencia</b>	0,71	0,26	0,03	0,84	0,16

Las frecuencias observadas de los genotipos CC, CT, TT del polimorfismo R230C estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg en la población analizada.

### **3.4. Asociación de R230C con los diferentes parámetros bioquímicos y antropométricos.**

La tabla 5 muestra la media y desviación estándar de los distintos parámetros antropométricos y bioquímicos de la población indígena estudiada, según su genotipo.

Se encontró que los individuos con genotipo CT/TT presentaron niveles de HDL significativamente más bajos ( $38,3 \pm 9,8$  mg/dL), que los individuos de genotipo normal CC ( $45,1 \pm 12,4$ )  $P=0.016$ . Esta asociación se realizó utilizando el modelo dominante, considerando a la edad, sexo y origen como covariables.



**TABLA 5.** Comparación de los parámetros antropométricos y bioquímicos en la población indígena Saraguro del Ecuador según la presencia de la variante R230C del gen *ABCA1*.

PARÁMETROS	GENOTIPO								p
	CC		CT		TT		CT/TT		
Número (103)	73		27		3		30		
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,6	3,97	26,4	3,5	25,5	4,1	26,3	3,49	0,5
Cintura (cm)	83,7	9,8	86,1	10,0	83,3	12,7	85,85	10,09	0,37
ICC	0,9	0,07	0,9	0,07	0,8	0,06	0,86	0,07	0,68
PA Sistólica (mmHg)	112,79	17,5	122,2	37,2	110	0	120,9	35,4	0,93
PA Diastólica (mmHg)	74,5	11,9	75,2	13,6	73,3	11,5	74,97	13,26	0,57
Glucosa mg/dl)	79,7	11,4	81,2	12,9	73,6	7,1	80,47	12,64	0,14
Triglicéridos (mg/dl)	150,3	121,4	162,2	71,1	117,3	30,03	157,7	69,1	0,09
Colesterol (mg/dl)	172,7	37,8	169,2	41,1	153,1	25,6	167,6	39,8	0,19
<b>HDL (mg/dl)</b>	<b>45,1</b>	<b>12,4</b>	<b>38,9</b>	<b>10,0</b>	<b>32,97</b>	<b>7,4</b>	<b>38,3</b>	<b>9,8</b>	<b>0,016</b>
LDL (mg/dl)	95,5	27,3	99,8	31,5	98,6	21,9	99,7	30,39	0,29
Hba1c (%)	5,6	1,03	5,5	0,9	5,8	1,2	5,5	0,89	0,62

Los datos presentados representan la media y desviación estándar (D.E.) de los distintos parámetros analizados según el genotipo. IMC= Índice de masa corporal, ICC= Índice cintura – cadera, PA= Presión arterial, HDL= Lipoproteína de alta densidad, LDL= Lipoproteína de baja densidad, HbA1c=Hemoglobina glicosilada. Valor de *P* comparando los genotipos CT/TT vs. CC a través del MLG Univariante (nivel de significancia estadística  $p < 0.05$ ).

### 3.5. Asociación de R230C con Obesidad y Síndrome Metabólico.

Como se muestra en la Tabla 6, al realizar el análisis de asociación de las variantes con obesidad y síndrome metabólico no se obtuvo ningún valor estadísticamente significativo.

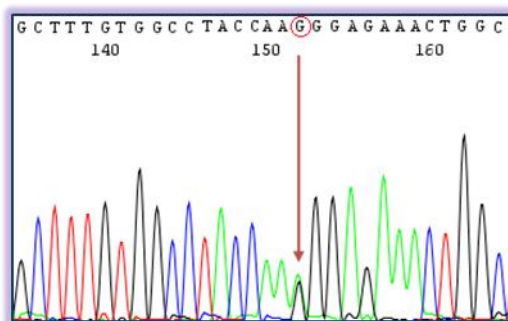
**TABLA 6.** Asociación de R230C obesidad y síndrome metabólico.

TRASTORNO METABOLICO	R230C		
	CC n(%)	CT/TT n(%)	P
<b>Obesos (n=58)</b>	40(68,97)	18(31,03)	NS
<b>No obesos (n=45)</b>	33(73,3)	12(26,7)	NS
<b>Individuos con SM (n=18)</b>	10(55,6)	8(44,4)	NS
<b>Individuos sin SM (n=85)</b>	63(74,12)	22(25,9)	NS

NS= No significativo. El análisis se realizó mediante regresión logística  $p < 0,05$

### 3.6. Identificación del polimorfismo R219K en el gen ABCA1

Además de la variante R230C; se identificó el polimorfismo R219K, que corresponde al cambio de una guanina (G) por una adenina (A), dando por resultado el cambio de una arginina (R) por una lisina (K) en la posición 219 de la proteína (Figura 6), la frecuencia de este polimorfismo fue del 70,9% en la población estudiada (Tabla 7), por lo que resultó importante la inclusión de este polimorfismo en el presente trabajo.



**Figura Nº 6.** Electroferograma de un individuo heterocigoto para la variante R219K. La flecha indica la presencia de 2 nucleótidos diferentes en la posición 969 del transcrito. La curva negra indicala presencia de guanina para un alelo, y la curva verde superpuesta indica la presencia de adenina en el otro.

### 3.7. Frecuencias alélicas y genotípicas de R219K

**Tabla 7.** Frecuencia alélica y genotípica de la variante R219K en la población indígena Saraguro del Ecuador.

R219K	GENOTÍPICA			ALELICA	
	GG	GA	AA	G	A
<b>N(%)</b>	30(29,1)	59(57,28)	14(13,59)	119(57,77)	87(42,,23)
<b>Frecuencia</b>	0,29	0,57	0,14	0,58	0,42

Las frecuencias observadas de los genotipos GG, GA y AA, del polimorfismo R219K estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg en la población analizada.

### **3.8. Asociación de R219K con los diferentes parámetros bioquímicos y antropométricos.**

La tabla 6 muestra la media y desviación estándar de los distintos parámetros antropométricos y bioquímicos de la población indígena estudiada, según su genotipo.

Los individuos con genotipo GA/AA presentaron niveles de HDL ligeramente más elevados ( $46,6 \pm 12,5$  mg/dL) en comparación con los individuos de genotipo normal GG ( $39,4 \pm 10,2$ )  $P= 0.02$ . Para el análisis de asociación se utilizó el modelo dominante, considerando la edad, sexo, origen y obesidad como covariables.

**TABLA 8.** Comparación de los parámetros antropométricos y bioquímicos en la población indígena Saraguro del Ecuador según la presencia de la variante R219K del gen *ABCA1*.

PARÁMETROS	GENOTIPO								p
	GG		GA		AA		GA/AA		
Número (103)	30		59		14		73		
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,4	3,8	25,8	3,9	26,6	3,6	25,98	3,87	0,39
Cintura (cm)	82,9	9,7	84,9	10,6	85	7,4	84,9	10,02	0,45
ICC	0,9	0,06	0,9	0,08	0,9	0,01	0,86	0,076	0,99
PA Sistólica (mmHg)	115,7	17,9	114,4	27,5	117,3	22,4	114,9	26,5	0,37
PA Diastólica (mmHg)	76,17	11,2	73,3	12,7	77	12,5	73,98	12,6	0,79
Glucosa mg/dl)	78,5	10,8	73,3	12,7	79,3	7,6	80,48	12,09	0,91
Triglicéridos (mg/dl)	152,2	77,3	148,7	113,2	168,7	146,8	152,6	119,4	0,29
Colesterol (mg/dl)	161,5	32,9	175,3	40,9	175	36,3	175,2	39,76	0,31
HDL (mg/dl)	<b>39,4</b>	<b>10,2</b>	<b>44,5</b>	<b>12,6</b>	<b>45,4</b>	<b>12,7</b>	<b>44,6</b>	<b>12,5</b>	<b>0,02</b>
LDL (mg/dl)	91,9	28,4	99,8	29,9	94,7	18,8	98,8	28,04	0,76
Hba1c (%)	5,6	1,0	5,5	1,0	5,6	0,9	5,5	0,99	0,55

Los datos presentados representan la media y desviación estándar (D.E.) de los distintos parámetros analizados según el genotipo. IMC= Índice de masa corporal, ICC= Índice cintura – cadera, PA= Presión arterial, HDL= Lipoproteína de alta densidad, LDL= Lipoproteína de baja densidad, HbA1c=Hemoglobina glicosilada. Valor de P comparando los genotipos GA/AA vs. GG a través del MLG Univariante (nivel de significancia estadística  $p < 0.05$ ).

#### 4. DISCUSION:

La función de ABCA1 como transportador de colesterol y fosfolípidos a las moléculas de HDL, así como su relación en la formación de HDL *in vivo*, han convertido a este gen en un importante objeto de estudio, además, su función ateroprotectiva ha llevado a este transportador a convertirse en un nuevo e importante blanco terapéutico para prevenir e incluso revertir la enfermedad cardiovascular aterosclerótica (Oram y Lawn 2001).

Existe una gran cantidad de estudios buscando asociaciones de SNPs de ABCA1 con alteración en la función del gen, así diversas investigaciones han analizado la relación existente entre la variante con los niveles de HDL-C en diferentes poblaciones, con resultados controversiales (Villarreal 2008).

La variante R230C del gen ABCA1 ha sido reportada como un importante alelo de riesgo para la disminución de los niveles de HDL, lo cual conlleva a enfermedad arteriosclerosa, especialmente enfermedad coronaria prematura, así como también ha sido relacionada a diabetes mellitus tipo 2, obesidad y síndrome metabólico. Estudios en población mestiza mexicana y en grupos indígenas mexicanos (Yaqui, Teneek, Perepecha, y Maya) mostraron una alta frecuencia de esta variante (0.109, 0.179, 0.214, 0.288, respectivamente), sugiriéndose cierta exclusividad a poblaciones indígenas de América o que descienden de ellas, ya que esta variante no ha sido encontrada en poblaciones africana, europea, china, sudasiática (Villarreal 2007, Cohen *et al.* 2004; Frikke *et al.* 2004; Probst *et al.* 2005; Wang *et al.* 2000).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, la variante R230C está presente en la población indígena Saraguro del Ecuador con una frecuencia alélica (0,16) (Tabla 5) similar a la población indígena mexicana, estos resultados revelan hasta la fecha la tendencia de la población amerindia a presentar dicho polimorfismo.

La presencia del polimorfismo 230C en forma hetero u homocigota en este estudio se asocia a niveles bajos de HDL en la población indígena Saraguro del Ecuador (Tabla 7) , ya que los niveles de estas partículas fueron significativamente menores en individuos con genotipos CT/TT( $38,3\pm 9,8$ mg/dL), que en individuos con el genotipo CC( $45,1\pm 12,4$ ), independientemente de la presencia de posibles factores confusores como la edad, género, región y obesidad, por lo tanto, puede deducirse que el cambio R230C en ABCA1 disminuye el eflujo de colesterol en las células formadoras de HDL provocando así una menor biogénesis de dichas partículas, esta disminución de flujo de lípidos podría ser dada por una falta de interacción directa entre ABCA1 y HDL necesaria para la transferencia de lípidos, así como también es posible que la función de ABCA1 fuera impedida por alteración de la estructura terciaria de la proteína causado por esta variante (Singaraja *et al.* 2003).

Estudios en población mexicana reportaron una asociación entre R230C del gen ABCA1 con el IMC, obesidad y diabetes mellitus tipo 2, a diferencia de esto, en la población Saraguro ecuatoriana no se encontró asociación entre la variante R230C y estos trastornos (Tabla 8), sugiriéndose que el papel de la proteína ABCA1 en la fisiopatología de la obesidad y el síndrome metabólico podría ser independiente de su función en la regulación de los niveles de HDL; además otras posibles razones de estas discrepancias podrían ser los factores ambientales, el estilo de vida o la influencia de la dieta entre las distintas grupos poblacionales (Villarreal 2007).

Se cree que el polimorfismo R230C del gen ABCA1 surgió posiblemente en los primeros humanos que cruzaron el Estrecho de Bering y su alta frecuencia en la población amerindia se pudo deber a alguna ventaja selectiva, de esta forma y con base en la hipótesis del “Genotipo ahorrador” de James V. Neel (1962), se podría especular que aquellos individuos con la variante pudieron almacenar calorías en forma de grasa durante los tiempos de abundancia y sobrevivir periodos prolongados de hambruna, por lo que la selección natural llevaría a una mayor frecuencia de este genotipo “ahorrador” en aquellas poblaciones que de manera intermitente pasaban por periodos de hambruna severa;

sin embargo, debido al estilo de vida actual (consumo elevado de calorías, sedentarismo, etc.) esta variante pasó de ser una ventaja selectiva a convertirse en un promotor o marcador de riesgo para trastornos metabólicos.

Por otro lado, así como varios estudios han reportado que variantes en ABCA1 causan niveles bajos de HDL, incremento de triglicéridos, disminución en el flujo de colesterol, incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular coronaria, diabetes mellitus tipo 2, obesidad y síndrome metabólico; también hay otros estudios que han mostrado SNPs del gen ABCA1 que parecen constituir alelos protectores, específicamente, el polimorfismo R219K ha mostrado estar asociado con disminución de niveles de TG, ligero aumento de los niveles de HDL y disminución en la severidad de la enfermedad cardiovascular coronaria, efectos compatibles con un incremento en la función de ABCA1 y transporte reverso de colesterol acelerado (Brooks *et al.* 1999; Marcil *et al.* 1999; Clee *et al.* 2000; Cenarro *et al.* 2003).

Estudios previos realizados en población europea mostraron una frecuencia de la variante R219K del 46% (Clee *et al.* 2001; Serrano 2003), mientras que, resultados reportados por Harada *et al.* 2003, mostraron una frecuencia de esta variante del 74,6% en población japonesa, similar a la frecuencia reportada por Kitjaroentham *et al.* 2007, en población tailandesa que correspondió a 66.67%, debido a estos resultados, según este último autor la variante R219K parece ser más común en poblaciones asiáticas que en poblaciones europeas.

En la población Saraguro del Ecuador analizada en este trabajo, se encontró que la variante R219K está presente en el 70,9% de la población, representando una frecuencia alélica para la variante (A) de 0,42 (Tabla 4); de acuerdo a esto, el hecho de que este polimorfismo en la población Saraguro del Ecuador se encuentre con una frecuencia similar a la población asiática podría deberse a que según hipótesis, los primeros pobladores del continente americano llegaron a través del Estrecho de Bering y tienen un origen asiático.



Clee *et al*, 2001 mostró que los portadores de la variante R219K en su población estudiada, presentan un ligero aumento de la concentración de HDL, disminución de aterosclerosis y menos eventos coronarios, similar a esto en la presente investigación se encontró que en la población Saraguro existe una asociación entre la presencia de la variante (GA/AA) y el nivel de HDL ya que los portadores de dicho polimorfismo mostraron concentraciones de HDL ligeramente más elevadas que los individuos que no portaron la variante (GG) (Tabla 6). Sin embargo a diferencia de esto, Villarreal *et al*. 2007 y Guillen *et al*. 2003, no mostraron relación entre la presencia de este polimorfismo y las concentraciones plasmáticas de HDL; estas discrepancias de resultados en las distintas investigaciones, han convertido a R219K en un interesante tema de estudio.

Con el presente estudio se pudo demostrar la presencia de dos variantes del gen ABCA1 en la población indígena Saraguro del Ecuador, mientras R230C se relacionó a una disminución en la concentración de HDL, el polimorfismo R219K estuvo asociado a un ligero aumento de dichas partículas, siendo interesante notar que no todos los individuos portadores de las variante mostraron el respectivo efecto en las concentraciones de HDL, sugiriéndose la influencia de factores ambientales y el estilo de vida en aspectos como la alimentación y la actividad física. Sin embargo, resulta necesaria la búsqueda de la frecuencia y el análisis de los efectos causantes de estas variantes en la población mestiza ecuatoriana así como en otras poblaciones con la finalidad de confirmar o descartar hipótesis sobre la funcionalidad de dichos polimorfismos.

## 5. CONCLUSIONES:

- Se identificaron dos polimorfismos en la población indígena Saraguro del Ecuador, R230C y R219K, los mismos que están presentes con una frecuencia alélica de 0,16 y 0,42 respectivamente.
- En la población analizada, el polimorfismo R230C se relacionó con una disminución en la concentración de HDL, mientras que el polimorfismo R219K se asoció a un ligero aumento en los niveles de HDL.

## **6. PERSPECTIVAS:**

- Determinar la frecuencia del polimorfismo R230C en el gen ABCA1 en la población mestiza ecuatoriana y analizar los efectos de dicho polimorfismo mediante análisis caso – control.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar S. C, Canizales Q. S, Rojas M. R, García G. E, Olaiz F. G, Gómez P. F, y Tusié L. M, 2007. Colaboraciones exitosas entre tres instituciones mexicanas en el estudio de las dislipidemias, la obesidad y la diabetes. *Gac Méd Méx* 143: 355-364.
- Alegría E, Castellano J, Alegría A, 2008. Obesidad, síndrome metabólico y diabetes: implicaciones cardiovasculares y actuación terapéutica. *Rev Esp Cardiol*. 61:752-64.
- Alvarado V, Jiménez M, 2003. Síndrome Metabólico en Pacientes Diabéticos Tipo 2 e Intolerantes a Carbohidratos del EBAIS La Mansión, Nicoya. *AMC* 4:154-157.
- Amanki K, 2008. Diagnóstico Participativo de Turismo del Pueblo Kichwa Saraguro. Ecuador
- Bernal J, Frechtel G. 2008. Análisis Molecular de la Disfunción de la Célula  $\beta$  Pancreática en la Progresión de la Diabetes Tipo 2. Su Aplicación a Nuevos Blancos Terapéuticos. XXXIV Curso de la Escuela para Graduados Sociedad Argentina de Diabetes Año 2008.
- Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, Yu L, Brewer C, Collins JA, Molhuizen HO, Loubser O, Ouellette BF, Fichter K, Ashbourne-Excoffon KJ, Sensen CW, Scherer S, Mott S, Denis M, Martindale D, Frohlich J, Morgan K, Koop B, Pimstone S, Kastelein JJ, Hayden MR. 1999. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet* 22:336-45.
- Bungert S, Molday L, and Molday R. 2001. Membrane Topology of the ATP Binding Cassette Transporter ABCR and Its Relationship to ABC1 and Related ABCA Transporters. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. 276: 23539–23546.
- Canizales S. 2007. Identificación de un nuevo gen para la obesidad y la diabetes tipo 2 en la población mexicana.
- Cavalier L, Qiu Y, Bielicki J, Afzal V, Cheng J, Rubin E. 2001. Regulation and Activity of the Human *ABCA1* Gene in Transgenic Mice. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. 276: 18046–18051.

- Cenarro A, Artieda M, Castillo S. 2003. A common variant in the ABCA1 gene is associated with a lower risk for premature coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *J Med Genet.* 40: 163-168.
- Cenarro A, Artieda, M. Pocoví M, 2004. Genes candidatos en las alteraciones del metabolismo de las HDL. *Cardiovascular Risk Factors* 13, 94-105.
- Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Zwarts KY, Molhuizen HOF, Roomp K, Jukema JW, van Wijland M, van Dam M, Hudson TJ, Brooks-Wilson A, Genest J Jr, Kastelein JJ, Hayden MR. 2001. Common genetic variation in ABCA1 is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation.* 103:1198-205.
- Costet P, Luo Y, Wang N, Tall A. 2000. Sterol-dependent Transactivation of the ABC1 Promoter by the Liver X Receptor/Retinoid X Receptor. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* 275: 28240–28245.
- Crepaldi G, Maggi S, 2006. El síndrome metabólico: Contexto histórico. *Diabetes Voice* 51:8-10.
- Cruz M, García J, López E, Valladares A, Sánchez R, Wachter N, Aguilar R, Kumate J. 2005. Genes candidatos como posibles marcadores de susceptibilidad a diabetes tipo 2. *RE B.* 24:81-86
- Cruz M, Montoya C, Gutiérrez M, Wachter N, Kumate J, 2002. Polimorfismo de genes relacionados con diabetes tipo 2. *Rev Med IMSS* 40 (2) 113-125.
- Dean M, Hamon Y, Chimini G. 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research.* 42: 1007 – 1017.
- Fitzgerald M, Mendez A, Moore K, Andersson L, Panjeton H, Freeman M. 2001. ATP-binding Cassette Transporter A1 Contains an NH2 –terminal Signal Anchor Sequence That Translocates the Protein’s First Hydrophilic Domain to the Exoplasmic Space\*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY.* 276: 15137–15145.
- González A. F, 2006. Análisis Molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosomas Y en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico – forense. Zaragoza.

- Guillén M., Sorlí J.V., Portolés O., Francés F., Sáiz C., Godoy D., Valderrama J., Corella D. 2003. Asociación del polimorfismo R219K del gen ABCA1 con parámetros lipídicos y obesidad. *Rev Esp Obes* 2:16-24.
- Housby N, 2001. Mass spectrometry and genomic analysis. Netherland.
- Consejo Nacional de Desarrollo de las Nacionalidades Indígenas del Ecuador (CODENPE), revisado en la página web. <http://www.codenpe.gov.ec/>.
- "<http://www.inec.gov.ec>"
- Ban J, Kang S, Jung K, Kim H, Uhm Y, Kim S, Yim S, Choe B, Hong S, Seong Y, Koh I, Chung J. 2008. The association of PBX1 polymorphisms with overweight/obesity and metabolic alterations in the Korean population. *Nutrition Research and Practice*. 2: 289-294.
- Julve J, 2003. El receptor huérfano hepático (LXR): avances en el conocimiento de una nueva diana terapéutica. *Rev Esp Obes* 1: 21-28.
- Kitjaroenatham A, Hananantachai H, Tungtrongchitr A, Pooudong S, Tungtrongchitr R. 2007. R219K Polymorphism of ATP Binding Cassette Transporter A1 Related with Low HDL in Overweight/Obese Thai Males. *Archives of Medical Research* 38:834-838.
- Kumar R, McClain D, Young R, and Carlson G, 2008. Cholesterol transporter ATP-binding cassette A1 (ABCA1) is elevated in prion disease and affects PrPC and PrPSc concentrations in cultured cells. *Journal of General Virology*, 89, 1525–1532.
- Laclaustra M, Bergua C, Pascual I, Casasnovas J, 2005. Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología. *Rev Esp Cardiol Supl*. 5:3D-10D.
- Laris M, Arteaga A, Cuevas A, Rigotti A. 2005. El colesterol HDL: ¿un nuevo objetivo terapéutico en el manejo de las dislipidemias y la aterosclerosis?. *Rev Méd Chile*; 133: 823-832.
- Lewis R, 2005. Human Genetics: Concepts and Applications. Sixth Edition. Mc Graw Hill.

- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipurski S, Darnell J. 2005. *Biología Celular y Molecular*. 5ta edición. Argentina.
- López M, Rodríguez M. 2008. Epidemiology and genetics of overweight and obesity. *Medigraphic* 65, 421-430.
- López M, Sosa M, Labrousse N, 2007. El síndrome metabólico. *Revista de Posgrado de VIa Cátedra de Medicina*. 14:12-15.
- Maíz A, 2005. El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. *Boletín de la Escuela de Medicina* 30:25-30.
- Majken K, 2008. Genetic Variation Related to High-density Lipoprotein Metabolism and Risk of Coronary Heart Disease. Dinamarca.
- Marcil M, Brooks-Wilson A, Clee SM, Roomp K, Zhang L, Yu L, Collins JA, van Dam M, Molhuizen HO, Loubser O, Ouellette BF, Sensen CW, Fichter K, Mott S, Denis M, Boucher B, Pimstone S, Genest J Jr, Kastelein JJ, Hayden MR. 1999. Mutations in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux. *Lancet* 354:1341-6.
- Martínez J, Moreno M, Marques-Lopes I, Martí A. 2002. Causas de obesidad. *ANALES Sis San Navarra* 25:17-27.
- OMS 2008.
- Oram J, 2003. HDL Apolipoproteins and ABCA1: Partners in the Removal of Excess Cellular Cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23;720-727.
- Oram J, Heinecke J, 2005. ATP-Binding Cassette Transporter A1: A Cell Cholesterol Exporter That Protects Against Cardiovascular Disease. *Physiol Rev* 85:1343-1372.
- Oram J, Lawn R, 2001. ABCA1: the gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *Journal of Lipid Research*. 42:1173-1179.
- Orho-Melander M. 2006. El síndrome metabólico: El síndrome metabólico: estilo de vida, genética estilo de vida, genética y origen étnico. *Diabetes Voice*. 51: 21 – 24.

- Passarelli M, Tang CH, McDonald T, O'Brien K, Gerrity R, Heinecke J, Oram J. 2005. Advanced Glycation End Product Precursors Impair ABCA1-Dependent Cholesterol Removal From Cells. *Diabetes*. 54: 2198 – 2205.
- Pierce B, 2006. Un enfoque conceptual. 2da. Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. España.
- Pineda C, 2008. Síndrome metabólico: definición, historia, criterios. *Colombia Médica* 39:96-106.
- Porchay I, Pe´an F, Bellili N, Royer B, Cogneau J, Chesnier M, Caradec A, Tichet J, Balkau B, Marre M, Fumeron F. 2006. ABCA1 Single Nucleotide Polymorphisms on High-Density Lipoprotein-Cholesterol and Overweight: the D.E.S.I.R. Study. *OBSIDITY*. 14: 1874 – 1879.
- Ramos P, Torrijos C. Diabetes mellitus. Sociedad Española de Urgencias de Pediatría.
- Robert L. Nussbaum, Roderick R. MacInnes, Huntington F. Willard 2004. Thompson & Thompson. Genética en medicina. 5ta. Edición. Elsevier. España.
- Roche E, 2003. Diabetes tipo 2: gluco-lipo-toxicidad y disfunción de la célula  $\beta$  pancreática. *Ars Pharmaceutica*, 44:4; 313-332.
- Rodríguez A, Sánchez M, Martínez L, 2002. Síndrome metabólico: Enfoque actual. *Rev Cubana Endocrinol* 13:238-252.
- Roshni R. Singaraja, James E, Crim J, Visscher H, Chatterjee A, Hayden M, 2005. Alternate transcripts expressed in response to diet reflect tissue-specific regulation of ABCA. *Journal of Lipid Research* 46:2061-2071.
- Santamarina S, Peterson K, Knapper C, Qiu Y, Freeman L, Cheng J, Osorio J, Remaley A, Yang X, Haudenschild C, Prades C, Chimini G, Blackmon E, Francois T, Duverger N, Rubin E, Rosier M, Deneffe P, Fredrickson D, Brewer H.B, 2000. Complete genomic sequence of the human ABCA1 gene: Analysis of the human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *PNAS* 97:7987-7992.



- Schnell M, Dominguez Z, Carrera C. 2007. Aspectos genéticos, clínicos y fisiopatológicos del Síndrome Metabólico. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 20: 92-98.
- Silva X. C, Escobedo A. F, Tusie L. M, 2009. Propuesta para identificar alteraciones genómicas para diabetes gestacional en población mexicana. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas* 14(2):83-87.
- Singaraja R, Brunham L, Visscher H, Kastelein J, Hayden M. 2003. Efflux and Atherosclerosis: The Clinical and Biochemical Impact of Variations in the ABCA1 Gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23;1322-1332.
- Tusié L. M, 2001. El mapa de la variabilidad genética, los snp's y algunas de sus implicaciones en medicina. *Rev Invest Clin* 53(4): 308-310.
- Tusié L. M, 2007. Marcadores genéticos para el entendimiento de la fisiopatología de las enfermedades. *Salud Pública de México*. 49, 153-154.
- Tusié L. M, 2008. El componente genético de la diabetes tipo 2. *Mensaje Bioquímico* 32: 59-66.
- Uehara Y, Engel T, Li Z, Goepfert C, Rust S, Zhou X, Langer C, Schachtrup C, Wiekowski J, Lorkowski S, Assmann G, Eckardstein A, 2002. Polyunsaturated Fatty Acids and Acetoacetate Downregulate the Expression of the ATP-Binding Cassette Transporter A1. *DIABETES*, 51:2922-2928.
- Vernia M. S, 2007. Estudio del factor de transcripción srebp1 en estados de resistencia a insulina. España
- Villarreal M, 2007. Búsqueda de posibles variantes funcionales del gen *ABCA1* en individuos mexicanos con hipo e hiper $\alpha$ -lipoproteinemia y su asociación con otros rasgos metabólicos. México.
- Villarreal M, 2008. Bases genéticas de la variación en los niveles plasmáticos de HDL-colesterol. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 16:32-41.
- Villarreal M. M, Aguilar S. C, Rodríguez C. M, Riaño D, Villalobos C. M, Coral V. R, Menjivar M, Yescas G. P, Konigsoerg F. M, Romero H. S, Tusie L. M, Canizales Q. S, 2007. The ATP-Binding Cassette Transporter A1 R230C Variant Affects HDL Cholesterol Levels and BMI in the Mexican Population. *Diabetes* 56, 1881-1887.

- Villarreal M. M, Flores D. M, Arellano C. O, Villalobos C. M, Rodríguez C. M, Miliar G. A, Huertas V. A, Menjivar M, Romero H. S, Wachter N, Tusié L. M, Cruz M, Aguilar S. C, Canizales Q. S, 2008. Association of the ATP-Binding Cassette Transporter A1 R230C Variant With Early-Onset Type 2 Diabetes in a Mexican Population. *Diabetes* 57, 509-513.
- Wang N, Chen W, Linsel-Nitschke P, Martinez L, 2003. Birgit Agerholm-Larsen, David L. Silver, and Alan R. Tall. A PEST sequence in ABCA1 regulates degradation by calpain protease and stabilization of ABCA1 by apoA-I. *J. Clin. Invest.* 111:99–107.
- Wang N, Tall A, 2003. Regulation and Mechanisms of ATP-Binding CassetteTransporter A1-Mediated Cellular Cholesterol Efflux. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.*
- Wang Y, Kurdi-Haidar B' and John F. Oram. 2004. LXR-mediated activation of macrophage stearyl-CoA desaturase generates unsaturated fatty acids that destabilize ABCA1. *Journal of Lipid Research* 45:972-980.
- Wang Y, Oram J, 2002. Unsaturated Fatty Acids Inhibit Cholesterol Efflux from Macrophages by Increasing Degradation of ATP-binding Cassette Transporter A1. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* 277:5692–5697.
- Wong J, Quinn C, Brown A, 2006. SREBP-2 positively regulates transcription of the cholesterol efflux gene, ABCA1, by generating oxysterol ligands for LXR. *Biochem. J.* (2006) 400, 485–491.
- Zamudio J, 2010. Diagnóstico de diabetes con hemoglobina glicosilada. *Rev Eviden Invest Clin* 3: 58-60.