

las diferencias interindividuales en las enfermedades complejas y poligénicas.

Objetivo: Identificar si existe una asociación entre las variantes genéticas comunes en las regiones reguladoras del gen LDLR y la hipercolesterolemia primaria no familiar.

Metodología: Seleccionamos 476 individuos del Hospital Clinic de Barcelona, Hospital Universitario Miguel Servet y el Aragon Workers Health Study (AWHS) según criterios de hipercolesterolemia primaria: LDL colesterol \geq percentil 90 de la población española de referencia, triglicéridos \leq 200 mg/dl, IMC $<$ 30 kg/m² y ausencia de mutaciones en LDLR, APOB y PCSK9, descartándose causas secundarias. Como grupo control escogimos 525 sujetos sanos no relacionados del estudio AWHS con LDL colesterol \leq percentil 90 y TG \leq 200 mg/dl. Los criterios de exclusión fueron: historia familiar de enfermedad cardiovascular, enfermedad hepática o tiroidea, diabetes, abuso de alcohol y tratamiento hipolipemiante. Secuenciamos 3,103 Kb del gen LDLR (-625 a +2478) y analizamos la región 5'UTR de LDLR mediante los programas bioinformáticos Mat Inspector y Chip Inspector. Las variantes comunes en regiones reguladoras cis-: rs17242346, rs17242739, rs17248720 y rs17249120 fueron genotipadas mediante la tecnología iPLEX basada en la plataforma MassARRAY®.

Resultados: La secuenciación de la zona promotora de LDLR mostró ser poco variable, no observándose polimorfismos cuya frecuencia alélica menor fuera $>$ 10%. El alelo C del SNP rs17248720 mostró una menor prevalencia en población control que en la hipercolesterolemica ($p < 0,00001$). El análisis de regresión lineal multivariable mostró que la concentración de lipoproteína(a), la variante rs17248720 y la edad explicaban el 10,1% de la variabilidad del colesterol LDL en varones. Los experimentos de funcionalidad mediante EMSA con oligonucleótidos específicos para cada alelo del SNP rs17248720 mostraron diferencias significativas en la afinidad por las proteínas nucleares. La unión competitiva indicó que el alelo C resultó ser más fácilmente desplazable del complejo proteína-DNA que el alelo T (pendiente 0,0073 versus 0,004 de los alelos T y C, respectivamente).

Conclusiones: El alelo C del polimorfismo rs17248720 localizado en la región reguladora 5'UTR del gen LDLR explica una parte de la genética de la hipercolesterolemia primaria.

Palabras clave: Hipercolesterolemia. LDLR. Región promotora.

Genética

2B-01. LA VARIABILIDAD EN LAS REGIONES REGULADORAS CIS- DEL PROMOTOR DE LDLR SE ASOCIA CON LA HIPERCOLESTEROLEMIA

I. de Castro-Orós¹, J. Pérez-López², M. León³, J.A. Casasnovas³, E. Ros⁴, J.C. Rodríguez-Rey², F. Civeira⁵ y M. Pocoví¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Recava. Instituto Carlos III. Zaragoza. ²Departamento de Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria. Instituto de Formación e Investigación Marqués de Valdecilla (IFIMAV). Santander. ³Unidad de Investigación Cardiovascular. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+Cs). Aragon Workers Health Study. Zaragoza. ⁴Servei d'Endocrinologia i Nutrició. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Ciberobn. Barcelona. ⁵Unidad de Lípidos y Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Recava. Zaragoza.

Introducción: Una proporción importante de hipercolesterolemias primarias no se asocian con mutaciones en regiones codificantes de los genes LDLR, APOB o PCSK9. Estudios GWAS indican que ciertos polimorfismos en el locus LDLR son responsables de la variabilidad en las concentraciones de colesterol. Las secuencias reguladoras cis- controlan la expresión génica y podrían ser responsables de la mayoría de

2B-03. PROTECTION OF LDL FROM OXIDATION BY OLIVE OIL POLYPHENOLS IS ASSOCIATED WITH A DOWN-REGULATION OF CD40L EXPRESSION AND ITS DOWNSTREAM PRODUCTS IN VIVO IN HUMANS

V. Konstantinidou¹, O. Castañer², M.I. Covas², O. Khymenets³, R. de la Torre³, D. Muñoz-Aguayo², J. Vila² y M. Fitó²

¹Research Unit on Lipids and Atherosclerosis. Hospital Universitari Sant Joan. IISPV. Universitat Rovira i Virgili. Ciberdem. Tarragona.

²Cardiovascular Risk and Nutrition Research Group. Mar Institute of Medical Research (IMIM). Ciber de Fisiopatología de la Obesidad. Barcelona. ³Human Pharmacology and Clinical Neurosciences Research Group. Mar Institute of Medical Research. Ciberobn. Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción: Data from the European EUROLIVE study provided the final degree of evidence required to recommend polyphenol-rich olive oil to achieve additional benefits on both classical and emerging cardiovascular risk factors such as reducing low density lipoprotein (LDL) oxidation. The European Food Safety Authority (EFSA) has recently approved a claim concerning the benefits of olive oil polyphenols on the protection of LDL from oxidation. However, polyphenols could exert health benefits not only by scavenging free radicals, but also by modulating gene expression in various pathways. The CD40/CD40L system is considered to be pro-atherogenic and pro-thrombotic linking inflammation with atherosclerosis. Some inflammatory

genes have been previously reported to be modulated by phenolic-rich olive oil consumption and increased levels of oxidized LDL have been shown to correlate with an increase of CD40 gene expression in hyperlipemic individuals.

Objetivo: The objective of the present study was to assess whether olive oil polyphenols could modulate the *in vivo* expression of atherosclerosis-related genes, in which LDL oxidation is involved, in healthy humans.

Metodología: In a randomized, crossover, controlled trial, 18 healthy European volunteers received 25 mL/day of olive oils with low (LPC, 2.7 mg/kg) and high (HPC, 366 mg/kg) polyphenol content in intervention periods of 3 weeks separated by 2-week washout periods. Dietary adherence to the ingested olive oil was assured by measurement of urinary tyrosol and hydroxytyrosol. Gene expression analyses were performed in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of a random subsample of 18 participants (8 Finnish, 4 German, and 6 Spanish). Samples were taken before and after olive oil interventions.

Resultados: Systemic LDL oxidation, monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1), pro-atherogenic genes expression in peripheral blood mononuclear cells: CD40 ligand (CD40L), interleukin 23A (IL23A), adrenergic beta-2 receptor (ADRB2), oxidized LDL (lectin-like) receptor 1 (OLR1), and interleukin 8 receptor (IL8RA), were reduced after HPC versus LPC intervention. Random effect linear regression analyses showed: 1) a significant decrease in CD40, ADRB2, and IL8RA gene expression with the decrease of LDL oxidation; and 2) a significant decrease in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) and OLR1 gene expression with increasing levels of tyrosol and hydroxytyrosol in urine.

Conclusiones: The intake of polyphenol-rich olive oil reduces CD40 gene expression, its downstream products, and related genes involved in atherogenic and inflammatory processes *in vivo*, besides reducing the LDL oxidation, in humans. Our data provides evidence that a decrease in pro-atherogenic and pro-inflammatory molecular mechanisms can be achieved by a polyphenol-rich olive oil intervention. To our knowledge, it is the first time this is reported *in vivo* in humans. Dietary polyphenols from olive oil, in addition to improving systemic cardiovascular risk factors, can modulate, in a protective mode, genes involved in chronic degenerative diseases such as cardiovascular and other inflammatory ones.

Palabras clave: Olive oil. Nutrigenomics.intervention study. LDL oxidation.

2B-04. LA VARIANTE S447X DEL GEN LPL SE ASOCIA A UN MEJOR PERFIL LIPÍDICO Y UNA MEJOR EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES DISLIPÉMICOS INFECTADOS POR EL VIH

P. Echeverría¹, M. Guardiola², M. González², J.C. Vallvé², J. Puig¹, N. Cañellas³, E. Negredo¹ y J. Ribalta²

¹Fundació Lluita Contra la Sida. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. ²Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosis;

³Plataforma de Metabolómica. IISPV. CIBERDEM. Universitat Rovira i Virgili. Reus. Tarragona.

Introducción: La terapia antirretroviral (TAR) ha disminuido significativamente la morbilidad y mortalidad de los pacientes infectados por el VIH, pero en algunos pacientes se asocia a complicaciones metabólicas como la dislipemia, de manera que presentan un mayor riesgo cardiovascular en relación a la población no infectada. Hipotetizamos que existe una base genética que predispone a la dislipemia en pacientes VIH.

Objetivo: Caracterizar genética y metabólicamente una cohorte de pacientes VIH con dislipemia asociada al tratamiento, y relacionarlo con la evolución de la enfermedad del VIH.

Metodología: Estudiamos a 458 pacientes infectados por el VIH,

mayores de 18 años, con y sin exposición a la TAR. A todos los sujetos estudiados se les determinó la bioquímica básica, parámetros lipídicos y del control del seguimiento de la infección. Determinamos marcadores genéticos en genes seleccionados con la dislipemia aterogénica. Los genes seleccionados y sus polimorfismos fueron: apolipoproteína A5 (rs662799 y rs3135506); apolipoproteína C3 (rs5128 y rs4520); lipoproteína lipasa (LPL) (rs328 y rs268); proteína transferidora de ésteres de colesterol (rs708272); lipasa hepática (rs1800588); proteína microsomal transferidora de triglicéridos (rs1800591); apolipoproteína E (rs7412 y rs429358); proteína relacionada con el LDLR 5 (rs7116604); y el receptor de las VLDL (rs1454626). Dividimos los sujetos según si desarrollaban dislipemia descrita como: niveles de TG \geq 1,7 mmol/L, o colesterol total \geq 5,17 mmol/L o si estaban tratados con fármacos hipolipemiantes, versus pacientes que no habían desarrollado dislipemia (niveles de TG $<$ 1,7 mmol/L y colesterol total $<$ 5,17 mmol/L y que no tomaban hipolipemiantes).

Resultados: Destacamos los resultados referentes a la variante rs328. El polimorfismo rs328 (S447X) del gen LPL es casi un 40% más frecuente en el grupo de pacientes que NO desarrollan dislipemia ($p = 0,0026$). En el grupo de pacientes con dislipemia, los portadores de la variante rs328 presentan un 60% más concentración de colesterol HDL ($p = 0,015$) y un porcentaje 14% más alto de células CD4 ($p = 0,038$). Valores de significación ajustados por edad, sexo y tratamiento hipolipemianti.

Conclusiones: Los pacientes infectados por el VIH portadores de la variante rs328 del gen LPL presentan un mejor perfil lipídico y un mayor recuento de células CD4 lo cual sugiere un cierto papel protector.

Palabras clave: VIH. LPL. CD4.

2B-08. DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR MEDIANTE “NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)”

L. Palacios, E. Olano-Martín, D. Arteta, N. Aizpuru, S. Catarino, A. Martínez, D. Tejedor y M. Stef

Progenika Biopharma S.A. Vizcaya.

Introducción: Las técnicas de secuenciación NGS están revolucionando el diagnóstico genético, haciéndolo más rápido y accesible. El desarrollo de equipos más manejables, con menor capacidad y que admiten el análisis simultáneo de muchas muestras, como el sistema GS Junior, hace factible el uso de esta tecnología no sólo en grandes centros de investigación sino también en laboratorios de diagnóstico clínico.

Objetivo: El objetivo de este estudio es reemplazar las técnicas actuales para la detección de variantes causantes de hipercolesterolemia familiar (HF), secuenciación clásica (Sanger) y MLPA o la plataforma LIPOchip®, por un método capaz de detectar cualquier tipo de mutación (conocida o no) de una forma más rápida y automática.

Metodología: Se han diseñado varias PCRs multiplex para ser secuenciadas en el equipo GS Junior de Roche que permiten analizar completamente las regiones codificantes y de unión exón-intrón para los principales genes responsables de HF (dominante y recesiva): LDLR, PCSK9 y LDLRAP1, y las regiones de unión al ligando del gen APOB (exones 26 y 29), así como la detección de cambios de número de copia (CNV) del gen LDLR, causantes del 5-10% de los casos de HF. Además, se ha desarrollado un algoritmo propio, basado en los alineamientos obtenidos por el software de Roche, para analizar los resultados obtenidos.

Resultados: El resultado final ha sido el kit LIPOnext para diagnóstico de HF que lleva asociado un software de análisis, gracias al cual se pueden testar 20 pacientes por análisis, con una fiabilidad similar a Sanger en la detección de mutaciones puntuales y a MLPA en la detección de CNV. El software analiza los resultados, proporciona las variantes encontradas en cada paciente (en nomenclatura HGVS) y

busca en nuestra base de datos la patogenicidad de cada una de las variantes detectadas para emitir finalmente un informe con toda esta información.

Conclusiones: Este trabajo muestra una nueva forma de realizar diagnóstico genético, mejorando el tiempo de respuesta, gracias a la evolución de las técnicas de secuenciación. Así, las técnicas NGS permiten, no sólo analizar grandes regiones del genoma, sino también adaptarse a las necesidades de los laboratorios que analizan de rutina cualquier enfermedad de base genética, como es la HF.

Palabras clave: Hipercolesterolemia. Next generation sequencing. Mutación.

P-096. DEL GEN SLC23A2, TRANSPORTADOR DE LA VITAMINA C, AL GEN SLAIN1, EXPRESADO EN CÉLULAS MADRE. ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO RS1279386 CON LA PRESIÓN ARTERIAL

J.V. Sorlí¹, E.M. Asensio¹, V. Zanón-Moreno¹, C. Ortega-Azorín¹, D. Godoy², R. Estruch³ y D. Corella¹

¹Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina y CiberObn. Universidad de Valencia. ²Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario de Valencia. ³Servicio de Medicina Interna y CiberObn. Hospital Clínic de Barcelona

Introducción: En un estudio de casos y controles para investigar la influencia nutrigenética en el glaucoma primario de ángulo abierto, encontramos que el polimorfismo rs1279683 en el gen SLC23A2 (solute carrier family 23, member 2) situado en el cromosoma 20 se asociaba con mayor riesgo de glaucoma y muy significativamente con menores concentraciones plasmáticas de vitamina C, tanto en casos como en controles. Debido a esta fuerte asociación entre concentraciones de vitamina C y el rs1279683 en el gen SLC23A2 decidimos estudiar su influencia en población de edad avanzada y alto riesgo cardiovascular. Sin embargo, un error al invertir dos números en el identificador del polimorfismo al solicitar la sonda correspondiente, nos proporcionó el rs1279386. Este polimorfismo es intergénico y está situado en el cromosoma 13, cercano al gen SLAIN1 (SLAIN motif family, member 1). El gen SLAIN1 se expresa en células madre y recientemente se ha implicado en el desarrollo del sistema nervioso y en la morfogénesis de otras estructuras del embrión.

Objetivo: Estudiar los efectos del polimorfismo rs1279386 cercano al gen SLAIN1 en las concentraciones plasmáticas de lípidos, antropometría y presión arterial en población de alto riesgo cardiovascular.

Metodología: Estudio transversal en 1050 personas de alto riesgo cardiovascular participantes en el estudio PREDIMED-Valencia. Se obtuvieron variables clínicas, bioquímicas, antropométricas y de estilo de vida mediante cuestionarios y medidas estandarizadas. Se determinó el polimorfismo rs1279386 y se analizaron las asociaciones mediante modelos estadísticos univariantes y multivariantes.

Resultados: La prevalencia de los genotipos fue: 31% AA, 50% AT, 19% TT. No hubo diferencias de edad, sexo, índice de masa corporal (IMC) ni adherencia a la dieta mediterránea entre genotipos. El polimorfismo rs1279386 no se asoció significativamente con las concentraciones de lípidos, pero sí que lo hizo muy significativamente con la presión arterial diastólica (PAD), que fue menor en los portadores del alelo menos frecuente ($p = 0,005$), con un claro efecto alélico ($P = 0,001$): 83 ± 11 mmHg en los AA, 81 ± 10 mmHg en los AT y 79 ± 10 mmHg en los TT. La presión arterial sistólica siguió la misma tendencia. Esta asociación con la PAD se observó de manera independiente tanto en hombres ($p = 0,014$) como en mujeres ($p = 0,028$). La asociación permaneció estadísticamente significativa tras ajustar por consumo de fármacos, diabetes, obesidad y otras variables de confusión.

Conclusiones: El polimorfismo rs1279386 se asocia significativamente con la PAD en población mediterránea de alto riesgo cardiovascular.

Palabras clave: Presión arterial. Genética.

P-097. LA MUTACIÓN DELTA L149 EN EL GEN DE APOE SE ASOCIA CON HIPERCOLESTEROLEMIA AUTOSÓMICA DOMINANTE

A. Cenarro Lagunas¹, A.M. Bea Sanz¹, I. de Castro Orós², R. Mateo Gallego¹, E. Jarauta Simón¹ y F. Civeira Murillo¹

¹Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ²Universidad de Zaragoza.

Introducción: La hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD) es un defecto familiar del metabolismo lipoproteico que se asocia con concentraciones elevadas de colesterol-LDL, causa enfermedad coronaria prematura y tiene un patrón de herencia autosómico dominante. Las mutaciones en los genes del receptor de LDL (LDLR), de la apolipoproteína B (APOB) y de la proteasa NARC-1 (PCSK9) son las causas más frecuentes de HAD. Sin embargo, el diagnóstico molecular de los pacientes con diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar no detecta una mutación funcional en estos 3 genes en el 15% de los sujetos, lo que sugiere que las causas genéticas de la HAD son heterogéneas y no limitadas a estos 3 genes principales. Nuestro grupo de investigación ha demostrado recientemente que el gen de APOE es responsable de algunos casos de hiperlipemia mixta con diagnóstico clínico de hiperlipemia familiar combinada (HFC). Al estudiar las familias de los sujetos con HFC portadores de la mutación Delta L149 en el gen de APOE, se observó que algunos de los miembros familiares portadores de la mutación presentaban un fenotipo IIa según la clasificación de Fredrickson. Por tanto, planteamos este trabajo con la hipótesis de que la mutación Delta L149 en el gen de APOE podría estar involucrada en la etiología de las HAD no dependientes del LDLR, APOB, ni PCSK9.

Objetivo: Identificar la presencia de mutaciones en el gen de APOE asociadas con HAD y establecer su frecuencia en sujetos con diagnóstico clínico de HAD no dependiente del LDLR, APOB, ni PCSK9.

Metodología: Se seleccionaron 288 sujetos no relacionados con HAD no dependiente del LDLR, APOB, ni PCSK9, y 220 sujetos no relacionados normolipémicos (grupo control). Se realizaron determinaciones clínicas y analíticas en todos ellos. Se obtuvo DNA de cada sujeto y se secuenció el gen de APOE (4 exones y secuencias flanqueantes).

Resultados: Además de los genotipos de APOE comunes, se identificó una variante funcional rara en el gen de APOE, Delta L149. En el grupo con HAD, 7 sujetos (2,43%) fueron portadores de la mutación Delta L149 en el gen de APOE. No se identificó ninguna mutación rara en el gen de APOE en el grupo control.

Conclusiones: La mutación Delta L149 en el gen de APOE se asocia con la hipercolesterolemia autosómica dominante no dependiente del LDLR, APOB, ni PCSK9.

Palabras clave: APOE. Mutación. Hipercolesterolemia.

P-100. NECESIDAD DEL DIAGNÓSTICO EN CASCADA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR HETEROCIGOTA

N. Plana, D. Ibarretxe, C. Buixadera, J. Merino y L. Masana

Unitat de Medicina Vascular i Metabolisme. Hospital Universitari Sant Joan. Universitat Rovira i Virgili. URLA. IISPV. CIBERDEM. Reus. Tarragona.

Introducción: El diagnóstico precoz de la Hipercolesterolemia Familiar Heterocigota (HF) es fundamental ya que implica un abordaje terapéutico distinto. Existe un porcentaje de pacientes con diagnóstico de HF según los criterios MedPed, cuyo estudio genético resulta negativo.

Objetivo: Determinar el porcentaje de estudios genéticos positivos en pacientes índice afectos de HF, en función de la clasificación del MedPed; así como evaluar las mutaciones más prevalentes en estos pacientes. Además, estudiar qué porcentaje de familiares presentaron mutación positiva tras estudio en cascada.

Metodología: Es un estudio transversal de pacientes diagnosticados de HFH, en una Unidad de Medicina Vascular y Metabolismo. Se efectuó

tuó estudio genético mediante Lipochip a todos los pacientes índices que presentaban puntuaciones MedPed de 6 o más puntos. A todos los pacientes índices con mutación positiva, se les propuso realizar el estudio en cascada a los familiares de primer y segundo grado.

Resultados: Un total de 312 pacientes fueron sometidos al estudio genético, de los cuales un 60% (n = 185) correspondían a pacientes índices y un 40% (n = 125) a familiares. Del total de índices, 84 (45,4%) presentaron mutación positiva, mientras que 101 (54,6%) tuvieron mutación negativa. Los índices con mutación positiva (n = 84), obtuvieron una media de MedPed de $11 \pm 4,1$, mientras que los índices con mutación negativa (n = 101) presentaban MedPed de $8,8 \pm 3,2$, ($p < 0,001$). De los 84 pacientes índices con mutación positiva, el 69% (n = 58) tenían MedPed > 8 puntos, mientras que de los 101 con mutación negativa, 59,4% (n = 60) presentaban MedPed < 0,001). De los 125 familiares sometidos a estudio genético un 78,4% (n = 98) presentaron resultado positivo, mientras que el 21,6% (n = 27) fue negativo. Las mutaciones más prevalentes en nuestra población índice son las de clase A (50%, n = 42), donde destacan la M079, M015 y la M106 y las de clase B (40,5%, n = 34) con combinación de 2 mutaciones, M067+M090 y M025+M080.

Conclusiones: En los pacientes con HF se observa una fuerte asociación entre una puntuación de MedPed > 8 puntos con el diagnóstico genético de la enfermedad. De todos los casos investigados, el diagnóstico en cascada permite detectar 3 de cada 4 casos nuevos de HF.

Palabras clave: HF. Mutación. MedPed.

P-103. LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA APOLIPOPROTEÍNA A5 EN EL INTESTINO DELGADO HUMANO ESTÁ REGULADA EPIGENÉTICAMENTE

M. Guardiola¹, A. Guillaumet², R. Rosales¹, J.C. Vallvé¹, M. Esteller², D. Monk² y J. Ribalta¹

¹Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi. Universitat Rovira i Virgili. IISPV. CIBERDEM. Tarragona. ²Imprinting and Cancer Group. Epigenetics and Cancer Biology Program (PEBC). Bellvitge Institute for Biomedical Research (IDIBELL). Barcelona.

Introducción: El gen de la apolipoproteína A5 (APOA5) es uno de los principales determinantes de los niveles de triglicéridos circulantes. Se expresa principalmente en el hígado, donde se postula que puede participar en el proceso de ensamblaje de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Recientemente hemos descrito que APOA5 también se expresa en el intestino. La expresión de APOA5 en el intestino es significativamente menor que en el hígado y puede modularse con ácidos grasos y fibratos. Hipotetizamos que la expresión de APOA5 en intestino está reprimida mediante mecanismos epigenéticos.

Objetivo: Determinar si la expresión diferencial de APOA5 en hígado e intestino está regulada por un diferente grado de metilación de las citosinas en las regiones ricas en CG de su secuencia génica.

Metodología: Disponíamos de una biopsia de hígado y de intestino delgado obtenidos de un mismo sujeto que se sometió a una cirugía bariátrica y extrajimos el DNA de cada muestra. Los resultados obtenidos en este individuo se pudieron contrastar con los de DNA de tejidos adultos (linfocitos, páncreas, intestino e hígado), y los resultados de un array de metilación (Infinium Human Methylation 450k de Illumina) llevado a cabo en diferentes muestras (hígado, leucocitos, cerebro, riñón, páncreas, músculo y esperma) de 11 sujetos. Modificamos el DNA mediante conversión con sodio bisulfito. Estudiamos tres regiones del gen APOA5: la región promotora por su importante papel en la regulación de la transcripción; una región del exón 1 rica en CG y que tiene una elevada probabilidad de estar implicada en la metilación de las histonas; y una región del exón 3 cerca de donde se encuentra una variante funcional para APOA5 y que es rica en CG y que también tiene una elevada probabilidad de estar metilada. Com-

paramos el contenido en C metiladas en el DNA del hígado y en el del intestino, mediante amplificación y posterior secuenciación.

Resultados: Todas las muestras de hígado analizadas presentaban las 3 regiones estudiadas hipometiladas. Las muestras de intestino presentaban la región en el exón 1 hipometilada, pero tanto la región promotora como la región del exón 3 estaban hipermetiladas. Los resultados del array de metilación también muestran que las diferentes sondas correspondientes al gen APOA5 están hipometiladas en las muestras de hígado, en relación a otros tejidos donde la APOA5 no se expresa (leucocitos, cerebro, riñón, páncreas, músculo y esperma).

Conclusiones: La baja expresión de APOA5 en intestino es posiblemente debida a la hipermetilación de las citosinas en las regiones del DNA ricas en CG del promotor y del exón 3.

Palabras clave: Metilación. APOA5. Intestino.

PO-49. ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN ENTRE MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRO GENÉTICO EN POBLACIÓN ESPAÑOLA Y FENOTIPOS DE RIESGO CARDIOVASCULAR

E.M. Asensio¹, J.V. Sorlí¹, C. Ortega-Azorín¹, O. Oscar², D. Godoy³, J.M. Ordovás⁴ y D. Corella¹

¹Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina y CiberObn. Universidad de Valencia. ²Departamento de Lenguajes y Sistemas Informáticos. Universitat Jaume I. Castellón. ³Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario de Valencia. ⁴Nutrition and Genomics Laboratory. Human Nutrition Research Center. Boston. EE.UU.

Introducción: El ancestro genético puede condicionar el riesgo de enfermedad cardiovascular. Para la medida del ancestro se han propuesto los “ancestry informative markers” (AIMs). En población española aunque se sabe que 1/3 tiene un importante ancestro norte-africano o judío-sefardita, no existen estudios que hayan analizado la relación entre AIMs y riesgo cardiovascular.

Objetivo: Estudiar la asociación entre marcadores de ancestro genético seleccionados y fenotipos intermedios de riesgo cardiovascular.

Metodología: Se analizaron 10 marcadores de ancestro genético elegidos por su relevancia en población española. 7 de ellos se seleccionaron del estudio de Pino-Yanes et al (PloS ONE, 2011) incluyendo 93 EuroAIMs. Estos 7 AIMs fueron: rs2419063, intrónico en gen FAM5C (cromosoma 1); rs11807062, intrónico en gen PRDM16 (cromosoma 1); rs16891982 gen SLC45A2, con cambio de aminoácido (cromosoma 5); rs822759, intergénico (cromosoma 3); rs2014303, intrónico en gen CLNK (cromosoma 4); rs10509954, intergénico (cromosoma 10) y rs2116830, intrónico en gen KCNMA1 (cromosoma 10). Adicionalmente se seleccionaron otros 3 AIMs: rs6086473, intrónico en gen PLCB1 (cromosoma 20); rs293553, intergénico (cromosoma 20) y rs17638989, intrónico en gen ZNF564 (cromosoma 19). Se genotiparon los 10 AIMs en 1064 personas de alto riesgo cardiovascular del estudio PREDIMED-Valencia. Se aplicaron análisis de componentes principales (ACP) para el estudio conjunto de los AIMs y se realizaron estudios de asociación con fenotipos cardiovasculares.

Resultados: El 62% de los participantes era originario de la Comunidad Valenciana, seguido de Castilla la Mancha (14%), Andalucía (11%), Extremadura (3%), Aragón (3%), Castilla León (2%) y, en menor frecuencia, de otras localizaciones. Las frecuencias alélicas globales de los alelos menores fueron: 0,30; 0,34; 0,45; 0,09; 0,16; 0,13; 0,32; 0,21; 0,09 y 0,22 para rs6086473; rs293553; rs17638989; rs2419063; rs11807062; rs16891982; rs822759; rs2014303; rs10509954 y rs2116830, respectivamente. Las mayores diferencias geográficas se detectaron para el rs16891982 y rs10509954. El ACP de los 10 AIMs redujo la dimensión a 4 variables latentes. Cada una de estas variables latentes se correlacionó significativamente con distintos fenotipos cardiovasculares. En el análisis individual de los AIMs, destacamos la asociación significativa entre el rs16891982 (en gen SLC45A2 impli-

cado en el transporte de proteínas en los melanosomas, resultando en un cambio de aminoácido: L374F, relacionado con el color del pelo) con las concentraciones de triglicéridos ($p < 0,05$) y de c-HDL ($p < 0,05$). El alelo menor del rs822759 se asoció significativamente con mayores concentraciones de colesterol total ($p = 0,005$), c-LDL ($p = 0,023$), presión arterial diastólica ($p = 0,02$) y frecuencia cardiaca ($p = 0,036$).

Conclusiones: Se describe por primera vez una asociación entre marcadores de ancestro genético y concentraciones plasmáticas de lípidos y otros fenotipos de riesgo cardiovascular en población española.

Palabras clave: Ancestro genético. Riesgo cardiovascular.

PO-54. IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES CAUSALES DE HIPERTRIGLICERIDEMIA EN LOS GENES LMF1 Y APOA5

I. de Castro-Orós¹, R. Mateo-Gallego², F. Civeira² y M. Pocoví¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de La Salud. Recava. Instituto Carlos III. Zaragoza. ²Unidad de Lípidos y Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Zaragoza.

Introducción: La hipertrigliceridemia (HTG) grave se caracteriza por niveles de triglicéridos elevados y puede producir pancreatitis recurrentes, xantomas eruptivos y lipaemia retinalis. Recientemente se han identificado mutaciones en el gen LMF1 que codifica para la proteína Lmf1 (Lipase Maturing Factor 1) que juega un papel esencial en la modificación de la Lipoproteína Lipasa (LpL) a una enzima catalíticamente activa. Además, mutaciones en APOA5, gen que codifica para la apo A-V, un modulador de la función de la LpL, también se asocian con HTG.

Objetivo: Identificar variantes en los genes APOA5 y LMF1 causales de hipertrigliceridemia.

Metodología: Seleccionamos 80 sujetos del Hospital Universitario Miguel Servet con TG > 500 mg/dl diagnosticados clínicamente como hipertrigliceridémicos o afectos de hiperlipemia familiar combinada (HFC) y un grupo control de 50 normolipémicos. En ambas poblaciones secuenciamos los exones y los nexos de unión exón-intrón, así como la región promotora de los genes APOE, APOA5 y LMF1.

Resultados: 35 sujetos de los 80 seleccionados presentaron una concentración de triglicéridos (TG) > 800 mg/dl, mostrando HTG grave. Mediante el análisis de APOA5, identificamos un individuo (genotipo E3/4 de ApoE, CT: 466 mg/dl, TG: 4.453 mg/dl y ApoB: 131 mg/dl) heterocigoto para una mutación nueva c.462delC (p.Arg143AlafsX57) que provoca un codón de parada y heterocigoto para otra variante común asociada con HTG, p.Ser19Trp. El polimorfismo rs3135506 de APOA5 se identificó en 30 (37,5%) casos en heterocigosidad, y en 5 (6,25%) casos en homocigosidad en cambio solo en 3 (6%) individuos normolipémicos. Además, identificamos dos sujetos heterocigotos para la mutación p.Leu253Pro anteriormente descrita como causal de HTG. La secuenciación de LMF1 mostró dos sujetos heterocigotos para 2 variantes nuevas: p.Val140Ile y p.Leu235Ile. Por otra parte identificamos 2 sujetos con la variante, previamente descrita, p.Arg354Trp en heterocigosidad. Las variantes identificadas como nuevas en este estudio no fueron encontradas en el grupo de individuos normolipémicos. En los casos analizados de HTG, un sujeto (CT: 167 mg/dl, TG: 711 mg/dl y ApoB: 103 mg/dl) resultó portador de la mutación p.Leu149del en APOE, pero no encontramos ningún individuo con genotipo E2/E2 ni otras mutaciones causales de HTG.

Conclusiones: Las mutaciones de APOA5 en heterocigosidad: p.Arg143AlafsX57 y p.Leu253Pro se asocian con HTG grave y las variantes encontradas en heterocigosidad en LMF1: p.Val140Ile, p.Leu235Ile y p.Arg354Trp se asocian con hipertrigliceridemias leves.

Palabras clave: Hipertrigliceridemia. APOA5. LMF1.