

CONCORDANCIA POSICIONAL DE QTL RELACIONADOS CON EL METABOLISMO DEL COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS EN HUMANO Y PORCINO

Gallardo, D.^{1§}, Pena, R.^{2§}, Amills, M.¹, Varona, L.², Ramírez, O.¹, Díaz, I.³, Prat-Cuffi, J.M.⁴, Reixach, J.⁵, Noguera, J.L.², Quintanilla, R.²

¹Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. ²Genètica i Millora Animal, IRTA-Lleida, 25198 Lleida, ³Tecnologia dels Aliments, IRTA-Monells, 17121 Monells. ⁴Laboratori d'Anàlisis Clíniques, Hospital de Palamós, Palamós, ⁵Selección Batallé S.A., 17421 Riudarenes.

E-mail: Marcel.Amills@uab.es

§David Gallardo y Romi Pena han contribuido de forma equivalente a la realización de este trabajo.

INTRODUCCIÓN

En porcino se ha descrito la existencia de hipercolesterolemia familiar, una enfermedad caracterizada por una reducción en los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y un aumento concomitante de los niveles de colesterol (CT) plasmáticos (Hasler-Rapacz *et al.* 1995). Los individuos afectados desarrollan lesiones ateroscleróticas muy similares a las descritas en humano, lo cual sugiere la existencia de una patogenia común (Hasler-Rapacz *et al.* 1995). Desafortunadamente, se conoce muy poco sobre la arquitectura genética de los caracteres vinculados al metabolismo del colesterol en porcino. En 1998, Hasler-Rapacz y colaboradores realizaron un experimento de barrido genómico con la finalidad de identificar el locus responsable de la hipercolesterolemia familiar en porcino. Los resultados obtenidos permitieron determinar que una mutación no-sinónima en el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) es la responsable de la aparición de esta enfermedad, aunque en dicho estudio no se proporcionó información sobre la identidad de otros loci con efectos sobre los niveles plasmáticos de CT, HDL y LDL. Asimismo, Malek *et al.* (2001) identificaron un QTL en el cromosoma 18 con efectos significativos (a nivel cromosómico) sobre el contenido de colesterol muscular.

En humano y en ratón se ha detectado la existencia de una notable concordancia posicional de QTL relacionados con el metabolismo de triglicéridos (TG), CT, HDL y LDL (Wang y Paigen 2005). Dicha concordancia oscila entre el 80% y 100% para los QTL de TG y LDL, respectivamente (Wang y Paigen 2005). Ello sugiere que en estas dos especies de mamíferos, que divergieron hace más de 65-110 MYR, los polimorfismos responsables de la variación de estos caracteres se hallan localizados en los mismos loci. En el presente trabajo se aborda el estudio comparativo posicional de QTL relacionados con el metabolismo de CT, TG y lipoproteínas en porcino, humano y ratón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal y registros fenotípicos

El material animal está constituido por una población comercial Duroc formada por 5 machos parentales y 368 descendientes distribuidos, por tanto, en 5 familias de medio hermanos paternos. Las concentraciones plasmáticas de CT y TG se midieron a los 45 d y 190 d mediante un equipo Technicon Chem I (Technicon Instruments, Tarrytown, NY), mientras que la concentración de HDL se determinó mediante la precipitación selectiva de lipoproteínas apoB. El contenido de LDL se calculó mediante la ecuación de Friedwald *et al.* (1972).

Realización de un barrido genómico

Se genotiparon 110 microsatélites, con una distribución uniforme en el genoma, en los 368 individuos G₁ y los 5 machos parentales. El DNA genómico se extrajo mediante la técnica descrita por Vidal *et al.* (2005). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo indistintamente en un aparato 877 Integrated Thermal Cycler 877 (Applied Biosystems) o

bien en un aparato de PCR Perkin Elmer 9700 Thermal Cycler (Applied Biosystems). Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis capilar en un aparato ABI Prism 3730 (Applied Biosystems), empleando para ello el software Gene Mapper (Applied Biosystems).

Análisis estadísticos

Tras analizar la distribución de los datos, se tomó la transformación logarítmica de todos los fenotipos analizados (CT, HDL, LDL y TG) para asegurar la normalidad de los datos en todos los casos. Los análisis de QTL se realizaron dentro de cada una de las cinco familias de hermanos paternos, mediante la aproximación descrita por Knott *et al.* (1996) para el análisis de familias de medio hermanos. El modelo común de análisis en todos los casos fue:

$$y_{ijk} = \mu + \text{granja}_i + \text{lote}_j + \beta \text{cov}_{ijk} + \alpha p_{ij} + e_{ijk}$$

donde y_{ijk} es el fenotipo analizado (en nuestro caso el logaritmo de las concentraciones plasmáticas de CT, HDL, LDL y TG, a 45 y a 190 días de edad); granja_i y lote_j son los efectos fijos granja de origen y lote (la granja sólo se consideró para las medidas plasmáticas a 45 d); cov_{ijk} es una covariable (edad para las medidas de HDL y LDL a 45 d y TG, y peso al sacrificio para las medidas CT, HDL y LDL a 190 d); p_{ij} es la probabilidad de que un individuo haya heredado uno de los alelos del padre común, calculada mediante la aproximación descrita en Knott *et al.* (1996); α es el coeficiente de regresión de los fenotipos sobre la probabilidad de haber recibido uno de los alelos del padre común.

La mayor parte de los análisis se llevaron a cabo utilizando el software *QTL express* (Seaton *et al.*, 2002), disponible en <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>. Para evaluar la presencia del QTL se contrastó el modelo de análisis con un modelo sin QTL mediante un test de F. Los umbrales de significación de la F a nivel cromosómico se obtuvieron mediante permutación de los datos (Churchill and Doerge, 1994), y a nivel genómico realizando una corrección de Bonferroni considerando un análisis independiente por cada 30 cM aproximadamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han identificado 33 QTL significativos a nivel cromosómico para los caracteres LDL45 (SSC1 y SSC13), LDL190 (SSC3, SSC6 y SSC12), HDL45 (SSC4, SSC7, SSC9, SSC13 y SSC14), HDL190 (SSC1, SSC9, SSC13 y SSC16), CT45 (SSC1, SSC3, SSC4, SSC7 y SSC8), CT190 (SSC3, SSC9 y SSC14), TG45 (SSC6, SSC9, SSC12 y SSC13) y TG190 (SSC4, SSC10, SSC13).

Los cuatro QTL de mayor significación se indican en la Tabla 1, donde se observa que tres de ellos alcanzaron los umbrales de significación genómica, e incluso el QTL para TG190 en SSC 4 fue significativo al 99% a nivel genómico. La posición de estos QTL coincide con la de otros descritos para caracteres de engrasamiento. Por ejemplo, la posición del QTL para LDL a 45 d (LDL45) coincide con la de un QTL para espesor del tocino dorsal en la décima costilla (Malek *et al.* 2001), mientras que el de TG a 190 d (TG190) en SSC4 se sitúa fuera del intervalo de confianza del QTL Fat1 y sin embargo coincide con la posición de un QTL para espesor del tocino dorsal descrito por Cepica *et al.* (2003). De manera similar, el QTL de TG a 45 d (TG45) está localizado en una región de SSC6 en la que se ha descrito un gran número de QTL relacionados con el engrasamiento (Pig QTL Database), mientras que el QTL de CT190 está localizado en una región en la que se han descrito QTL relacionados con la composición de ácidos grasos (Nii *et al.* 2006). En nuestra población, no hemos detectado el QTL relacionado con la hipercolesterolemia familiar porcina en SSC2 (Hasler-Rapacz *et al.* 1998), ni el QTL para contenido muscular de colesterol descrito por Malek *et al.* (2001).

Se ha analizado la correspondencia posicional en cuanto a la localización de QTL para CT, TG, HDL y LDL en porcino, humano y ratón. Previamente, Wang y Paigen compararon la posición de QTL para estos caracteres en humano y ratón y describieron la existencia de una estrecha concordancia posicional, lo cual parece sugerir que la variación fenotípica de estos caracteres está influida por el polimorfismo de un conjunto común de genes. En este sentido, la comparación con el porcino resulta de gran interés ya que dicha especie pertenece a un superorden distinto (Laurasiatheria) que divergió del superorden

Euarchontoglires, al cual pertenecen la especie humana y el ratón, hace aproximadamente 85-95 MYR. En la Tabla 1 se muestran las correspondencias para los QTL más significativos. Por ejemplo, la posición del QTL TG190 en SSC4 (28 cM) coincide con una región para la cual se han descrito QTL para HDL y TG en humano y en ratón (Wang y Paigen 2005). El QTL TG45 de SSC6 también comparte una localización cromosómica similar con regiones del genoma humano y murino en las que se ha descrito la existencia de QTL para TG y LDL. Debe notarse, sin embargo, que resultará imprescindible refinar la posición de estos QTL porcinos para verificar de forma precisa las correspondencias cromosómicas descritas y que, por lo tanto, los resultados aportados son una primera evidencia en este sentido.

Tabla 1. Quantitative trait loci para caracteres vinculados al metabolismo del colesterol, triglicéridos y lipoproteínas (se indica la concordancia con otros QTL identificados en humano)

Carácter	Cromosoma	Posición	F ¹	LR	Posición ortóloga humano	QTL humano ²
LDL45	SSC1	38 cM	12,03	10,91	6q23-24	LDL
TG190	SSC4	28 cM	15,31	13,86	8q23-24	HDL, TG
TG45	SSC6	73 cM	11,43	9,71	19q12-13	TG, LDL2
CT190	SSC9	109 cM	12,34	10,32	1q23-25	HDL2

¹ Los umbrales de significación a nivel genómico fueron de 11.782 y 14.95 al 95% y 99% de confianza respectivamente.

² QTL descritos en Wang y Paigen (2005)

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado mediante la concesión del proyecto *Arquitectura genética de los componentes lipídicos de la carne porcina relacionados con la calidad y la salud humana* (AGL2002-04271-C03). Agradecemos a Selección Batallé su inestimable contribución al proyecto mediante la generación del material animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cepica *et al.* 2003. J. Anim. Breed. Genet. 120: 28-37
- Churchill y Doerge. 1994. Genetics 138: 963-971
- Friedwald *et al.* 1972. Clin. Chem. 18:499-508
- Hasler-Rapacz *et al.* 1995. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 15: 583-592
- Hasler-Rapacz *et al.* 1998. Am. J. Med. Genet. 76: 379-386
- Knott *et al.* 1996. Theor. Appl. Genet. 93: 7180
- Malek *et al.* 2001. Mamm. Genome 12: 637-645
- Seaton *et al.* 2002. Bioinformatics 18: 339-340
- Vidal *et al.* 2005. J. Anim. Sci. 83: 293-300
- Wang y Paigen. 2005. Curr. Opin. Lipidol. 16: 127-137.