

QTL de las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos en porcino

D. Gallardo^{2,*}, R. Pena^{1,*}, M. Amills², L. Varona¹, O. Ramírez¹, J. Soler³, J. Tibau³, J. Reixach⁴, I. Díaz⁵, J.M. Prat⁶, J.L. Noguera¹, R. Quintanilla^{1,**}

¹ Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida.

² Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

³ Centre de Control Porcí (IRTA), 17121 Monells.

⁴ Selecció Batallé S.A., 17421 Riudarenes.

⁵ Centre de Tecnologia de la Carn (IRTA), 17121 Monells.

⁶ Laboratori d'Anàlisi Clíniques, Hospital de Palamós, Palamós.

* Ambos autores han contribuido por igual.

** Correspondencia: Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA. Avda. Rovira Roure 191. 25198 Lleida (Spain). E-mail. raquel.quintanilla@irta.es; Telf. (+34)973003433.

Resumen

A partir de los datos disponibles hasta la fecha en el marco del proyecto LIPGEN, se ha llevado a cabo un análisis preliminar para la detección de QTL relacionados con las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos a dos edades. En dicho proyecto se generó una población experimental de 370 machos de una línea comercial Duroc, distribuidos en cinco familias de hermanos paternos. De esta población experimental se extrajeron dos muestras de sangre a los 40 (369 registros) y a los 180 (267 registros) días de edad, sobre las que se midieron las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol ligado a lipoproteínas de alta y de baja densidad, y triglicéridos. Todos los individuos más los cinco machos parentales se han genotipado para 110 microsatélites informativos distribuidos a lo largo de todo el genoma. El análisis de QTL reveló la presencia de varias regiones del genoma relacionadas con las concentraciones plasmáticas de colesterol, lipoproteínas y triglicéridos en los cromosomas 3, 4, 5, 6, 8 y 12. Estos resultados vendrían a confirmar la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en porcino, y proporcionan una valiosa información para el estudio de la arquitectura genética de estos caracteres.

Palabras clave: QTL, colesterol, porcino

Summary

QTL affecting plasma cholesterol and triglycerides concentrations in pigs

A preliminary genome scan for plasma cholesterol levels in pigs was carried out. An experimental population of 370 males distributed in five half-sib families was generated from a commercial Duroc line. These animals were measured for plasma cholesterol, low density lipoproteins, high density lipoproteins and triglyceride concentrations, at 40 (369 records) and 180 (267 records) days of age. All individuals recorded plus the five parental boars were genotyped for 110 informative microsatellites covering the whole genome. The QTL analyses revealed several genomic regions with significant gene effects on plasma cholesterol, lipoproteins and triglyceride concentrations on chromosomes 3, 4, 5, 6, 8 and 12. These results yield very valuable information aimed to understand the genetic architecture of these traits.

Key words: QTL, cholesterol, pigs

Introducción

El colesterol se transporta en el torrente sanguíneo en asociación con lipoproteínas, siendo las más conocidas las lipoproteínas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad. Los elevados niveles de colesterol plasmático en humanos representan uno de los principales factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. En el caso del porcino también se ha descrito un cuadro de hipercolesterolemia familiar, caracterizado por la presencia de elevados niveles de colesterol y apolipoproteínas B, C-III y E que conduce a lesiones vasculares ateroscleróticas similares a las descritas en humanos (Hasler-Rapacz et al. 1995). De este modo y a pesar de las diferencias en el metabolismo lipídico entre humano y porcino, la especie porcina puede considerarse un modelo animal de gran interés para el estudio de los factores genéticos que regulan las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, profundizando de este modo en el conocimiento sobre las dislipemias. Desafortunadamente, la información disponible acerca de la arquitectura genética del metabolismo del colesterol en porcino es sumamente escasa. Hasta la fecha tan solo se ha realizado un único barrido genómico (Hasler-Rapacz et al., 1998), mostrando que la hipercolesterolemia familiar en porcino está asociada con la segregación de la mutación R84C del receptor de LDL. No obstante, la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en humano y ratón hace pensar que deben existir otras muchas regiones genómicas implicadas en la variación de estos caracteres todavía por determinar en porcino. En el marco del proyecto LIPGEN, se ha llevado a cabo un análisis preliminar de QTL para las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos en una población comercial Duroc.

Material y Métodos

El material animal procede de una línea comercial Duroc, utilizada en la producción de jamón curado de calidad. Con animales de esta línea, se generó una población de familias de hermanos paternos, mediante el apareamiento de cinco verracos parentales con 370 hembras, y tomando un solo descendiente de cada camada. Estos animales fueron castrados, se trasladaron al Centro de Control Porcino del IRTA (CCP) tras el destete, y fueron controlados durante el período de cebo (hasta unos 120 kg de peso vivo y 190 días de edad). Durante su estancia en el CCP se extrajeron dos muestras de sangre de estos animales, sobre los 40 y los 180 días de edad, en las que se midieron los niveles plasmáticos de colesterol total (CHOL), LDL, HDL y triglicéridos (TG). La tabla 1 muestra la estructura y el tamaño de los datos fenotípicos disponibles para realizar el presente estudio. Todos los individuos controlados más los cinco machos parentales fueron genotipados para un total de 110 microsatélites informativos distribuidos a lo largo de todo el genoma. En el momento de realizar el presente análisis no obstante, tan solo un 80% de los microsatélites estaban genotipados en todos los individuos de la población experimental.

Los análisis 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:

$$y_{ij} = \mu + f_i + \beta \text{cov}_{ij} + \alpha p_{ij} + e_{ij}$$

donde:

y_{ij} representa las observaciones fenotípicas de cada individuo i , en este estudio las concentraciones plasmáticas de CHOL, LDL, HDL y TG a 40 y 180 días de edad.

f_i es un efecto sistemático, en nuestros análisis granja de origen para las medidas a 40 días y lote de control para las medidas a 180 días.

β y cov_{ij} son el coeficiente de regresión y la edad a la extracción de sangre para el análisis respectivamente. Esta covariable tan solo fue considerada para las medidas a 40 días de edad, ya que la edad no resultó significativa para los caracteres medidos a 180 días

de edad (resultados obtenidos en análisis previos).

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.

Tabla 1. Número de registros disponibles (N) para las concentraciones plasmáticas de lípidos a dos edades y media (desviación estándar) de las variables analizadas (en mg/dl) por familia de hermanos paternos

Table 1. Number of records available for plasma lipid concentrations at two ages and mean (standard deviation) of the analysed traits (mg/dl) for each one of the five paternal half-sib families

	BR22311 Padre 1	BR112290 Padre 2	BR18035 Padre 3	BL12445 Padre 4	BL12441 Padre 5
A 40 días	N=50	N=95	N=78	N=83	N=63
Colesterol total	88.00 (33.12)	84.23 (26.71)	83.00 (32.32)	75.54 (11.15)	77.13 (14.83)
HDL-colesterol	33.72 (10.62)	31.98 (10.12)	32.33 (12.30)	30.50 (6.36)	30.57 (7.42)
LDL-colesterol	45.18 (21.24)	42.14 (16.88)	42.66 (20.30)	35.87 (7.85)	38.98 (10.74)
Triglicéridos	48.52 (19.51)	50.42 (24.02)	40.03 (14.42)	45.77 (22.35)	37.65 (11.41)
A 180 días	N=43	N=85	N=45	N=54	N=40
Colesterol total	126.91 (25.30)	130.38 (25.57)	121.62 (25.51)	116.96 (20.45)	132.43 (20.03)
HDL-colesterol	51.34 (13.11)	53.92 (11.77)	51.25 (10.22)	49.13 (9.42)	54.19 (8.19)
LDL-colesterol	64.25 (16.91)	64.26 (17.58)	61.01 (16.76)	57.31 (12.70)	69.52 (14.49)
Triglicéridos	56.05 (27.52)	59.86 (24.77)	46.24 (20.47)	52.96 (22.62)	44.10 (19.97)

La mayor parte de los análisis se llevaron a cabo utilizando el software *QTL express* desarrollado por Haley y Knott, disponible en <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>. Para cada análisis se realizó un test de F con un grado de libertad en el numerador. Los umbrales de significación se determinaron empíricamente mediante permutación de los datos (Churchill and Doerge, 1994), realizando un total de 5000 permutaciones en cada análisis independiente (cromosoma*familia*carácter) para obtener la distribución de F bajo la hipótesis nula (ausencia de QTL). Los umbrales de significación obtenidos difirieron para

cada combinación cromosoma-familia (de 5.0 a 7.6 para los umbrales al 5%), pero no difirieron sustancialmente entre caracteres. Finalmente, en cada combinación cromosoma-familia se tomó el umbral de F más conservador como umbral sugestivo para todos los caracteres.

Resultados y Discusión

Los QTL más relevantes identificados en el barrido genómico realizado dentro de fami-

lia para las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos a los 40 y los 180 días de edad se muestran en la tabla 2. A pesar de esperar una moderada potencia en este análisis preliminar, los resultados muestran la presencia de QTL altamente significativos (a nivel cromosómico) en distintas regiones del genoma porcino. Una de las regiones con mayor significación se mapeó en el intervalo 80-92 cM del cromosoma 3, donde se detectaron QTL para CHOL, LDL, HDL y TG a los 40 días de edad. Estos QTL se mapearon en posiciones próximas al QTL descrito por Andersson-Eklund et al. (1998) para el área del *Longissimus Dorsi*. Es de particular interés que esta región del genoma porcino (3q1.4-2.6) es ortóloga a la región 2p13-p25 del genoma humano, donde también se ha descrito un QTL para TG, HDL y LDL (Wang y Paigen, 2005). También en el cromosoma 3 de porcino, aunque en posiciones distantes a las de los QTL aquí descritos, se han descrito QTL para el contenido de androstenona en la grasa (Quintanilla et al., 2003) y para caracteres de crecimiento (e.g. Bidanel et al., 2001).

También se encontraron evidencias de la segregación de un QTL para CHOL40 y LDL40 en el intervalo 68-72 cM del cromosoma 6, donde Grindflek et al. (2001) describieron un QTL para grasa intramuscular. Asimismo y aunque con menor significación estadística ($p < 0.05$ a nivel cromosómico), también se identificaron QTL para HDL40 y TG180 en el cromosoma 4, en posición (80 cM) similar a la de los QTL anteriormente descritos para otros caracteres relacionados con el metabolismo lipídico, como el espesor del tocino dorsal o la composición de la grasa subcutánea (Pérez-Enciso et al., 2000; Bidanel et al., 2001; Varona et al., 2002). Estos resultados sugieren que las regiones de los cromosomas 4 y 6 anteriormente mencionadas con-

tienen uno o varios genes con efectos pleiotrópicos sobre el metabolismo de los ácidos grasos y el colesterol.

Adicionalmente, en una de las familias se identificaron QTL altamente significativo para TG180 y TG40 en distintas posiciones de los cromosomas 4 (24 cM) y 6 (144 cM) respectivamente. Este resultado adquiere especial relevancia si se tiene en cuenta que las regiones 4p1.3-1.5 y 6q3.1-3.5 del genoma porcino ortólogas a las regiones 8q22-24 y 1p31-36 del genoma humano, donde también se han descrito QTL para la concentración plasmática de TG (Wang y Paigen, 2005). De este modo, estos resultados parecen indicar que los cromosomas 4 y 6 podrían contener múltiples loci con efectos sobre el metabolismo lipídico en porcino.

Otros QTL relevantes, ligados a diferentes medidas de lípidos plasmáticos, se encontraron en los cromosomas 5, 8 y 12. Aunque apenas existen referencias a los QTL relacionados con los niveles de lípidos plasmáticos en porcino, cabe tener en cuenta que sí se han descrito QTL en estos cromosomas relacionados con el engrasamiento y la composición de la grasa (Bidanel et al., 2001; Quintanilla et al., 2002; Clop et al., 2003).

Conclusiones

Un análisis preliminar ha permitido detectar diversas regiones genómicas en los cromosomas 3, 4, 5, 6, 8 y 12 significativamente ligadas a las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos. Estos resultados vendrían a confirmar la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en porcino, y proporcionan una importante información para continuar el estudio de la arquitectura genética de estos caracteres.

Tabla 2. Resultados significativos del barrido genómico realizado para las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol ligado a lipoproteínas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad y triglicéridos a los 40 y los 180 días de vida

Table 2. Significant results of the genome scan for total cholesterol, high (HDL) and low (LDL) density lipoproteins and triglyceride plasma concentrations at 40 d and 180 d

SSC ^A	Carácter	Familia	Posición (cM) ^B	F-ratio
3	Colesterol total 40d	1 4	84*** 8*	14.59 7.84
3	HDL-colesterol 40d	1 4	84*** 16**	17.25 10.57
3	LDL-colesterol 40d	1	84**	11.38
3	Triglicéridos 40d	1	80**	9.24
3	HDL-colesterol 180d	1	92*	7.12
4	HDL-colesterol 40d	1	80*	6.09
4	Colesterol total 180d	3	0*	8.86
4	LDL-colesterol 180d	3	4*	8.95
4	Triglicéridos 180d	2 4	24*** 80*	17.79 5.63
5	Colesterol total 40d	5	56*	6.35
5	LDL-colesterol 40d	2 5	96* 76*	6.72 7.03
5	Triglicéridos 40d	5	64**	11.07
5	Triglicéridos 180d	4	16*	7.40
6	Colesterol total 40d	1	68**	10.68
6	LDL-colesterol 40d	1	72***	13.72
6	Triglicéridos 40d	1 2	8* 144**	5.77 9.72
8	Colesterol total 40d	4	44**	12.77
8	HDL-colesterol 40d	4	36**	12.90
8	LDL-colesterol 40d	4	48*	6.52
8	LDL-colesterol 180d	4	16*	5.91
12	Colesterol total 40d	1	88**	9.04
12	HDL-colesterol 40d	1	88*	6.97
12	LDL-colesterol 40d	1	88**	9.58
12	HDL-colesterol 180d	1 5	88* 60*	6.31 5.75

^A SSC=*Sus Scrofa Chromosome*; ^B *= $p < 0.05$; **= $p < 0.01$; ***= $p < 0.001$, a nivel cromosómico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a *Selección Batallé S.A.* el haber proporcionado el material animal, así como su cooperación en el protocolo experimental.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL2002-04271-C03-03 (MEC).

Bibliografía

Andersson-Eklund L, Marklund L, Lundström K, Haley CS, Andersson K, Hansson I, Moller M, Andersson L, 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a wild boar x Large White intercross. *J. Anim. Sci.* 76: 694-700.

- Bidanel JP, Milan D, Iannuccelli N, Amigues Y, Boscher MY, Bourgeois F, Caritez JC, Gruand J, Le Roy P, Lagant H, Quintanilla R, Renard C, Gellin J, Ollivier L, Chevalet C, 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Genet. Sel. Evol.* 33: 289-309.
- Clop A, Ovilo C, Pérez-Enciso M, Cercos A, Tomas A, Fernandez A, Coll A, Folch JM, Barragan C, Díaz I, Oliver MA, Varona L, Silio L, Sánchez A, Noguera L, 2003. Detection of QTL affecting fatty acid composition in the pig. *Mamm. Genome* 14: 650-656.
- de Koning DJ, Janss LLG, Rattink AP, van Oers PAM, de Vries BJ, Groenen MAM, van der Poel JJ, de Groot PN, Brascamp EW, van Arendonk JAM, 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* 152: 1679-90.
- Grindflek E, Szyda J, Liu Z, Lien S, 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mamm. Genome* 12: 299-304.
- Hasler-Rapacz J, Ellegren H, Fridolfsson AK, Kirkpatrick B, Kirk S, Andersson L, Rapacz J, 1998. Identification of a mutation in the low density lipoprotein receptor gene associated with recessive familial hypercholesterolemia in swine. *Am. J. Med. Genet.* 76: 379-386.
- Knott SA, Elsen JM, Haley CS, 1996. *Theoretical and Applied Genetics* Vol. 93, pp. 7180.
- Pérez-Enciso M, Clop A, Noguera JL, Ovilo C, Coll A, Folch JM, Babot D, Estany J, Oliver MA, Díaz I, Sánchez A, 2000. A QTL on pig chromosome 4 affects fatty acid metabolism: evidence from an Iberian by Landrace intercross. *J Anim Sci.* 78: 2525-2531.
- Quintanilla R, Milan D, Bidanel JP, 2002. A further look at quantitative trait loci affecting growth and fatness in a cross between Meishan and Large White pig populations. *Genet. Sel. Evol.* 34: 193-210.
- Quintanilla R, Demeure O, Bidanel JP, Milan D, Iannuccelli N, Amigues Y, Gruand J, Renard C, Chevalet C, Bonneau M, 2003. Detection of quantitative trait loci for fat androstenone levels in pigs. *J. Anim. Sci.* 81: 385-394.
- Varona L, Ovilo C, Clop A, Noguera JL, Pérez-Enciso M, Coll A, Folch JM, Barragan C, Toro MA, Babot D, Sánchez A, 2002. QTL mapping for growth and carcass traits in an Iberian by Landrace pig intercross: additive, dominant and epistatic effects. *Genet. Res.* 80: 145-154.
- Wang X, Paigen B, 2005. Genome-wide search for new genes controlling plasma lipid concentrations in mice and humans. *Curr Opin Lipidol.* 16: 127-137.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)