

Estudio genético de hipercolesterolemia familiar en una población hospitalaria de la Ciudad de Buenos Aires

Genetic Testing of Familial Hypercholesterolemia in a Hospital-Based Population of the City of Buenos Aires

ANDREA GÓMEZ¹, LORENA HELMAN², ANTONELA COSTA VARS², GUSTAVO GIUNTA^{2,3}, ULISES TOSCANINI¹, LUIS CUNIBERTI³

RESUMEN

Introducción: La hipercolesterolemia familiar es una hiperlipidemia primaria. Se trata de un trastorno genético autosómico dominante del metabolismo de las lipoproteínas, caracterizado por concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad y presencia de xantomas tendinosos, y está asociado con el desarrollo prematuro de enfermedad cardiovascular.

Objetivos: Investigar la presencia de mutaciones en el principal gen asociado al desarrollo de hipercolesterolemia familiar (*LDLR*) en un grupo de pacientes identificados como “casos índices”, de entre aquellos que concurren al Servicio de Lípidos del Hospital Universitario Fundación Favaloro con diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar. Determinar la composición ancestral de la población estudiada.

Material y métodos: Se estudió una población de 38 pacientes con diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar. La región codificante y las zonas intrónicas adyacentes del gen *LDLR* se secuenciaron automáticamente por el método de Sanger. Se investigó el componente ancestral de la población estudiada a partir del análisis de 46 marcadores informativos de ancestralidad (AIM-Indel).

Resultados: Se identificaron 50 variantes diferentes, de las cuales el 48% se consideraron patogénicas. Se logró establecer una correlación genotipo-gravedad del fenotipo en el 60,5% de los pacientes estudiados. El componente ancestral de la población estudiada fue predominantemente europeo, seguido de un componente nativo-americano y, en menor proporción, africano.

Conclusiones: El análisis genético por secuenciación del gen *LDLR* en pacientes identificados como “casos índices” con diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar permite correlacionar el dato genético con la gravedad del fenotipo observado clínicamente y efectuar un diagnóstico en cascada en los miembros de la familia que presentan los criterios de inclusión considerados.

Palabras clave: Colesterol - Factores de riesgo - Receptores de LDL - Hiperlipidemias - Anticolesterolemiantes

ABSTRACT

Background: Familial hypercholesterolemia is a primary hyperlipidemia. It is an autosomal dominant genetic disorder of lipoprotein metabolism, characterized by elevated plasma low-density lipoprotein cholesterol and presence of tendon xanthomas, and is associated with early cardiovascular disease.

Objectives: The aim of this study was to investigate the presence of mutations in the main gene associated with the development of familial hypercholesterolemia (*LDLR*) in a group of patients identified as “index cases” attending the Lipid Clinic of the *Hospital Universitario Fundación Favaloro* with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. The ancestral composition of the study population was determined.

Methods: We evaluated 38 patients with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. Mutation screening of the *LDLR* gene coding regions and adjacent intronic areas was performed using Sanger sequencing. The ancestral component of the study population was investigated using 46 ancestry inference markers (AIM-Indel).

Results: Fifty different variants were identified, 48% of which were considered pathogenic. A genotype-phenotype severity correlation was established in 60.5% of the patients evaluated. The ancestral component of the study population was predominantly European, followed by native-American and African in lower proportion.

Conclusions: Genetic testing by *LDLR* gene sequencing in patients identified as “index cases” with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia allows the correlation between the genetic information and the severity of the clinical phenotype to a cascade testing of the family members presenting the inclusion criteria considered.

Key words: Cholesterol - Risk Factor - Receptors, LDL - Hyperlipidemias - Anticholesteremic Agents

REV ARGENT CARDIOL 2018;86:103-109. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v86.i2.11334>

Recibido: 24-10-2017 - Aceptado: 28-11-2017

Dirección para separatas: Av. Belgrano 1782 (C1093AAS), CABA, Argentina – e-mail: ggiunta@favaloro.org
Este trabajo obtuvo el Premio 43° Congreso Argentino de Cardiología

¹PRICAI-Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina

²Unidad Metabólica. Hospital Universitario Fundación Favaloro (HUFF), Buenos Aires, Argentina

³Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis. Universidad Favaloro, Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina

Abreviaturas

HF	hipercolesterolemia familiar	cHDL	colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
cLDL	colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad	Lp(a)	lipoproteína (a)

INTRODUCCIÓN

La hipercolesterolemia familiar (HF, OMIM 143890) es un trastorno hereditario autosómico dominante, que se caracteriza por una reducción de la capacidad hepática para depurar las lipoproteínas aterogénicas de baja densidad (LDL), lo que redundará en una marcada elevación de los niveles séricos de colesterol unido a LDL (cLDL). En consecuencia, la HF causa tempranamente morbimortalidad por eventos cardiovasculares. (1) Las herramientas de uso común para el diagnóstico clínico de HF establecen un puntaje basado en la concentración plasmática de cLDL, la presencia de xantomas tendinosos, la aparición prematura de arco corneal, el desarrollo de enfermedad cardiovascular y los antecedentes de HF. La prevalencia de HF se estima en 1/200 a 1/500, aunque puede ser incluso mayor en determinadas poblaciones con efecto fundador. (2-3)

La HF es causada mayoritariamente por defectos en el gen codificante del receptor de LDL (*LDLR*). Como causas menos frecuentes de HF se señalan las mutaciones en la apolipoproteína B (*APOB*) –ligando del receptor LDL– y en la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (*PCSK9*), involucrada en la recirculación del receptor LDL. (2-5) Las mutaciones patogénicas del *LDLR* pueden afectar en las diferentes etapas del ciclo del receptor: en la síntesis de la proteína, en la maduración, en la expresión en la superficie celular y en la correcta inserción en la membrana celular, así como en la unión a las LDL, la internalización o el reciclado. Las alteraciones más graves son aquellas que conducen a una falta de producción de proteína. Estas son usualmente mutaciones que afectan la expresión y síntesis proteica (por ejemplo, cuando se introduce un codón STOP prematuro o hay mutaciones en la región promotora). (1)

Como se ha demostrado previamente, el grado en que la mutación afecta la actividad del receptor LDL puede determinar el fenotipo de los pacientes. (6) Sin embargo, la actividad del receptor LDL en un individuo puede verse influenciada por factores ambientales o por otras alteraciones génicas involucradas en el metabolismo lipídico. (7) Por lo tanto, la relación entre la actividad del receptor y el fenotipo no siempre es directa.

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar la frecuencia de mutaciones en el gen *LDLR* en una población con diagnóstico clínico de HF. En segundo lugar, se investigó la existencia de correlación entre el genotipo y el fenotipo. Por último, se quiso evaluar la presencia de nuevas variantes genéticas en una población argentina y así contribuir al registro de mutaciones conocidas de esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de pacientes

Se consideraron para este estudio a todos los pacientes que consultaron en el Servicio de Lípidos de nuestro centro por una hipercolesterolemia grave (cLDL \geq 190 mg/dL), entre enero y diciembre de 2015. Se calculó el puntaje de acuerdo con los criterios de la Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) para el diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar en casos índices, con sospecha de presencia de esta enfermedad (9). A los pacientes con un puntaje mayor de 8 se los consideró como casos de HF definitiva y se los invitó a participar en este estudio. (9) Se excluyeron pacientes con causa clara de hipercolesterolemia secundaria (hipotiroidismo, insuficiencia renal crónica, síndrome nefrótico o colestasis), con hipertrigliceridemia grave o en ausencia de datos clínicos fehacientes del grupo familiar.

Extracción de ADN-amplificación y secuenciación

Se realizó una extracción de 10 ml de sangre por punción venosa del antebrazo, dichas muestras se recolectaron en tubos con EDTA como anticoagulante. La extracción de ADN se efectuó por el método conocido como salting-out (precipitación salina). El ADN obtenido se cuantificó por un método fluorométrico (Quantus™ Fluorometer, Promega), empleando el kit Quantifluors DNA System, de Promega.

Los oligonucleótidos que se utilizaron como cebadores, tanto para la reacción de amplificación en cadena de la polimerasa (PCR) como para la secuenciación de los 18 exones y las regiones intrónicas adyacentes del gen *LDLR* (MN_0000527.4), fueron diseñados utilizando la plataforma bioinformática Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>). Los oligonucleótidos fueron sintetizados por la firma Invitrogen by Life Technologies, en escala de 25 nanomoles, y purificados por desalado. Los productos de amplificación se chequearon mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% y purificados mediante un método enzimático, utilizando ExoSAP-IT® (Affimetrix, USB). La reacción de secuenciación completa del gen *LDLR* se realizó utilizando el reactivo Big Dye® Terminator v1.1 (Applied Biosystems). Tanto la reacción de amplificación como la de secuenciación se efectuaron en un equipo Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems). Los productos secuenciados fueron purificados mediante precipitación alcohólica con etanol-isopropanol. Se utilizaron muestras de 10 voluntarios normolipídicos como control interno del proceso de secuenciación y en la puesta a punto de la técnica.

Análisis de secuencias y fragmentos

Las secuencias resultantes fueron analizadas con el programa Sequencing Analysis 5.3.1 (Applied Biosystems) y alineadas con la secuencia de referencia del gen *LDLR* (NM_0000527.4), (10) utilizando el programa SeqScape 2.5 (Applied Biosystems). Las variantes del gen *LDLR* halladas en la población estudiada fueron buscadas en la base de datos Human Gene Mutation Database (HGMD®) y ClinVar (NCBI). Se utilizaron los predictores Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org>), Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>), Mutation Assessor (<http://mutationassessor.org/r3/>), y SIFT

(www. <http://sift.jcvi.org>), según correspondiera. El análisis del componente ancestral, para estimar el mestizaje de la población estudiada a partir de poblaciones parentales amerindias/europeas/africanas, se realizó utilizando el programa Admixture (<https://www.genetics.ucla.edu/software/admixture/>). La representación de la distribución de las muestras en un análisis de componentes principales (Principal Component Analysis, PCA) se efectuó utilizando el programa Plink (<http://pnu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>).

Análisis de secuencias InDel

El componente ancestral de las muestras analizadas se estudió aplicando el protocolo propuesto por Pereira y colaboradores. (11) Se utilizó un conjunto de 46 marcadores informativos de inserción/deleción incluyendo tres poblaciones parentales (africana, europea y nativo-americana). Todos los marcadores fueron analizados en fragmentos cortos (< 230 pb) mediante una única PCR, seguido de la separación de dichos fragmentos por electroforesis capilar. A partir de este análisis se estimó la composición ancestral de cada uno de los individuos estudiados por comparación con dichas poblaciones parentales.

Análisis estadístico

Las variables discretas se describieron como n y porcentaje; las variables continuas, mediante la media y la desviación estándar. Las comparaciones entre grupos se realizaron utilizando la prueba t de Student o la prueba de Wilcoxon para las variables continuas, y χ^2 de Pearson y prueba exacta de Fisher para las variables categóricas, según fuera apropiado. Se aceptó un p valor de 0,05 como límite de significancia estadística.

Consideraciones éticas

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado antes de la toma de muestras. Se utilizaron los datos provenientes de las historias clínicas de los pacientes o los obtenidos en un interrogatorio directo al momento de la toma de muestra. Durante todas las fases del estudio se mantuvo el anonimato de los pacientes y la confidencialidad de los resultados. El estudio se llevó a cabo con la aprobación del Comité de Bioética de la Fundación Favaloro.

RESULTADOS

Se analizaron 38 pacientes como casos índices de HF, con una edad promedio de $43,4 \pm 13,5$ años. La mayoría fueron de sexo masculino (68,4%). El puntaje DLCN promedio fue de $12,4 \pm 3,3$. Como otros factores de riesgo cardiovascular agregados a la presencia de dislipidemia, se observó hipertensión arterial en 7 pacientes (18,4%) y diabetes mellitus tipo II en 3 pacientes (7,9%). Tres pacientes refirieron ser tabaquistas activos (7,9%) y el mismo número refirió tener antecedentes de tabaquismo (7,9%). El antecedente de enfermedad cardiovascular en familiar de primer grado estuvo presente en el 65,8% de la población estudiada (25 pacientes). Con respecto al perfil lipídico, el nivel máximo de cLDL reportado por los pacientes (sin tratamiento farmacológico) fue de $322,3 \pm 82,7$ mg/dL. El colesterol HDL (cHDL) asociado a ese laboratorio fue de 48 ± 15 mg/dL, y la concentración de triglicéridos, de $134 \pm 55,7$ mg/dL. La mayoría de los pacientes (27; 71,2% del total estudiado) tuvieron mediciones de Lp(a), con un valor promedio de $113,9 \pm 113,2$. Solo

un paciente no recibía estatinas al momento del relevamiento, debido a intolerancia muscular. La estatina más utilizada fue la rosuvastatina, seguida por la atorvastatina y la simvastatina. Veintiocho pacientes estaban bajo tratamiento con ezetimibe 10 mg/día. Como drogas asociadas, 4 pacientes requerían colestiramina y otros 5 fenofibrato. Bajo este esquema de tratamiento, el cLDL promedio fue de $145,9 \pm 74,3$ mg/dL, el cHDL promedio de $50 \pm 14,7$ mg/dL, y los niveles promedio de triglicéridos fueron de $112,4 \pm 50,8$ mg/dL.

Con la secuenciación de los 18 exones codificantes y las regiones intrónicas adyacentes del gen *LDLR* se evidenciaron un total de 50 variantes, de las cuales 24 (48%) se consideraron patogénicas por los predictores utilizados y comprendieron 23 pacientes. En la Tabla 1 se resumen las características clínicas asociadas a la presencia de mutación en el gen *LDLR*.

En cuanto a la distribución de variantes a los largo del gen *LDLR*, el 25% se detectaron en el exón 4, el 16,7% en el exón 12, el 12,5% en el exón 13, el 12,5% en el exón 14, el 8,3% en el exón 10, y las restantes estuvieron distribuidas en los exones 8, 9 y 15, en el intrón 12 y en la región 5'UTR. (Figuras 1A y 1B). De ellas, 8 variantes (33,3%) no se hallaron reportadas en las bases de datos consultadas. (Tabla 2)

A partir del análisis de un panel de 46 marcadores informativos para ancestralidad de tipo InDel utilizando poblaciones de África, de Europa y de nativos americanos como poblaciones parentales, observamos que la población de individuos estudiados posee un componente ancestral predominantemente europeo (Figura 2).

DISCUSIÓN

En nuestra población, el 60,5% de los pacientes presentaron alguna mutación sobre el gen *LDLR*. En los estudios que han evaluado las causas genéticas de la HF, esta frecuencia varía entre diferentes series. (12, 13) Existen varias causas por las cuales el estudio de mutaciones en este gen puede dar resultado negativo. En primer lugar, cabe señalar que en los últimos años se han vinculado nuevos genes en el diagnóstico de la enfermedad. El gen *LDLRAP1* codifica una proteína adaptadora requerida para la captación hepática de las LDL, de modo que mutaciones de este gen explican una forma de HF con herencia autosómica recesiva. (14) De la misma manera, mutaciones del gen *STAP1*, posiblemente relacionado con la regulación de la producción de colesterol, genera formas clínicamente indistinguibles de la HF. (15) A su vez, se ha observado que la confluencia de variantes génicas incapaces de generar HF en forma monogénica pueden en conjunto dar un fenotipo similar; los genes comprometidos en este fenómeno han sido varios (*LIPA*, *APOE*, *ABCG5/8*). (16)

Es importante destacar que la mayor frecuencia de mutaciones se observó sobre el exón 4 del gen *LDLR* (Figura 1B), en coincidencia con lo referido en algunos estudios realizados en países europeos. (13,17) Este

	HF asociada a mutación del receptor LDL (n=23)	HF sin mutación del receptor LDL (n=15)	Valor p
Características clínicas			
Sexo masculino (%)	78,3%	33,3%	0,0007
Edad (años)	45,9 ± 12,5	39,6 ± 14,6	NS
Puntaje DLCN	12 ± 2,9	12,7 ± 3	NS
Factores de riesgo CVC			
Hipertensión arterial (%)	21,7	13,3	NS
Diabetes (%)	8,7	6,7	NS
Tabaquismo (%)	13	0	NS
Extabaquismo (%)	0	20	NS
Antec. hered. o familiares (%)	65,2	66,7	NS
Perfil lipídico			
cLDL (mg/dL)	338,8 ± 89,8	298,1 ± 66,6	NS
cHDL (mg/dL)	41,6 ± 8,4	57,4 ± 17,7	< 0,001
Triglicéridos (mg/dL)	149,5 ± 57	111,4 ± 50,4	0,04
Lp(a) (mg/dL)	71,7 ± 57	177,2 ± 147,2	0,02
Antecedentes personales de ECVC			
IAM	30,4	6,7	NS
ACV	4,3	0	NS
CRM	17,4	13,3	NS
ATC	21,7	6,7	NS
Ateromatosis SC carotídea	73,7	28,6	NS
Ateromatosis SC abdominal	42,1	28,6	NS
Ateromatosis SC en MMII	66,7	35,7	NS
Perfil lipídico bajo TTO			
cLDL (mg/dL)	159,1 ± 84,6	125,7 ± 51,6	NS
cHDL (mg/dL)	44,6 ± 10,7	58,4 ± 16,3	0,006
Triglicéridos (mg/dL)	127,6 ± 58,9	88,9 ± 20,1	0,03

ACV: Accidente cerebrovascular, ATC: Angioplastia transluminal coronaria, CRM: Cirugía de revascularización miocárdica, ECVC: enfermedad cardiovascular, DLCN: Dutch Lipid Clinic Network, IAM: Infarto agudo de miocardio, SC: subclínica, Lp(a): lipoproteína (a) pequeña, cLDL: colesterol de LDL, cHDL: colesterol de HDL, MMII: miembros inferiores; TTO: tratamiento.

Tabla 1. Características diferenciales de los pacientes con diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar asociadas a la presencia o ausencia de variantes patogénicas en el gen *LDLR*

dato es concordante con el análisis de ancestralidad. Los marcadores de ancestralidad son similares a los previamente publicados para la Argentina, lo que revela que nuestros pacientes con dislipidemia muestran un origen ancestral homogéneo en relación con la población del país. (18, 19)

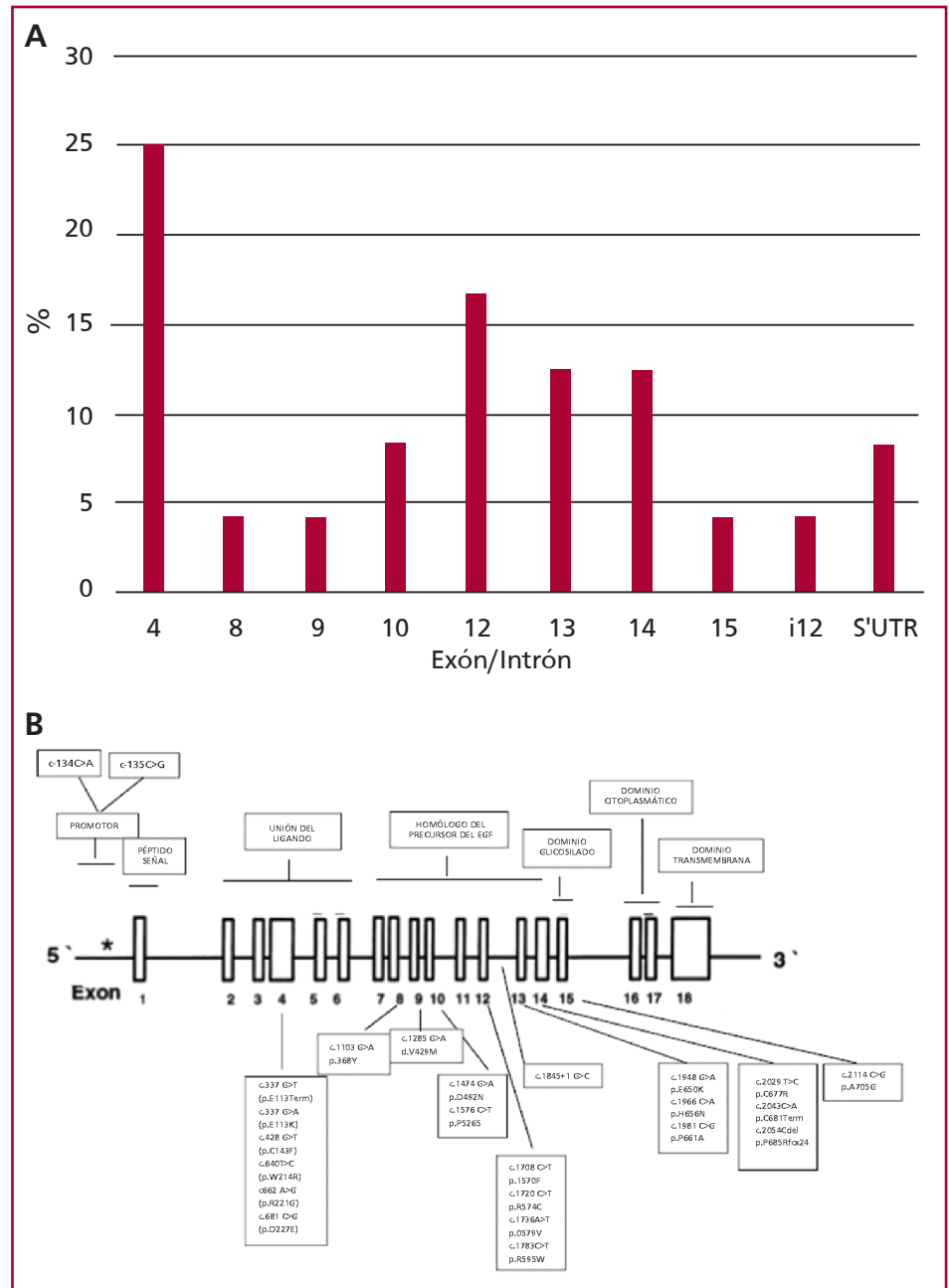
Las características clínicas de los pacientes portadores de mutación son de gran relevancia; en nuestro estudio, estos individuos mostraron un peor perfil de riesgo, aun con un puntaje diagnóstico similar. (Tabla 1) En este sentido, es importante destacar el estudio de Khera y colaboradores, (20) en el cual la presencia de mutaciones relacionadas con HF asociadas a niveles de cLDL > 190 mg/dL estuvo vinculada con un OR de 22,3 ($p < 0,0001$), comparados con los sujetos no portadores, con cLDL < 130 mg/dL. Además, el riesgo de padecer enfermedad coronaria fue de 2 a 3 veces mayor entre los que presentaron la mutación, comparados con los que no la presentaron, aun a niveles semejantes de cLDL. (20) Por este motivo, el hallazgo de mutaciones

responsables de HF está revelando un mayor riesgo para esta población.

Muchos pacientes portadores de HF están subdiagnosticados; consecuentemente, la implementación del análisis genético para la cascada familiar es una herramienta de buena relación costo/beneficio para el análisis de los familiares de primer grado. El tratamiento efectivo y temprano puede asociarse con una reducción del 75% del riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular a lo largo de la vida. (21)

La lipoproteína (a) pequeña (Lpa) es un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria. (22) Algunos estudios han sugerido que mutaciones en el gen *LDLR* podrían estar relacionadas con niveles plasmáticos elevados de Lp(a); en tal sentido, se ha informado que niveles elevados de Lp(a) tendrían similar contribución al riesgo de infarto de miocardio en aquellos individuos con HF que en los que no tienen HF. Los sujetos con niveles elevados de Lp(a) podrían contribuir desproporcionadamente al estimar la preva-

Fig. 1 A. Distribución porcentual de las variantes halladas del gen LDLR. **B.** Detalle topológico de la distribución de las variantes halladas en el gen LDLR.



lencia de HF si los niveles de Lp(a) no son medidos y su contribución al cLDL aparente no es tomada en cuenta. (23) Esta podría ser la causa por la cual observamos en nuestra población un aumento de Lp(a) en aquellos individuos sin mutación detectada.

Consideramos que la falta de estudio de los genes *APOB* y *PCSK9* constituye una limitación del presente análisis. Sin embargo, estas mutaciones son minoritariamente responsables de la enfermedad, ya que representan menos del 10% del total. (24) De hecho, otros grupos solo analizan mutaciones del gen *LDLR* en sus estudios poblacionales. (25, 26)

La detección de grandes desarreglos genéticos se realiza por medio de la técnica conocida como MLPA

(Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), lo cual complementa el diagnóstico cuando no se encuentran mutaciones puntuales. Si bien esta técnica no fue incluida en nuestro análisis, nuevamente, la presencia de este tipo de mutaciones es poco frecuente para explicar la HF, aunque es bien conocido su efecto deletéreo sobre la función normal de la proteína receptora de LDL. Este tipo de desarreglo genético representa el 1,4% en la base de datos del American College of Medical Genetics and Genomics. (25)

En conclusión, el hallazgo de nuevas variantes genéticas en una población de nuestro medio con diagnóstico clínico de HF resalta la importancia de continuar estudiando las bases genéticas de esta enfermedad en

Tabla 2. Descripción de las variantes nuevas del gen LDL

Variante	Predicción de efecto	Exon/ Intron	Tipo de variante	Mutation Taster/Polyphen 2/Sift	Clasificación ACMG	Ateromatosis Subclínica	Historia Clínica de ECV	Historia Familiar de ECV	LDL-C (mg/dl)	DLCN Puntaje
c.428 G>T	p.Cys143 Phe	e4	Sin sentido	Causal de enfermedad/ benigna/tolerada	Patogénica (Moderada)	NO	NO	SÍ	331	15
c.640 T>C	p.Trp214 Arg	e4	Sin sentido	Causal de enfermedad/ probablemente dañada/tolerada	Patogénica (Moderada)	SÍ (CAR/AORT/ MMI)	SÍ	SÍ	350	14
c.1708 C>T	p.Leu570 Phe	e12	Sin sentido	Causal de enfermedad/ benigna/tolerada	Patogénica (Moderada)	SÍ (CAR/AORT/ MMI)	SÍ	SÍ	349	12
c.1736 A>T	p.Asp579 Val	e12	Sin sentido	Causal de enfermedad/ probablemente dañada/deletérea	Patogénica (Moderada)	SÍ (CAR/AORT/ MMI)	NO	SÍ	356	15
c.1981 C>G	p.Pro661 Ala	e13	Sin Sentido	Causal de enfermedad/ benigna /tolerada	Patogénica (Moderada)	NE	SÍ	NO	441	17
c.2114 C>G	p.Ala705 Gly	e14	Sin sentido	Causal de enfermedad/ benigna/tolerada	Patogénica (Moderada)	NE	SÍ	NO	441	17
c.134 C>A	–	5'UTR	Regulatoria	Causal de enfermedad/ NA/NA	Patogénica (Moderada)	NO	NO	SÍ	267	11

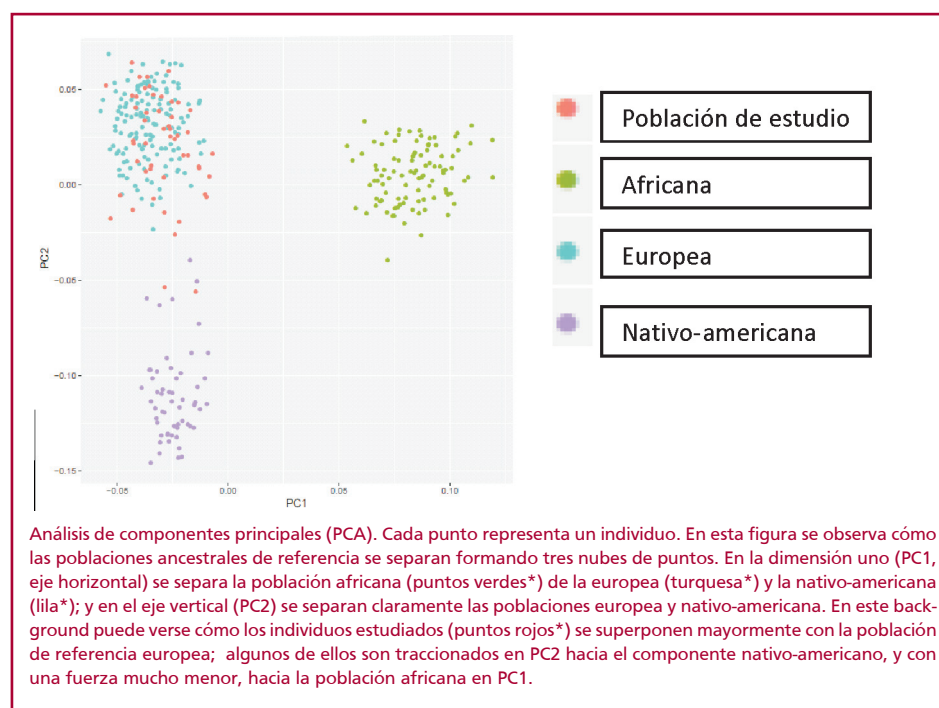


Fig. 2. Representación gráfica del componente ancestral del grupo de pacientes estudiado. * Véase figuras en colores en la versión on line del artículo (www.sac.org.ar)

la Argentina. Más aún, considerando que el análisis del componente ancestral demostró ser mayoritariamente europeo, se podría presumir erróneamente que la población portadora presenta un espectro de variantes génicas conocidas y estudiadas. La identificación de una variante génica puntual de cada caso índice facilitará el diagnóstico genético familiar en cascada con una metodología simplificada de bajo costo. Consideramos que la utilización de estos métodos diagnósticos puede ser de gran utilidad en la identificación temprana de pacientes portadores de HF, lo que puede contribuir a reducir el riesgo que estos individuos tienen de desarrollar esta patología metabólica.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses. (Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/ Material suplementario).

Agradecimientos

Queremos agradecer la colaboración de la Licenciada en Ciencias Biológicas María Laura Parolín, por su aporte en el análisis de datos de ancestralidad, y la de la Licenciada en Ciencias Biológicas Luciana Kaeser, por su intervención en el diseño de las estrategias de secuenciación y análisis de secuencias.

BIBLIOGRAFÍA

- Goldstein JI, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell* 2015;161:161-72. <http://doi.org/cmsr>
- Stenson PD, Mort M, Ball EV, Shaw K, Phillips A, Cooper DN. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. *Hum Genet* 2014;133:1-9. <http://doi.org/cmsr>
- Nordesgaard BG, Chapman M, Humphries F, Ginsberg H, Masana L, Descamps O, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. *Eur Heart J* 2013;34:3478-90a. <http://doi.org/f23skm>
- Brønne I, Kleinecke M, Reiz B, Graf E, Strom T, Wieland T, et al. Systematic analysis of variants related to familial hypercholesterolemia in families with premature myocardial infarction. *Eur J Hum Genet* 2016;24:191-7. <http://doi.org/f8bgcd>
- Mibikay M, Mayne J, Chrétien M. Proprotein convertases subtilisin/kexin type 9, an enzyme turned escort protein: hepatic and extra hepatic functions. *J Diabetes* 2013;5:391-405. <http://doi.org/f5p9jh>
- Benito-Vicente A, Alves AC, Etxebarria A, Medeiros AM, Martin C, Bourbon M. The importance of an integrated analysis of clinical, molecular and functional data for the genetic diagnosis of Familial Hypercholesterolemia. *Genet Med* 2015;17:980-8. <http://doi.org/f72hs6>
- Soutar AK. Rare genetic causes of autosomal dominant or recessive hypercholesterolaemia. *IUBM Life* 2010;62:125-31. <http://doi.org/bkxwx>
- Defesche JC, Lansberg PJ, Umans-Eckenhausen MA, Kastelein JJ. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med* 2004;4:59-65. <http://doi.org/fp68vb>
- 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2016; 37:2999-3058. <http://doi.org/f3rw5f>
- Stenson PD, Mort M, Ball EV, Shaw K, Phillips A, Cooper DN. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. *Hum Genet* 2014;133:1-9. <http://doi.org/cmsr>
- Pereira R, Phillips C, Pinto N, Santos C, Santos SE, Amorim A, et al. Straightforward Inference of Ancestry and Admixture Proportions through Ancestry-Informative Insertion Deletion Multiplexing. *PLoS ONE* 2012;7:e29684. <http://doi.org/fz3gvg>
- Sharifi M, Walus-Miarka M, Idzior-Walus B, Malecki M, Sanak M, Whittall R, et al. The genetic spectrum of familial hypercholesterolemia in south-eastern Poland. *Metabolism* 2016;65:48-53. <http://doi.org/f8b44r>
- Grenkowitz T, Kassner U, Wühle-Demuth M, Salewsky B, Rosada A, Zemojtel T, et al. Clinical characterization and mutation spectrum of German patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2016;253:88-93. <http://doi.org/f9fz7p>
- Fellin R, Arca M, Zuliani G, Calandra S, Bertolini S. The history of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH). From clinical observations to gene identification. *Gene* 2015;555:23-32. <http://doi.org/f8k9r8>
- Fouchier SW, Dallinga-Thie GM, Meijers JC, Zelcer N, Kastelein JJ, Defesche JC, et al. Mutations in STAP1 are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Circ Res* 2014;115:552-5. <http://doi.org/f6f3sg>
- Hegele RA. Improving the Monitoring and Care of Patients With Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:1286-8. <http://doi.org/cmss>
- Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004;160:407-20. <http://doi.org/b996b9>
- Corach D, Lao O, Bobillo C, van Der Gaag K, Zuniga S, Vermeulen M, et al. Inferring continental ancestry of argentineans from Autosomal, Y-chromosomal and mitochondrial DNA. *Ann Hum Genet* 2010;74:65-76. <http://doi.org/fcc55b>
- Toscanini U, Gusmão L, Berardi G, Gomes V, Amorim A, Salas A, y col. 2011. Male lineages in South American native groups: evidence of M19 traveling south. *Am J Phys Anthropol* 2011;146:188-96. <http://doi.org/cb3mq8>
- Khera AV, Won HH, Peloso G, Lawson K, Bartz T, Deng X, et al. Diagnostic yield and clinical utility of sequencing familial hypercholesterolemia genes in patients with severe hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:2578-89. <http://doi.org/f8qdd3>
- Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ* 2008;337:a2423. <http://doi.org/b8mj7c>
- Nordesgaard BG, Chapman JM, Ray K, Boren J, Andreotti F, Watts G, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J* 2010, 2844-53. <http://doi.org/fs473j>
- Langsted A, Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard B. High lipoprotein(a) as a possible cause of clinical familial hypercholesterolaemia: a prospective cohort study. *Lancet Diab Endocrinol* 2016;4:577-87. <http://doi.org/f8snwj>
- Bourbon M, Alves A, Sijbrands E. Low-density lipoprotein receptor mutational analysis in diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2017; 28:120-9. <http://doi.org/f92x75>
- Vaca G, Vázquez A, Magaña MT, Ramirez ML, Dávalos I, Martinez E, et al. Mutational analysis of the LDL receptor and APOB genes in Mexican individuals with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2011; 218:391-6. <http://doi.org/bkf4b6>
- Ahmed W, Whittall R, Riaz M, Ajmal M, Sadeque A, Ayub H, et al. The genetic spectrum of familial hypercholesterolemia in Pakistan. *Clin Chim Acta* 2013; 421:219-25. <http://doi.org/f42v6g>