

---

## TRABAJO ORIGINAL

---

# Receptor de estrógenos: variantes genéticas del ESR1 y parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular

## Estrogen Receptor: Polymorphisms of ESR1 and Biochemical Markers of Cardiovascular Risk

Rauschemberger MB<sup>1,2</sup>, Polini NN<sup>1</sup>, Sola MO<sup>3</sup>, Bonacorsi SM<sup>3</sup>, Massheimer VL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, B8000ICN, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET. <sup>3</sup>Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Interzonal Dr. José Penna, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

---

### RESUMEN

El estudio de la asociación entre marcadores genéticos y signos clínicos y/o bioquímicos de determinadas patologías, se ha propuesto para evaluar la posible utilidad clínica de emplear las determinaciones genéticas como predictores de riesgo. La enfermedad cardiovascular es una de las principales causas de muerte en mujeres posmenopáusicas en el mundo occidental, hecho atribuido al descenso de los niveles de estrógenos circulantes. El objetivo de este trabajo fue investigar la existencia de asociaciones entre los polimorfismos del gen del receptor de estrógenos ESR1 (PvuII y XbaI) y los marcadores bioquímicos de riesgo cardiovascular en una población local de mujeres sanas fértiles y posmenopáusicas. Se clasificó a ambas poblaciones en subgrupos según el marcador genético 1(P/p), 2(p/p), 3(P/P), A(X/x), B(x/x), C(X/X), donde P/X indica ausencia de corte y p/x indica presencia de corte para PvuII y XbaI respectivamente. En una muestra de sangre periférica, se determinaron parámetros bioquímicos de perfil lipídico, hemostasia e inflamación y se compararon fértiles vs. posmenopáusicas agrupadas según el genotipo. Las mujeres posmenopáusicas con genotipo A presentaron un aumento significativo en los niveles de colesterol total; C-LDL y triglicéridos respecto a las fértiles. En el subgrupo 1 se detectaron cambios solo en CT y C-LDL. En el haplotipo 1A de posmenopáusicas solo se evidenció aumento en colesterol total. Los parámetros de la hemostasia y de inflamación no mostraron cambios significativos entre fértiles y posmenopáusicas en función del marcador genético presente. Los resultados sugieren que, el genotipo A identifica a la población de mujeres posmenopáusicas con un perfil lipídico más desfavorable respecto a las fértiles del mismo subtipo. **Rev Argent Endocrinol Metab 49:53-61, 2012**

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

**Palabras clave:** polimorfismos, menopausia, enfermedad cardiovascular, perfil lipídico, receptor estrógenos

### ABSTRACT

In the last few years, the study of the association between genetic markers and clinical or biochemical signs of certain diseases, has been proposed to assess whether genetic determinations would be useful as risk predictors. Cardiovascular disease is a major cause of death in postmenopausal women in the Western world, fact attributed to the decline in circulating estrogen levels. The aim of the present study was to investigate the existence of associations between polymorphisms of the estrogen receptor ESR1 (PvuII and XbaI) and biochemical markers of cardiovascular risk, in a local population healthy childbearing potential and postmenopausal women. Both populations were classified into subgroups according to the presence of specific genetic markers as follows: 1 (P / p), 2 (p / p), 3 (P / P), A (X / x), B (x / x), C (X / X), where P / X = no cut site, and p / x = presence of cut site to restriction enzymes PvuII and XbaI respectively. In a peripheral blood sample biochemical markers of lipid profile, hemostasis and inflammation were determined, and comparisons were performed between fertile and postmenopausal women, grouped according to each genotype. Postmenopausal women with genotype A showed a significant increase in total cholesterol, LDL-C and triglycerides

Recibido: 17-01-2012      Aceptado: 05-03-2012

**Correspondencia:** Virginia Massheimer, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, B8000ICN Bahía Blanca, Pcia. de Buenos Aires, República Argentina, Tel: 0291-4595101 Int. 2417 - e-mail: massheim@uns.edu.ar

when compared women of childbearing potential with genotype A. In the subgroup 1, statistical changes in CT, C-LDL were detected. When haplotype analysis was performed, only one biochemical marker exhibited changes. In postmenopausal women positive to 1A haplotype, total cholesterol was slightly increased as compared to 1A haplotype women of childbearing potential. Hemostasis and inflammation markers did not show significant changes between women of childbearing potential and postmenopausal women grouped according to the polymorphism present. The results suggest that genotype A identifies the population of postmenopausal women population with a less favourable lipid profile compared to women of childbearing potential subtype. **Rev Argent Endocrinol Metab 49:53-61, 2012**

No financial conflicts of interest exist.

**Key words:** polymorphisms, menopause, vascular disease, estrogen receptor, lipid profile

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular es una de las principales causas de muerte en mujeres posmenopáusicas del mundo occidental, hecho atribuido al descenso de los niveles de estrógenos circulantes (1). Es una enfermedad inflamatoria que se asocia con alteraciones del perfil lipídico, del metabolismo de hidratos de carbono, de la hemostasia, y la presencia en circulación de marcadores de inflamación vascular<sup>(2-4)</sup>.

En las mujeres posmenopáusicas, los niveles de colesterol total y el colesterol transportado por la lipoproteína de baja densidad (C-LDL) están aumentados comparado con los hallados en las mujeres premenopáusicas. En cambio el transportado por la lipoproteína de alta densidad (C-HDL) tiende a mantener su nivel circulante o disminuir levemente<sup>(5,6)</sup>. En relación a los triglicéridos se han observado aumentos de alrededor del 16 %, lo que podría estar vinculado con el incremento en los depósitos de grasa abdominal y la resistencia a la insulina<sup>(7)</sup>.

El proceso de la hemostasia abarca la coagulación y fibrinólisis de la sangre, ambas etapas se alteran en la menopausia. La trombina es la principal enzima que se genera al final de la coagulación, activa a los factores XI, XIII, plaquetas y a los cofactores V y VIII transformando el fibrinógeno en fibrina. Durante la menopausia, las mujeres tratadas con terapia hormonal de reemplazo (THR) combinada, experimentan una disminución en el tiempo de protrombina (TP), aumento del Factor VII, sin cambios en el tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y tiempo de trombina (TT). El fibrinógeno es una proteína clave del sistema de la coagulación. Interviene en la hemostasia primaria a través de su unión a la glicoproteína IIb/IIIa plaquetaria y en la fase final de la coagulación sanguínea en la

que se transforma en fibrina soluble. Los estudios sobre el fibrinógeno han tenido un creciente interés, por considerarse que los niveles elevados se asocian con riesgo cardiovascular, aumento de la incidencia de cardiopatías isquémicas y de accidentes cerebrovasculares<sup>(8)</sup>.

La proteína C reactiva es un marcador validado de inflamación endotelial y ha sido propuesto como un factor injurante perteneciente al gran número de proteínas de fase aguda. El estudio Women Health Study, demostró que en mujeres, la PCR es mejor predictor de enfermedad cardiovascular que el colesterol de LDL<sup>(9,10)</sup>.

Debido al rol central que se atribuye al hipotesrogenismo en la aparición de disfunciones posmenopáusicas, en la actualidad se propone la posible existencia de asociaciones entre las variantes moleculares de los receptores de estrógenos (RE) y los trastornos posmenopáusicos. Existen dos variantes del receptor de estrógenos, las formas moleculares a y b (ERa y ERb). El ERa es codificado por el gen ESR1 localizado en el cromosoma 6q25 y compuesto por 8 exones y 7 intrones con un tamaño total de 140 kilobases. El ERa se expresa en numerosas células del organismo, y en particular en el sistema vascular en células endoteliales, células musculares lisas y cardiomiocitos<sup>(11)</sup>. En las últimas décadas, numerosos polimorfismos del gen ESR1 se han relacionado con riesgo de contraer patologías prevalentes en la menopausia como mamarias, óseas y cardiovasculares<sup>(12-16)</sup>. La mayoría de las variantes polimórficas descritas se localizan en el intrón 1, siendo los más estudiados los polimorfismos de restricción PvuII y XbaI. Corresponden a variantes de nucleótido simple ubicadas en la región cercana al inicio del exón 2. El estudio de asociaciones entre marcadores genéticos y clínicos es un área de incipiente progreso en la comunidad científica internacional. A nivel nacional y local la información sobre la relación

entre variantes genéticas del receptor de esteroides sexuales y enfermedad cardiovascular es escasa.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado una línea de investigación que demostró que a nivel vascular la activación del receptor de estrógenos (RE) por  $E_2$  y  $E_1$  participa en la regulación de procesos celulares y moleculares vinculados a la homeostasis vascular, específicamente modulando la producción de compuestos vasoactivos, el crecimiento, proliferación y apoptosis celular, la migración y la adhesión de monocitos y plaquetas a la superficie vascular<sup>(17-20)</sup>.

El objetivo de este trabajo fue investigar, en una población local de mujeres sanas fértiles y posmenopáusicas, la existencia de asociaciones entre los polimorfismos del gen ESR1 (PvuII y XbaI) y los marcadores bioquímicos de enfermedad cardiovascular.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población

La población estuvo formada por 70 mujeres sin antecedentes previos de enfermedad (39 fértiles y 31 posmenopáusicas), las cuales asistieron al Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Interzonal Dr. José Penna de la ciudad de Bahía Blanca. El estudio fue aprobado por los Comité de Ética y Docencia Investigación Clínica de la mencionada entidad hospitalaria. Cada participante recibió información oral y escrita en relación al proyecto, comprendió el motivo de su participación, completó una encuesta y firmó el consentimiento informado.

### Criterios de inclusión

**Fértiles:** Mujeres con ciclos menstruales regulares y edad promedio comprendida entre 21 y 45 años.

**Posmenopáusicas:** Mujeres que han dejado de menstruar por causas naturales y por un período mayor o igual a 1 año. Edad promedio mayor o igual a 48 años ( $FSH > 40$  mUI/mL,  $E_2 < 20$  pg/mL).

### Criterios de exclusión

#### Embarazo

Menopausia precoz (mujeres menores de 40 años, con amenorrea de 3 a 6 meses con valores plasmáticos de  $FSH > 40$  mUI/L)

Infarto de miocardio reciente

Relación de cosanguineidad entre participantes  
Diagnóstico y/o tratamiento médico para enfermedades crónicas.

### Toma de muestra

Todas las mujeres concurren a la entrevista con un ayuno no inferior a las 12 horas. En el caso de mujeres fértiles se registró la fecha de la última menstruación y la muestra se extrajo dentro de los primeros cinco días del ciclo.

Se procedió a extraer las muestras de sangre entera de la vena antecubital. El espécimen de sangre se dividió en tres alícuotas: a) la primera en tubos secos con bolillas aceleradoras de la coagulación, destinada a las determinaciones hormonales (Estradiol, FSH); colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos y PCR ultrasensible; b) la segunda en tubos estériles con EDTA como anticoagulante fue destinada a los estudios genéticos; c) la tercera en tubos con citrato de sodio como anticoagulante destinada a las determinaciones de los parámetros de la hemostasia (TP, APTT, TT y Fibrinógeno).

### Determinaciones bioquímicas

**Estradiol y FSH:** se determinaron empleando inmunoensayos (Siemens)

**Colesterol total (CT), HDL- Colesterol (CT-HDL), LDL- Colesterol (CT-LDL):** se utilizaron equipos comerciales diagnósticos Wiener ILb Group.

**Triglicéridos (TG):** se utilizó equipo comercial diagnóstico Biosystem.

**Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT);**

**Tiempo de Trombina (TT):** se midieron por métodos coagulométricos empleando equipos comerciales diagnósticos de Roche Lab. Las mediciones se realizaron en un coagulómetro semiautomático STA 2 de Stago (Francia).

**Fibrinógeno plasmático funcional:** Se emplearon equipos comerciales Fibri Prest® de Diagnóstica Stago.

**Proteína C reactiva ultrasensible (PCRu):** Método inmunoturbidimétrico con partículas de latex recubiertas con anticuerpos anti-PCR, utilizando equipo comercial diagnóstico de Wiener Lab Group.

**Obtención de ADN:** Se hemolizaron los eritrocitos empleando Buffer de lisis de glóbulos rojos y se lavaron los leucocitos (Tris/ HCl pH 7,6 10 mM ,

Sacarosa 0,32M, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, Tritón X-100 1 %). Se digirió el pellet con proteinasa K (Tris/HCl pH 8 10 mM, EDTA 10 mM, NaCl 100 mM, proteinasa K 1 mg/mL). Posteriormente, se procedió a realizar extracción con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico y precipitación con etanol.

**Cuantificación del ADN:** se realizó por espectrofotometría obteniendo la relación de las absorbancias 260:280 y por electroforesis en geles de agarosa con bromuro de etidio.

**PCR y polimorfismos de restricción (RFLPs):** Se amplificaron 100 ng de ADN en un volumen final de 50 mL, empleando 20 pmol de cada primer, 200 mM dNTPs, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> y 0,25 U de Taq DNA polymerase (Promega, Madison, USA) bajo las siguientes condiciones: I) 94 °C; 5 min; II) 30 ciclos a 94 °C (30 s), 61 °C (40 s), y 72 °C (1 min 30 seg); III) 72 °C, 2 min. El producto de amplificación se sometió a cortes con las enzimas de restricción (PvuII y XbaI), a 37 °C durante 3 horas. Los fragmentos de restricción se analizaron empleando geles de agarosa al 2 %.

#### Procesamiento estadístico de la información

Se empleó ANOVA, la prueba t de Student para los parámetros con varianzas semejantes y el test U- Mann-Whitney para varianzas diferentes. Se utilizó el software SSPS versión 10.0 para Windows. Nivel de significación  $p < 0,05^{(21,22)}$ .

## RESULTADOS

La Tabla I muestra las características de la población objeto del estudio. Como puede observarse, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en peso, altura e índice de masa corporal (IMC) entre las poblaciones de mujeres fértiles (MF) y mujeres posmenopáusicas (MPM).

**TABLA I.** Características de la población. Se muestran los valores medios de edad, peso altura e IMC de la población estudiada. Las determinaciones de FSH y estradiol se realizaron como se describen en Materiales y métodos.

Condición	F	PM
Edad (años)	32,5 ± 10,3	54,9 ± 7,04
Peso (kg)	62,30 ± 13,00	64,96 ± 10,35
Altura (cm)	164,2 ± 4,98	162,5 ± 6,00
IMC	23,08 ± 4,45	24,64 ± 4,80
Estradiol (pg/mL)	21 - 84	<20
FSH (mUI/mL)	5 - 19	40-152

Los niveles séricos de E<sub>2</sub> y FSH obtenidos en cada grupo poblacional, fueron concordantes con los criterios de selección establecidos.

Se determinaron los parámetros bioquímicos descritos en metodología en cada una de las poblaciones estudiadas. La tabla II muestra que el grupo MPM presentó aumentos significativos en los niveles de CT, C-LDL y TG respecto a las MF (12, 23 y 44 % respectivamente;  $p < 0,02$ ). Los parámetros restantes (CT-HDL, glucemia, TP, APTT, TT y Fbg) no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. La PCRu mostró una distribución diferente en ambas poblaciones (Tabla II).

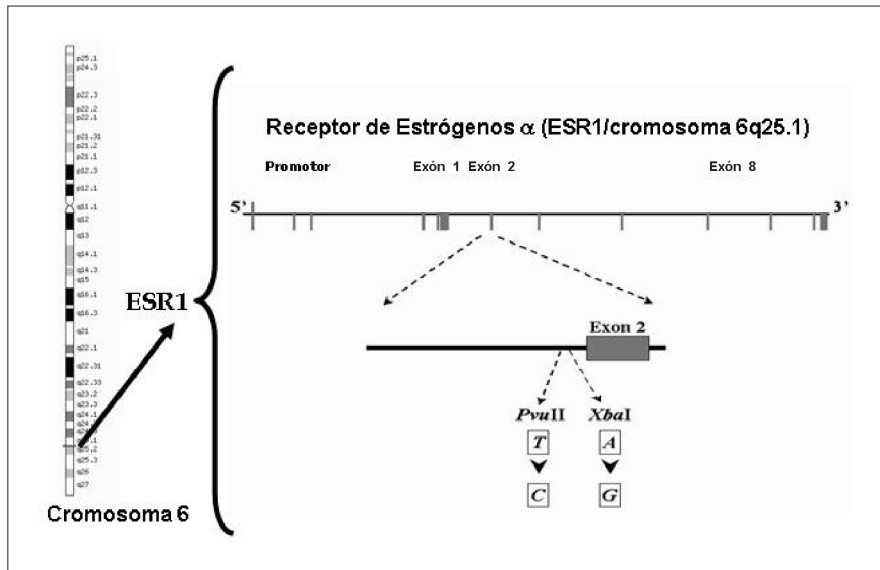
Mediante la técnica PCR-RFLP se estudiaron las variantes polimórficas PvuII y XbaI del ESR1. La figura 1 muestra un esquema de la localización de los polimorfismos estudiados ubicados en el intrón 1 del gen ESR1. Los genotipos se clasificaron según presencia o ausencia de corte para la respectiva enzima de restricción. Para PvuII se clasificaron como 1(P/p), 2(p/p), 3(P/P), donde P= ausencia de corte p= presencia de corte. Para XbaI la clasificación fue: A(X/x), B(x/x), C(X/X), siendo X=ausencia de corte y x=presencia de corte. Del estudio genético realizado se obtuvieron las siguientes frecuencias de distribución

**TABLA II.** Valores del perfil lipídico, hemostasia y marcador de inflamación hallados. La población general se dividió en fértiles (F) y posmenopáusicas (PM) y en cada uno de los subgrupos se determinaron los parámetros bioquímicos como se describe en Materiales y métodos. \*  $p < 0,02$ .

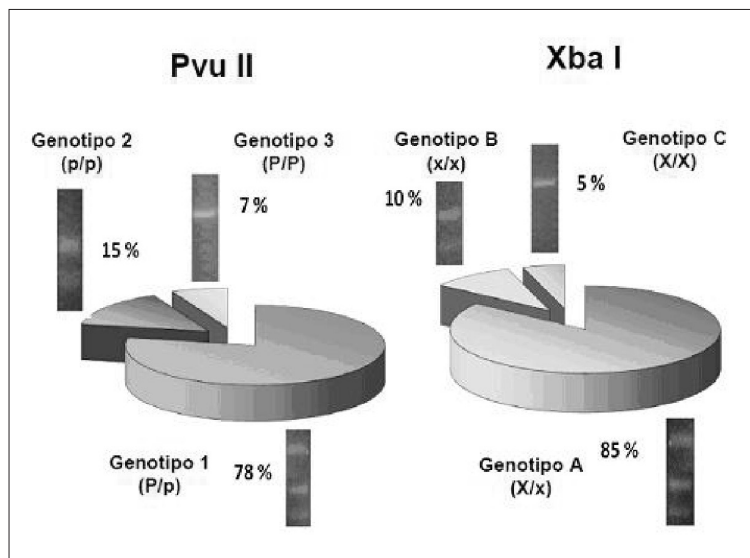
Determinación	F	PM	% cambio
CT (g/L)	1,76 ± 0,31	1,97 ± 0,35	↑ 12*
C-HDL (g/L)	0,50 ± 0,07	0,50 ± 0,11	ns
C-LDL (g/L)	1,12 ± 0,35	1,39 ± 0,39	↑ 23*
TG (g/L)	0,75 ± 0,33	1,09 ± 0,41	↑ 44*
TP (seg.)	13 ± 1,4	13,9 ± 2,6	ns
APTT (seg.)	37 ± 4,8	37,4 ± 4,5	ns
TT (seg.)	20 ± 6	18,1 ± 4,5	ns
Fbg (mg/dL)	361 ± 31	359 ± 40	ns

Determinación	PM	F	T. Mann-Whitney	PCRμ PM/F
PCRμ (mg/L)	Mediana 2,45 (1,21-5,43)	Mediana 0,65 (0,58-1,34)	p: 0,0107 (una cola)	3,8



**Figura 1.** Localización de los polimorfismos PvuII y XbaI en el intrón 1 del gen ESR1. Esquema del cromosoma 6 y la localización del gen ESR1 en el brazo q. Se indica la posición de las variantes polimórficas analizadas ubicadas en el intrón 1.



**Figura 2.** Frecuencia de variantes polimórficas PvuII y XbaI del ESR1 en la población total estudiada. Los genotipos se analizaron como se indica en Materiales y métodos (P, X= ausencia de corte; p,x= presencia de corte).

genotípicas en la población analizada: genotipos 1=78 %; 2=15 %, 3=7 %, A=85 %, B=10 %, C=5 % (Figura 2).

Las MF y MPM se agruparon en subpoblaciones según el genotipo que presentaron. Se compararon los resultados obtenidos en las determinaciones de los parámetros bioquímicos, entre MF vs. MPM pertenecientes a cada subgrupo. Como puede observar-

se en la Tabla III, para el genotipo 1 (MF<sub>1</sub> vs. MPM<sub>1</sub>) se detectó un aumento significativo en los niveles de CT y C-LDL (16 y 24 % respectivamente) en las posmenopáusicas respecto a las fértiles (p<0,02).

En los subgrupos con genotipo A del marcador XbaI se observó que las MPM<sub>A</sub> presentan incrementos semejantes en CT y CT-LDL a los descrito para MPM<sub>1</sub>, pero además exhiben un aumento en

**TABLA III.** Comparación de parámetros bioquímicos en subpoblaciones con genotipo 1. El análisis de los genotipos y las determinaciones bioquímicas se realizaron como se describen en Materiales y métodos. \* $p < 0,02$ .

Determinación	F(1)	PM(1)	% cambio
CT (g/L)	1,77 ± 0,30	2,06 ± 0,38	↑ 16*
C-HDL (g/L)	0,49 ± 0,11	0,52 ± 0,10	ns
C-LDL (g/L)	1,14 ± 0,36	1,41 ± 0,37	↑ 24*
TG (g/L)	0,78 ± 0,39	1,04 ± 0,44	ns
TP (seg)	13 ± 1,2	13,5 ± 2,8	ns
APTT (seg)	37 ± 4,3	37,2 ± 5,1	ns
TT (seg)	18,5 ± 5,5	17,5 ± 4,4	ns
Fbg (mg/dL)	358 ± 28	353 ± 45	ns

**TABLA IV.** Comparación de parámetros bioquímicos en subpoblaciones con genotipo A. Los estudios de genotipo y las determinaciones bioquímicas se realizaron como se describen en Materiales y métodos. \*  $p < 0,02$ .

Determinación	F(A)	PM(A)	% cambio
CT (g/L)	1,75 ± 0,30	2,06 ± 0,39	↑ 18*
C-HDL (g/L)	0,48 ± 0,10	0,52 ± 0,11	ns
C-LDL (g/L)	1,13 ± 0,35	1,43 ± 0,40	↑ 26*
TG (g/L)	0,80 ± 0,36	1,14 ± 0,46	↑ 43*
TP (seg)	13,1 ± 1,4	13,5 ± 2,4	ns
APTT (seg)	37,0 ± 4,4	36,0 ± 4,9	ns
TT (seg)	19,0 ± 6,2	16,7 ± 3,8	ns
Fbg (mg/dL)	356 ± 28	353 ± 42	ns

**TABLA V.** Comparación de parámetros bioquímicos en subpoblaciones con haplotipo 1A. Se agrupó a la población en función de la presencia de los genotipos 1 y A y se la clasificó en subgrupos F(1A) y PM (1A). Las determinaciones bioquímicas se realizaron como se describen en Materiales y métodos. \* $p < 0,02$ .

Determinación	F(1A)	PM(1A)	% cambio
CT (g/L)	1,77 ± 0,30	2,05 ± 0,41	↑ 16*
C-HDL (g/L)	0,47 ± 0,11	0,54 ± 0,09	ns
C-LDL (g/L)	1,14 ± 0,37	1,38 ± 0,40	ns
TG (g/L)	0,84 ± 0,40	1,05 ± 0,44	ns
TP (seg)	13,2 ± 1,5	13,4 ± 2,8	ns
APTT (seg)	36,4 ± 4,3	35,9 ± 4,9	ns
TT (seg)	17,9 ± 5,8	17,1 ± 4,3	ns
Fbg (mg/dL)	358 ± 29	348 ± 49	ns

los niveles de TG (43 %,  $p < 0,02$ ) en subpoblación  $MPM_A$  respecto de  $MF_A$  (Tabla IV).

Al analizar el haplotipo 1A, se determinó que a diferencia de lo observado en los genotipos A o 1, las  $MPM_{1A}$  muestran solo aumentos significativos en los niveles de CT respecto a las  $MF_{1A}$  (Tabla V).

Dado que la frecuencia de distribución de los otros genotipos es muy baja, el número de participantes en los otros subgrupos fue muy pequeño, lo cual no permitió realizar comparaciones entre los genotipos 2 y 3; B y C. No obstante, como puede observarse en la Tabla VI, si se analizan en conjunto todos los haplotipos diferentes a 1A (1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C), las MPM diferentes a 1A muestran un aumento significativo del 78 % ( $p < 0,02$ ) en los niveles de TG.

Los parámetros de la hemostasia (TP, APTT, TT, Fbg) e inflamación (PCRu) analizados no evidenciaron cambios significativos en ninguna de las comparaciones realizadas.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos del presente trabajo muestran que, en base al marcador genético presente, el genotipo A identifica a la población de MPM con un perfil lipídico más desfavorable respecto a las fértiles del mismo subtipo.

Al analizar la proporción de los polimorfismos genéticos del ESR1 de nuestra población observamos que los genotipos heterocigotas (P/p y X/x) son mayoritarios respecto a los homocigotas (P/P; p/p;

**TABLA VI.** Comparación de parámetros bioquímicos en subpoblaciones con haplotipos diferentes a 1A. Se seleccionaron las participantes cuyos genotipos eran 2,3, B y C, se agruparon en F y PM y se compararon los valores de los parámetros bioquímicos de las dos subpoblaciones. Las determinaciones bioquímicas y genéticas se realizaron como se describen en Materiales y métodos. \* $p < 0,02$ .

Determinación	F(≠1A)	PM(≠1A)	% cambio
CT (g/L)	1,73 ± 0,30	1,92 ± 0,31	ns
C-HDL (g/L)	0,52 ± 0,10	0,47 ± 0,14	ns
C-LDL (g/L)	1,13 ± 0,32	1,50 ± 0,40	ns
TG (g/L)	0,59 ± 0,20	1,05 ± 0,44	↑ 78*
TP (seg)	13,3 ± 1,4	13,4 ± 1,4	ns
APTT (seg)	39,4 ± 3,4	38,3 ± 3,6	ns
TT (seg)	17,6 ± 5,5	17,2 ± 4,1	ns
Fbg (mg/dL)	354 ± 25	370 ± 15	ns

X/X; x/x), característica que coincide con lo descrito en la literatura internacional<sup>(23)</sup>. No obstante, las frecuencias genotípicas observada son diferentes a lo reportado a nivel mundial, hecho que podría ser atribuible a las diferencias genéticas y étnicas entre las diversas poblaciones<sup>(24)</sup>.

En cambio, la variación en los parámetros bioquímicos observada al comparar la totalidad de las mujeres fértiles vs. todas las menopáusicas mostraron aumentos significativos en marcadores de perfil lipídico en las MPM, lo cual coincide con la literatura internacional<sup>(5-7)</sup>.

Hasta el presente, la información reportada en la bibliografía en relación a la asociación entre variantes genéticas del ESR1 y el riesgo cardiovascular en mujeres posmenopáusicas, es contradictoria. Schuit y col. observaron un mayor riesgo de infarto de miocardio en MPM que presentaban el sitio de restricción para XbaI o PvuII<sup>(25)</sup>. Por su parte, Nördstrom y col. reportaron que la presencia del alelo *p* aumenta el riesgo de esclerosis de válvula aórtica<sup>(26)</sup>. La variante XX, se asoció con aumento de riesgo de dicha patología coronaria en mujeres con hipercolesterolemia familiar<sup>(27)</sup>. En cambio varios estudios mostraron una falta de asociación del polimorfismo del ER-alfa y el riesgo cardiovascular<sup>(28-30)</sup>.

En nuestra población al analizar las MF vs. MPM de igual genotipo, solo se detectaron cambios significativos en los marcadores lipídicos, mientras que los parámetros bioquímicos de la hemostasia y de inflamación se mantuvieron constantes. De los genotipos y haplotipos mayoritarios (1; A y 1A), las MPM A son las que exhiben mayores modificaciones, con significativos aumentos en los niveles de CT; C-LDL y TG. En las 1 no se detectan los cambios en TG, mientras que MPM con haplotipo 1A solo evidenciaron un 16 % de aumento en CT, manteniendo constante el resto de los parámetros. Estos datos sugieren que en la cohorte estudiada, el genotipo A representaría un grupo poblacional con perfil lipídico más desfavorable, y por consiguiente un mayor riesgo potencial de enfermedad cardiovascular.

Un estudio de la Clínica Mayo (EE.UU.) describió asociaciones entre variantes polimórficas del ESR1 y los niveles plasmáticos de ApoA-1, ApoB, y C-HDL en función de la edad y del sexo<sup>(31)</sup>. En base a los niveles circulantes de apolipoproteínas, HDL, y el índice de masa corporal, se reportó que individuos que poseen mutaciones homocigotas de tipo xx identificadas con XbaI en el ESR1, tie-

nen un menor riesgo de enfermedad coronaria<sup>(23)</sup>. En nuestro estudio, las mujeres homocigotas, representadas por todos los haplotipos no 1A, solo exhiben aumento en triglicéridos séricos, sin modificaciones en los otros parámetros. En futuras investigaciones incluiremos el análisis del perfil metabólico de estas pacientes, ya que el aumento en triglicéridos podría estar relacionado con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono. Cabe mencionar que una limitación importante de nuestro estudio es el tamaño de la muestra, que debido al perfil de distribución de los marcadores genéticos en nuestra población, los grupos homocigotas son los minoritarios.

Si bien el mecanismo molecular por el cual las variantes polimórficas del receptor de estrógenos inducen cambios en parámetros lípidos no está establecido aún, una hipótesis posible es que podrían dar origen a transcritos de ARNm con modificaciones estructurales (splicing) que originen isoformas de receptor con acciones biológicas diferentes. Particularmente, el intrón 1 de un gen al igual que el promotor, usualmente contiene un gran número de secuencias regulatorias en comparación con otros intrones. Estudios realizados empleando bases de datos genéticos evidenciaron que, en el caso del polimorfismo PvuII, el alelo C forma parte del sitio de unión para la familia myb de factores transcripcionales involucrados en la regulación de la síntesis de ER $\alpha$ <sup>(32)</sup>.

En conclusión, si bien preliminares, ya que se requiere ampliar el número de participantes en el estudio, nuestros resultados sugieren que el análisis de los polimorfismos del gen ESR1 podría tener una potencial utilidad clínica para pesquisar grupos de riesgo de enfermedad cardiovascular en mujeres posmenopáusicas.

**Agradecimientos:** La realización de este trabajo ha sido sustentado por subsidios de la SGCyT, Universidad Nacional del Sur, Argentina (PGI 24/B159); Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 5790, PIP 0350, CONICET, Argentina).

Agradecemos la colaboración de la Bioquímica María Laura González.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Schuit S, de Jong F, Stolk L, Koek W, van Meurs J, Schoofs M, Zillikens M, Hofman A, van Leeuwen J, Pols H. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 153:327-34, 2005

2. **Burger HG, Hale GE, Robertson DM, Dennerstein L.** A review of hormonal changes during the menopausal transition: focus on findings from the Melbourne Women's Midlife Health Project. *Hum. Reprod. Update* 13:559-65, 2007
3. **Buckler H.** The menopause transition: endocrine changes and clinical symptoms. *J. Br. Menopause Soc.* 11:61-5, 2005
4. **Santoro N.** The menopausal transition. *Am. J. Med.* 118 Suppl. 12B:8-13, 2005
5. **Berg G, Brites F, Muzzio ML, Zago V, López, G, Benítez MB, Rosso LG, Miksztowicz V, Cacciagiú L, González, AI, Aisemberg L, Schreier L, Wikinski R.** Factores circulantes de injuria endotelial y procesos subendoteliales en mujeres postmenopáusicas sanas. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 41:499-510, 2007
6. **Kordich L, Fibrinólisis.** metodología de estudio. En: *Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia (primera edición)*. Blanco A., Cerrato G., Quintana I, Vazquez A, Vizcarguenaga M. Ed.: Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis, Buenos Aires 451-6, 2003
7. **Kluft C.** Effects of hormone treatment on hemostasis variables. *Climacteric*, 10 Suppl 2:32-7, 2007
8. **Bonduki CE, Lourenço DM, Motta EL, Soares Jr JM, Haidar MA, Baracat EC.** Effect of estrogen-progestin hormonal replacement therapy on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. *Clinics* 62:553-60, 2007
9. **Albert MA, Glynn RJ, Buring J, Ridker PM.** C-reactive protein levels among women of various ethnic groups living in the United States (from the Women's Health Study). *Am J Cardiol.* 93:1238-42, 2004
10. **Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F.** Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. **Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for health care professionals from Disease Control and Prevention and the American Heart Association.** *Circulation* 107:499-511, 2003
11. **Deroo BJ, Korach KS.** Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest.* 116:561-70, 2006
12. **Boroumand M, Ghaedi M, Mohammadtaghvaei N, Pourgholi L, Anvari MS, Davoodi G, Amirzadegan A, Saadat S, Sheikhfathollahi M, Goodarzynejad H.** Association of estrogen receptor alpha gene polymorphism with the presence of coronary artery disease documented by coronary angiography. *Clin Biochem.* 42:835-9, 2009
13. **Schuit S, de Jong F, Stolk L, Koek W, van Meurs J, Schoofs M, Zillikens M, Hofman A, van Leeuwen J, Pols H.** Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol.* 153:327-34, 2005
14. **Rapuri P, Gallagher J, Knezetic J, Haynatzka V.** Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with changes in bone markers and treatment response to estrogen. *Maturitas* 53:371-9, 2006
15. **Huang Q, Wang TH, Lu WS, Mu PW, Yang YF, Liang WW, Li CX, Lin GP.** Estrogen receptor alpha gene polymorphism associated with type 2 diabetes mellitus and the serum lipid concentration in Chinese women in Guangzhou. *Chin Med J.* 119:1794-1801, 2006
16. **Molvarec A, Nagy B, Kovács M, Walentin S, Imreh E, Rigó J Jr, Szalay J, Füst G, Prohászka Z, Karádi I.** Lipid, haemostatic and inflammatory variables in relation to the estrogen receptor  $\alpha$  (ESR1) *PvuII* and *XbaI* gene polymorphisms. *Clinica Chimica Acta* 380:157-64, 2007
17. **Selles J, Polini N, Alvarez C, Massheimer V.** Novel action of estrone on vascular tissue: regulation of NOS and COX activity. *Steroids* 70:251-6, 2005
18. **Massheimer V, Polini N, Alvarez C, Benozzi S, Rauschemberger MB, Sellés J.** Signal transduction pathways involved in non-genomic action of estrone on vascular tissue. *Steroids* 71:857-64, 2006
19. **Rauschemberger MB, Sellés J, Massheimer V.** The direct action of estrone on vascular tissue involves genomic and non-genomic actions. *Life Sci.* 82:115-23, 2008
20. **Rauschemberger MB, Sandoval MJ, Massheimer VL.** Cellular and molecular actions displayed by estrone on vascular endothelium. *Mol Cell Endocrinol.* 339:136-43, 2011
21. **Dawson B, Trapp RG.** *Bioestadística médica.* 4º edición. Ediciones El Manual Moderno, SA de CV, México DF, 123-44, 2005
22. **Botasso, O.** *Lo esencial en investigación clínica.* 2da Edición. Editorial Corpus Libros Médicos y Científicos 107-145, 2006
23. **De Padua Mansur A, Montezino Nogueira C, Strunz C, Mendes Aldrighi J, Ramires A.** Genetic polymorphisms of estrogen receptors in patients with premature coronary artery disease. *Archives of Medical Research* 36: 511-517, 2005
24. **Zavratnik A, Zegura B, Marc J, Prezelj J, Pfeifer M.** *XbaI* polymorphism of the estrogen receptor alpha gene influences the effect of raloxifene on the endothelial function. *Maturitas* 67:84-90, 2010
25. **Lu H, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Yu W, Shimizu M, Mabuchi H.** Association of estrogen receptor-alpha gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22:817-23, 2002
26. **Schuit SC, Oei HH, Witteman JC, Geurts van Kessel CH, van Meurs JB, Nijhuis RL, van Leeuwen JP, de Jong FH, Zillikens MC, Hofman A, Pols HA, Uitterlinden AG.** Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and risk of myocardial infarction. *JAMA* 291:2969-77, 2004
27. **Nordström P, Glader CA, Dahlén G, Birgander LS, Lorentzon R, Waldenström A, Lorentzon M.** Oestrogen receptor alpha gene polymorphism is



- related to aortic valve sclerosis in postmenopausal women. *J Intern Med.* 254: 140-6, 2003
28. **Shearman AM, Cooper JA, Kotwinski PJ, Miller GJ, Humphries SE, Ardlie KG, Jordan B, Irenze K, Lunetta KL, Schuit SC, Uitterlinden AG, Pols HA, Demissie S, Cupples LA, Mendelsohn ME, Levy D, Housman DE.** Estrogen receptor alpha gene variation is associated with risk of myocardial infarction in more than seven thousand men from five cohorts. *Circ Res.* 98: 590-2, 2006
  29. **Lawlor DA, Timpson N, Ebrahim S, Day IN, Smith GD.** The association of oestrogen receptor alpha-haplotypes with cardiovascular risk factors in the British Women's Heart and Health Study. *Eur Heart J.* 13:1597-604, 2006
  30. **Koch W, Hoppmann P, Pfeufer A, Mueller JC, Schömig A, Kastrati A.** No replication of association between estrogen receptor alpha gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction in a large sample of patients of European descent. *Circulation* 112:2138-42, 2005
  31. **Klos KL, Boerwinkle E, Ferrell RE, Turner ST, Morrison AC.** ESR1 polymorphism is associated with plasma lipid and apolipoprotein levels in Caucasians of the Rochester Family Heart Study. *J Lipid Res.* 49:1701-6, 2008
  32. **Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Brosnihan KB, Meyers DA, Bleecker ER.** Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med.* 346:967-74, 2002