



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA MÉDICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR E
INMUNOLOGÍA

IMPLICACIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO EN LA DETECCIÓN PRECOZ DE DISLIPEMIAS GENÉTICAS EN ATENCIÓN PRIMARIA

Tesis Doctoral

Begoña Gallardo Alguacil

Directora de Tesis **Dra Teresa Arrobas Velilla**

Tutor de Tesis **Dr Víctor Sánchez Margalet**

Sevilla, 2021



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA MÉDICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR E
INMUNOLOGÍA

**IMPLICACIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO EN LA
DETECCIÓN PRECOZ DE DISLIPEMIAS GENÉTICAS EN
ATENCIÓN PRIMARIA**

Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Química por la
Graduada Begoña Gallardo Alguacil

Vº Bº La directora

Vº Bº El tutor

Dra Teresa Arrobas Velilla

Dr Víctor Sánchez Margalet

El doctorando

Begoña Gallardo Alguacil

Sevilla, 2021

Dra. TERESA ARROBAS VELILLA, Facultativa especialista y Responsable de la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular, perteneciente al Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral Titulada **“Implicación del laboratorio clínico en la detección precoz de dislipemias genéticas en atención primaria”** realizada por Doña Begoña Gallardo Alguacil dentro del programa de Doctorado de *“Biología Molecular, Biomedicina e Investigación Clínica”* en la línea de *Investigación Clínica*, ha sido llevado a cabo bajo mi dirección en el Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena, reuniendo a mi juicio las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor en Química ante el tribunal correspondiente en la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Vº Bº La directora

Dra Teresa Arrobas Velilla

Dr. VÍCTOR SÁNCHEZ MARGALET, Catedrático del Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología de la Universidad de Sevilla, CERTIFICA, que Doña Begoña Gallardo Alguacil cumple con los requisitos académicos (R.D. 99/2011) para optar el Grado a Doctor.

Vº Bº El Tutor

Dr Víctor Sánchez Margalet

Sevilla, 2021

A mis padres

**IMPLICACIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO EN LA
DETECCIÓN PRECOZ DE DISLIPEMIAS GENÉTICAS
EN ATENCIÓN PRIMARIA**

Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la implicación y ayuda de numerosas personas a las que me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, a mi directora de tesis, la Dra Teresa Arrobas Velilla, gracias por concederme la oportunidad de realizar esta tesis contigo, por implicarte conmigo desde el primer momento, por enseñarme y por formarme en este campo, antes desconocido para mi, por tu amistad y cercanía. Estaré siempre eternamente agradecida.

En segundo lugar agradecerle a mi tutor de tesis, el Dr Víctor Sánchez Margalet su disponibilidad para poder acceder al programa de doctorado.

En tercer lugar, y no por ello menos importante, me gustaría agradecer al Dr Fernando Fabiani que me dirigiera hacia este camino cuando no tenía muy claro que quería hacer y por su implicación para que todo siguiera adelante. Sólo puedo decir, muchísimas gracias.

También me gustaría agradecer al Dr Ramón Pérez Temprano la implicación que ha tenido tanto en este trabajo, como conmigo personalmente y la ayuda que me ha brindado. He aprendido mucho de ti. Muchas gracias.

Agradecer también la colaboración y supervisión de pacientes a otros grandes profesionales, la Dra Mar Martínez Quesada y el Dr Miguel Ángel Rico. A la Dra Flora Sánchez y a Paqui, por realizar todos los análisis genéticos y por ayudarme a entender tan bien esa parte. A Maica, Isabel, Lola, Ita y Ana, por su gran trabajo, por su disponibilidad y por su simpatía.

Quisiera agradecer a la Dra María José Ariza y al Dr Jose Rioja, al Laboratorio de Lípidos y Arteriosclerosis y al Centro de Investigaciones Médico-Sanitarias por su implicación para realizar los diagnósticos genéticos de hiperquilomicronemia con la financiación I+D+i Biomédica y en Ciencias de la Salud en Andalucía, obtenida para el proyecto “Aplicación de métodos de secuenciación de nueva generación o NGS para el diagnóstico molecular del síndrome de quilomicronemia familiar” otorgado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.

Por último, me gustaría agradecer al Laboratorio de Gen in Code los servicios prestados y en especial a Juan Domingo y a Marta por su disponibilidad y especial ayuda para interpretar todos los resultados con sus análisis.

Gracias a todos aquellos que habéis contribuido a que se realizara esta tesis.

Finalmente, me gustaría dar las gracias a la parte más importante de mi vida. A mi familia, en especial a mis padres, gracias por vuestro cariño y apoyo incondicional, por guiarme siempre en todo y por dejarme el mayor regalo y herencia, una buena educación. Gracias a mis hermanos, Jose y Pedro, por ayudarme siempre y hacerme enfadar y reír en el mismo momento. Por eso y mucho más, os quiero.

Gracias también a Paco, por apoyarme siempre y sobre todo aguantarme, sobre todo en la recta final, gracias por tus ánimos y por tu paciencia siempre que lo necesito.

Índice

ÍNDICE

ÍNDICE	7
RESUMEN	15
RESUMEN DE FIGURAS	21
RESUMEN DE TABLAS	26
ABREVIATURAS	29
INTRODUCCIÓN	35
1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ARTERIOSCLERÓISIS:	35
1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA ARTERIOSCLERÓISIS:.....	35
1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN ESPAÑA:.....	39
2. FACTORES DE RIESGO:	43
3. LIPOPROTEÍNAS Y METABOLISMO LIPÍDICO:	47
4. DISLIPEMIAS:	51
4.1. DISLIPEMIAS PRIMARIAS:	51
4.2. DISLIPEMIAS SECUNDARIAS:.....	53
5. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINÉMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:	57
5.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:	59
5.2. RIESGO CARDIOVASCULAR DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:	62
5.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:	64
5.4. INFRADIAGNOSTICO E INFRATRATAMIENTO DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:	66
5.5. CLÍNICA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:	68
5.6. MARCADORES BIOQUÍMICOS (cLDL, ApoB, Lp(a) y ApoE):.....	72
5.7. HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO Y GENÉTICA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y LA HIPERQUILOMICRONEMIA:.....	75
5.8. ESTRATEGIAS DE CRIBADO PARA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR Y DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:	87

OBJETIVOS	105
1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:.....	105
2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN:	107
3. HIPÓTESIS:	107
4. OBJETIVOS:	108
PACIENTES Y MÉTODOS	111
1. POBLACIÓN Y ÁMBITO:.....	111
2. TIPO DE ESTUDIO:.....	112
3. TIPOS DE VARIABLES:.....	113
4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:.....	113
5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: 114	
6. DISEÑO DEL ESTUDIO:.....	116
6.1. ESTUDIO RETROSPECTIVO PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	116
6.2. ESTUDIO PROSPECTIVO PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR O HIPERQUILOMICRONEMIA:	117
6.3. CONTACTO TELEFÓNICO CON PACIENTES Y DERIVACIÓN PRIORITARIA A UNIDAD DE LÍPIDOS:	124
6.4. CONSULTA CLÍNICA DEL PACIENTE EN LA UNIDAD DE LÍPIDOS:	125
6.5. ESTUDIO GENÉTICO:	127
6.5.1. FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:	127
6.5.2. TOMA DE MUESTRAS:	128
6.5.3. SOLICITUD DE ESTUDIO GENÉTICO:	129
6.5.3.1. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	129
6.5.3.2. DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:	130
6.5.3.3. HIPERQUILOMICRONEMIA:	130
6.5.4. OBTENCIÓN DE RESULTADOS:	130
6.5.4.1. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	130
6.5.4.2. DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:	133
6.5.4.3. HIPERQUILOMICRONEMIA:	134
6.5.5. COMUNICACIÓN DE RESULTADOS DE ESTUDIO GENÉTICO:.....	135
6.6. CRIBADO EN CASCADA:	135

7. ELABORACIÓN DE BASE DE DATOS Y RECOGIDA DE DATOS:	136
8. PERFIL DE RIESGO VASCULAR:	141
8.1. SOLICITUD:	141
8.2. MÉTODOS ANALÍTICOS:	143
8.3. SEPARACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS POR ULTRACENTRIFUGACIÓN:	144
8.3.1. ULTRACENTRIFUGACIÓN SECUENCIAL PARA HIPERLIPEMIAS GRAVES:	146
8.3.2. INMUNONEFELOMETRÍA:	149
8.4. DETERMINACIÓN QUÍMICA DE PARÁMETROS:	149
8.4.1. COLESTEROL TOTAL:	149
8.4.2. TRIGLICÉRIDOS:	150
8.4.3. cHDL:	151
8.4.4. cLDL:	151
8.4.5. Lp(a), APOA, APOB100, PCR ULTRASENSIBLE Y FIBRINÓGENO:	152
9. SECUENCIACIÓN DE SANGER PARA DIAGNÓSTICO DE DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:	152
9.1. PCR PRIMARIA:	152
9.2. PURIFICACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR:	154
9.3. PCR SECUNDARIA O DE SECUENCIACIÓN:	155
9.4. PURIFICACIÓN CON RESINA:	156
9.5. SECUENCIACIÓN CON ABI3130:	156
RESULTADOS	159
1. ESTUDIO RETROSPECTIVO:	159
2. ESTUDIO PROSPECTIVO:	159
3. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	160
3.1. CASOS ÍNDICE CON VISITA PRIORIZADA EN UNIDAD DE LÍPIDOS:	160
3.1.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:	160
3.1.2. CASOS ÍNDICE CON ANALÍTICA CONTROL A LAS 4 SEMANAS:	165
3.1.3. ESTUDIOS GENÉTICOS CASOS ÍNDICE:	169
3.1.3.1. PUNTUACIÓN CLÍNICAS HOLANDEASAS Y GENES RLDL, APOB, PCSK9, APOE Y STAP1:	169
3.1.3.2. HIPERCOLESTEROLEMIA POLIGÉNICA Y cLDL SCORE:	173
3.1.3.3. FACTORES GENÉTICOS Y RIESGO CARDIOVASCULAR. Cic SCORE:	174
3.1.3.4. HIPERCOLESTEROLEMIA AUTOSÓMICA RECESIVA Y DÉFICIT DE LIPASA ÁCIDA LISOSOMAL. GENES LDLRAP1 Y LIPA:	175
3.1.3.5. NIVELES PLASMÁTICOS ELEVADOS DE LP(A). GEN LPA:	176

3.1.3.6.	FARMACOGENÉTICA DE RESPUESTA A ESTATINAS. GEN SLCO1B1, HMGCR, ABCB1:	178
3.2.	CRIBADO EN CASCADA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	179
3.2.1.	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:	180
3.2.2.	CRIBADO GENÉTICO:	183
4.	DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:	185
4.1.	CASOS ÍNDICE CON SOSPECHA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	185
4.1.1.	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:	185
4.1.2.	ESTUDIOS GENÉTICOS:	190
4.1.3.	COMPARATIVA DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	193
4.2.	CRIBADO EN CASCADA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	197
4.2.1.	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:	197
4.2.2.	ESTUDIOS GENÉTICOS:	201
4.2.3.	COMPARATIVA DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	205
4.2.4.	ÁRBOLES GENEALÓGICOS:	208
5.	HIPERQUILOMICRONEMIA:	209
5.1.	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:	209
5.2.	DETERMINACIÓN DE LOS COCIENTES TG/CT Y TG(QM)/TG(VLDL) Y ANÁLISIS GENÉTICO:	210
5.3.	VALORACIÓN DEL COCIENTE TG/CT Y TG(QM)/TG(VLDL) PARA LA DETECCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE HIPERQUILOMICRONEMIA:	211
	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	215
1.	VALORACIÓN DE LA IMPLICACIÓN DEL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON DISLIPEMIAS:	215
2.	POBLACIÓN CON SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:	219
2.1.	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS LIPÍDICOS PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES Y DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE RIESGO VASCULAR:	219
2.2.	DERIVACIÓN PRIORITARIA, TRATAMIENTO HIPOLEMIANTE Y OBJETIVOS TERAPÉUTICOS:	222
2.3.	ESTUDIOS GENÉTICOS:	224
2.4.	CRIBADO EN CASCADA:	230
3.	POBLACIÓN CON SOSPECHA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	232
3.1.	EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE RIESGO VASCULAR:	233

3.2.	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS LIPÍDICOS PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES Y RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS LIPÍDICOS Y COCIENTE cVLDL/TG:	234
3.3.	ESTUDIOS GENÉTICOS, COMPARACIÓN DEL GENOTIPO CON PARÁMETROS LIPÍDICOS Y CRIBADO EN CASCADA:	237
3.4.	COMPARATIVAS DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:	239
4.	POBLACIÓN CON SOSPECHA DE HIPERQUILOMICRONEMIA FAMILIAR:.....	240
	CONCLUSIONES	245
	ANEXOS.....	249
1.	ANEXO 1: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN	249
2.	ANEXO 2: MODIFICACIÓN 1 APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN ..	251
3.	ANEXO 3: MODIFICACIÓN 2 COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN:.....	253
	BIBLIOGRAFÍA	257

Resumen

RESUMEN

TÍTULO: Implicación del laboratorio clínico en la detección precoz de dislipemias genéticas en atención primaria

INTRODUCCIÓN: Las enfermedades cardiovasculares están consideradas como la principal causa de morbimortalidad tanto en España como a nivel mundial y cuya presencia se encuentra relacionada de forma muy estrecha con la arteriosclerosis. La arteriosclerosis se incrementa ante la presencia de partículas remanentes como el cLDL y el cVLDL, característicos de patologías como son la Hipercolesterolemia Familiar (HF) y la disbetalipoproteinemia familiar respectivamente. Las enfermedades lipídicas de origen genético pueden producir otro tipo de patologías que conllevan la muerte del paciente como es la pancreatitis producida por concentraciones incrementadas de quilomicrones, como el síndrome de hiperquilomicronemia. A pesar de que la HF es una enfermedad actualmente muy conocida y prevalente en comparación con las otras dos mencionadas, la mayor parte de pacientes con dichas patologías se encuentran mal diagnosticados o sin diagnosticar debido a la ausencia de instauración de programas de cribado, por lo que se requieren nuevas alternativas.

OBJETIVOS: Detección precoz desde el laboratorio clínico de pacientes con posibles dislipemias genéticas mediante la implementación de un sistema de alertas analíticas y algoritmos diagnósticos en el sistema informático de laboratorio (SIL) al médico petionario facilitando una derivación prioritaria al clínico especialista para estudio mas exhaustivo y valorar el cumplimiento de objetivos terapéuticos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se trata de un estudio observacional en el que se ha realizado un análisis retrospectivo para la captación de pacientes con sospecha de Hipercolesterolemia familiar y un análisis prospectivo en el que se han captado pacientes con sospecha de HF, disbetalipoproteinemia y del síndrome de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial mediante parámetros lipídicos registrado en el SIL, como son las concentraciones de cLDL > 250 mg/dl, el cociente cVLDL/TG > 0.3 y las concentraciones de TG > 1000 mg/dl junto con el cociente TG(QM)/TG(VLDL), respectivamente.

La población con sospecha de HF (N=133) ha sido derivada prioritariamente a consulta con el especialista en lípidos, donde se les ha modificado adecuadamente el tratamiento hipolipemiante y se les ha aplicado la Puntuación de las Clínicas Holandesas para determinar la probabilidad de padecer HF. A aquellos con puntuación > 6 puntos (N=73) se les han realizado estudios genéticos para su confirmación, además de un cribado en cascada genético en 21 familiares. La población con sospecha de disbetalipoproteinemia (N=9) detectada a través del cociente determinado por ultracentrifugación fue derivada también a consulta con el especialista, quién le solicitó la realización de estudios genéticos para confirmación de dicho diagnóstico, realizando un cribado en cascada en dos familias (N=33) para su confirmación, además de verificar que el cociente empleado para su captación es el más adecuado en comparación con otros descritos previamente en la literatura. La población con sospecha con síndrome de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial (N=12) detectada por el cociente determinado mediante protocolo de ultracentrifugación, se le realizó un análisis genético para su confirmación.

RESULTADOS: Una primera intensificación de tratamiento en pacientes con sospecha de HF consiguió que el 74.4% alcanzara objetivos terapéuticos y un 79% presentó más de 6 puntos según la puntuación de las clínicas holandesas, lo que fomentó que de los casos detectados mediante estudio genético, se confirmaran que el 44% presentaba una mutación característica de la patología (correspondiendo el 97% de mutaciones al gen RLDL), un 25% presentaban mutaciones de significado clínico incierto y un 31% fueron negativos, de los cuales, el 78% presentaba una hipercolesterolemia muy penetrante de origen poligénico cuyo riesgo cardiovascular era exacerbado asociado a dichas mutaciones. El análisis genético en cascada para casos confirmados de HF y algunos casos con mutaciones de significado clínico incierto confirmó un 85.7% de casos positivos y un 4.8% presentaba las mismas mutaciones de significado clínico incierto que los casos índices. De la población con sospecha de disbetalipoproteinemia se confirmaron genéticamente a un 22.2% de los pacientes con fenotipo E2/E2, además de variaciones en las isoformas de la APOE en el 66.6% que indujeron variaciones en el cociente cVLDL/TG. Dicho cociente presentó la misma sensibilidad que el cociente TG/cHDL > 2, pero una mayor especificidad que el resto de cocientes descritos. El análisis en cascada inversa realizado para los dos casos positivos de disbetalipoproteinemia

promovió la confirmación genética del 21.2% de los pacientes con fenotipo E2/E2 y detectó un 60.6% de familiares con fenotipo E2/E3. Esta patología, cuya manifestación se asocia a la presencia de una serie de factores presenta una mayor dificultad de detección a través del cociente cVLDL/TG en los familiares (27.6% presentaron valores > 0.2 pero < 0.3). De la población captada por sospecha de hiperquilomicronemia se capturaron dos pacientes con diagnóstico genético positivo para el síndrome de hiperquilomicronemia familiar y un paciente con mutación asociada a hipertrigliceridemia.

CONCLUSIONES: La implementación de nuevos algoritmos diagnósticos y alertas en analíticas en atención primaria es un método efectivo para la detección de patologías lipídicas de origen genético como son la hipercolesterolemia familiar, la disbetalipoproteinemia y el síndrome de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial, que junto con los correspondientes análisis genéticos y segregación familiar fomentan el alcance de objetivos terapéuticos y el decremento de eventos cardiovasculares y pancreatitis.

Resumen de Figuras, Tablas y Abreviaturas

RESUMEN DE FIGURAS

Figura 1. Formación progresiva de la placa aterosclerótica

Figura 2. Mecanismo de formación de depósitos lipídicos

Figura 3. Mecanismo de captación de cLDL oxidado por los macrófagos

Figura 4. Porcentaje de población de entre 30 y 70 años fallecida en 2012 por ECV

Figura 5. Clasificación ECV por sexo en 2017 y 2018

Figura 6. Clasificación ECV por rango de edad en 2017 y 2018

Figura 7. Prevalencia de ECV por comunidad autónoma

Figura 8. Clasificación de ECV por comunidad autónoma

Figura 9. Hipercolesterolemia familiar y riesgo vascular

Figura 10. Estructura de las lipoproteínas

Figura 11. Metabolismo exógeno

Figura 12. Metabolismo endógeno

Figura 13. Transporte reverso del colesterol

Figura 14. Metabolismo lipídico regulado por enzimas y hormonas

Figura 15. Fisiopatología del síndrome nefrótico

Figura 16. Ciclo celular del RLDL

Figura 17. Degradación del RLDL por PCSK9

Figura 18. Signos clínicos de HF en el cuadro de la Mona Lisa de Leonardo da Vinci

Figura 19. Signos clínicos característico HF **A)** Xantomas tendinosos tendón de Aquiles; **B)** Xantomas tendinosos extensores de la mano; **C)** Arco corneal completo en varón < 45 años; **D)** Xantomas eruptivos en manos y rodillas en niño de 5 años

Figura 20. Signos clínicos característicos de la disbetalipoproteinemia. **A)** Xantomas en codo izquierdo de 2-3 mm **B)** Xantomas tuboeruptivos **C)** Xantomas tuboeruptivos en codos **D)** Xantomas tuboeruptivos rodillas

Figura 21. Electroforésis en gel de gradiente de poliacrilamida no desnaturizante de paciente con disbetalipoproteinemia

Figura 22. Gen RLDL

Figura 23. Rango de concentraciones de cLDL en pacientes con HF en función de los defectos monogénicos

Figura 24. Gen ApoE

Figura 25. Informe genético hipercolesterolemia familiar Gen inCode

Figura 26. Informe genético genotipo APOE

Figura 27. Informe genético Hiperquilomicronemia familiar

Figura 28. Solicitud de perfil de riesgo vascular

Figura 29. Separación de lipoproteínas por ultracentrifugación

Figura 30. Distribución de la población con sospecha de HF según edad

Figura 31. Relación factores de RCV y presencia de ECV precoz

Figura 32. Concentración parámetros bioquímicos preconsulta casos índice HF

Figura 33. Clasificación del tratamiento preconsulta y postconsulta según intensidad

Figura 34. Distribución de pacientes en función del alcance de objetivos con y sin analítica

Figura 35. Relación entre la intensidad de tratamiento hipolipemiente y el alcance de objetivos terapéuticos en pacientes con y sin analítica control

Figura 36. Relación entre factores de RCV y presencia de ECV precoz en casos índice con sospecha de HF con analítica control

Figura 37. Distribución parámetros bioquímicos de pacientes preconsulta y postconsulta

Figura 38. Distribución concentración cLDL postconsulta por rangos

Figura 39. Relación entre concentración de cLDL y partículas de sdLDL y de Lpa(a) y partículas de sdLDL

Figura 40. Diagnóstico HF en función de la Escala de Puntos Holandesa en pacientes con estudio genético solicitado

Figura 41. Resultado estudios genéticos casos índice con sospecha de HF

Figura 42. Relación diagnóstico genético HF Vs diagnóstico Puntuación Clínicas Holandesas

Figura 43. Distribución porcentual de genes según diagnóstico genético positivo y no concluyente

Figura 44. Relación porcentual entre cálculo cLDL score > 1.09 y diagnóstico genético de HF

Figura 45. Relación entre el riesgo genético coronario y el diagnóstico genético de HF

Figura 46. Relación entre diagnóstico genético para la HF, cálculo cLDL Score y Cic Score

Figura 47. Distribución porcentual entre diagnóstico genético de HF y mutación en gen LPA

Figura 48. Relación entre diagnóstico genético de HF, cLDL Score y mutación en gen LPA

Figura 49. Distribución porcentual de genes con variantes influyentes en la respuesta a estatinas

Figura 50. Relación entre diagnóstico genético y número de variantes genéticas asociadas a respuesta con estatinas

Figura 51. Factores de RCV y presencia de ECV precoz en familiares con posible HF

Figura 52. Parámetros bioquímicos familiares con sospecha de HF

Figura 53. Relación entre concentración de cLDL y Lp(a) con sdLDL

Figura 54. Diagnóstico según Puntuación Clínicas Holandesas de familiares con sospecha de HF

Figura 55. Diagnóstico genético familiares con sospecha de HF

Figura 56. Relación entre diagnóstico por Puntuación Clínicas Holandesas y diagnóstico genético

Figura 57. Prevalencia de variantes genéticas en familiares con resultado genético positivo para HF

Figura 58. Distribución de eventos cardiovasculares en casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 59. Parámetros bioquímicos casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

Figura 60. Porcentaje de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia según cociente cVLDL/TG

Figura 61. Influencia de concentración de parámetros lipídicos y cociente cVLDL/TG en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 62. Resultados genéticos genotipo APOE casos índice

Figura 63. Relación entre genotipo APOE y factores de RCV

Figura 64. Influencia del fenotipo de APOE en los parámetros lipídicos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 65. Captación de pacientes en función de fenotipo y cocientes y algoritmos diagnósticos

Figura 66. Distribución de eventos cardiovasculares en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 67. Parámetros bioquímicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

Figura 68. Porcentaje de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia en familiares según cociente cVLDL/TG

Figura 69. Influencia de concentración de parámetros lipídicos y cociente cVLDL/TG en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 70. Resultados genéticos genotipo APOE familiares

Figura 71. Relación cociente cVLDL/TG y fenotipo APOE en familiares

Figura 72. Relación entre genotipo APOE y factores de RCV en familiares

Figura 73. Influencia del fenotipo de APOE en los parámetros lipídicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Figura 74. Captación de familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia en función de fenotipo y cocientes y algoritmos diagnósticos

Figura 75. Familia 1 con disbetalipoproteinemia

Figura 76. Familia 2 con disbetalipoproteinemia

RESUMEN DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las placas ateroscleróticas en función de sus características

Tabla 2. Clasificación de defunciones por ECV por sexo en 2017 y 2018

Tabla 3. Clasificación factores de riesgo cardiovascular

Tabla 4. Clasificación de las lipoproteínas

Tabla 5. Clasificación fenotípica de dislipemias

Tabla 6. Clasificación de dislipemias primarias

Tabla 7. Clasificación de dislipemias primarias según genotipo y fenotipo

Tabla 8. Factores que influyen en la prevalencia individual por países

Tabla 9. Lista de obstáculos que fomentan el infratratamiento

Tabla 10. Determinaciones lipídicas según objetivo clínico

Tabla 11. Cocientes y algoritmos para el diagnóstico de disbetalipoproteinemia

Tabla 12. Isoformas ApoE

Tabla 13. Criterio de Simon Broome para el diagnóstico de la HF

Tabla 14. Criterio MedPed para el diagnóstico de la HF

Tabla 15. Criterio de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas para el diagnóstico de HF.

Tabla 16. Sistema de puntuación Montreal-FH-SCORE para evaluación de RCV

Tabla 17. Indicaciones para la realización de estudios genéticos en pacientes con sospecha clínica de HFHe

Tabla 18. Score para la captación de pacientes con hiperquilomicronemia familiar

Tabla 19. Clasificación del riesgo cardiovascular

Tabla 20. Variantes genéticas analizadas para determinación de hipercolesterolemia familiar

Tabla 21. Clasificación en función de intensidad tratamiento hipolemiante

Tabla 22. Condiciones programadas en el termociclador para amplificación ADN en PCR primaria

Tabla 23. Condiciones programadas en el termociclador para amplificación ADN en PCR de secuenciación

Tabla 24. Relación en porcentaje de factores de RCV y presencia de ECV precoz

Tabla 25. Concentración y desviación estándar de parámetros bioquímicos preconsulta casos índice HF

Tabla 26. Distribución en porcentaje del tratamiento de pacientes en función de la intensidad

Tabla 27. Relación porcentual entre el alcance de objetivos terapéuticos postconsulta en pacientes con y sin analítica control y la intensidad de tratamiento hipolemiante

Tabla 28. Resultados porcentuales de relación entre factores de RCV y presencal de ECV prematura en casos con sospecha de HF con analítica control

Tabla 29. Resultados parámetros bioquímicos medios y desviación estándar preconsulta y postconsulta

Tabla 30. Resultados en porcentaje de estudios genéticos en función de la Puntuación de las Clínicas Holandesas

Tabla 31. Resultados en porcentaje de factores de RCV en familiares con posible HF

Tabla 32. Concentración media de parámetros bioquímicos de familiares con sospecha de HF

Tabla 33. Relación porcentual entre diagnóstico por Puntuación Clínicas Holandesas y diagnóstico genético

Tabla 34. Concentración media parámetros bioquímicos casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

Tabla 35. Descripción población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

Tabla 36. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia en función del cociente cVLDL/TG

Tabla 37. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en función del fenotipo en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

Tabla 38. Porcentaje de pacientes clasificados según fenotipo que cumplen criterios bioquímicos de disbetalipoproteinemia familiar

Tabla 39. Valoración de cocientes y algoritmos para la detección de disbetalipoproteinemia

Tabla 40. Concentración media parámetros bioquímicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

Tabla 41. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia en función del cociente cVLDL/TG

Tabla 42. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en función del fenotipo en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

Tabla 43. Porcentaje de familiares clasificados según fenotipo que cumplen criterios bioquímicos de disbetalipoproteinemia familiar

Tabla 44. Valoración de cocientes y algoritmos para la detección de disbetalipoproteinemia en familiares

Tabla 45. Parámetros lipídicos población con sospecha de hiperquilomicronemia

Tabla 46. Cocientes y genética hiperquilomicronemia

Tabla 47. Variantes genéticas en pacientes positivos síndrome hiperquilomicronemia

Tabla 48. Valoración de los cocientes para la captación de pacientes con síndrome de hiperquilomicronemia

ABREVIATURAS

- **4-AP:** 4-aminofenazona
- **ACAT1:** Enzima acil coenzima A colesterol transferasa 1
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **AMPc:** Adenosin Monofosfato cíclico
- **ApoA-I:** Apolipoproteína A-1
- **ApoA-V:** Apolipoproteína A-5
- **ApoA-4:** Apolipoproteína A-4
- **ApoB-100:** Apolipoproteína B-100
- **ApoB-48:** Apolipoproteína B-48
- **ApoC-II:** Apolipoproteína C-2
- **ApoC-III:** Apolipoproteína C-3
- **ApoE:** Apolipoproteína E
- **ANGPTL3:** Proteína Angiopoyetina 3
- **ANGPTL4:** Proteína Angiopoyetina 4
- **CC2CD22:** Proteína 22 con dominio en espiral
- **CEs:** Colesterol esterasa
- **CE:** Ésteres de colesterol
- **CETP:** Proteína transferidora de ésteres de colesterol
- **cHDL:** Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad
- **CHOD:** Colesterol oxidasa
- **cLDL:** Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad
- **CPN:** Cociente de probabilidad test negativo
- **CPP:** Cociente de probabilidad test positivo
- **CREB3L3:** Proteína de unión a elementos de respuesta a AMPc
- **cRemanente:** Colesterol remanente
- **CT:** Colesterol total
- **cVLDL:** Colesterol asociado a lipoproteínas de muy baja densidad
- **dATP/GTP/CTP/TTP:** 2'-deoxinucleótidos

- **ddATP/GTP/CTP/TTP:** Dideoxinucleótidos
- **DM2:** Diabetes mellitus tipo 2
- **E:** Especificidad
- **EAS:** Sociedad europea de arterosclerosis
- **EAC:** Enfermedad de arterias coronarias
- **EAP:** Enfermedad de arterias periféricas
- **ECV:** Enfermedad cardiovascular
- **FADS1:** Ácido Graso Desaturasa 1
- **FADS2:** Ácido Graso Desaturasa 2
- **FADS3:** Ácido Graso Desaturasa 3
- **FN:** Falso negativo
- **FP:** Falso positivo
- **GALNT2:** N-acetilgalactosaminiltransferasa 2
- **GCKR:** Proteína reguladora de glucoquinasa
- **GK:** Glucoquinasa
- **GPD1:** Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa 1
- **GPIHBP1:** Glicosilfosfatidilinositol anclado a la proteína de unión a proteínas de alta densidad 1
- **GPO:** Glicerol fosfato oxidasa
- **HDL:** Lipoproteínas de alta densidad
- **HDL2:** Lipoproteínas de alta densidad tipo 2
- **HDL3:** Lipoproteínas de alta densidad tipo 3
- **HF:** Hipercolesterolemia familiar
- **HFHe:** Hipercolesterolemia familiar heterocigótica
- **HFHo:** Hipercolesterolemia familiar homocigótica
- **HSDA:** N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxianilina sódica
- **HSPG:** Receptores de proteínas y proteoglicanos de heparán sulfato
- **HTA:** Hipertensión arterial
- **HTHe:** Hipertrigliceridemia heterocigótica
- **HTHo:** Hipertrigliceridemia homocigótica
- **IAM:** Infarto agudo de miocardio

- **IDL:** Lipoproteínas de densidad intermedia
- **IMC:** Índice de masa corporal
- **LCAT:** Enzima lecitina-colesterol aciltransferasa
- **LDL:** Lipoproteínas de baja densidad
- **LDL-I:** Lipoproteínas de baja densidad grandes
- **LDL-II:** Lipoproteínas de baja densidad intermedias
- **LDL-III:** Lipoproteínas de baja densidad pequeñas
- **LDL-IV :** Lipoproteínas de baja densidad muy pequeñas
- **LDLRAP1:** Proteína adaptadora del receptor de lipoproteínas de baja densidad tipo 1
- **LIPA:** Lipasa ácida lisosomal A
- **LIPC:** Gen de la lipasa hepática
- **LIPG:** Gen de la lipasa endotelial
- **LMF1:** Factor de maduración de lipasa 1
- **LPL:** Lipoproteín lipasa
- **Lp(a):** Lipoproteína (a)
- **MLXIPL:** Max-Like protein X interacting protein-like
- **NGS:** Next-generation sequencing
- **No cHDL:** Colesterol no asociado a lipoproteínas de alta densidad
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **P:** Prevalencia
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa
- **PEG:** Polietilenglicol
- **PLTP:** Proteína de transferencia de fosfolípidos
- **PNPLA5:** Proteína que contiene el dominio de fosfolipasa tipo patatin-lipasa 5
- **POD:** Peroxidasa
- **PCSK9:** Proteín convertasa subtilisina/kexina tipo 9
- **PLPT:** Proteína transportadora de fosfolípidos
- **QM:** Quilomicrones
- **RCV:** Riesgo cardiovascular
- **RLDL:** Receptor de lipoproteínas de baja densidad

- **RLRP:** Proteínas relacionadas con el receptor de lipoproteínas
- **S:** Sensibilidad
- **sdLDL:** Lipoproteínas de baja densidad pequeñas y densas
- **SIL:** Sistema informático del laboratorio
- **SNPs:** Polimorfismos de un solo nucleótido
- **SRBI:** Scavenger receptor clase B tipo 1
- **STAP1:** Adaptador de transducción de señal miembro de la familia tipo 1
- **TG:** Triglicéridos
- **TRIB1:** Tribbles homolog 1
- **USF1:** Upstream stimulatory factor 1
- **VLDL:** Lipoproteínas de muy baja densidad
- **VN:** Verdadero negativo
- **VP:** Verdadero positivo
- **VPN:** Valor predictivo negativo
- **VPP:** Valor predictivo positivo

Introducción

INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ARTERIOSCLERÓISIS:

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) comprenden un conjunto de trastornos del corazón y los vasos sanguíneos entre las que destacan las enfermedades cerebrovasculares, las cardiopatías coronarias, las cardiopatías congénitas y reumáticas, las valvulopatías periféricas y la insuficiencia cardiaca entre otras (1). Están consideradas como la principal causa de morbimortalidad tanto en España como a nivel mundial y son independientes del grado de desarrollo del país, motivo por el que, la prevención cardiovascular se considera una prioridad absoluta en el Sistema de Salud Pública (2).

Una de las principales causas aunque no la única de ECV es la denominada arteriosclerosis; es un término genérico que hace referencia al proceso inflamatorio crónico que se caracteriza por un endurecimiento y engrosamiento de las arterias de los diferentes lechos vasculares con independencia de su tamaño y que implica la afectación de arterias de mediano y gran calibre debido a la formación de la placa de ateroma, cuya composición fundamental son los lípidos, el tejido fibroso y las citoquinas proinflamatorias. Las manifestaciones clínicas varían en función de los lechos afectados (3). Se definen entonces como enfermedades cardiovasculares arterioscleróticas las enfermedades coronarias, las enfermedades cerebrovasculares y las enfermedades arteriales periféricas cuya aparición está asociada con la arteriosclerosis (4).

1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA ARTERIOSCLERÓISIS:

La arteriosclerosis es un fenómeno patológico focal que afecta fundamentalmente a las arterias y que promueven el incremento del espesor de las mismas en el área de la íntima debido a la pérdida de elasticidad, un mayor contenido en calcio, su consecuente disminución de diámetro (5) y por la proliferación de células del músculo liso (6).

La placa aterosclerótica se encuentra compuesta fundamentalmente por lípidos, células inflamatorias, células musculares y una matriz de tejido conectivo que puede contener trombos y depósitos de calcio (7). En 1995 la American Heart Association (8) clasificó las

placas ateroscleróticas en función de sus componentes con el objetivo de identificar el tipo de lesión que presentaba el paciente (Tabla 1).

Tipo I	Lesión inicial
Tipo II	Banda grasa con múltiples células espumosas
Tipo III	Lesión intermedia
Tipo IV	Ateroma
Tipo Va	Fibroateroma
Tipo Vb	Calcificación (Lesión Tipo VII)
Tipo Vc	Lesión fibrótica (Lesión Tipo VIII)
Tipo VI	Lesión con defecto en la superficie y/o hemorragia por hematoma y/o depósito trombótico

Tabla 1. Clasificación de las placas ateroscleróticas en función de sus características (8)

Herbert consideró que el tipo de acumulación de células representado en la Figura 1 en regiones con un gran contenido de componentes grasos es el inicio de la arteriosclerosis. A los Tipos I, II y III se les consideran como lesiones intermedias y a los Tipos IV, Va, Vb, Vc y VI lesiones avanzadas. Las lesiones que comúnmente comienzan en la infancia son las de Tipo I y II; las Tipo III se alcanzan durante la adolescencia; y las Tipo IV, Va, Vb, Vc y VI suelen manifestarse durante la tercera década (8).

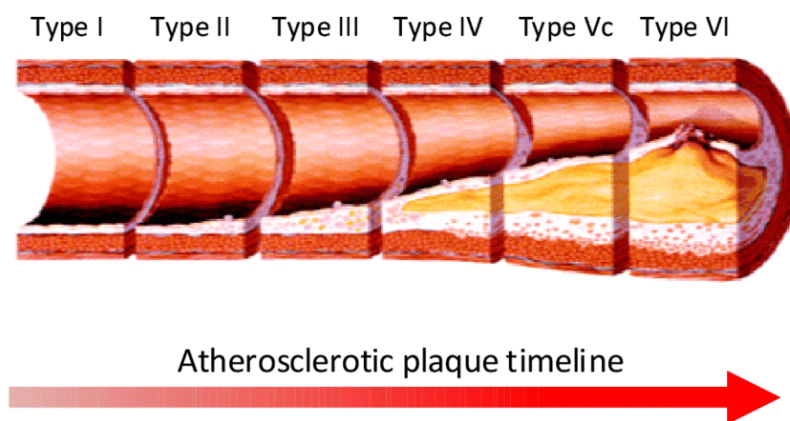


Figura 1. Formación progresiva de la placa aterosclerótica (9)

Los depósitos de lípidos se han estudiado en gran profundidad en la patogénesis de la arteriosclerosis debido a que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son las principales transportadoras de colesterol. Estas lipoproteínas pueden oxidarse por acción del Óxido Nítrico (9) y, en consecuencia, dar lugar a una disminución de su tamaño (10),

promoviéndose de ese modo la acumulación en la íntima y estimulando la expresión de dos moléculas de adhesión quimioatrayentes ICAM-1 y VCAM-1 que se encuentran en la superficie de las células endoteliales (11), las cuales actúan como activadores de citoquinas que se unen a integrinas leucocitarias produciendo la activación de monocitos en las células endoteliales (12). Una vez adheridos los monocitos a dichas células, estos migran a la íntima, donde se diferencian en macrófagos y se convierten en células espumosas, presentes cuando la lesión se encuentra avanzada (13). Todo este proceso se representa en la Figura 2.

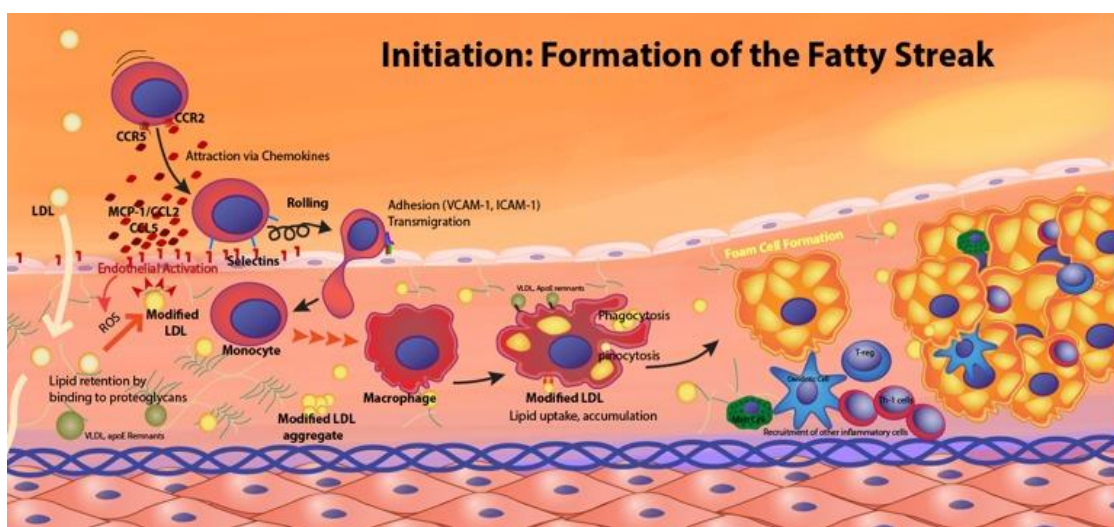


Figura 2. Mecanismo de formación de depósitos lipídicos (13)

Las células de músculo liso son las células principales de la íntima cuya función consiste en mantener la revascularización a través de proteínas contráctiles que regulan el diámetro del vaso sanguíneo, la distribución de su flujo y la presión arterial (14). Es por ello por lo que la formación de una placa aterosclerótica avanzada es promovida por la aparición de células espumosas, compuestas a su vez por células endovasculares y células del músculo liso vascular (15).

Previamente al estudio realizado en 1986 por Golstein y Brown (16) en el cual se exacerbaba el papel fundamental de los receptores de las partículas de LDL (RLDL) encargados de identificar e internalizar las partículas de LDL nativas en el metabolismo del colesterol y en el que también se observó que aquellos pacientes con

hipercolesterolemia familiar heterocigótica con mutaciones en el RLDL continuaban presentando una gran acumulación de colesterol. Golstein realizó en 1974 un experimento in vitro en el cual cuando se incubaban elevadas concentraciones de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) nativas, los macrófagos no se transformaban en células espumosas, por lo que sugirió que la expresión de los macrófagos es regulada por concentraciones elevadas de cLDL y que las células espumosas se pueden formar a través de la captación de colesterol por receptores distintos a los de RLDL (17).

A través de los receptores scavenger es como los macrófagos captan el cLDL oxidado, promoviendo de este modo la captación del colesterol y la consecuente conversión de macrófagos en células espumosas y, en consecuencia, la aparición de lesiones ateroscleróticas (Figura 3) (18).

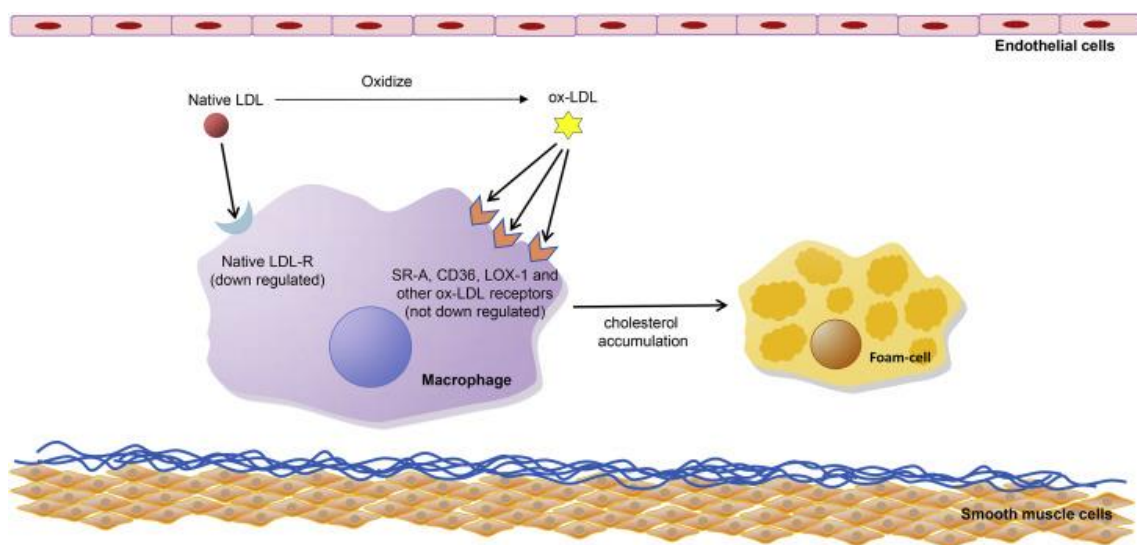


Figura 3. Mecanismo de captación de cLDL oxidado por los macrófagos (18)

Actualmente se han realizado numerosos estudios de cohortes que asocian los niveles elevados de partículas de LDL oxidadas con la presencia de enfermedad cardiovascular (19). El estudio FORTIAM (Factores Ocultos Tras un Infarto Agudo de Miocardio (IAM) (20), se realizó en 1.371 pacientes procedentes de 15 unidades de cuidados coronarios de hospitales españoles, los cuales se encontraban ingresados durante las primeras 24 horas del inicio de síntomas de un primer IAM. Fueron estudiados con el objetivo de

determinar la prevalencia del IAM sin factores de riesgo asociados como dislipemia, diabetes o hipertensión. Este estudio concluyó con que el pronóstico en aquellos pacientes que presentaban niveles elevados de lipoproteína (a) (Lp(a)) y de partículas de LDL oxidado era menos favorable con independencia de los factores de riesgo clásicos que en aquellos pacientes con menores niveles de Lp(a) y de partículas oxidadas de LDL. El estudio MESA (21) realizado en una cohorte de 879 pacientes fue pionero en investigar la prevalencia, correlación y progresión de ECV subclínica en pacientes de raza multiétnica. En dicho estudio se realizó un análisis bivariado con un ajuste por factores de riesgo asociado a la presencia de ECV subclínica. Se concluyó que la presencia de partículas de cLDL oxidadas está asociada con la presencia de ECV subclínica además de otros muchos factores de riesgo ($p=0.026$).

1.2.EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN ESPAÑA:

Según los últimos datos aportados por la OMS en mayo de 2017 se estipuló que, en 2015, un total de 17.7 millones de personas fallecieron por eventos cardiovasculares, lo que representaba un 31% de las defunciones registradas a nivel mundial de las cuales 7.4 millones fueron atribuibles a la presencia de cardiopatía coronaria y 6.7 millones a accidentes cerebrovasculares. Más de las tres cuartas partes de las defunciones producidas por enfermedad cardiovascular se produjeron en países de ingresos medios y bajos (22). La previsión de la OMS para 2030 es de 23.6 millones de defunciones a nivel mundial por la presencia de eventos cardiovasculares, siendo las futuras causas principales los accidentes cerebrovasculares y las cardiopatías (23).

El estudio Global Burden of Disease de 2015 (24) el cuál ha investigado las diez principales causas de enfermedad cardiovascular a nivel mundial, regional y nacional, estableció que en 1990 se produjeron 12.59 millones de fallecimientos a nivel mundial por enfermedad cardiovascular, lo que conlleva un incremento en el número de defunciones del 28.81% en 25 años.

Mediante acceso a la plataforma online Cardiovascular Disease World Monitor (25) lanzada en 2.012 por la Federación Mundial del Corazón (WHF) se puede obtener una visualización interactiva de los datos disponibles sobre enfermedades cardiovasculares a nivel mundial a través de la recogida de los porcentajes de enfermedad cardiovascular

prematura e indicadores de salud relacionados con la misma como la diabetes, el consumo de tabaco, la obesidad,... etc., representados en la Figura 4. Esta plataforma rastrea el progreso de cada país para alcanzar el objetivo establecido por el Plan de Acción Mundial (GAP) de la OMS que pretende obtener una reducción del 25% de la mortalidad prematura asociada a enfermedad cardiovascular para el año 2025 (incluidas las enfermedades cardíacas y los accidentes cerebrovasculares). Según los datos aportados por dicha organización se estima que una de cada diez personas de entre 30 y 70 años fallece en el mundo por enfermedad cardiovascular.

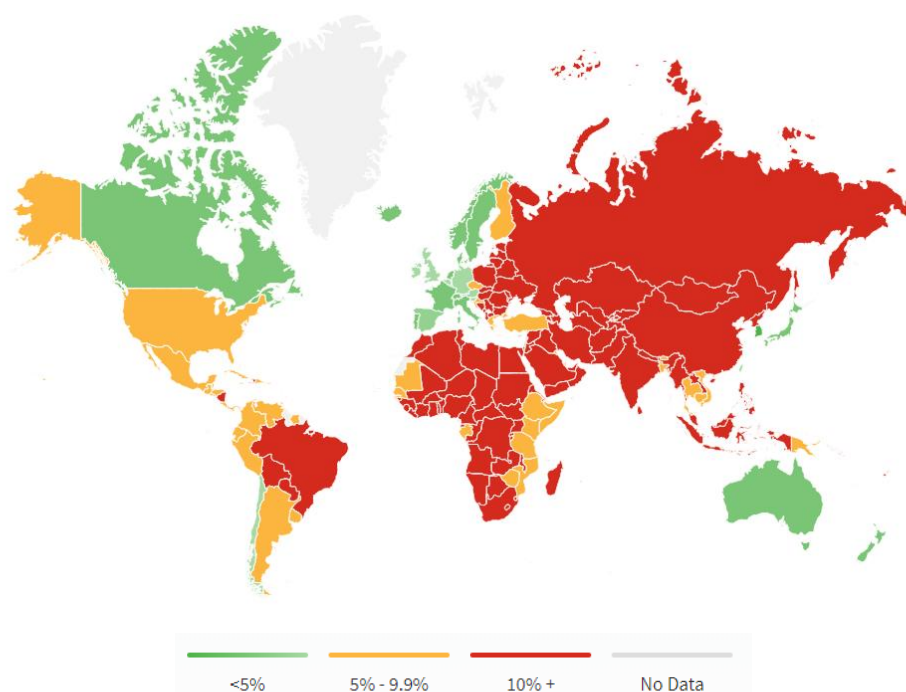


Figura 4. Porcentaje de población de entre 30 y 70 años fallecida en 2012 por ECV (25)

Según los datos aportados por el Instituto Nacional de Estadística (INE) (26) en diciembre de 2019, se produjeron en España **427.721 fallecimientos**, de los cuales un 24.97% fueron asociados a enfermedad cardiovascular (Tabla 2 y Figura 5). Se puede observar como se incrementa la tasa de mortalidad total con respecto al año 2017 en un 0.74% (424.523 fallecimientos) y disminuye la tasa de mortalidad asociada a defunciones por enfermedad cardiovascular en un 0.54% (108.338 fallecimientos); manteniéndose la

enfermedad cerebrovascular como la principal causa actual de defunción tanto en varones como en mujeres y las mujeres como población de mayor riesgo de fallecimiento por enfermedad cardiovascular.

ECV	2018	2018	2017	2017
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
Infarto agudo de miocardio	8660	5861	8.911	6.045
Otras enfermedades isquémicas del corazón	9763	6868	10.221	7.148
Insuficiencia cardiaca	7266	11876	6.964	12.201
Otras enfermedades del corazón	10921	13478	10.761	13.553
Enfermedades cerebrovasculares	11435	14985	11.555	15.382
Arteriosclerosis	570	870	571	774
Otras enfermedades de los vasos sanguíneos	2778	1479	2.743	1.510
TOTAL	51393	55417	51.725	56.613

Tabla 2. Clasificación de defunciones por ECV por sexo en 2017 y 2018

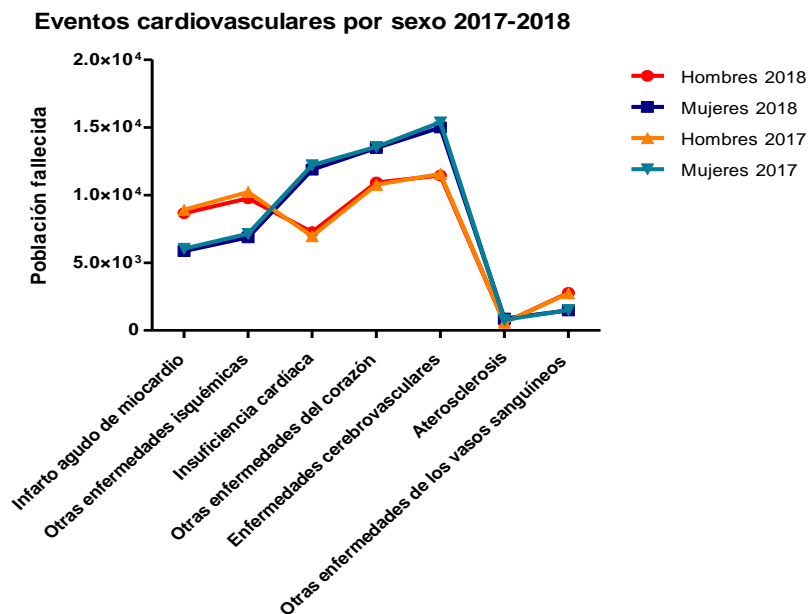


Figura 5. Clasificación ECV por sexo en 2017 y 2018

En cuanto a la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares en España en función de los rangos de edad se observa en la Figura 6 como se produce un incremento lineal de las enfermedades cardiovasculares a partir de los 40 años que crece exponencialmente desde el rango de edad de los 70 a 79 años hasta el rango de los 80 a los 89 años, donde alcanza el máximo número de defunciones y a partir del cual comienza a descender. Los accidentes cerebrovasculares son los eventos cardiovasculares más prevalentes en todos los rangos de edad.

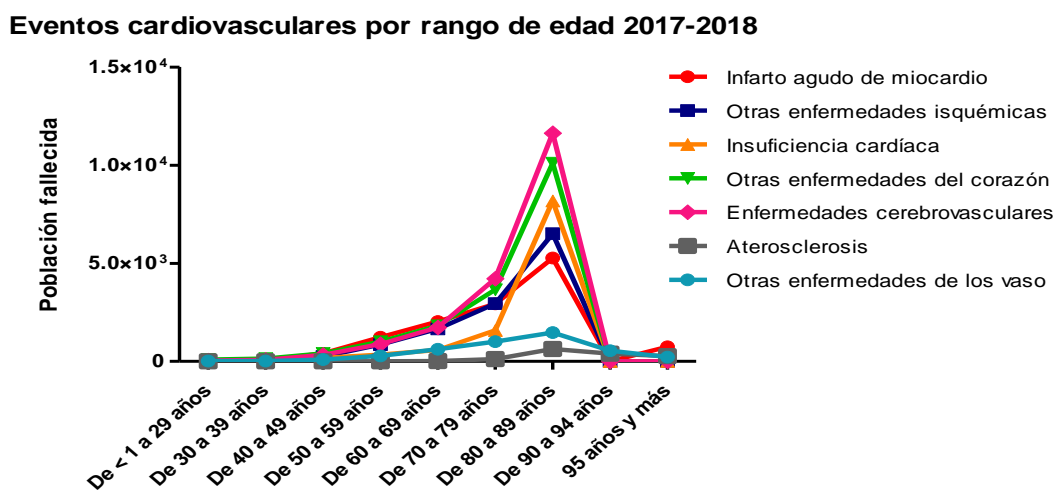


Figura 6. Clasificación ECV por rango de edad en 2017 y 2018

En referencia a la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares en función de las comunidades autónomas, en la Figura 7 se observa claramente como Andalucía destaca por un mayor porcentaje de muertes por eventos cardiovascular con 20.343 fallecimientos, seguida de Cataluña con 15.070 fallecimientos, la Comunidad Valenciana y de Madrid con 11.439 y 10.401 fallecimientos respectivamente. En la Figura 8 se observa que en las comunidades autónomas ubicadas entre Andalucía y Madrid (Castilla La Mancha, Extremadura y Murcia) y en las comunidades de Aragón y Principado de Asturias existe una prevalencia intermedia de los fallecimientos asociados a una causa cardiovascular, siendo la comunidad autónoma peninsular con menor tasa de mortalidad La Rioja.

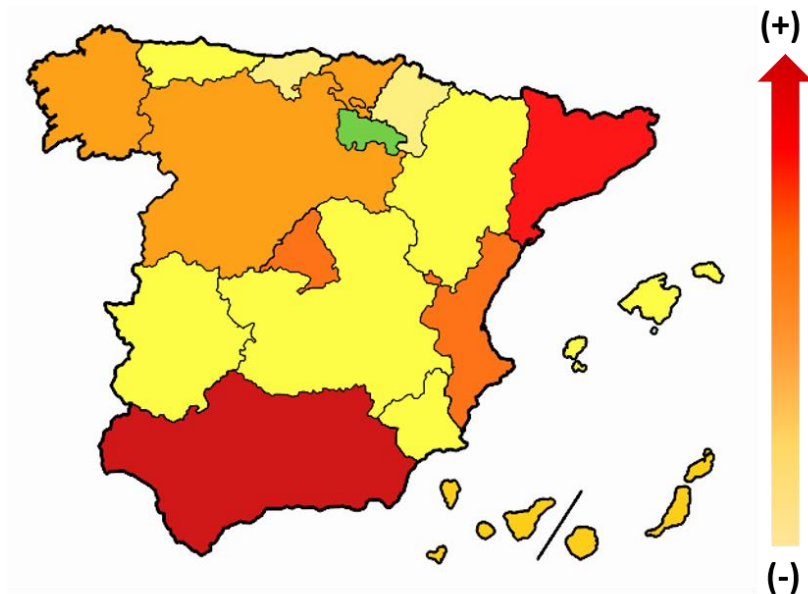


Figura 7. Prevalencia de ECV por comunidad autónoma

Eventos cardiovasculares por Comunidad 2018

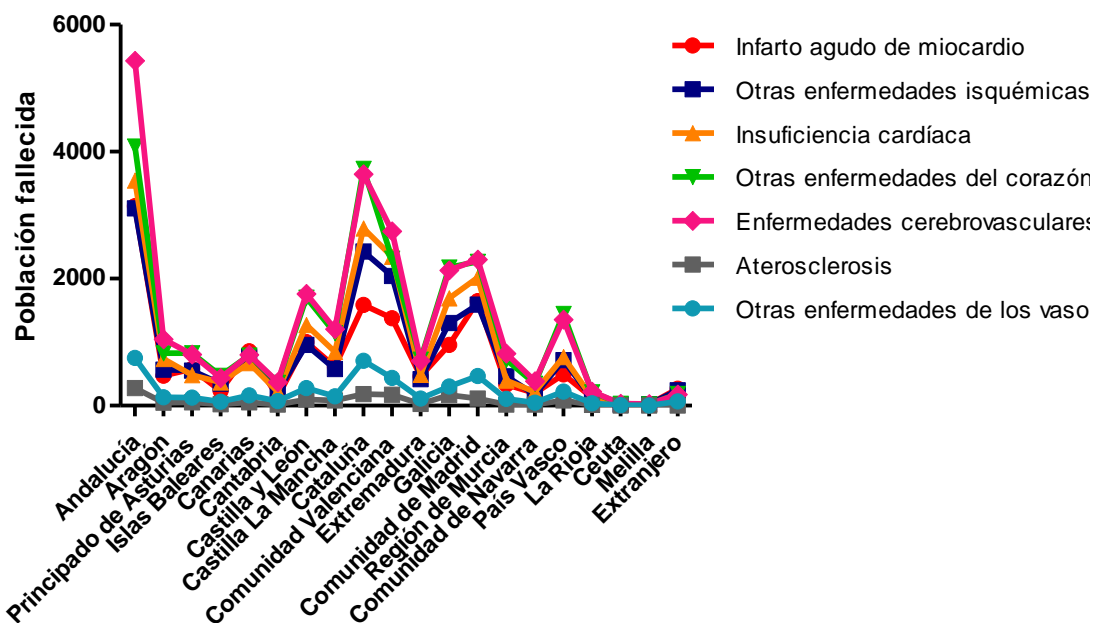


Figura 8. Clasificación de ECV por comunidad autónoma

2. FACTORES DE RIESGO:

Los factores de riesgo cardiovascular son aquellos rasgos, características o exposiciones que presenta un individuo y que incrementan la probabilidad de sufrir algún tipo de

evento cardiovascular pero que no implican una relación causa-efecto con la enfermedad.

Los factores de riesgo se pueden clasificar en tres tipos (27):

- **Factores de riesgo causales:** Son aquellos factores de riesgo que fomentan el desarrollo de la arteriosclerosis y en consecuencia la aparición de un evento cardiovascular y de los cuales se disponen datos que demuestran su papel causal como la hipercolesterolemia, el tabaquismo o la hipertensión.
- **Factores de riesgo predisponentes:** Son aquellos factores de riesgo que propician el empeoramiento de los factores de riesgo causales y cuya asociación con la enfermedad es compleja de expresar como el sedentarismo, la obesidad o el género masculino.
- **Factores de riesgo condicionales:** Estos factores de riesgo se encuentran asociados con un aumento de probabilidad de aparición de un evento cardiovascular pero su relación causal no se encuentra actualmente documentado debido a que presentan un menor potencial aterogénico en comparación con los factores de riesgo causales y a que presentan una baja frecuencia poblacional que impide medir su efecto de forma independiente. Entre ellos destacan las concentraciones elevadas de homocisteína, triglicéridos y factores de coagulación.

El concepto de factor de riesgo cardiovascular fue propuesto por primera vez en 1957 en el estudio Framingham (Framingham Heart Study) (28) en el que se demostró la estrecha relación epidemiológica presente entre la incidencia de la enfermedad coronaria y los factores de riesgo: presión arterial, tabaquismo y concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol. Esto supuso un cambio de mentalidad para la práctica clínica (29).

A pesar de que se está fomentando el diagnóstico precoz y la prevención de eventos cardiovascular y que esto conlleva una disminución del número de eventos isquémicos cerebrovasculares y cardiacos en España, la morbimortalidad y el número de ingresos hospitalarios continúa aumentando. Es por ello por lo que un mayor control de factores de riesgo cardiovascular causales y predisponentes puede promover la disminución de este tipo de eventos (30).

Los factores de riesgo que se asocian con mayor frecuencia a la presencia de ECV son el tabaquismo, la hipertensión arterial, el síndrome metabólico, la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 y las dislipemias (31).

La presencia de más de un factor de riesgo favorece el desarrollo de la enfermedad aterotrombótica en los diferentes lechos vasculares pero el valor predictivo de dichos factores puede variar en los diferentes territorios, por lo que la presencia de tan sólo un factor de riesgo cardiovascular de forma individual no es indicativo de enfermedad cardiovascular, ya que se necesitan múltiples factores de riesgo para que se produzca dicho evento (29). Se considera que el colesterol presenta un mayor valor predictivo en la afectación del territorio coronario, la hipertensión arterial para el cerebrovascular y el tabaco para el territorio vascular periférico (3). Estos factores de riesgos a su vez, son considerados y clasificados como modificables debido a que se disponen de medios como tratamiento farmacológico o medidas higiénico-dietéticas para su reducción y control; sin embargo, existen otro tipo de factores que no son modificables y cuya presencia incrementa el riesgo cardiovascular del paciente como lo son la edad, el sexo, la raza y la historia familiar (29).

La clasificación de los factores de riesgo cardiovasculares más frecuentes en función de la denominación clínica habitual se encuentran representados en la Tabla 3 (32):

No Modificables	Modificables
- Edad	- Tabaco
- Sexo masculino	- HTA
- Sexo femenino (posmenopausia)	- ↑ cLDL
- Herencia	- ↓ cHDL
- DM2	- Obesidad
- Antecedentes familiares de ECV precoz	- Sedentarismo
	- Hipertrigliceridemia
	- Hipertrofia ventricular izquierda
	- Hiperfibrinogenia
	- Hiperhomocistinemia
	- ↑ Proteína C reactiva
	- Microalbuminuria

Tabla 3. Clasificación factores de riesgo cardiovascular (32)

Por tanto, la base de la prevención primaria para eventos cardiovasculares y de la evaluación del riesgo que conllevan, se fundamenta en la reducción de aquellos factores de riesgo cardiovasculares controlables y en la tendencia que presentan dichos factores a agruparse provocando un efecto aditivo y multiplicativo, ya que un control exhaustivo de los factores de riesgo cardiovasculares como la hipertensión o la dislipemia pueden llevar a la disminución de la mitad de las muertes producidas por eventos cardiovasculares (33, 34).

La última actualización en el estudio SAFEHEART (The SpAnish Familial HypErcHolEsterolaemiA cohoRt sTudy) (35), realizada en una cohorte de hipercolesterolemia familiar española, ha identificado como factores de riesgo predictivos para el desarrollo de ECV en pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) con concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, el aumento del índice de masa corporal (IMC), la hipertensión arterial y el consumo de tabaco. Se ha asociado una mayor predisposición a sufrir enfermedad cardiovascular en pacientes con HF que en aquellos que no presentan HF (36). Esa predisposición a que un paciente con HF sufra un evento cardiovascular precoz viene definida por un umbral representado en la Figura 9 en función de la concentración plasmática de cLDL y el tiempo que se encuentra en circulación y dependiendo a su vez de otros factores como la intensidad del tratamiento y de su manifestación homocigótica o heterocigótica (37).

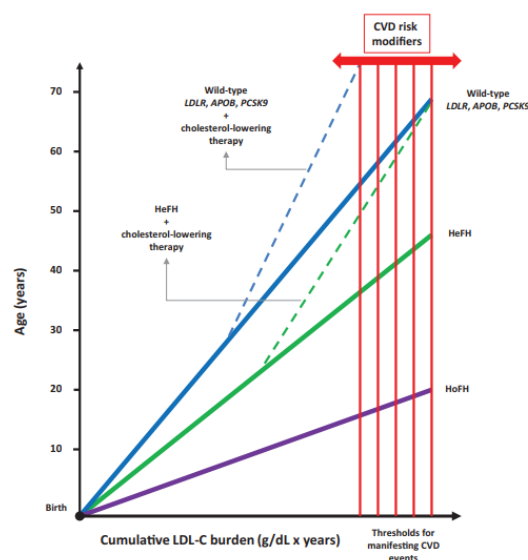


Figura 9. Hipercolesterolemia familiar y riesgo vascular (37)

3. LIPOPROTEÍNAS Y METABOLISMO LIPÍDICO:

Los ésteres de colesterol y los triglicéridos son lípidos insolubles en plasma por lo que necesitan empaquetarse en forma de lipoproteínas para poder circular por el organismo y transportarse a aquellos tejidos donde son necesarios. Las lipoproteínas se caracterizan por tener una estructura constituida por un núcleo interno compuesto por esos triglicéridos y ésteres de colesterol insolubles, los cuales se encuentran rodeados por una capa superficial de fosfolípidos, colesterol libre y apolipoproteínas (Figura 10) (38, 39).

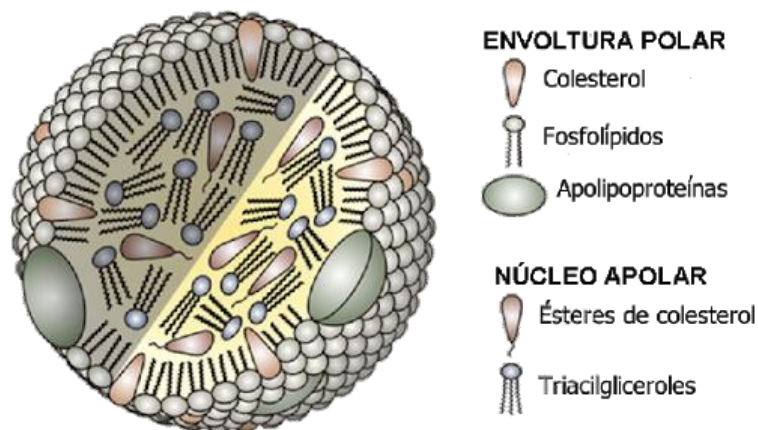


Figura 10. Estructura de las lipoproteínas (40)

Las lipoproteínas son partículas heterogéneas cuyo tamaño es inverso a su densidad, característica que permite clasificarlas en función de su origen, constituyentes lipídicos y apolipoproteínas en la Tabla 4 (41).

Lipoproteínas	Origen	Contenido lipídico	Apolipoproteínas
Quilomicrones	Intestino	TG de la dieta	B48, CII, A1, E
VLDL	Hígado	TG sintetizados	B100, CI, CII, CIII E
IDL	Plasma	TG Y CE	B100, E
LDL	Plasma	CE	B100
HDL	Tejidos periféricos	CE	A1, A2

TG: Triglicéridos; CE: Ésteres de colesterol

Tabla 4. Clasificación de las lipoproteínas (41)

El metabolismo lipídico se divide en tres fases en función del origen de la síntesis de lipoproteínas: el metabolismo exógeno, el endógeno y el transporte reverso del colesterol.

El metabolismo exógeno (Figura 11) se inicia con la ingesta de grasas de la dieta que son hidrolizadas por las lipasas linguales y gástricas, degradándolas a esteroides, colesterol libre y ácidos grasos. Los productos resultantes son internalizados en los enterocitos o secretados a la luz intestinal mediante transportadores de membrana ABCG5 Y ABCG8, regulándose de ese modo, la cantidad de colesterol absorbido por la dieta. El colesterol libre y los ácidos grasos que no han sido secretados, son esterificados en el retículo endoplasmático para formar ésteres de colesterol y triglicéridos, a los cuales se les ensambla la apolipoproteína B48 (ApoB48), formando los quilomicrones.

Los quilomicrones van aumentando de tamaño a medida que adquieren más triglicéridos. Cuando alcanzan un tamaño comprendido entre los 80-120 nm, son translocados al complejo de Golgi, donde adquieren la apolipoproteína AI (ApoA-I) y A4 (ApoA-IV). Posteriormente son secretados a la sangre (donde adquieren ApoC-II y ApoE) y al sistema linfático como quilomicrones maduros. Los quilomicrones maduros son hidrolizados por la lipoproteína lipasa (LPL) al ser retenidos en el tejido adiposo y muscular, donde los ácidos grasos libres son reesterificados con glicerol para formar triglicéridos como almacenamiento de energía y oxidados para la producción de energía respectivamente. La pérdida de triglicéridos fomenta la formación de sus remanentes y una mayor captación de ApoE, por lo que se incrementa la interacción entre parte de los remanentes y los receptores de los hepatocitos (RLRP) (pertenecientes a la familia de receptores de proteínas y proteoglicanos de heparán sulfato (HSPG)), fomentando así su eliminación. El aclaramiento metabólico de los quilomicrones y sus remanentes en condiciones normales es rápido, motivo por el cual en ayuno estas partículas no deben encontrarse en el plasma (42, 43).

La síntesis y transporte de lipoproteínas a través de la vía endógena (Figura 12) comienza en el hígado, en el cual, cuando hay un exceso de ácidos grasos y colesterol, se produce el ensamblaje y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (caracterizada por contener ApoB-100, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III y ApoE), las cuales son las encargadas del transporte de colesterol hacia las glándulas suprarrenales y de triglicéridos hacia los

tejidos periféricos. Cuando las VLDL entran en circulación son hidrolizadas por la LPL (activada por la ApoC-II), y esta hidrólisis hace que las VLDL vayan perdiendo triglicéridos y ganando colesterol progresivamente formando remanentes de VLDL, parte de las cuales son captadas por los hepatocitos y otros tejidos y parte comienzan con la cascada lipolítica de las lipoproteínas que contienen ApoB-100. La cascada lipolítica comienza con la síntesis de lipoproteínas que cada vez son más ricas en colesterol esterificado. En primer lugar se producen las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) a partir de la degradación de remanentes de VLDL, que a su vez son degradadas por la acción de la lipasa hepática (44) eliminando el triacilglicerol adicional para formar las LDL (producto final del catabolismo de las VLDL), parte de las cuales migran hacia los tejidos periféricos y parte son captadas por los RLDL de los hepatocitos, donde se internalizan por endocitosis. El RLDL puede ser degradado lisosomalmente por la activación de la protein convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) (45).

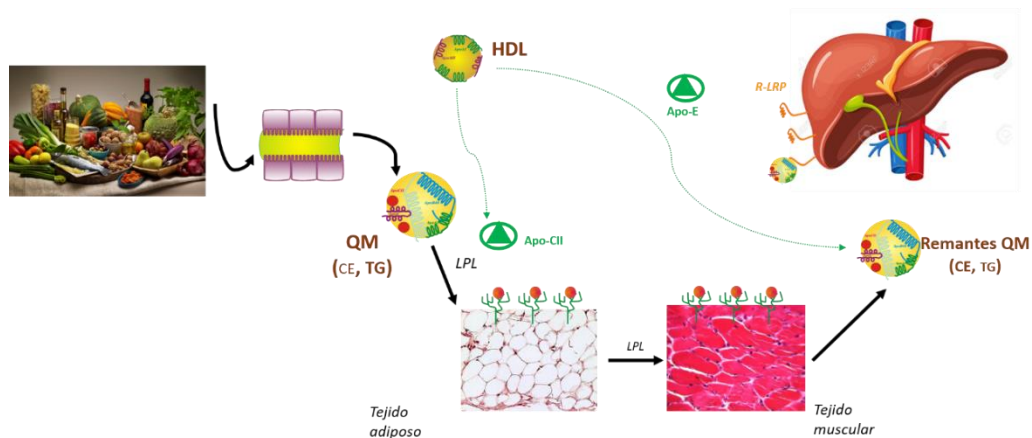


Figura 11. Metabolismo exógeno

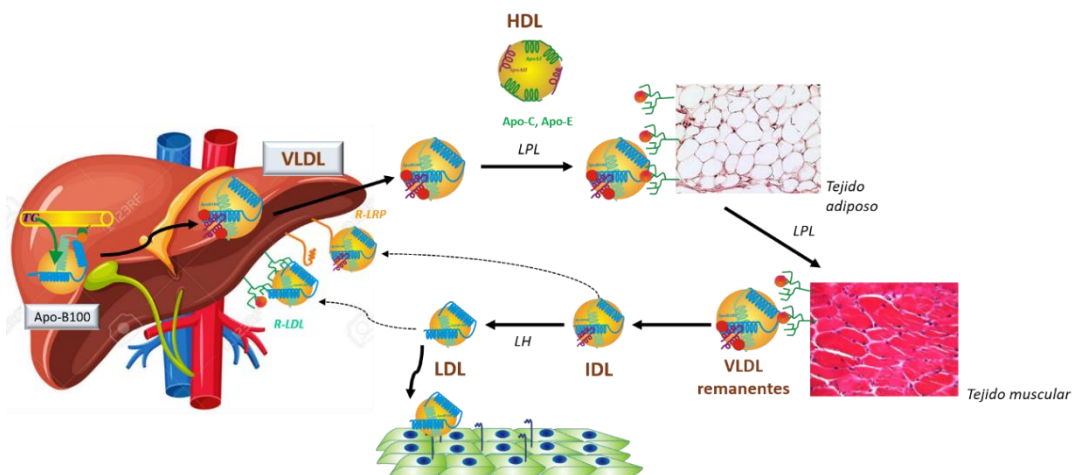


Figura 12. Metabolismo endógeno

El transporte reverso del colesterol (Figura 13) se basa en su transporte desde los tejidos periféricos hasta el hígado. Este comienza con la hidrólisis por la enzima Acil Coenzima A Colesterol Transferasa 1 (ACAT1) del colesterol esterificado almacenado en el citoplasma, provocando la traslocación hacia la membrana plasmática y posterior paso al espacio extracelular. El colesterol libre se asocia con fosfolípidos para formar las lipoproteínas de alta densidad (HDL) nacientes. En las HDL nacientes se produce la esterificación del colesterol por la enzima lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT), promoviendo la formación de las HDL3, una de las fracciones de HDL que presentan un mayor tamaño y que contienen una mayor concentración de colesterol. Las HDL3 intercambian CE por triglicéridos con las lipoproteínas que contienen ApoB (QM, VLDL y LDL) por la acción de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CEPT). Las HDL2 se sintetizan por la acción de la enzima lipasa hepática sobre las HDL3 y por la enzima proteína transportadora de fosfolípidos (PLPT), que facilita el intercambio de fosfolípidos con las lipoproteínas ricas en triglicéridos. El último paso del transporte reverso del colesterol consisten en la interacción de las HDL2 con los receptores hepáticos SRBI (Scavenger Receptor Clase B Tipo I), facilitando de tal modo la transferencia de el CE hacia la célula hepática (46).

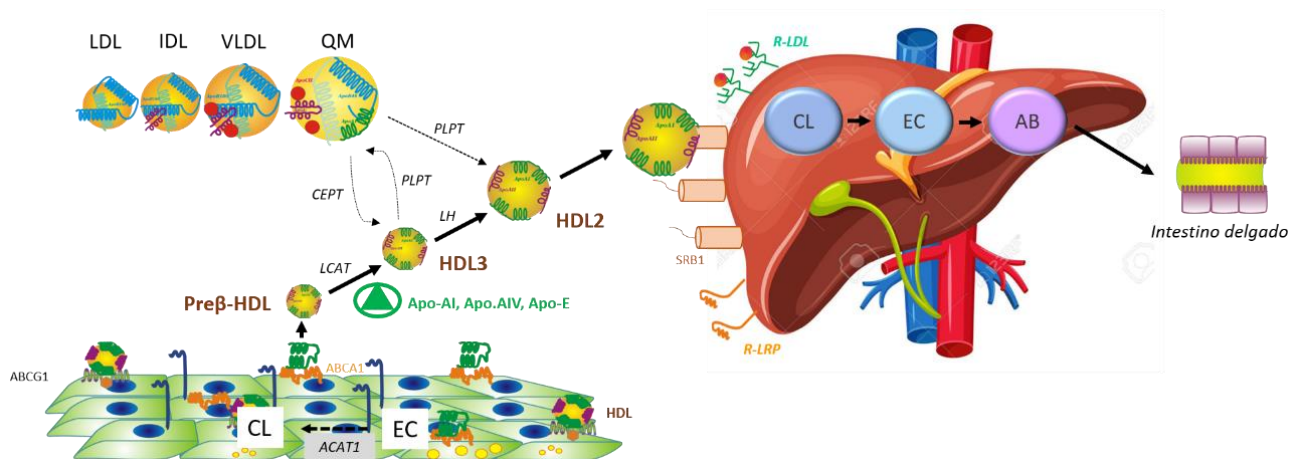


Figura 13. Transporte reverso del colesterol

4. DISLIPEMIAS:

Las dislipemias son aquellas variaciones anormales que se producen en el metabolismo lipídico. Tradicionalmente, las dislipemias fueron clasificadas en función del perfil lipídico en la clasificación de Fredrickson (modificada en 1970 por la OMS) (47) (Tabla 5) que se encontraba limitada por la falta de diferenciación entre dislipemias primarias y secundarias, ni distinguía entre fenotipos y enfermedades (48). Estos hechos llevan a considerar que la clasificación fenotípica de las dislipemias se encuentra desfasada y se ha determinado que una clasificación más acertada sería aquella en las que las dislipemias se clasificaran en función de su etiología en primarias y secundarias con distintos fenotipos (49).

FENOTIPO	LIPOPROTEÍNA AUMENTADA	LÍPIDOS AUMENTADOS
Tipo I	QM	TG
Tipo IIA	LDL	CT
Tipo IIB	LDL y VLDL	CT y TG
Tipo III	IDL	CT y TG
Tipo IV	VLDL	TG
Tipo V	VLDL y QM	TG y a veces CT

Tabla 5. Clasificación fenotípica de dislipemias

4.1. DISLIPEMIAS PRIMARIAS:

Las dislipemias primarias son todas aquellas alteraciones lipídicas que se producen por mutaciones en genes que codifican proteínas del metabolismo lipídico. En función del gen mutado se producen hipercolesterolemias, hipertrigliceridemias o se generan valores de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) bajos. Estas se caracterizan por presentarse en más de un familiar con manifestaciones clínicas características, por asociarse con frecuencia a ECV prematura y por presentar valores lipídicos muy alterados con respecto a los de referencia (50).

Las dislipemias primarias se pueden clasificar como hiperlipemias o hipolipemias (Tablas 6 y 7) y por sus características genóticas y fenotípicas. La hipercolesterolemia, las dislipemias mixtas y las hipertrigliceridemias se encuentran clasificadas como dislipemias primarias.

HIPERLIPEMIAS PRIMARIAS	
Hipercolesterolemias	Hipercolesterolemia Familiar Dominante: Heterocigota, Homocigota Hipercolesterolemia Familiar Recesiva Poligénica Hiperalfalipoproteinemia Hiperlipoproteinemia (a) Sitosterolemia Deficiencia de colesterol-7- α -hidroxilasa
Hiperlipemias mixtas	Déficit de lipasa ácida lisosomal Disbetalipoproteinemia familiar Hiperlipemia familiar combinada
Hipertrigliceridemias	Mutaciones de los genes APOE, LPL, ApoC-II, LMF1, GPIHBP1, ApoA-V
HIPOLIPEMIAS PRIMARIAS	
Hipocolesterolemias	Déficit de ApoA-1 Déficit de ApoC-II Déficit de lecitina colesterol acil transferasa Déficit de lipoproteína lipasa Déficit de glucocerebrosidasa Enfermedad de Tangier Hipoalfalipoproteinemia familiar
Hipotrigliceridemias	Déficit de ApoC-III Mutaciones de ANGPTL3 y ANGPTL4

Tabla 6. Clasificación de dislipemias primarias (51)

GENOTIPO	FENOTIPO	CT	TG	DEFECTO	HERENCIA	FRECUENCIA	RCV
<i>Hipercolesterolemia poligénica</i>	Ila	↑	=	Desconoc.	P	5/100	↑↑
<i>Hipercolesterolemia Familiar Monogénica</i>	Ila	↑↑	=	RLDL, APOB, PCSK9	D	HFHe: 1/250 HFHo: 1/300.000	↑↑↑↑↑
<i>Hiperlipemia Familiar Combinada</i>	Ila, IIb, IV	= ó ↑	= ó ↑	Desconoc.	D	HFHe: 1/100 HFHo: 3- 5/1.000	↑↑↑
<i>Disbetalipoproteinemia</i>	III	↑	↑	ApoE	R	1/10.000	↑↑↑↑
<i>Hipertrigliceridemia Familiar</i>	IV	= ó ↓	↑	Desconoc.	D	HTGHe: 1/100 HTGHo: 2/1.000	↑
<i>Hiperquilomicronemia</i>	I, V	↓	↑↑↑	↓LPL, ↓ApoC-II	R	1/1.000.000	0

CT: Colesterol Total; **TG:** Triglicéridos; **RCV:** Riesgo Cardiovascular; **D:** Dominante; **R:** Recesivo; **HF:** Hipercolesterolemia Familiar; **HTG:** Hipertrigliceridemia; **He:** Heterocigótica; **Ho:** Homocigótica; **Desconoc:** Desconocido

Tabla 7. Clasificación de dislipemias primarias según genotipo y fenotipo

4.2. DISLIPEMIAS SECUNDARIAS:

Las dislipemias secundarias suponen del 20-40% de las dislipemias. Estas se diagnostican en base a la presencia de una patología que puede provocar una alteración del metabolismo lipídico, por lo cual, su existencia conlleva un incremento del riesgo cardiovascular. Este tipo de dislipemias, a diferencia de las primarias, pueden corregirse mediante el control o eliminación de la enfermedad causante y el tratamiento está orientado hacia la causa que provoca la dislipemia.

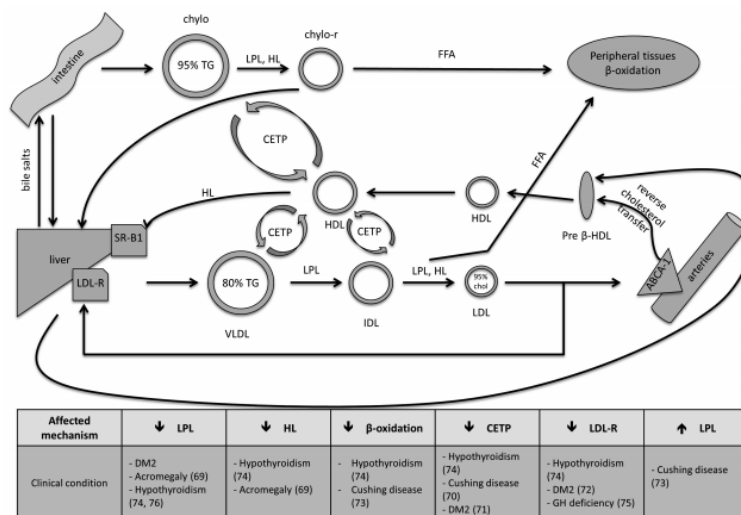
Casi una cuarta parte de los casos de hiperlipemias suelen ser producidas por patologías endocrinológicas o por la diabetes mellitus tipo 2 (52), trastornos como el hipotiroidismo, el síndrome de Cushing, la hiperuricemia, el síndrome metabólico, la obesidad o el síndrome del ovario poliquístico se consideran como causas secundarias que producen alteraciones en el perfil lipídico (53). Además, existen determinadas patologías renales como el síndrome nefrótico o la enfermedad renal crónica, así como el uso de ciertos fármacos como los corticoides, la ciclosporina, los inhibidores de proteasas, los anticonceptivos orales, los β -bloqueadores (54) entre otros, que pueden

interferir en el metabolismo lipídico e incrementar la concentración plasmática de colesterol.

A continuación se procede a explicar las causas secundarias mencionadas anteriormente con más detalle:

- **Hormonas Tiroideas:**

Las hormonas tiroideas presentan un papel fundamental en el metabolismo lipídico como se representa en la Figura 14 (52) debido a que estas influyen en la producción de un incremento de cantidad de receptores de LDL en el hígado, incremento en la síntesis de sales biliares y en la cantidad y actividad de la lipoproteín lipasa y lipasa hepática. Además, las hormonas tiroideas podrían reducir la absorción de colesterol del tracto intestinal, lo que conlleva que aquellos pacientes con hipotiroidismo presenten un incremento del 30% aproximadamente de las concentraciones de colesterol total y colesterol LDL y en una menor proporción, un incremento de las concentraciones de triglicéridos plasmáticos (55). Es este incremento de los niveles plasmáticos de colesterol total y de colesterol LDL el que se asocia con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica originada por efectos metabólicos y hemodinámicos (56).



LPL: Lipoprotein Lipasa; **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad; **HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad; **HL:** Lipasa Hepática; **CETP:** Proteína Transportadora de Ésteres de Colesterol; **LDL-R:** Receptor LDL; **DM2:** Diabetes Mellitus Tipo 2; **GH:** Hormona del Crecimiento; **FFA:** Ácidos Grasos Libres; **IDL:** Lipoproteínas de Densidad Intermedia; **TG:** Triglicéridos; **SRB1:** Receptor Scavenger Clase B Tipo 1; **ABCA1:** Gen Codificante Proteína ABC

Figura 14. Metabolismo lipídico regulado por enzimas y hormonas (52)

- **Diabetes Mellitus Tipo 2:**

En contraposición a la alteración lipídica que produce el hipotiroidismo se encuentra aquella que es producida por la diabetes mellitus tipo 2, más conocida como dislipemia aterogénica. Esta se caracteriza por presentar un incremento de la concentración de triglicéridos y de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, una disminución de colesterol HDL y la formación de partículas de LDL pequeñas y densas, constituyéndose lo que se denomina como triada lipídica aterogénica (57). Esta situación es debida a que en el hígado se produce un incremento de la lipogénesis hepática de novo y una disminución de la oxidación de ácidos grasos, la cuál estimula la secreción de partículas de VLDL ricas en triglicéridos (58). Este tipo de dislipemia es la misma que presentan aquellos pacientes con síndrome metabólico y mujeres con síndrome de ovario poliquístico. Los pacientes con síndrome metabólico presentan una desregulación del metabolismo de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) asociado a la resistencia a la insulina desencadenada por la acumulación de grasa en el tejido adiposo visceral (59).

- **Síndrome de ovario poliquístico:**

El síndrome de ovario poliquístico se caracteriza por presentar un exceso de andrógenos y afecta al 20% de mujeres sanas. Este tipo de pacientes se caracteriza por presentar una mayor obesidad abdominal y por una mayor tendencia a desarrollar resistencia a la insulina, siendo estos considerados como factores que influyen en el desarrollo de la dislipemia aterogénica (60).

- **Síndrome de Cushing:**

El síndrome de Cushing se caracteriza por producir una dislipemia aterogénica, al igual que la diabetes mellitus tipo 2, debido a la secreción elevada de glucocorticoides, sin embargo, tan sólo el 52% de los pacientes con hipercortisolismo son afectados por esta dislipemia secundaria (61).

- **Hiperuricemia:**

La hiperuricemia se caracteriza por presentar niveles elevados de ácido úrico, el cual es el producto final enzimático del metabolismo de las purinas y se encarga de eliminar los radicales de oxígeno y de proteger la membrana de los eritrocitos de la oxidación de lípidos (62). Los niveles elevados de ácido úrico se encuentran fuertemente asociados

con concentraciones elevadas de colesterol LDL, triglicéridos, colesterol total y apoenzima B e inversamente relacionados con las concentraciones de colesterol HDL (63).

- **Síndrome nefrótico:**

Como ya se mencionó anteriormente, otra de las enfermedades que producen una alteración en el metabolismo lipídico es el síndrome nefrótico. Los pacientes con dicho diagnóstico experimentan una alteración en el aclaramiento de las lipoproteínas (Figura 15), que se manifiesta con un incremento en la concentración plasmática de LDL, VLDL (64), ApoB, IDL y Lp(a) y por unas concentraciones de HDL que se mantienen generalmente constantes o disminuyen, pudiendo incluso aumentar en ciertos casos (65). El deterioro en la aclaración lipídica es producido por la disminución de la actividad de la lipasa hepática (44) y de la lipoproteín lipasa (LPL) en el endotelio, en los tejidos periféricos, en el músculo y en el tejido adiposo; y por un aumento de actividad de la proteína convertasa subtililina/kexina tipo 9 (PCSK9), la cual fomenta la degradación de los receptores de LDL. A esto le acompañan alteraciones tanto en su composición como en su función en las lipoproteínas asociados a incrementos en la concentración de las apolipoproteínas: ApoA-I, ApoA-IV, ApoB, ApoC y ApoE. La magnitud de la hiperlipemia es dependiente de la severidad de la proteinuria del paciente (66).

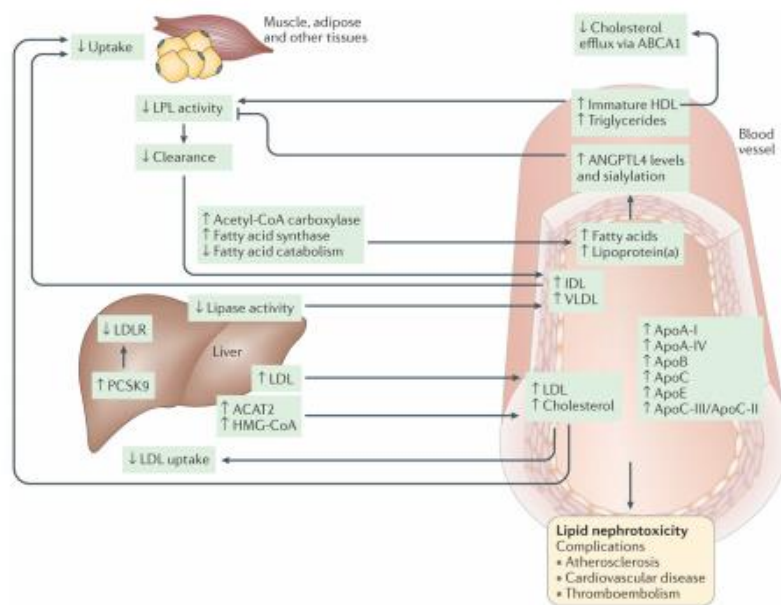


Figura 15. Fisiopatología del síndrome nefrótico (65)

- **Enfermedad renal crónica:**

El síndrome nefrótico puede conllevar la pérdida gradual de la función renal, lo que conlleva la aparición de la enfermedad renal crónica. La enfermedad renal crónica origina del mismo modo alteraciones en la homeostasis del colesterol que dan lugar a un incremento en la concentración de triglicéridos y colesterol asociado a las lipoproteínas VLDL y a una disminución de los niveles plasmáticos de colesterol total, colesterol asociado a las lipoproteínas HDL y a las LDL (67, 68).

- **Tratamientos farmacológicos:**

Como ya se ha mencionado anteriormente, determinados tratamientos farmacológicos pueden producir alteraciones en el metabolismo lipídico. La ingesta de anticonceptivos orales puede originar incrementos de la concentración de triglicéridos por aumento de las VLDL asociados a excesivos niveles de estrógenos (69). De forma similar, los β -bloqueadores no cardioselectivos que no presentan actividad mimética intrínseca, producen un decremento de las lipoproteínas de baja densidad al disminuir la lipólisis y la liberación de ácidos grasos y un incremento de las concentraciones de triglicéridos por inhibición de la activación de la lipasa, sin producir una variación en la concentración de colesterol total (70). Los corticoides y en especial, los glucocorticoides junto con los inhibidores de proteasas, fomentan el incremento de la obesidad abdominal y, en consecuencia, de la resistencia a la insulina, lo que conduce a la alteración lipídica característica de este proceso. Sin embargo, la dislipemia que produce el uso de ciclosporina se encuentra asociada a la disminución del aclaramiento de lipoproteínas plasmáticas (71, 72).

5. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINÉMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:

La hipercolesterolemia familiar es un trastorno monogénico del metabolismo lipídico de transmisión autosómica dominante heterocigota o homocigota causada por un defecto en el cromosoma 19, caracterizada por la presencia de niveles plasmáticos elevados de cLDL (resistentes a la restricción calórica, a la pérdida de peso y al ejercicio físico) (73), con manifestaciones clínicas tales como xantomas tendinosos, xantelasmas y arcos

corneales que se asocia con la presencia de enfermedad cardiovascular prematura. El incremento de la concentración plasmática de cLDL se encuentra asociado en la mayoría de los casos a mutaciones genéticas que producen la pérdida de función del receptor de lipoproteínas de baja densidad (RLDL), a mutaciones en la apolipoproteína B que promueven la pérdida de la capacidad de unión del RLDL sin perder la capacidad de ensamblaje de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y/o a la ganancia de función de la proteína PCSK9 (74).

La hipercolesterolemia familiar está clasificada por los Centros para Control y Prevención de Enfermedades (75) como una aplicación genómica de nivel 1, definiendo la aplicación genómica de nivel 1 como aquella causa que puede prevenir la aparición de alguna enfermedad prematura y muerte, cuyo control conlleva un impacto positivo en las guías de salud pública.

A lo largo de los últimos años y gracias a la adquisición de conocimiento sobre los Polimorfismos de un Solo Nucleótido (SNPs), la hipercolesterolemia poligénica ha ido adquiriendo una mayor importancia. Esta, al contrario que la hipercolesterolemia familiar, no es producida por un único gen de los descritos hasta ahora, sino que la contribución de numerosas alteraciones en los SNPs producen un incremento en las concentraciones de c-LDL (76).

La disbetalipoproteinemia familiar, también conocida según la clasificación de Fredickson como hiperlipemia tipo III o enfermedad de beta ancha, es un desorden lipídico de carácter autosómico recesivo que se caracteriza por la acumulación de quilomicrones y de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) asociado a la presencia en homocigosis de un defecto en la apolipoproteína E (77). La presencia de factores predisponentes como la obesidad (78), diabetes mellitus tipo 2 (79), la dieta, el alcohol (80), el embarazo (81), la menopausia o el incremento de estrógenos,..., son necesarios para que se produzca un posible desarrollo de la disbetalipoproteinemia (82). A pesar de ello, tan sólo el 15% de los pacientes con el genotipo E2/E2 desarrollan la enfermedad (83).

La hiperquilomicronemia familiar o hiperlipoproteinemia Tipo I o también conocida como déficit de lipoproteín lipasa (LPL) es un desorden monogénico raro de carácter autosómico y recesivo que se caracteriza por un incremento muy elevado de

triglicéridos derivados de los quilomicrones tras un ayuno de 12-14h y asociados a una pérdida en la funcionalidad de la LPL o en aquellos genes relacionados con su función, como ApoC-II, ApoA-V, LMF1 y GPIHBP1 (84, 85). Esta patología debe diferenciarse de la quilomicronemia multifactorial o hiperlipoproteinemia Tipo V, la cual presenta un origen poligénico que se agrava en presencia de factores secundarios como la obesidad, una diabetes descontrolada, una ingesta excesiva de alcohol o una dieta con exceso de azúcares y grasas cuya aparición es más tardía que la hiperquilomicronemia familiar (86). También destacar entre estos factores secundarios diversos tratamientos farmacológicos como el bexaroteno (87), la ciclosporina, la azatioprina, el tamoxifeno, los betabloqueantes, la 6-mercaptopurina y la furosemida entre otros, que producen un incremento muy elevado en la concentración de triglicéridos que origina en ocasiones pancreatitis aguda por hipertrigliceridemia (88), por lo que su uso en este tipo de pacientes sirve para descartar una posible hiperquilomicronemia familiar.

5.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:

La fisiopatología de la hipercolesterolemia familiar, disbetalipoproteinemia familiar y hiperquilomicronemia se encuentra relacionada con alteraciones en el metabolismo lipídico producidos en la vía exógena y endógena del transporte de lipoproteínas. La hipercolesterolemia familiar puede ser inducida por diferentes alteraciones de la vía endógena del metabolismo lipídico relacionadas con el RLDL, cuyo ciclo y estructura son representados en la Figura 16. El RLDL es sintetizado en el retículo endoplasmático, se transporta hacia la membrana plasmática y se fija en la superficie celular por acción de la proteína clatrina. Cada 5 minutos, los receptores son degradados por endocitosis y forman endosomas al transportarse al citoplasma. En el caso de que el RLDL esté unida a alguna partícula de LDL, su contenido se hidrolizará para formar aminoácidos y colesterol no esterificado. Este colesterol no esterificado se transforma en colesterol esterificado a través de la enzima colesterol aciltransferasa, formando parte de su reservorio celular. Una vez se ha completado el ciclo celular, los RLDL son reciclados para comenzar de nuevo el ciclo o degradados por la proteína PCSK9 (89).

Mutaciones en el RLDL, en la ApoB-100 o la ganancia de función de la PCSK9 promueven un incremento en la concentración plasmática de LDL característico de la hipercolesterolemia familiar, asociado en la mayoría de los casos a un fallo en la captación de LDL por una mutación en el RLDL que evita el reconocimiento de la lipoproteína y su posterior endocitosis. Este fenómeno se produce también en el caso de que esa mutación se encuentre en la ApoB-100 (única apolipoproteína de las LDL) o en el caso de que se produzca una disminución o ausencia de RLDL por la ganancia de actividad de la PCSK9, proteína encargada de su degradación (Figura 17) (90).

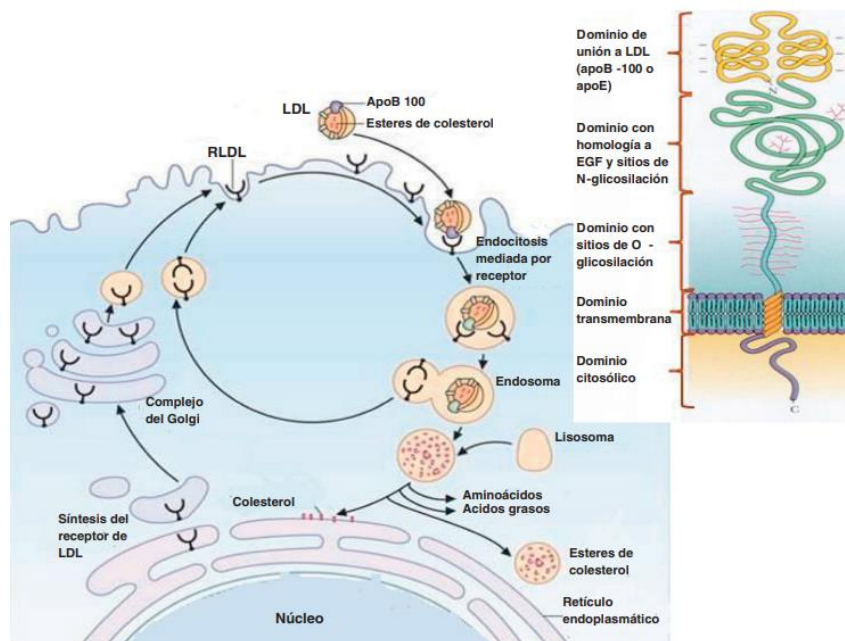


Figura 16. Ciclo celular del RLDL (89)

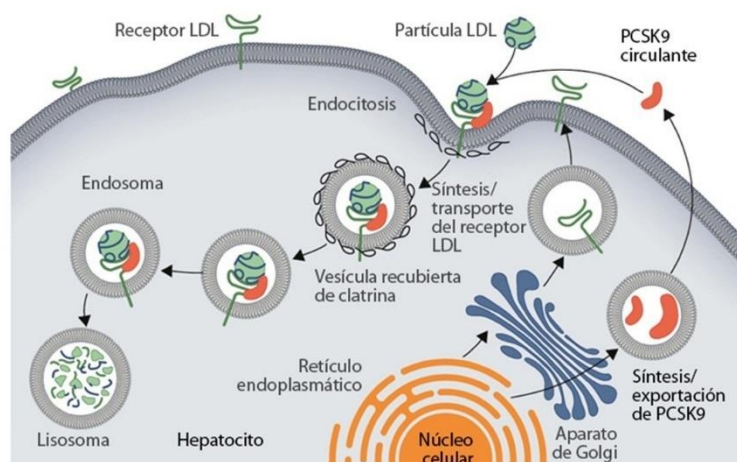


Figura 17. Degradación del RLDL por PCSK9 (90)

La disbetalipoproteinemia familiar se origina por mutaciones en la Apo E asociadas a la isoforma E2, siendo la isoforma E3 la característica de la población sana. La ApoE es la apolipoproteína que activa el reconocimiento de las lipoproteínas por los receptores involucrados en el catabolismo de quilomicrones y VLDL. La alteración en la isoforma de la ApoE provoca una disminución o ausencia de interacción entre los remanentes de quilomicrones y los receptores HSPG y de las VLDL derivadas del hígado con los LDL, dando lugar a un fallo en su aclaramiento y facilitando el paso de estas lipoproteínas al torrente sanguíneo, promoviendo un aumento en la concentración de triglicéridos y en menor medida de cLDL (91, 92).

La hiperquilomicronemia familiar es producida con mayor frecuencia por alteraciones genéticas en la LPL o en los principales cofactores presentes en la cascada lipolítica. La LPL es la enzima encargada de la degradación de los triglicéridos que contienen los quilomicrones provenientes de la dieta en ácidos grasos y glicerol, permitiendo la internalización de los ácidos grasos libres en el músculo esquelético y el corazón para la producción de energía o del tejido adiposo para su almacenamiento. Tanto la funcionalidad como la maduración de esta enzima es dependiente de una serie de cofactores: el Factor de Maduración de la Lipasa 1 (LMF1), una proteína que fomenta la formación de un homodímero de LPL para que se produzca su secreción enzimática cuando finalice su función; el glicosilfosfatidilinositol anclado a la proteína de unión a proteínas de alta densidad 1 (GPIHBP1), el cual mantiene la LPL anclada al endotelio y la transporta a través del mismo a la luz capilar; la Apo-CII, apoenzima que activa catalíticamente a la LPL; y la Apo-AV, cuya función es incrementar la actividad lipolítica de la LPL (93). La pérdida de función en la LPL o alguno de sus cofactores, producirá la disminución de la lipólisis induciendo un incremento de la concentración de quilomicrones y, en menor medida, de VLDL (94).

Se han detectado recientemente fenotipos de hipertrigliceridemias severas causadas por la coexistencia de mutaciones con variantes raras en heterocigosis en los genes característicos de la hiperquilomicronemia familiar, diagnosticando a estos pacientes como síndrome de hiperquilomicronemia multifactorial (95).

5.2. RIESGO CARDIOVASCULAR DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:

El principal factor de riesgo cardiovascular tanto de la hipercolesterolemia familiar como de la disbetalipoproteinemia es la formación de la placa de ateroma producida por la alteración del metabolismo lipídico que se produce particularmente en los individuos que sufren este tipo de trastornos. Sin embargo, la hiperquilomicronemia familiar y multifactorial no han sido descritas como un trastorno que se caracterice por su elevada presencia de enfermedad cardiovascular, sino por aparición de pancreatitis (96).

La hipercolesterolemia familiar es considerada como una alteración genética del metabolismo lipídico caracterizada por concentraciones de cLDL superiores a los rangos de normalidad que circulan por la sangre y que presentan un potencial papel aterogénico al fomentar el incremento de la placa de ateroma; la cual se encuentra vinculada con la presencia de eventos cardiovasculares precoces. Es por ello por lo que una gran proporción de la enfermedad cardiovascular que se produce antes de los 45 años se asocia a hipercolesterolemia familiar (97). El fenotipo que presenta la hipercolesterolemia familiar homocigótica se caracteriza por la aparición precoz de eventos cardiovasculares entre los que se incluyen eventos como ataque al corazón, accidente cerebrovascular, muerte cardíaca prematura y valvulopatía aórtica a edades muy tempranas (98).

Las estimaciones más recientes establecen que el riesgo cardiovascular que presenta un caso positivo de hipercolesterolemia familiar heterocigótica es veinte veces superior al de la población general (99) y de 2 a 3.5 veces superior que aquellos pacientes que, a pesar de presentar una elevación en las concentraciones de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, no tienen ninguna variante genética descrita para la hipercolesterolemia familiar (100). Además, un paciente con hipercolesterolemia familiar podrá presentar eventos con un tiempo de vida medio 3.9 veces mayor que otro paciente normolipémico con los mismo factores de riesgo (101).

En numerosos ensayos clínicos aleatorizados y estudios de aleatorización mendeliana se ha demostrado que existe una relación logarítmica entre el incremento de las

concentraciones plasmáticas de cLDL y el riesgo de aparición de un evento cardiovascular prematuro (102). Además de existir una asociación a un mayor riesgo cardiovascular con una exposición a largo plazo de niveles bajos de cLDL en comparación con una exposición a corto plazo (103) lo que respalda la teoría del efecto causal y acumulativo que presentan las lipoproteínas de baja densidad sobre el incremento que se produce en la aparición de un evento cardiovascular (104).

Se ha estimado que el 20% de los casos de enfermedad cardiovascular prematura se producen en pacientes que presentan hipercolesterolemia familiar (105). Esto conlleva a que el 50% de los varones antes de los 50 años y a que el 30% de las mujeres antes de los 60 años, pueda padecer de enfermedad cardiovascular prematura mortal o no mortal (106) y que aproximadamente el 80% de los pacientes que padezcan de HFHe y el 100% de los pacientes con HFHo, en caso de no ser tratados para reducir la concentración de cLDL, sufran o fallezcan de enfermedad cardiovascular arteriosclerosa (107).

En 1998 la OMS estimó que alrededor de 250 millones de personas en el mundo están expuestas a un alto riesgo de fallecer a una edad precoz porque son portadores de uno o varios genes que promueven las alteraciones lipídicas. Entre estos desórdenes se incluyen a la hipercolesterolemia familiar, la hiperlipemia familiar combinada y otras hipercolesterolemias poligénicas (108).

La disbetalipoproteinemia produce una acumulación de lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos y en colesterol en circulación. Este defecto en el aclaramiento de remanentes hace que sean considerados como muy aterogénicos según estudios observacionales de randomización Mendeliana (109) en los cuales se ha establecido que los mecanismos de lipólisis de los triglicéridos contribuyen a la acumulación endotelial de los remanentes e inducen un estado inflamatorio (110), de manera que aquellos remanentes que no han sido previamente oxidados son captados por los macrófagos y comienzan a inducir una inflamación arterial en la cuál, se produce la propagación de monocitos (muy prevalentes en lesiones ateroscleróticas) (111).

El riesgo cardiovascular de la disbetalipoproteinemia es similar al de la hipercolesterolemia familiar heterocigótica (83).

La hiperquilomicronemia familiar y la multifactorial no se caracterizan por la presencia de quilomicrones remanentes potencialmente aterogénicos por lo que los pacientes con este tipo de patología no se suelen caracterizar por una presencia prevalente de ECV prematura (94, 112). Sin embargo, en un estudio retrospectivo realizado entre 2006 y 2016 en 70.201 pacientes atendidos en el Cleveland Clinic Lipid Center, se compararon aquellos que padecían de hiperquilomicronemia familiar con pacientes control que presentaban hipertrigliceridemia y pancreatitis previa, en el que se determinó que el 50% de los pacientes sufrieron eventos cardiovasculares a los 60 años a pesar de presentar concentraciones de cLDL < 70 mg/dl, por lo que quizás la hipertrigliceridemia puede contribuir a la aparición de ECV prematuros (113). La hiperquilomicronemia multifactorial es la que parece encontrarse más relacionada con la presencia de enfermedad aterosclerótica debido a que los perfiles lipídicos de los pacientes que padecen de este trastorno se caracterizan por la acumulación posprandial de triglicéridos tanto de origen intestinal como hepático, ricos en lipoproteínas proaterogénicas como quilomicrones que contienen ApoB-48 y VLDL que contienen ApoB-100; a pesar de ello, la medida estandarizada de estas partículas no se ha logrado realizar (84).

5.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:

Los primeros datos epidemiológicos sobre la prevalencia de la hipercolesterolemia familiar la establecían en 1:500 para la hipercolesterolemia familiar heterocigota y de 1:1.000.000 para la hipercolesterolemia familiar homocigota, a excepción de las regiones con alta tasa de consanguinidad como Sudáfrica o el Líbano, donde la prevalencia era de 1:100 (114).

En la actualidad, la hipercolesterolemia familiar es una patología que cada vez es más conocida tanto a nivel clínico como a nivel poblacional por el riesgo cardiovascular que conlleva asociado a su infratratamiento, por lo que su prevalencia se ha incrementado tanto para la hipercolesterolemia familiar heterocigota como para la homocigota, siendo esta 1:200 o 1:250 (en función del país al que se haga referencia) y 1:300.000 casos respectivamente para la población general (115). Esto implica que a nivel mundial

aproximadamente 35 millones de personas padezcan de hipercolesterolemia familiar heterocigota, de los cuáles un 25% se asocia a menores de 18 años y estimándose que por cada minuto que pasa, nace un niño con hipercolesterolemia familiar heterocigota (116).

Haciendo referencia a la prevalencia de España, en 2013 se estimó que la prevalencia de HFHe era de aproximadamente unas 100.000 personas afectadas (117). Un estudio más reciente realizado en 2017 en el sistema de salud catalán a través de la base de datos SIDIAP entre los años 2006 y 2014 para la población mediterránea, en el cual se incluyeron 2.5 millones de pacientes, se estimó que la prevalencia de la HFHe estandarizada por sexo y edad era de 1/192 personas y de 1/425.774 personas para la HFHo (118). Sin embargo, en 2018 la European Atherosclerosis Society (EAS) Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration (FHSC) determinó que la prevalencia de HFHe en España era mayor a la indicada anteriormente, ya que la estimaba en 1:300 personas (119). A pesar de ello, estas estimaciones presentan ciertas limitaciones y su extrapolación a todos los países es errónea ya que la prevalencia de cada país se encuentra condicionada por factores únicos de cada país como los representados en la Tabla 8 (120).

Características Poblacionales
<ul style="list-style-type: none"> - Culturales, etnias, patrones de migración, tasas de consanguinidad - Espectro de mutaciones genéticas - Efectos Fundadores - Niveles de colesterol de la población (determinados por la dieta y el estilo de vida)
Problemas Clínicos y Financiación
<ul style="list-style-type: none"> - Falta de programas de detección - Falta de estandarización en los criterios diagnósticos - Accesibilidad limitada a las pruebas diagnósticas - Variabilidad en la práctica clínica

Tabla 8. Factores que influyen en la prevalencia individual por países

Hoy día no existen estudios epidemiológicos representativos de la prevalencia de hipercolesterolemia familiar en España.

Al contrario que la hipercolesterolemia familiar heterocigota, la disbetalipoproteinemia presenta una baja prevalencia asociada en su mayor parte al infradiagnóstico, variando esta según los estudios entre 1:150 y 1:10.000 para la población general (121, 122).

Únicamente se ha realizado un estudio poblacional para determinar la prevalencia de la disbetalipoproteinemia, este es el estudio “Lipid Research Clinics Prevalence Study” (123) realizado entre los años 1972 y 1976 en diez poblaciones norteamericanas, en el cuál se estimó que la prevalencia de la población estudiada tan sólo era del 0.4% y 0.2% en hombres y mujeres mayores de 20 años.

La hiperquilomicronemia familiar es considerada como una enfermedad rara ya que su prevalencia es aún inferior a la de la disbetalipoproteinemia, siendo su estimación en homocigosis de 1/1.000.000 de pacientes (84). Y siendo la prevalencia del síndrome de hiperquilomicronemia multifactorial de 1/600 pacientes (124).

5.4. INFRADIAGNOSTICO E INFRATRATAMIENTO DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:

El diagnóstico precoz y el uso de tratamientos hipolemiantes son coste-efectivos para mitigar la morbilidad cardiovascular y el riesgo de mortalidad (125). A pesar de que los pacientes con hipercolesterolemia familiar acuden al primer nivel asistencial, la mayoría se encuentra sin tratamiento hipolemiante debido a la falta de diagnóstico clínico o con un tratamiento hipolemiante insuficiente (126). La mayor parte de la población se encuentra infradiagnosticada e infratratada (36), ya que menos del 1% de la población mundial ha sido diagnosticada (127) debido a que tan sólo el 50% de los clínicos se encuentran familiarizados con este trastorno y, en consecuencia, subestiman el riesgo cardiovascular que conlleva (128). Aquellos países donde se han desarrollado programas de detección son los que presentan una mayor tasa de diagnóstico (114).

Existen numerosas barreras que se relacionan con la falta de diagnóstico precoz de pacientes con hipercolesterolemia familiar y su tratamiento representados en la Tabla 9

entre los cuáles destacan la falta de uniformidad de criterios clínicos para su detección, la escasez de recursos económicos destinados al análisis genético para este tipo de patología y la escasez de conciencia para plantear programas de detección precoz (129).

De la población diagnosticada como hipercolesterolemia familiar por sus signos clínicos, se ha estimado que debido a la falta de inversión para realizar estudios genéticos, el 20 al 30% se encuentra erróneamente diagnosticada debido a que el origen de su alteración lipídica es poligénico (130).

Diagnóstico
<ul style="list-style-type: none"> - <u>Médico:</u> <ul style="list-style-type: none"> ○ Conocimiento del trastorno ○ Conocimiento de las guías clínicas actuales ○ Identificación de los casos probables en los diferentes niveles de atención médica ○ Falta de uniformidad en los criterios clínicos ○ Métodos de cribado (universal, oportunista, en cascada) ○ Edad de cribado ○ Especialistas en trastornos lipídicos o metabólicos (multidisciplinarios e integrados con médicos generales) ○ Disponibilidad de diagnóstico genético - <u>Pacientes:</u> <ul style="list-style-type: none"> ○ Educación familiar ○ Concienciación familiar ○ Percepción del riesgo
Riesgo cardiovascular
<ul style="list-style-type: none"> - Subestimación del riesgo - Falta de identificación y/o de revisión de otros factores de riesgo cardiovascular - Estratificación del riesgo con imágenes de ecografía carotídea o tomografía computarizada y biomarcadores (lipoproteína (a))
Registros
<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo - Información clínica - Investigación - Auditoría
Programas nacionales para detección y gestión de HF
<ul style="list-style-type: none"> - Sistemas de salud - Formulación de políticas

Tabla 9. Lista de obstáculos que fomentan el infratratamiento (127)

Por el contrario, el infradiagnóstico que sufren los pacientes con disbetalipoproteinemia familiar se encuentra asociado al establecimiento de diagnósticos erróneos debido a que este tipo de pacientes suele presentar una clínica que se caracteriza por elevaciones en la concentración tanto de triglicéridos como de colesterol, que suele identificarse con hiperlipemias mixtas (42, 92). Los pacientes que presentan un posible diagnóstico de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial también se encuentran tratados erróneamente debido al desconocimiento de esta patología por parte de los clínicos no especialistas en lípidos y al no disponer en todos los hospitales de la posibilidad de realizar un diagnóstico genético para la LPL (93).

5.5. CLÍNICA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DE LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y DE LA HIPERQUILOMICRONEMIA:

A pesar de que en 1938 Carl Müller fue el primero en describir las principales características clínicas de la hipercolesterolemia Familiar (hipercolesterolemia, xantomas tendinosos, enfermedad cardiovascular prematura y antecedentes familiares), el científico noruego Leiv Ose estableció en 2008 el primer caso posible de hipercolesterolemia familiar representado en la conocida obra Mona Lisa pintada por Leonardo Da Vinci en 1507; a esta obra de arte representada en la Figura 18 se le han atribuido numerosas enfermedades con el objetivo de descifrar su enigmática sonrisa, no obstante, realizando un exhaustivo examen físico del cuadro se han observado una mancha amarilla irregular en la parte interna del párpado superior izquierdo (conocido posteriormente como xantelasma) y una leve hinchazón en el dorso de la mano derecha, bajo el dedo índice, de aproximadamente 3 cm de largo. Teniendo en cuenta que Madonna Lisa María de Gherardini (Florencia 1479) falleció a los 37 años y que los síntomas que presentaba se corresponden con las típicas lesiones datadas históricamente que presentan mujeres de entre 25 y 40 años con un trastorno lipídico, se establece que con una alta probabilidad sus síntomas sean debidos a este trastorno lipídico genético y por ello, actualmente se puede considerar como la primera evidencia conocida de hipercolesterolemia familiar (131).

Como bien describió Carl Müller, la clínica de la hipercolesterolemia familiar representada en la Figura 19 se caracteriza por la presencia de depósitos de colesterol

que se manifiestan como xantomas tendinosos principalmente en el tendón de Aquiles y en los tendones extensores del dorso de las manos (132); xantelasmas en la piel alrededor de los párpados; y por la presencia del arco corneal (117).



Figura 18. Signos clínicos de HF en el cuadro de la Mona Lisa de Leonardo da Vinci

Tanto los xantomas como los xantelasmas pueden presentar una morfología en forma de depósitos de colesterol tanto plana como ligeramente elevada de color amarillo (133) y cuyo mecanismo de formación se basa en que las partículas lipídicas quedan retenidas en la pared vascular, donde son internalizadas por los macrófagos, formando células espumosas que pueden migrar a determinados tejidos (134).

Los xantelasmas, formados por macrófagos fagocíticos lipídicos en la dermis o en el tejido subcutáneo, a menudo sufren fibrosis, lo que les confiere características similares a las lesiones ateroscleróticas (135). Pueden incluso aumentar su tamaño de manera que pueden llegar a aproximarse tanto entre ellos, que llegan a unirse. La presencia de xantomas y xantelasmas en pacientes menores de 50 años debe considerarse como una indicación para realizar un examen del perfil lipídico del mismo. Estas manifestaciones disminuirán o se eliminarán en caso de que a los pacientes se les ponga una terapia y

alcancen una concentración de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (136, 137).

A pesar de que los xantomas tendinosos son patognomónicos de la hipercolesterolemia familiar, tan sólo un 30% presentan un diagnóstico genético positivo para la hipercolesterolemia familiar (138).

Por otro lado, el arco corneal se origina por la acumulación de lípidos, en especial de ésteres de colesterol, que son transportados desde los capilares limbares hasta el estroma corneal y su presencia no tiene un impacto negativo en la agudeza visual. Este proceso tiene lugar progresivamente con la edad, es por ello, por lo que se considerarán signos clínicos de hipercolesterolemia familiar en caso de pacientes menores de 50 años. El arco corneal se caracteriza por ser un anillo con un ancho de 1-1.5 mm de color blanco grisáceo y en ocasiones azulado, que se localiza en la córnea. Además, el arco corneal es considerado como uno de los estigmas de la hipercolesterolemia familiar homocigótica (139).



Figura 19. Signos clínicos característicos HF **A)** Xantomas tendinosos tendón de Aquiles; **B)** Xantomas tendinosos extensores de la mano; **C)** Arco corneal completo en varón < 45 años; **D)** Xantomas eruptivos en manos y rodillas en niño de 5 años (117)

Tanto las manifestaciones clínicas de la hipercolesterolemia familiar como su intensidad dependen de la concentración plasmática de colesterol del paciente, así como del

tiempo durante el cuál se está expuesto. Es por esta razón por la que sólo se presentarán en aquellos pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigótica o con concentraciones lipídicas muy elevadas y no en adultos jóvenes o niños.

A lo largo de los últimos años, ha surgido el concepto de un trastorno lipídico que produce un incremento de concentraciones plasmáticas de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad cuyo origen es poligénico y que hay que tener en cuenta a la hora de diagnosticar este tipo de patología debido a que la clínica es en ocasiones, similar a la de la hipercolesterolemia familiar heterocigótica (140).

La disbetalipoproteinemia puede ser asintomática durante mucho tiempo o incluso durante toda la vida pero cuando se manifiesta clínicamente lo hace con xantomas de pliegue palmar como signos patognomónicos, acompañados o no de xantomas tuboeruptivos en las superficies extensoras (Figura 20) (141). Estos signos clínicos característicos de la disbetalipoproteinemia fueron descritos por primera vez en 1954 para una población de 49 pacientes de entre 23 a 70 años, donde el 74% de los pacientes presentaba xantomas palmares (142). Estudios más recientes han establecido que tan sólo el 20% de los pacientes homocigotos presentan este tipo de signos clínicos (143).



Figura 20. Signos clínicos característicos de la disbetalipoproteinemia. **A)** Xantomas en codo izquierdo de 2-3 mm (141) **B)** Xantomas tuboeruptivos (143) **C)** Xantomas tuboeruptivos en codos **D)** Xantomas tuboeruptivos rodillas (144)

La hiperquilomicronemia familiar presenta signos clínicos similares a la hipercolesterolemia familiar y la disbetalipoproteinemia, como son los xantomas eruptivos, generalmente presentes en menos del 50% de los individuos afectados por esta patología en hombros, en los extensores de las extremidades y en los glúteos. Además de otros signos propios característicos como la lipemia retinalis, la hepatoesplenomegalia, el dolor abdominal y la pancreatitis aguda. Esta última es el signo clínico más grave y característico, el cual se incrementa en un 3% por cada aumento de 100 mg/dl en la concentración de triglicéridos, a partir de los 1.000 mg/dl, hecho que puede conllevar a la muerte debido a fallo orgánico y a una necrosis pancreática (84, 86, 145). A pesar de ello, la tasa de pancreatitis en esta patología se produce en el 50-80% de los casos, por lo que si bien la presencia de xantomas eruptivos, la lipemia retinalis y la hepatoesplenomegalia son síntomas indicativos de la hiperquilomicronemia familiar, la ausencia de pancreatitis no debe inducir a la exclusión de dicho diagnóstico (93).

5.6. MARCADORES BIOQUÍMICOS (cLDL, ApoB, Lp(a) y ApoE):

La cuantificación plasmática de lípidos se realiza en el suero completo y la cuantificación de las lipoproteínas se realiza midiendo el componente proteico (146). Se ha demostrado fehacientemente que el exceso de colesterol plasmático es una causa directa que promueve la aparición de eventos cardiovasculares prematuros, en especial se hace referencia al colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL), a las lipoproteínas que contiene apolipoproteína B (147) y a la lipoproteína a.

Las partículas potencialmente aterogénicas son las siguientes:

- **Lipoproteínas de baja densidad (LDL):** Las lipoproteínas de baja densidad son aquellas lipoproteínas cuya composición está basada en un 90% en ésteres de colesterol y en un 10% en triglicéridos que forman parte de su núcleo interno, el cual es considerado como no polar y que se encuentran rodeados por una monocapa de fosfolípidos y colesterol no esterificado, la cual contiene en su superficie una única ApoB-100. Esto equivale a un 50% de masa de colesterol por peso (148). Es por ello por lo que las lipoproteínas de baja densidad son consideradas como la principal forma de transporte tanto de colesterol, como de colesterol esterificado (149).

En función del tamaño y de la cantidad de ésteres de colesterol que contengan las partículas de LDL se pueden clasificar las lipoproteínas en: LDL flotante grande que comprende el LDL-I (grande) y LDL-II (intermedio) y LDL pequeño y denso (sdLDL) que comprende el LDL-III (pequeño) y LDL-IV (muy pequeño). Las partículas de LDL flotantes presentan una concentración superior de ácido siálico, el cual forma parte de las cadenas de glicosilación de la APOB, que las partículas de LDL pequeñas y densas, lo que fomenta que ante la presencia de concentraciones bajas de ácido siálico se produzca un incremento de afinidad por los proteoglicanos de la pared arterial, los cuales quedan atrapados en el espacio subendotelial formando la placa aterosclerótica (150).

- **Apolipoproteína B-100**: La apolipoproteína B-100 se encuentra anclada a la monocapa de fosfolípidos y moléculas de colesterol no esterificadas. Presenta un papel crucial en el aclaramiento hepático de las lipoproteínas de baja densidad debido al papel que juega como ligando para el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (151). Otra de las funciones de esta apolipoproteína B-100 es la mediación de la unión de lipoproteínas de baja densidad a los proteoglicanos del interior de la pared arterial (152). Aquellas apolipoproteínas B de menos de 70 nm que se encuentran en las lipoproteínas ricas en triglicéridos y sus remanentes, que debido a su pequeño tamaño, cruzan al barrera endotelial y quedan atrapadas al interaccionar con estructuras extracelulares (153).

La apolipoproteína B es considerada como la medida directa del número total de lipoproteínas aterogénicas en circulación debido a que toda aquella lipoproteína que contenga apolipoproteína B, incluidas las lipoproteínas de muy baja densidad, las partículas remanentes ricas en triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad, únicamente tienen una molécula de apolipoproteína B. Esto conlleva que se justifique la relación entre la disminución de cLDL y el riesgo cardiovascular.

Se ha observado que aquellas personas que presentan concentraciones elevadas de lipoproteínas que contiene apolipoproteína B tienden a retener una mayor concentración de lipoproteínas aterogénicas, lo que conlleva una mayor velocidad en la formación de la placa aterosclerótica (154).

- **Lipoproteína (a):** La lipoproteína (a) es una molécula que se encuentra unida mediante un enlace disulfuro a una apolipoproteína B-100 de las lipoproteínas de baja densidad y que se encuentra unida covalentemente a una glicoproteína de gran tamaño conocida como apolipoproteína A (155). La lipoproteína a se caracteriza por su potencial papel aterogénico asociado a su elevada capacidad para unir fosfolípidos oxidados e inhibir la actividad del plasminógeno (156).

El 25% de la población presenta niveles de lipoproteína a superiores a los 30 mg/dl y se ha estimado que a nivel mundial, más de 1.4 billones de personas presentan niveles plasmáticos de lipoproteína a superiores a los 50 mg/dl (157). La lipoproteína a es polimórfica por lo que las concentraciones varían ampliamente en función de los individuos (158), a pesar de ello y de que las vías metabólicas que producen un incremento de los niveles de lipoproteína a aún no están establecidos (159). En numerosos estudios de aleatorización mendeliana han establecido que niveles de lipoproteína a superiores a los 30 mg/dl presentan una asociación curvilínea con el riesgo prematuro de presentar un evento cardiovascular (160, 161) como infarto agudo de miocardio (IAM), accidente cerebrovascular isquémico, enfermedad arterial periférica y valvulopatía aórtica calcificada en pacientes sin hipercolesterolemia familiar (162).

Los pacientes con hipercolesterolemia familiar pueden presentar un incremento en la concentración plasmática de lipoproteína a que puede conllevar un incremento de la aparición de un evento cardiovascular prematuro (163). Se ha observado que numerosos pacientes con hipercolesterolemia familiar asociada a alteraciones genéticas en el RLDL presentan mayores concentraciones séricas de lipoproteína a, por lo que se sugiere que la vía de RLDL cataboliza la lipoproteína a (164). Esta hipótesis se ha confirmado con la inhibición de la PCSK9, la proteína que inhibe la formación de ésteres de colesterol (165), ya que la inhibición de la PCSK9 reduce la concentración plasmática de cLDL y entre un 20-30% la concentración de lipoproteína a debido a que se fomenta la expresión de los RLDL de la superficie de los hepatocitos (166).

También se ha demostrado que aquellos pacientes con ausencia de receptores de lipoproteínas de baja densidad asociado a mutaciones nulas en ese receptor

tienden a presentar una mayor concentración plasmática de lipoproteína a en comparación con aquellos individuos que presentan hipercolesterolemia familiar heterocigótica asociada a receptores de lipoproteínas de baja densidad parcialmente activos (167, 168). Sin embargo, este incremento de niveles plasmáticos de lipoproteína a asociada a mutaciones nulas en el receptor de lipoproteínas de baja densidad es aproximadamente el doble en pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigótica (169); a pesar de ello, la contribución en la lipoproteína a en la formación de la placa carotídea es controvertida (170). Las concentraciones de lipoproteína a presentan poca variación a lo largo de la vida a excepción del embarazo, el uso de anticonceptivos orales, la transición de la menopausia o la insuficiencia renal, por lo que su medida no debe incluirse reiterativamente en las determinaciones del perfil lipídico (171).

- **Apolipoproteína E:** La apolipoproteína E o ApoE forma parte de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y de las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) (172). Se han relacionado anomalías en las concentraciones de ApoE tanto en enfermedades cardiovasculares como en enfermedades infecciosas y neurológicas (173).

5.7. HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO Y GENÉTICA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, LA DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR Y LA HIPERQUILOMICRONEMIA:

El diagnóstico de hipercolesterolemia familiar con frecuencia se realiza por casualidad a través de un chequeo preventivo en el que el clínico le solicita al paciente la determinación de colesterol total o colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad en sangre. Y en menores casos, se realiza una detección a través de la manifestación o complicación causada por la aterosclerosis (132).

El “perfil lipídico estándar” se emplea como análisis rutinario para la predicción del riesgo cardiovascular en pacientes tanto con hipercolesterolemia familiar como con disbetalipoproteinemia. Este perfil incluye las determinaciones de colesterol total, triglicéridos (TG), colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL), colesterol no HDL y,

opcionalmente, la determinación directa de colesterol asociado lipoproteínas de baja densidad (174).

El “perfil lipídico ampliado” se aplica a pacientes con hipercolesterolemia familiar y se emplea en aquellos casos seleccionados en la Tabla 10, en cuyo perfil se incluyen las determinaciones de lipoproteína a y/o apolipoproteína B (175).

	Estimación RCV	Caracterización dislipemia	Selección de tratamiento	Tratamiento objetivo
Pruebas primarias				
CT	Sí	Opcional	Opcional	Opcional
cHDL	Sí	Sí	No	No
TG	Sí	Sí	Sí	No
cLDL	Sí	Sí	Sí	Sí
cRemanente	Opcional	Opcional	No	Opcional
No cHDL	Sí	No	No	Sí
Pruebas adicionales				
ApoB	Sí	Sí	No	Opcional
Lp(a)	Sí	Sí	Aún no	Aún no

Tabla 10. Determinaciones lipídicas según objetivo clínico

A pesar de que idealmente se ha establecido que las determinaciones del perfil lipídico deben realizarse con 12 horas de ayuno para reducir la variabilidad de las concentraciones del triglicéridos y para estimar estandarizadamente la concentración de colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad, en la práctica clínica, estas concentraciones no se suelen medir directamente, sino que se calculan mediante la ecuación de Friedewald; en controversia, se ha planteado el realizar perfiles lipídicos en estado de no ayuno que se justifica en que un periodo de 8 horas de ayuno es insuficiente para determinar el perfil lipídico aterogénico debido a que durante un ciclo de 24h predomina el estado de no ayuno y a que en periodo de ayuno se promueve la presencia de lipoproteínas aterogénicas de origen hepático y durante el no ayuno, las de origen intestinal, por lo que se producirá durante el no ayuno una mayor captación de lipoproteínas aterogénicas en plasma (176).

La ecuación de Friedewald (177) expresado en mg/dl viene dada por la siguiente expresión:

$$cLDL = CT - cHDL - cVLDL = CT - cHDL - (TG/5)$$

Para la determinación del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad se establece una relación entre las lipoproteínas ricas en triglicéridos que aumenta progresivamente a medida que se incrementa la gravedad de la hipertrigliceridemia, por lo que la ecuación de Friedewald sobreestima, cuando hay una concentración elevada de triglicéridos, el colesterol asociado a las lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL) y subestima el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (177). En estos casos se realiza la determinación del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad directo mediante técnicas de ultracentrifugación o enzimáticas (178) a pesar de que la determinación directa del cLDL presenta de igual modo limitaciones como la inexactitud en pacientes con hipertrigliceridemia (179) o disbetalipoproteinemia (180), además de ser una fórmula considerada como inexacta en diversos estudios en pacientes diabéticos, con insuficiencia renal o hepatopatías (181, 182).

Se debe realizar una corrección de la concentración de cLDL en pacientes con sospecha de concentraciones de lipoproteína a elevada mediante la siguiente ecuación expresada en mg/dl:

$$cLDL \text{ corregido con Lp(a)} = cLDL - [0.3 \times Lp(a)] \text{ (183)}$$

Debido a que cada partícula aterogénica contiene una molécula de apolipoproteína B, la determinación de las concentraciones de apolipoproteína B son consideradas como una medida directa de las lipoproteínas asociadas a enfermedad cardiovascular prematura, es decir, las lipoproteínas de baja densidad y la lipoproteína a (184). La cuantificación de más fácil implementación en laboratorios clínicos de la apolipoproteína B se realiza a través de métodos estandarizados, económicos, automatizados y precisos (185) con inmunoensayos como la inmunonefelometría, la inmunoturbidimetría y el inmunoensayo ELISA (186). La determinación de apolipoproteína B se puede realizar incluso en estado de no ayuno debido a que las concentraciones posprandiales máximas, la concentración de apolipoproteína B-100 asociada a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) es inferior al 10% (185).

La lipoproteína (a) se puede cuantificar a través de un ensayo turbidimétrico con anticuerpos monoclonales de lipoproteína a en plasma humano o suero (178).

Se sospecha que un paciente adulto puede padecer hipercolesterolemia familiar si presenta los siguientes criterios (117):

- Si las concentraciones de cLDL > 220 mg/dl y tiene antecedentes familiares de primer grado de hipercolesterolemia y/o enfermedad cardiovascular prematura.
- Si a los pacientes anteriormente referidos se les ha realizado una búsqueda oportunista en profundidad en sus antecedentes familiares y personales de hipercolesterolemia y/o enfermedad cardiovascular prematura y presentan alguno de ellos.
- Presencia de xantomas en el caso índice y/o en familiar de primer grado.
- Aquellos pacientes con concentraciones de cLDL > 300 mg/dl a pesar de no disponer de antecedentes familiares de hipercolesterolemia.

Sin embargo estos niveles varían en el caso de niños y adolescentes, en los cuáles se sospechará que pueden padecer hipercolesterolemia familiar si presenta los criterios expresados a continuación (117):

- Si las concentraciones de cLDL > 135 mg/dl o un colesterol total mayor de 200 mg/dl en caso de menores de 18 años en al menos dos ocasiones su diagnóstico será compatible con la hipercolesterolemia familiar.
- Si las concentraciones cLDL \geq 190 mg/dl en caso de los mayores de 18 años y sus progenitores presentan antecedentes de hipercolesterolemia y/o enfermedad cardiovascular prematura.
- Se recomienda determinar la concentración de cLDL en niños a partir de los 2 años en caso de diagnóstico positivo de hipercolesterolemia familiar en al menos uno de los progenitores.
- En caso de conocer la mutación que presenta uno de los progenitores previa detección genética, se recomendará en aquellos niños con concentraciones de cLDL > 150 mg/dl la determinación genética del mismo.

El análisis bioquímico de los pacientes para su diagnóstico es siempre cumplimentado con las escalas de puntos que se comentarán posteriormente.

Al contrario que la hipercolesterolemia familiar, la disbetalipoproteinemia no se puede detectar a través de un panel lipídico convencional (187). Las técnicas de diagnóstico mediante electroforesis y ultracentrifugación no se encuentran disponibles en todos los laboratorios de práctica clínica asistencial rutinaria (188); es por ello, por lo que los pacientes con disbetalipoproteinemia en la práctica clínica habitual son fácilmente confundidos como dislipemias mixtas (144). A pesar de esto, aquellos pacientes que presenten niveles plasmáticos de triglicéridos o concentraciones de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad muy baja en comparación con la de colesterol total y la relación molar entre colesterol total y triglicéridos es 2:1, se debe sospechar que un paciente padece de disbetalipoproteinemia (189).

El diagnóstico de disbetalipoproteinemia se realizaba a través de la combinación de un fenotipo lipídico y un genotipado de la apolipoproteína E que se caracteriza por la presencia de la aparición de una banda en la zona beta en un ensayo de electroforesis en gel de agarosa (Figura 21) con su posterior confirmación a través de la ultracentrifugación, con la que se puede confirmar un exceso de concentración de colesterol de los quilomicrones y partículas remanentes de VLDL (122).

A través de este método se ha establecido que (190):

- Una concentración plasmática de triglicéridos de entre 150 y 1.000 mg/dl y un cociente $cVLDL/TG > 0.3$ es diagnóstico de disbetalipoproteinemia.
- Una concentración plasmática de triglicéridos de entre 150 y 1.000 mg/dl y un cociente $cVLDL/TG > 0.25$ es determinante de una posible disbetalipoproteinemia.

La detección de disbetalipoproteinemia por ultracentrifugación es considerada como el *gold standard*, pero como se ha mencionado anteriormente, no todos los hospitales disponen de los medios necesarios para la detección a través del cálculo del cociente $cVLDL/TG$; es por ello, por lo que se recurren a otros cocientes o algoritmos diagnósticos como alternativa.

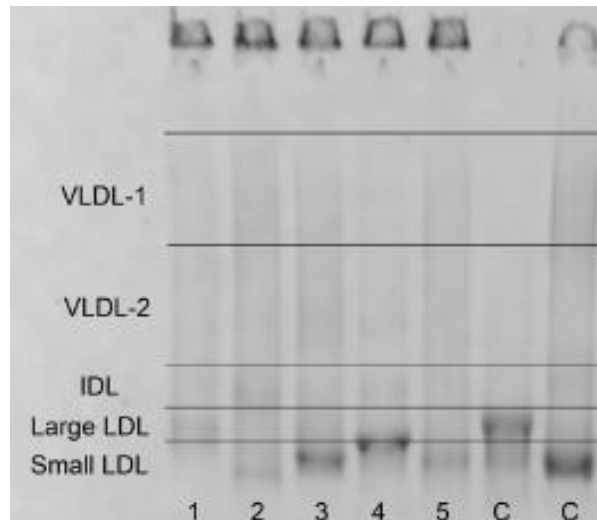


Figura 21. Electroforésis en gel de gradiente de poliacrilamida no desnaturizante de paciente con disbetalipoproteinemia (122)

Por consiguiente, una de las alternativas para la captación de pacientes con disbetalipoproteinemia es el cociente colesterol no HDL / Apolipoproteína B (no c-HDL/ApoB) superior a 4.91 mg/dl (191), y el algoritmo diagnóstico basado en tres condiciones lipídicas: una concentración de triglicéridos superior a los 200 mg/dl, el cociente colesterol total / Apolipoproteína B (CT/ApoB) superior a 2.4 mg/dl y el cociente triglicéridos / Apolipoproteína B (TG/ApoB) inferior a 8.85 mg/dl (144).

Tanto los cocientes como los algoritmos diagnósticos empleados para la detección de disbetalipoproteinemia familiar son resumidos en la Tabla 11.

Cocientes / Algoritmos	Valores diagnóstico Disbetalipoproteinemia
cVLDL	> 0.3
No cHDL /ApoB	> 4.91
TG	> 200 mg/dl
CT /ApoB	> 2.4
TG /ApoB	> 8.85

Tabla 11. Cocientes y algoritmos para el diagnóstico de disbetalipoproteinemia

La hiperquilomicronemia familiar o multifactorial, como se ha mencionado con anterioridad, se caracterizan por la presencia sueros muy lipémicos con apariencia blanquecina asociado a concentraciones de triglicéridos por encima de los 1.000 mg/dl

en edades muy tempranas, no como en la hiperquilomicronemia multifactorial, la cual suele manifestarse a edad adulta (86).

Por ello, para el correcto diagnóstico de la hiperquilomicronemia familiar y multifactorial se han establecido una serie de criterios una vez se descartan las posibles causas secundarias (145):

- Concentraciones de triglicéridos superiores a 885 mg/dl
- Cociente TG/CT > 5 que sugiere elevadas concentraciones de quilomicrones y de VLDL
- Concentraciones de ApoB bajas que ayudan a diferenciar a estos pacientes de aquellos que presenten una hiperquilomicronemia familiar
- Cociente TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5 (192)
- Características físicas: xantomas eruptivos, dolor abdominal, pancreatitis aguda, hepatoesplenomegalia y lipemia retinalis

La determinación de triglicéridos se realiza mediante la ultracentrifugación incluida en los perfiles de riesgo cardiovascular, pero el diagnóstico de esta patología debe realizarse mediante un análisis genético de la LPL y sus coenzimas.

A pesar de que el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar se puede realizar utilizando los criterios clínicos como son la Puntuación de las Clínicas Holandesas o Simon Broome que se comentarán próximamente, se recomienda el diagnóstico genético como diagnóstico de precisión (193).

La genética de la hipercolesterolemia familiar es muy complicada debida a su alta heterogeneidad, a la presencia de una gran variedad de agrupaciones de variantes y a la variabilidad fenotípica (74). Este trastorno lipídico se produce en un 90% de los casos debido a alteraciones en los genes relacionados con el receptor asociado a las lipoproteínas de baja densidad (RLDL) (194) y en menor medida a los genes asociados con la apolipoproteína B (5%) y a la ganancia de la proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 o PCSK9 (<1%) (195, 196). A lo largo de los últimos años se han propuesto varios genes cuyos defectos genéticos se asocian con la hiperlipemia familiar como la apolipoproteína E, con la proteína adaptadora del receptor de lipoproteínas de baja densidad tipo 1 o LDLRAP1 (197), con el adaptador de transducción de señal miembro

de la familia tipo 1 o STAP1 (198), con la lipasa ácida lisosomal A o LIPA (199), con la proteína 22 que contiene el dominio en espiral o CCDC22 (200), con la subunidad 5 del complejo WASH o WASHC5 (201) y con la nueva proteína que contiene el dominio de fosfolipasa tipo patatin-lipasa 5 o PNPLA5 (202). Recientemente se han descrito mutaciones en los genes ABCG5 y ABCG8 que producen hipercolesterolemia familiar (203).

A pesar de ello, en un 10-40% de los casos en los que se produce un incremento en la concentración plasmáticas de cLDL no se detecta ninguna mutación en los genes mencionados anteriormente (204) ya que esto es producido por múltiples polimorfismos de un solo nucleótido (205).

Estas mutaciones pueden presentar un carácter heterocigótico en caso de presentar un alelo alterado (Hipercolesterolemia familiar heterocigótica, HFHe) y que se manifiestan con concentraciones de cLDL de entre 200 y 400 mg/dl; o un carácter homocigótico en caso de presentar alterados ambos alelos (Hipercolesterolemia familiar homocigótica, HFHo) y concentraciones de cLDL superiores a 400 mg/dl (206).

El gen del receptor de las lipoproteínas de LDL (Figura 22) se encuentra localizado en la región p13.1-p13.3 del brazo corto del cromosoma 19 y consta de 18 exones y 17 intrones (207). La mutación en este gen es la responsable del 90% de los casos HFHe debido a que se produce un fallo en la degradación intracelular del cLDL en sangre por endocitosis (208). En la actualidad se han descrito más de 2.500 mutaciones en el mundo, aunque no todas ellas son patogénicas.

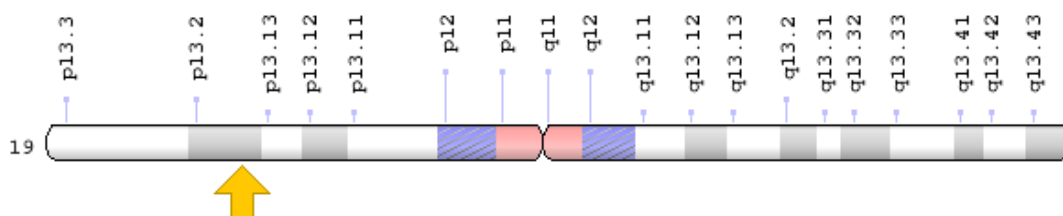


Figura 22. Gen LDLR (209)

Tanto la naturaleza como la localización de las mutaciones determina la actividad del LDLR, por lo que las mutaciones se clasifican en cinco tipos (210):

- **Mutaciones de clase 1 (Alelos nulos):** Son aquellas en las que no se produce la síntesis del RLDL, es por ello por lo que se considera que son las más graves.
- **Mutaciones de clase 2 (Alelos defectuosos para el transporte):** Este tipo de mutación es la que presenta la población con mayor frecuencia. Se produce un bloqueo en el transporte del receptor de LDL desde el retículo endoplasmático hasta el aparato de Golgi.
- **Mutaciones de clase 3 (Alelos defectuosos para la unión):** Son el segundo tipo de mutaciones más graves ya que imposibilitan la unión del receptor a las partículas de LDL.
- **Mutaciones de clase 4 (Alelos defectuosos para la internalización):** Las mutaciones en este tipo de alelos impiden el transporte del LDL hacia el interior de la célula.
- **Mutaciones de clase 5 (Alelos defectuosos para el reciclado):** Se produce un fallo que impide que los RLDL internalizados regresen de nuevo a la superficie celular e iniciar la captación de colesterol.

En función de la clase de mutación que presenten los individuos con HF, las concentraciones de cLDL variarán, presentando aquellos individuos heterocigotos compuestos con mutaciones nulas en el RLDL, concentraciones incluso superiores a las de aquellos pacientes con HFHo con defectos genéticos en el RLDL, ApoB y PCSK9 (Figura 23) (211).

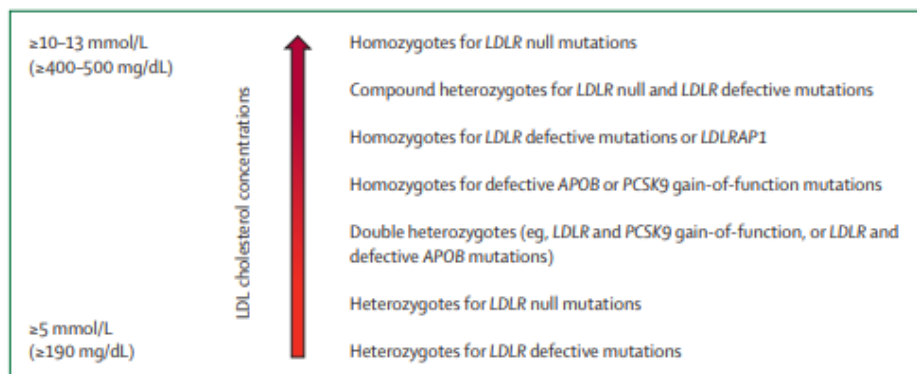


Figura 23. Rango de concentraciones de cLDL en pacientes con HF en función de los defectos monogénicos (211)

En 1960, Khachadurian (212) hizo una distinción entre la hipercolesterolemia familiar heterocigótica y la homocigótica y demostró en una familia de origen libanes, que existía un patrón de herencia autosómica dominante en la hipercolesterolemia familiar. En 1967, Fredrickson (213) relacionó esta patología con el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad. Pero no fue hasta 1974 cuando Goldstein y Brown (16) identificaron el receptor de las LDL (RLDL) y relacionaron sus mutaciones con las alteraciones del metabolismo lipídico y, en consecuencia, con la hipercolesterolemia familiar.

El gen de la apolipoproteína E humano (Figura 24) tiene tres alelos ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$) que se expresan a través de las isoformas E2, E3 y E4 (214). Como se puede observar en la Tabla 12, el 78% de la población general contiene la isoforma E3 y son considerados normolipémicos. En la isoforma E2 se sustituye el aminoácido cisteína por la arginina en la posición 158 que puede conducir a la aparición de la disbetalipoproteinemia y una arginina por una cisteína en la posición 112 en la isoforma E4 (215).

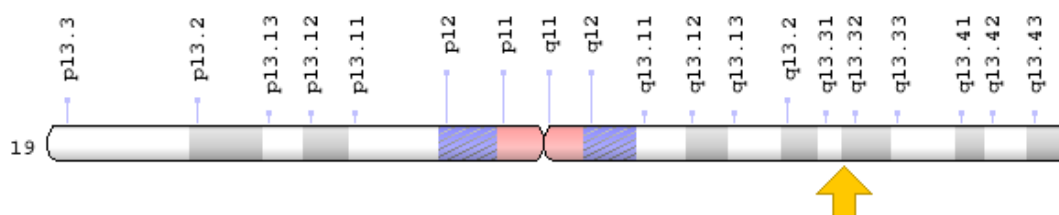


Figura 24. Gen ApoE (216)

Proteína	ApoE2	ApoE3	ApoE4
Residuo posición 112	Cisteína	Cisteína	Arginina
Residuo posición 158	Cisteína	Arginina	Arginina
% Afinidad RLDL	1	100	100
% Frecuencia alélica	7	78	14
Asociación clínica	Disbetalipoproteinemia	Normal	ECV y Alzheimer

Tabla 12. Isoformas ApoE (215)

El 80% de los pacientes diagnosticados de hiperquilomicronemia familiar presentaron mutaciones en el gen LPL, para el cual se han identificado actualmente más de 180

mutaciones. En menor proporción, estos pacientes presentan mutaciones en los cofactores relacionados con el gen LPL mencionados anteriormente: Apo-CII, Apo-AV, LMF1 y GPIHBP1 (93).

La genética de la hipercolesterolemia familiar es muy compleja debido a diversos factores como la variabilidad fenotípica, la presencia de agrupaciones y variantes y a la alta heterogeneidad (74) que se desarrollan a continuación:

- La variabilidad fenotípica hace referencia a que para una misma variante causante de hipercolesterolemia familiar heterocigótica y homocigótica se pueden observar rangos muy amplios de concentraciones de cLDL y características clínicas diferentes. Es por ello por lo que las distintas variantes causantes de hipercolesterolemia familiar difieren de su impacto, por lo que se puede producir la superposición de niveles de colesterol LDL entre pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica y homocigótica que se explican por la relevancia de aquellas variantes genéticas en los genes relacionados con el metabolismo lipídico (211).
- La presencia de agrupaciones se corresponde con la aparición de variantes penetrantes causales de hipercolesterolemia familiar en ciertas regiones geográficas (217).
- La elevada heterogeneidad se refiere al elevado número de variantes causales de hipercolesterolemia familiar que han sido reportadas. Más de 2.000 en el gen del RLDL, 32 en el gen ApoB, 23 en el gen de la PCSK9, 1 en el gen de la ApoE, 4 en STAP1, 17 en LDLRAP1, 2 en ABCG y 1 en LIPA (218).

La secuenciación de Sanger es considerada como el *gold standard* para el estudio de fragmentos de genes como intrones, exones, límites exón-intrón y regiones promotoras (219). Las ventajas que conlleva el diagnóstico genético a través de la secuenciación de Sanger son que este tipo de secuenciación es coste y tiempo efectiva para un número bajo de muestras, se obtiene una buena resolución por un par de bases individual, se pueden analizar secuencias contiguas largas y que este método es útil en la confirmación de la secuenciación de próxima generación. Por otro lado, presenta limitaciones como la falta de coste-efectividad en el caso de una secuenciación de un número elevado de

genes y la baja escalabilidad del procedimiento asociado al aumento de requisitos de preparación de la muestra (220).

Fue con esta técnica con la que se determinó en un estudio europeo (221) que la prevalencia de la mutación del gen asociado al receptor de lipoproteínas de baja densidad (RLDL) era del 29% y que estas mutaciones patogénicas eran debidas en un 11.5% a pequeñas mutaciones como deleciones, inserciones y/o duplicaciones, en un 68.9% a mutaciones puntuales como mutaciones sin sentido y en un 9.6% a reordenamientos como duplicaciones de exón.

El análisis genético para los pacientes con disbetalipoproteinemia familiar debe realizarse para identificar el posible alelo alterado en el caso de que existan estudios previos por electroforésis, ultracentrifugación o cromatografía (42). Para iniciar el análisis genético de la apolipoproteína E se realiza en primer lugar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cuál amplía la porción de apolipoproteína E, discriminando las isoformas de la apolipoproteína E y detectando las mutaciones que presenta (222).

De forma similar, el análisis genético realizado para la hiperquilomicronemia familiar y multifactorial es realizado a través de PCR para el gen LPL y los genes relacionados con sus cofactores, además de recomendarse la realización de la cuantificación de la actividad LPL en muestras de plasma pre y postheparina (223).

Actualmente las variantes detectadas son secuenciadas a través de la secuenciación de nueva generación o *Next-generation sequencing* (NGS) que presenta numerosas ventajas; posibilidad de secuenciar múltiples genes a la vez, se obtiene un elevado rendimiento de cada muestra, se incrementa la resolución al obtener una por cada par de bases, se aumenta la probabilidad de encontrar nuevas variables y se obtiene una mayor profundidad que conlleva una sensibilidad próxima al 1%. Y como limitaciones se debe tener en cuenta que no es muy rentable ni eficiente en caso de secuenciar menos de 12 muestras y que requiere una interpretación de los resultados a través del Big Data (220).

Es esta nueva técnica de diagnóstico la empleada para la detección de casos índice de hipercolesterolemia familiar debido a que presenta altas capacidades para la

secuenciación masiva bidireccional (224) y a que permite secuenciar todos los genes asociados a la enfermedad en una única carrera de secuenciación (225). Se pueden realizar dos tipos de paneles NGS (226):

- Paneles específicos para dislipemias monogénicas
- Secuenciación completa del genoma

Para aquellos pacientes que presentan una elevación de la concentración de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad con una clínica característica de la hipercolesterolemia familiar, pero cuyo diagnóstico genético es negativo para esta, se les aplica una puntuación ponderada en la que se tiene en cuenta los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), los cuales por si solos no son causantes de hipercolesterolemia autosómica, pero que acumulativamente si producen un incremento en la concentración de cLDL (227); y el peso de los 95 loci cuyas variantes afectan a la concentración de cLDL y que fueron descritas a través de un metaanálisis por el Consorcio Genético Lipídico Global (GLGC) (140).

5.8. ESTRATEGIAS DE CRIBADO PARA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR Y DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR E HIPERQUILOMICRONEMIA:

La Organización Mundial de la Salud define los cribados como aquellas actividades de la práctica médica que se definen como “la identificación presuntiva, con la ayuda de pruebas, exámenes u otras técnicas susceptibles de aplicación rápida, de los sujetos afectados por una enfermedad o por una anomalía que hasta entonces había pasado desapercibida” (228).

Como ya se ha mencionado anteriormente, la hipercolesterolemia familiar es una enfermedad con una elevada prevalencia y que presenta una elevada morbi-mortalidad en caso de no ser precozmente diagnosticada, al igual que la disbetalipoproteinemia. Es por ello por lo que se convierten en un problema prioritario a la hora de plantear políticas de salud y programas de detección a nivel poblacional (229).

Existen cinco tipos de cribado para la detección de pacientes con hipercolesterolemia familiar, disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia (229-232):

- **Cribado universal:** El cribado universal es una estrategia que consiste en la determinación rutinaria de una población definida de los niveles de colesterol total y/o de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad. Este tipo de cribado permite detectar además de adultos, al 90% de niños con HF de entre 1 y 9 años, ya que es recomendable realizarlo a partir del primer año de edad porque los niveles previos de colesterol total y colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad no son lo suficientemente sensibles. Este tipo de estrategia incrementa la tasa de detección en la población y fomenta la detección en cascada de posibles familiares afectados.
- **Cribado oportunista:** El cribado oportunista es un tipo de cribado en el cual el laboratorio presenta un papel fundamental debido a que se incluyen las determinaciones del colesterol total por razones clínicas en cualquier estudio analítico al introducirse el paciente en el sistema sanitario. El cribado oportunista aplicado en pediatría es recomendable realizarlo entre los 2 y los 9 años.
- **Cribado selectivo:** El cribado selectivo consiste en la determinación de los niveles de colesterol total en aquellos pacientes que presenten ECV prematura y/o un historial de hipercolesterolemia en los familiares de primer grado. Este cribado aplicado a menores no es un método eficaz de captación de niños con HF, ya que a pesar de haber sido recomendado en 1992 por los expertos en pediatría del National Cholesterol Education Program (33), se detectan tan sólo del 40 al 60% de los mismos.
- **Cribado mediante cascada directa:** El cribado mediante cascada directa se realiza a raíz de la captación previa de un caso índice identificado genéticamente a través de un estudio como paciente con hipercolesterolemia familiar. En este caso se realizan determinaciones genéticas relacionadas con la HF en todos aquellos familiares de primer y segundo grado con una sensibilidad del 100%, por lo que al ser una técnica coste-efectiva, se aplica en numerosos países.
- **Cribado mediante cascada indirecta:** Al contrario que el cribado mediante cascada directa, este tipo de cribado se realiza a partir de la detección de un caso de hipercolesterolemia en un niño, a través del cual, se realizará un estudio a los padres para confirmar esta sospecha. En caso de que alguno de los progenitores tenga un diagnóstico genético positivo para la HF, el mismo estudio genético se

le realizará al niño. Si, por el contrario, en caso de que el estudio genético del padre o madre fuera negativo pero existe un diagnóstico clínico, el niño será diagnosticado de HF en caso de presentar niveles de cLDL superiores al percentil 95, pero estará indicado la realización de un estudio genético.

Tradicionalmente el diagnóstico clínico de la hipercolesterolemia familiar se basaba en los parámetros obtenidos en el perfil lipídico familiar, en la presencia de depósitos lipídicos en tejidos extravasculares en forma de xantomas y xantelasmas y en los antecedentes, tanto personales como familiares de enfermedad cardiovascular prematura (51). Las primeras guías sobre cribado y tratamiento de pacientes con HF datan de 2003 (233), estas se han ido actualizando a lo largo de los años.

En la actualidad, el diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar heterocigótica se puede realizar en función de unos criterios que consideran los niveles lipídicos, los signos clínicos y la historia clínica personal y familiar de enfermedad cardiovascular precoz (220). Estos sistemas de puntuación han sido propuestos por el Grupo de Registro Simon Broome de Reino Unido (234), la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas (117), el Programa MedPed (Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths) de EE.UU (235) y el reciente Montreal FH Score que evalúa el riesgo cardiovascular (236). El propuesto por la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas el más empleado en Europa al haber sido propuesto por la Sociedad Europea de Aterosclerosis (EAS) como herramienta para el diagnóstico de la HFHe (114) y validados por el diagnóstico genético, considerado como el *gold standard* (237).

La propuesta de Simon Broome (234) establece como criterios una combinación de datos bioquímicos, clínicos y físicos, los cuales son representados en la Tabla 13. Para clasificar como probable hipercolesterolemia familiar, las concentraciones de CT deben ser iguales o superiores a los 290 mg/dl acompañada de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura. Aquellos pacientes que tengan manifestaciones clínicas como xantomas o xantelasmas o diagnóstico genético positivo, serán clasificados como hipercolesterolemia familiar definida. Siendo ambos grupos de pacientes derivados a los clínicos especialistas en lípidos para su evaluación y

seguimiento. Es decir, para tener un diagnóstico de “hipercolesterolemia familiar definitivo” se debe cumplir el criterio C de forma individual o los criterios A y B conjuntamente, en cambio para presentar un diagnóstico de “probable hipercolesterolemia familiar” se requiere el cumplimiento de los criterios A y D o de A y E (238).

Criterio	Descripción
A	- CT > 290 mg/dl o cLDL > 190 mg/dl en adultos (edad ≥ 16 años) - CT > 260 mg/dl o cLDL > 155 mg/dl en adultos (edad < 16 años)
B	Xantomas tendinosos en un paciente y/o en un familiar de primer o segundo grado
C	Diagnóstico genético positivo con mutación en RLDL, APOB o PCSK9
D	Antecedentes familiares de infarto agudo de miocardio antes de los 50 años en un pariente de segundo grado o antes de los 60 años en un pariente de primer grado
E	CT > 290 mg/dl en un pariente de primer o segundo grado

Tabla 13. Criterio de Simon Broome para el diagnóstico de la HF (238)

El criterio MedPed (235) representado en la Tabla 14. se basa en las concentraciones de CT estratificado por edad tanto para los casos índice como para los familiares, en función del grado de relación. Sin embargo, no tienen cuenta ni las características clínicas, ni las pruebas genéticas (238).

Pariente más cercano con hipercolesterolemia familiar								
	Primer Grado		Segundo Grado		Tercer Grado		Ninguno	
Concentración basal de colesterol total (mg/dl)								
Edad	CT	Cldl	CT	cLDL	CT	cLDL	CT	cLDL
< 20	220	155	230	165	240	170	270	200
20-29	240	170	250	180	260	185	290	220
30-39	270	190	280	200	290	210	340	240
≥ 40	290	205	300	215	310	225	360	260

Tabla 14. Criterio MedPed para el diagnóstico de la HF (238)

La Red de Clínicas de Lípidos Holandesas (114) para el diagnóstico clínico de la HFHe se basa en un sistema de puntuación clínica representado en la Tabla 15 entre cuyos

criterios se incluyen tanto concentraciones personales como familiares de cLDL, antecedentes personales de enfermedad coronaria prematura y enfermedad cerebral o vascular periférica prematura en función de la edad, la presencia de xantomas tendinosos y de arco corneal antes de los 45 años y de un diagnóstico genético en caso de tenerlo previamente. Cada parámetro positivo otorga una puntuación determinada a la que se le van sumando el resto de puntuaciones positivas, de manera que se obtendrá un diagnóstico de HF posible cuando la puntuación obtenida sea de entre 3 y 5 puntos, un diagnóstico de HF probable cuando se obtenga una puntuación de entre 6 y 8 puntos y un diagnóstico de HF segura cuando la puntuación sea superior a los 8 puntos.

Antecedentes Familiares	Puntos
Familiar de primer grado con enfermedad coronaria prematura (<55 años hombres; <60 años mujeres) o Familiar de primer grado con cLDL > percentil 95 según edad y sexo	1
Familiar de primer grado con xantomas tendinosos y/o arco corneal o Niños < 18 años con cLDL > percentil 95 según edad y sexo	2
Antecedentes Personales	
Enfermedad coronario prematura (< 55 años hombres; < 60 años mujeres)	2
Enfermedad cerebral o vascular periférica prematura (< 55 años hombres; < 60 años mujeres)	2
Examen físico	
Xantomas tendinosos	6
Arco corneal < 45 años	4
Analítica en ayunas con triglicéridos < 200 mg/dl	
cLDL > 325 mg/dl (cLDL > 8.5 mmol/l)	8
cLDL = [251-325] mg/dl (cLDL = [6.5-8.4] mmol/l)	5
cLDL = [191-250] mg/dl (cLDL = [5-6.4] mmol/l)	3
cLDL = [155-190] mg/dl (cLDL= [4-4.9] mmol/l)	1
Análisis genético	
Mutación causal en los genes RLDL, APOB o PCSK9	8

Tabla 15. Criterio de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas para el diagnóstico de HF (238)

En último lugar, el Montreal FH Score (236) representado en la Tabla 16 establece un sistema de puntuación basado en factores de riesgo como la edad, el sexo, la concentración de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) (mmol/L),

el hábito tabáquico y la hipertensión arterial. Este método establece que aquellos pacientes con una puntuación superior a 20, presentan un riesgo cardiovascular 10 veces más elevado que aquellos pacientes con puntuaciones inferiores a 20.

Cut Off	Puntuación
Edad (88)	
≤21	0
22-28	4
29-35	8
36-42	12
43-49	16
50-56	20
57-63	24
>63	28
c-HDL (mmol/L)	
≤ 0.6	12
0.61-0.9	9
0.91-1.2	6
1.21-1.5	3
>1.5	0
HTA	
Sí	2
No	0
Tabaco	
Sí	1
Nunca	0
Sexo	
Mujer	0
Hombre	3

Tabla 16. Sistema de puntuación Montreal-FH-SCORE para evaluación de RCV (236)

A expensas de que el diagnóstico genético nos asegura plenamente la detección de casos de HFHe, esta es una prueba que representa un elevado coste al sistema sanitario, por lo que se han propuesto una serie de criterios representados en la Tabla 17, entre

los que destacan la edad, los antecedentes tanto personales como familiares de xantomas y las concentraciones elevadas de cLDL, que incrementan la probabilidad de confirmación genética de aquellos pacientes sobre los que se presenta una sospecha clínica de diagnóstico positivo para la HFHe una vez se han descartados las posibles causas secundarias (237).

A pesar de que es conocido el elevado riesgo cardiovascular que presenta este tipo de pacientes, se ha demostrado que antes de que se introdujeran las estatinas en la práctica clínica, más de un 50% de hombres y un 20% de mujeres con HFHe diagnosticada, sufrían algún evento cardiovascular antes de los 50 años debido a que no recibían el tratamiento adecuado (114, 125).

Fenotipo del sujeto	Indicación
Sujetos con cLDL elevado de forma aislada	
1.1 Antecedentes personales o familiares de xantomas tendinosos	cLDL > 160 mg/dl
1.2 Ausencia de antecedentes personales o familiares de xantomas tendinosos	
1.2.1 Edad 18-30 años	cLDL > 220 mg/dl
1.2.2 Edad 30-39 años	cLDL > 225 mg/dl
1.2.3 Edad > 40 años	cLDL > 235 mg/dl
Sujetos con hiperlipemia mixta (CT elevado y triglicéridos = 200-400 mg/dl)	CT > 335 mg/dl o ApoB > 185 mg/dl

Tabla 17. Indicaciones para la realización de estudios genéticos en pacientes con sospecha clínica de HFHe (237)

Los pacientes con disbetalipoproteínemia, como ya se mencionó anteriormente, se caracterizan por presentar un aumento en las concentraciones de colesterol total y de triglicéridos y por una disminución en la concentración de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) asociada a enfermedad cardiovascular precoz y/o pancreatitis hipertriglicéridémica y por presentar ocasionalmente xantomas. Estos pacientes pueden ser captados a través del cálculo del cociente cVLDL/TG > 0.3 determinado a través de

ultracentrifugación o a través de cocientes alternativos que no necesitan de esta técnica y que pueden ser calculados de rutina, por lo que, a pesar de no poseer unos criterios diagnósticos para establecer una puntuación que diagnostique esta enfermedad como la hipercolesterolemia familiar, la sospecha para la captación de casos índice se puede realizar teniendo en cuenta los antecedentes clínicos personales y familiares acompañados o no de un cociente bioquímico positivo o unos niveles de triglicéridos muy elevados.

Para realizar un diagnóstico clínico de hiperquilomicronemia familiar se ha realizado varias aproximaciones con criterios para su detección basados en las concentraciones de triglicéridos, signos clínicos e historia clínica (124, 239), a pesar de ello, tan sólo un estudio ha establecido un sistema de puntuación expresados en la Tabla 18 para la detección de dicho trastorno con una sensibilidad y especificidad del 88% y 85% respectivamente, basándose en los criterios anteriores y teniendo en cuenta la edad del paciente, de modo que se clasifican a los pacientes con ≤ 8 puntos como hiperquilomicronemia familiar como muy improbable, ≤ 9 puntos como hiperquilomicronemia familiar improbable y ≥ 10 puntos como hiperquilomicronemia familiar muy probable (86).

Fenotipo del sujeto	Puntuación
Concentraciones de TG > 885 mg/dl en los tres últimos análisis	+5
Concentración de TG > 1770 mg/dl al menos una vez	+1
Concentración previa de TG < 177 mg/dl	-5
Ausencia de factores secundarios (embarazo y etinilestradiol)	+2
Historia de pancreatitis	+1
Dolor abdominal recurrente sin explicación	+1
Ausencia de historia de hiperlipemia familiar combinada	+1
Falta de respuesta a tratamiento hipolemiante (disminución de TG < 20%)	+1
Inicio de síntomas	
- < 40 años	+1
- < 20 años	+2
- < 10 años	+3

Tabla 18. Score para la captación de pacientes con hiperquilomicronemia familiar (86).

Existiendo también otro tipo de aproximaciones muy útiles que necesitan determinaciones analíticas para la detección de pacientes con hiperquilomicronemia como lo son los cocientes TG/CT > 5 y una concentración de ApoB100 < 100 mg/dl (93).

Una vez establecido el caso índice, el realizar cribados en cascada para la disbetalipoproteinemia, al igual que para la hipercolesterolemia familiar, permiten la identificación de aquellos pacientes que presentan un elevado riesgo cardiovascular a pesar de que las concentraciones lipídicas plasmáticas se encuentren dentro de los rangos de normalidad (240).

A lo largo de los años se han realizado distintos tipos de cribados para la captación de pacientes con HF: cribado universal de la población (241), cribado oportunista de pacientes que consultan por razones no relacionadas con la atención primaria (242, 243), detección sistemática de familiares de primer grado de pacientes con estudios genéticos positivos para la hipercolesterolemia familiar (244), cribados en cascada tanto directa (245) como inversa (246) y cribado oportunista de pacientes ingresados en el hospital con infarto de miocardio prematuro (247, 248).

Se ha determinado en la actualidad a través de numerosos estudios económicos que el método más coste-efectivo para la detección de casos de hipercolesterolemia familiar son los cribados genéticos en cascada (44, 249, 250). A pesar de ello, el problema erradica en identificar aquellos casos índice de pacientes con hipercolesterolemia familiar (251) ya que este tipo de cribados no se suele realizar en la población general, sino en familias en las que existen antecedentes de enfermedad cardiovascular precoz (252), y en el elevado precio de los estudios genéticos, los cuales, pese a ello, España destaca entre otros países como Noruega, Reino Unido o Dinamarca, entre otros, por realizar este tipo de pruebas más exhaustivamente (244).

Se ha demostrado al comparar poblaciones con hipercolesterolemia familiar y con hipercolesterolemia poligénica que los cribados en cascada son más efectivos para los pacientes con hipercolesterolemia familiar respecto a los pacientes con hipercolesterolemia poligénica debido a que tan sólo el 30% de los familiares de casos índice con hipercolesterolemia poligénica presentaran concentraciones elevadas de cLDL (253).

Desde hace aproximadamente dos décadas se han integrado progresivamente en el sistema sanitario de nuestro país más de 70 Unidades de Lípidos (UL) de la Sociedad Española de Arteriosclerosis ubicadas a lo largo del territorio español, cuya visibilidad

ha ido aumentando a lo largo de los años en los ámbitos de Atención Primaria y Atención Especializada. La hipercolesterolemia familiar es el trastorno lipídico más frecuentemente detectado y tratado farmacológicamente en este tipo de unidades (254).

En los laboratorios de los hospitales públicos se realizan a diario numerosas determinaciones de parámetros bioquímicos como lo son el colesterol total (CT), los triglicéridos (TG), el colesterol de las partículas de baja densidad (cLDL), el colesterol de las partículas de alta densidad (cHDL) y de diferentes apolipoproteínas entre otros, solicitadas por los clínicos (243). Sin embargo, aquellos pacientes captados a través de las analíticas por el laboratorio que presentan una elevada sospecha de padecer hipercolesterolemia familiar debido a sus elevadas cifras de cLDL, no son derivados adecuadamente a los especialistas en lípidos (255), por lo que desemboca en que tan solo el 25% de los pacientes con tales características esté diagnosticado (256) y una mayor probabilidad de que el resto de pacientes continúen infradiagnosticados y sin tratamiento o infratratados (114, 257). Se ha demostrado que los laboratorios de hospitales de tercer nivel se encuentran capacitados para realizar cribados oportunistas de aquellos sujetos que cumplen criterios para poder ser diagnosticados de HF y establecer un sistema de alertas que facilite su derivación, no obstante esta vía no ha sido evaluada previamente (258).

Estados Unidos ha realizado un estudio retrospectivo en el que se ha valorado el análisis bioquímico de la sangre entregada por los donantes de sangre como estrategia de screening efectiva y precoz de hipercolesterolemia familiar, debido a que la edad media de los donantes era de 32 años. A pesar de ello, no se ha establecido un sistema de derivación al clínico de aquellos pacientes con posible/probable hipercolesterolemia familiar (259).

Reino Unido ha implantado FAMCAT (260), un algoritmo que se aplica a las historias clínicas de los pacientes para identificar con una mayor precisión la presencia de hipercolesterolemia familiar en función de la edad, el sexo, los niveles de CT, la presencia de enfermedad prematura cardíaca y la no presencia de patologías secundarias que produzcan la dislipemia.

Sin embargo tan sólo en Australia se ha establecido un modelo de atención para personas con HF que depende del laboratorio de bioquímica para la detección de pacientes con HF y otro tipo de trastornos lipídicos, para lo cual incluyen comentarios orientativos que ayudan al clínico a establecer un diagnóstico, pudiendo además ofrecer consejos adicionales sobre la posible realización de pruebas y ofreciendo una posible derivación a través del médico de familia a un especialista (261). Con este método se promueve una mejora en la comunicación entre laboratorios y solicitantes para eliminar aquellas limitaciones que actualmente continúan existiendo en la mayoría de áreas hospitalarias para la detección y gestión de HF (258, 262).

5.9. COMPARATIVA GUÍA EAS/ESC PARA EL MANEJO DE DISLIPEMIAS 2019 Y ANTERIORES:

La anterior Guía ESC/EAS (263) para el manejo de dislipemias se publicó en agosto de 2016.

La actual Guía ESC/EAS (146) para el manejo de dislipemias actualizada, publicada en agosto de 2019 se ha basado principalmente en que el factor clave en el inicio de la aterogénesis es la presencia de concentraciones elevadas de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y de otras lipoproteínas ricas en colesterol como la apolipoproteína B, cuya reducción implica la disminución de la aparición de eventos cardiovasculares prematuros y, en consecuencia, el objetivo principal de esta guía es la estratificación del riesgo cardiovascular (en especial de aquellos pacientes con muy alto riesgo cardiovascular), para lo cual se han establecido una serie de pautas y unos nuevos objetivos para las concentraciones plasmáticas de cLDL.

La evaluación de la carga de la placa arterial tanto carotídea como femoral se debe realizar mediante una ecografía arterial y se debe considerar como un modificador de riesgo en aquellos pacientes de bajo o moderado riesgo cardiovascular.

- La evaluación de la concentración de calcio de la arteria coronaria se realizará a través de tomografía computarizada y se debe considerar como un modificador de riesgo en aquellos pacientes asintomáticos o de bajo o moderado riesgo cardiovascular.

- Haciendo referencia al análisis bioquímico de la concentración de lípidos para la evaluación del riesgo cardiovascular, se ha determinado que al menos, se debe realizar la medición de la lipoproteína a una vez en la vida adulta, para poder identificar aquellos valores muy superiores al rango de normalidad (Lp(a) > 180 mg/dl), cuyo riesgo cardiovascular es el equivalente al de un paciente con hipercolesterolemia familiar heterocigótica.
- Se deberá considerar para aquellos pacientes con elevado riesgo cardiovascular y concentraciones de triglicéridos de entre 135 y 499 mg/dl bajo tratamiento con estatinas, la combinación de estatinas y ezetimiba.
- Los pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica en prevención primaria tienen como objetivo la reducción del 50% de la concentración de cLDL, considerándose óptimo el alcanzar una concentración de cLDL inferior a los 55 mg/dl.
- Se recomienda tratamiento con estatinas en prevención primaria adecuada al nivel de riesgo cardiovascular de pacientes mayores de 75 años y se considerará iniciar ese tratamiento en caso de que el riesgo cardiovascular sea alto o muy alto.
- En aquellos pacientes con diabetes mellitus tipo 2, se recomienda una disminución de al menos el 50% de la concentración basal de cLDL. En caso de considerarse pacientes de muy alto riesgo cardiovascular, el objetivo de la concentración de cLDL debe ser inferior a 55 mg/dl; y en caso de ser de alto riesgo cardiovascular, la concentración se recomendará que sea inferior a los 70 mg/dl; además, se considerará iniciar tratamiento con estatinas en aquellos pacientes con diabetes mellitus tipo 1 de alto y muy alto riesgo cardiovascular. Se deberá comenzar con una intensificación en el tratamiento con estatinas y en caso de no alcanzar los objetivos de cLDL, se considerará la combinación de tratamiento de estatinas con ezetimiba.
- Aquellos pacientes con síndrome coronario agudo que no han alcanzado la concentración de cLDL objetivo a pesar de estar recibiendo el tratamiento combinado de estatinas a dosis máximas junto con ezetimiba, deberán ser considerados como candidatos de recibir tratamiento con inhibidores de PCSK9 tras sufrir el evento o incluso en el momento de la hospitalización.

Además de las nuevas recomendaciones se han actualizado otras expuestas en la anterior Guía EAS/ESC 2016 para el manejo con dislipemias. Estas se explicarán en los siguientes puntos:

- En referencia al análisis de lípidos para la estimación del riesgo cardiovascular, en 2016 la determinación bioquímica de la apolipoproteína B se consideró como un marcador de riesgo alternativo que se deberá utilizar siempre en caso de hipertrigliceridemia. Por el contrario, en las nuevas guías actualizadas, la determinación de la apolipoproteína B es recomendada para la evaluación de riesgo cardiovascular, especialmente, en aquellos pacientes con hipertrigliceridemia, diabetes mellitus, síndrome metabólico, cLDL muy bajo u obesidad; se podrá considerar como alternativa a la determinación del cLDL.
- En la anterior guía se consideraban los inhibidores de absorción como alternativa a la combinación de estatinas en caso de no alcanzar la concentración objetivo de cLDL. Sin embargo, actualmente se recomienda que en este mismo caso a la dosis máxima de estatinas se le añada ezetimiba.
- En el caso de los pacientes de muy alto riesgo cardiovascular con concentraciones de cLDL superiores a las especificadas, a pesar de encontrarse en tratamiento con estatinas a dosis máximas en combinación con ezetimiba, o en pacientes que presentan intolerancia a estatinas, las guías clínicas de 2016 recomendaban el uso de inhibidores de PCSK9. No obstante, en la Guía de 2019 se ha establecido para aquellos pacientes con hipercolesterolemia familiar que ya han sufrido un evento cardiovascular y que, por consiguiente, presentan un riesgo cardiovascular muy elevado y para pacientes que se encuentran en prevención secundaria, que a pesar de encontrarse bajo tratamiento a dosis máximas en combinación con ezetimiba, se recomendará añadir al tratamiento combinado con inhibidores de PCSK9.
- La Guía EAS/ESC de 2016 establecieron que para los pacientes de muy alto riesgo cardiovascular e hipertrigliceridemia, las estatinas pueden ser el primer fármaco a emplear para la reducción de riesgo cardiovascular. Las Guías EAS/ESC 2019

han sido menos flexibles y han establecido que las estatinas siempre serán el primer fármaco a emplear.

- Para aquellos pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, la Guía de 2016 determinó que aquellos pacientes que además hayan sufrido un evento cardiovascular, tendrán una concentración plasmática objetivo inferior a los 100 mg/dl a alcanzar con la combinación apropiada de medicamentos hipolemiantes. Sin embargo, la Guía de 2019 ha considerado que la concentración óptima para este tipo de pacientes debe ser inferior a los 50 mg/dl.
- La Guía EAS/ESC de 2016 considera que aquellos pacientes que con además de hipercolesterolemia familiar heterocigótica y un enfermedad cardiovascular prematura, presentan otro tipo de factores que incrementan ese riesgo cardiovascular como antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz, intolerancia a estatinas o concentraciones elevadas de lipoproteína a, deben ser candidatos a recibir tratamiento de inhibidores de PCSK9. No obstante, el tratamiento con anticuerpos anti-PCSK9 son recomendados en las guías actuales en aquellos pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica de muy alto riesgo cardiovascular que no alcanzan los objetivos control para las concentraciones de cLDL a pesar de encontrarse bajo tratamiento de estatinas a dosis altas en combinación con ezetimiba.
- En relación a la población a la población de mayor edad, se consideraba en la Guía de 2016 que presentan más comorbilidades y una cinética alterada, comenzar el tratamiento hipolemiante a dosis bajas para alcanzar el mismo objetivo terapéutico que la población de menor edad. Sin embargo, en las nuevas guías se ha recomendado iniciar tratamiento de estatinas a dosis bajas en caso de presentar interacciones farmacológicas potenciales y/o insuficiencia renal.

La nueva Guía EAS/ESC 2019 establece una serie de categorías de riesgo cardiovascular representadas en la Tabla 19 para la estimación del mismo en pacientes con diferentes patologías entre las cuáles se considera a aquellos pacientes con HF, a partir de factores de riesgo. Para lo cual se establecen puntos de corte arbitrarios basados en los niveles de riesgo en los que el beneficio de disminuir su riesgo es evidente.

Categoría Riesgo	Eventos
Muy Alto Riesgo	<ul style="list-style-type: none"> - Evento cardiovascular precoz documentado con imagen, ya sea clínico o inequívoco. Se incluye síndrome coronario agudo anterior (IAM o angina inestable), angina estable, revascularización coronaria (Intervención coronaria percutánea, cirugía de revascularización coronaria y otros procedimientos de revascularización), accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio y enfermedad arterial periférica. Eventos cardiovasculares precoces documentados inequívocamente mediante técnicas de imagen que incluyen hallazgos que predicen eventos clínicos como la presencia de placa en la angiografía coronaria o tomografía computarizada. - Pacientes con DM con daño en órgano diana, un mínimo de tres o más factores de riesgo o inicio temprano de DM1 de larga duración (>20 años). - Enfermedad renal crónica grave (Filtración glomerular estimada < 30 ml/min / 1.73 m²) - SCORE calculado ≥ 10% para sufrir un evento CV a 10 años. - Pacientes con HF con ECV precoz u otro factor de riesgo.
Alto Riesgo	<ul style="list-style-type: none"> - Factores de riesgo únicos elevados, en particular CT > 310 mg/dl, cLDL > 190 mg/dl o presión arterial > 180/110 mmHg. - Pacientes con HF sin factores de riesgo importantes. - Pacientes con DM > 10 años sin daño en órganos diana y otro factor de RCV. - Enfermedad renal crónica moderada (Filtración glomerular estimada = 30-59 ml/min / 1.73 m²). - SCORE calculado > 5% y < 10% para sufrir un evento CV a 10 años.
Moderado Riesgo	<ul style="list-style-type: none"> - Pacientes jóvenes (DM1 < 35 años; DM2 < 50 años) con duración < 10 años sin otros factores de riesgo. - SCORE calculado > 1% y < 5% para sufrir un evento CV a 10 años.
Bajo Riesgo	<ul style="list-style-type: none"> - SCORE calculado < 1% para sufrir un evento CV a 10 años.

Tabla 19. Clasificación del riesgo cardiovascular

Objetivos

OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

Las enfermedades cardiovasculares son consideradas como la primera causa de morbi-mortalidad en España, siendo Andalucía una de las comunidades más afectadas.

Anteriormente se ha presentado la potente relación entre arteriosclerosis y enfermedades cardiovasculares. La arteriosclerosis es un proceso inflamatorio caracterizado por el endurecimiento y engrosamiento de las arterias asociado a la formación de la placa de ateroma que puede formarse precozmente en aquellos individuos en los que se producen alteraciones en el metabolismo lipídico debido al incremento de la concentración de sdLDL y de lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos. Estas lipoproteínas alcanzan concentraciones plasmáticas elevadas en aquellos individuos que presentan alteraciones genéticas originadas por una disfunción de receptores y proteínas que dan lugar a una disminución del aclaramiento de las lipoproteínas que fomenta la formación temprana de la placa de ateroma. Este suceso es característico de individuos con hipercolesterolemia familiar o disbetalipoproteinemia y conlleva el posible desarrollo de eventos cardiovasculares precoces que pueden incluso llevar al fallecimiento del paciente. Por este motivo, actualmente las guías clínicas clasifican directamente a este tipo de pacientes como de muy alto riesgo cardiovascular.

Existen además otro tipo de trastornos lipídicos, que a diferencia de la hipercolesterolemia familiar o la disbetalipoproteinemia, no presentan un elevado riesgo cardiovascular pero si manifiestan otras patologías que pueden conllevar la aparición de pancreatitis aguda, como es el caso de la hiperquilomicronemia familiar o multifactorial, cuya prevalencia es muy baja en la población general.

La hipercolesterolemia familiar y la disbetalipoproteinemia, además de conllevar un elevado riesgo cardiovascular, presentan una elevada prevalencia que es más marcada en el caso de la hipercolesterolemia familiar. Actualmente dichas prevalencias, junto con la de la hiperquilomicronemia no se encuentra bien descritas debido a un infradiagnóstico asociado a numerosos factores. Entre ellos destaca la falta de

programas de cribado rutinarios, lo que refiere a considerar este tipo de dislipemias como un problema de salud pública. Tanto la detección precoz como el establecimiento de un tratamiento farmacológico hipolipemiante preventivo, podría reducir el riesgo cardiovascular y de pancreatitis que este tipo de pacientes presenta desde su nacimiento así como el número de eventos coronarios prematuros. Es fundamental establecer programas de cribado para la detección precoz de casos índice y de cribados en cascada para la detección de familiares con el fin de mejorar la calidad de vida del paciente y de reducir el coste sanitario que conllevarían los mismos en un futuro. En niños, las principales guías clínicas recomiendan realizar un diagnóstico entre los 2 y los 10 años para evitar la formación de la placa de ateroma desde la infancia mediante la adquisición temprana de hábitos saludables o inicio de tratamiento farmacológico hipolipemiante.

La hipercolesterolemia familiar es una de las enfermedades que cumple con todos los criterios establecidos por la OMS (264) para establecer programas de cribado:

- La condición es reconocible como temprana o latente.
- La historia natural de su origen es conocida.
- La condición es considerada como un problema de salud.
- Debe estar disponible el diagnóstico genético.
- El diagnóstico por test debe ser aceptable.
- El coste económico de captar casos índice es adecuado.
- Deben estar disponible tratamientos para pacientes diagnosticados.
- Debe existir un consenso para tratar a esos pacientes.
- El cribado debe ser un proceso continuo.

En la actualidad, no todos los países presentan programas de cribado para hipercolesterolemia familiar, disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia familiar y multifactorial, sin embargo, en España se han instaurado en más de 70 unidades de lípidos hospitalarias a lo largo de todo el territorio, cuyo principal objetivo es la captación y optimización del tratamiento de pacientes con alteraciones en el metabolismo lipídico. En ocasiones, estas unidades no abarcan todo lo que desearían, por lo que fomentar la implicación del laboratorio clínico y la formación de un equipo

multidisciplinar entre las unidades del lípidos y el laboratorio, conllevarían una mayor captación de casos índice.

2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN:

Las preguntas de investigación que se plantean para este estudio se muestran a continuación:

- ¿Cuál es la capacidad del laboratorio de bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena para captar pacientes con hipercolesterolemia familiar en analíticas pertenecientes a atención primaria a petición de los clínicos? ¿Y de disbetalipoproteinemia? ¿Y de hiperquilomicronemia?
- ¿Es efectivo la implantación de un sistema de alertas informáticas en las analíticas y derivación a los especialistas de aquellos pacientes que presentan dislipemia para fomentar el abordaje terapéutico y tratamiento individualizado?
- ¿Es efectivo la implantación del cociente cVLDL/TG para la detección de disbetalipoproteinemia?
- ¿Es en realidad tan baja la prevalencia de la disbetalipoproteinemia?
- ¿Es en realidad tan baja la prevalencia hiperquilomicronemia familiar?
- ¿Son representativos los parámetros analíticos de riesgo con la presencia de eventos cardiovasculares precoces?

3. HIPÓTESIS:

La incorporación de un sistema de alertas y algoritmos diagnósticos en el proceso de validación de analíticas en atención primaria así como la valoración multidisciplinar conjunta de la dislipemia que presente el paciente, podría incrementar la captación de casos índice de hipercolesterolemia familiar, disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia familiar o multifactorial, fomentando la individualización del tratamiento, la disminución de su riesgo cardiovascular y la identificación de patologías con un diagnóstico genético de precisión.

4. OBJETIVOS:

El objetivo general de esta tesis doctoral es la detección precoz desde el laboratorio clínico de pacientes con posibles dislipemias genéticas mediante la implementación de un sistema de alertas analíticas y algoritmos diagnósticos en el sistema informático de laboratorio (SIL) al médico peticionario facilitando una derivación prioritaria al clínico especialista para estudio más exhaustivo, así como valorar el cumplimiento de objetivos terapéuticos .

Este objetivo es desarrollado en los siguientes objetivos secundarios:

1. Detección en cascada a partir de casos índice positivos de hipercolesterolemia familiar y disbetalipoproteinemia.
2. Valoración de la utilidad de cocientes de riesgo para la detección precoz de disbetalipoproteinemia y de la hiperquilomicronemia familiar o multifactorial.
3. Valoración de la prevalencia de hiperquilomicronemia familiar en el área sanitaria en el periodo de tiempo establecido.
4. Realización de teleconsultas multidisciplinares con médicos o pediatras de atención primaria para la caracterización bioquímica de posibles pacientes con alteraciones en el metabolismo lipídico y solicitar en caso de que proceda, su caracterización genética.
5. Valorar el cumplimiento de objetivos terapéuticos en pacientes tras una primera derivación a la unidad de lípidos para la optimización de tratamiento farmacológico según la práctica clínica habitual.
6. Valorar el número de pacientes con hipercolesterolemia familiar que presentan incrementos de parámetros analíticos de riesgo como lipoproteínas de baja densidad pequeñas y densas y lipoproteína (a).

Pacientes y métodos

PACIENTES Y MÉTODOS

1. POBLACIÓN Y ÁMBITO:

Este estudio se ha llevado a cabo en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla conjuntamente con la Unidad de Hipertensión y Riesgo Vascular de Medicina Interna, la Unidad de Rehabilitación Cardíaca de Cardiología, la Unidad de Endocrinología pediátrica, el Laboratorio de Biología Molecular y el Laboratorio de Nutrición y Riesgo cardiovascular de la Unidad de Bioquímica Clínica. Este área hospitalaria Virgen Macarena comprende tres distritos (Guadalquivir, Sevilla Norte y Sevilla) y una población total de 481.296. Además, se ha contado con la colaboración del Laboratorio de Lípidos y Arteriosclerosis perteneciente al Centro de Investigaciones Médico-Sanitarias (CIMES) de la Universidad de Málaga.

La recogida de datos de pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar se inició en noviembre de 2016 hasta junio de 2020, con una duración de tres años y siete meses. En el caso de pacientes con disbetalipoproteinemia la recogida de datos de pacientes se inició en noviembre de 2017 y finalizó en junio de 2019, con una duración de 1 año y 7 meses. La recogida de datos de pacientes con sospecha de síndrome de hiperquilomicronemia se inició en junio de 2019 y finalizó en junio de 2020, con una duración de 1 año.

Este trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Ética de Investigación (CEI) de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío de Sevilla.

Diariamente el Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena procesa aproximadamente 2.500 analíticas, ascendiendo a un total de unas 30.000 analíticas anuales, de las cuales más de 250 analíticas/anuales contienen un perfil de riesgo vascular especializado.

La población seleccionada para el estudio de cribado de hipercolesterolemia familiar es aquella captada mediante las analíticas de rutina de atención primaria solicitadas por los clínicos con una concentración de cLDL independientemente del tipo (cLDL calculado, el cLDL directo o el determinado a través de ultracentrifugación) superior a los 250mg/dl y que no presenten ninguna patología o causas secundarias que puedan

incrementar estas concentraciones. El punto de corte seleccionado para $cLDL > 250$ mg/dl, se estimó oportuno como valor que discriminara pacientes con posibles hipercolesterolemias severas, ya que según los criterios MED PED para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar, un paciente con $cLDL = 250-329$ mg/dl ya aportaría un mínimo de 5 puntos. Además, este valor obtuvo alta Sensibilidad y Especificidad en el estudio de Civeira et al. (237) en el que compararon diagnóstico genético versus clínico en la hipercolesterolemia familiar (HF). Además, el $cLDL > 250$ mg/dl supone un valor más del doble del objetivo terapéutico para pacientes de bajo riesgo en prevención primaria según las últimas recomendaciones de la sociedad Europea de Cardiología (146).

La población seleccionada para nuestro estudio de cribado de disbetalipoproteinemia es aquella captada a través de las analíticas de rutina en atención primaria solicitadas por los clínicos en cuyos perfiles de riesgo vascular figure un cociente $cVLDL/TG > 0.3$ mg/dl o superior a 0.2 con hipertrigliceridemia severa y antecedentes de ECV y familiares de primer grado que a pesar de tener el cociente inferior del rango de detección de disbetalipoproteinemia, el caso índice está confirmado genéticamente.

La población seleccionada para nuestro estudio de cribado de síndrome de hiperquilomicronemia es aquella que, de nuevo, es captada a través de las analíticas de rutina solicitadas por los clínicos cuya concentración de triglicéridos es igual o superior a 885 mg/dl en al menos dos ocasiones, y cumple los siguientes criterios: cociente $TG/CT > 5$ y concentraciones bajas de ApoB-100 que no presenten ninguna causa secundaria que induzca esta hipertrigliceridemia seguido de confirmación a partir del cociente entre los triglicéridos que contienen los quilomicrones en relación entre los triglicéridos que contienen las lipoproteínas VLDL ($TG(QM)/TG(VLDL)$) superior a 4.5 (192) determinados por ultracentrifugación, característico del síndrome de hiperquilomicronemia familiar.

2. TIPO DE ESTUDIO:

Se trata de un estudio descriptivo y transversal en el cuál se han realizado análisis retrospectivos y prospectivos. Se realizaron búsquedas retrospectivas y prospectivas a través del Sistema de Información del Laboratorio (SIL).

3. TIPOS DE VARIABLES:

Los datos se obtienen por observación directa, periódica y exhaustiva. Las variables determinadas son variables cuantitativas continuas y cualitativas.

4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Para la inclusión de cada paciente en nuestro estudio era condición indispensable la aceptación de consentimiento informado por parte del paciente y la cumplimentación de la ficha de datos y seguimiento de los mismos.

Además, los pacientes incluidos en este estudio debían cumplir las siguientes condiciones:

- Pacientes de ambos sexos.
- Pacientes sin exclusión de rango de edad
- Pacientes pertenecientes al Área Sanitaria Virgen Macarena de Sevilla.

Aquellos pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar deben cumplir también los siguientes requisitos:

- Presentar una concentración de cLDL superior a los 250 mg/dl y algún antecedente familiar o una concentración de cLDL entre 250 mg/dl y 330 mg/dl sin antecedentes familiares en presencia o ausencia de tratamiento y/o signos clínicos en el caso de los adultos índice.
- En caso de presentar en la última analítica una concentración de cLDL inferior a 250 mg/dl con o sin tratamiento, debe tener al menos una analítica anterior con concentraciones de cLDL > 250 mg/dl en el caso de adultos.
- Presentar concentraciones de cLDL > 190 mg/dl y antecedentes hipercolesterolemia en menores de 18 años.
- Presentar concentraciones de cLDL > 200 mg/dl con o sin tratamiento farmacológico y ninguna causa secundaria para familiares de casos índice previamente confirmados con estudios genético o no.
- Presentar concentraciones de cLDL superiores a los 150 mg/dl a pesar de estar en presencia o ausencia tratamiento farmacológico y ninguna causa secundaria que pueda producir la dislipemia en caso de ser un familiar menor de 18 años de un caso índice confirmado con el estudio genético o no.

Aquellos pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia deben cumplir además los siguientes requisitos:

- Presentar el cociente cVLDL ultracentrifugación /TG ≥ 0.3 mg/dl (190)
- Presentar el cociente cVLDL ultracentrifugación /TG < 0.3 mg/dl acompañado tanto antecedentes personales de enfermedad cardiovascular precoz como de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz y concentraciones de triglicéridos superiores a los 300 mg/dl estando bajo tratamiento farmacológico o sin él.
- Presentar el cociente cVLDL ultracentrifugación /TG < 0.3 mg/dl sin antecedentes personales de enfermedad cardiovascular precoz y sin concentraciones de triglicéridos superiores a los 300 mg/dl, pero con un familiar de primer grado con confirmación genética de disbetalipoproteinemia o con ambos padres con fenotipo E2/E3.

La población con sospecha de síndrome de hiperquilomicronemia debe cumplir los siguiente criterios:

- Presentar concentraciones de triglicéridos al menos en dos ocasiones ≥ 885 mg/dl (145)
- Presentar concentraciones de ApoB-100 < 100 mg/dl
- Presentar el cociente TG/CT > 5 .
- Presentar el cociente TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5
- Presentar o no los signos clínicos relacionados con esta patología: xantomas eruptivos, lipemia retinalis, dolor abdominal, haber sufrido algún episodio de pancreatitis o hepatoesplenomegalia.

5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Se emplearon como criterios para excluir a los pacientes de estudio por sospecha de hipercolesterolemia familiar los siguientes:

- Gestación sin alteración lipídica previa al mismo
- Patología tiroidea
- Microalbuminuria / Proteinuria
- Diabéticos tipo 1 y 2 con concentraciones de cLDL inferiores a los 250 mg/dl

- Esteatosis hepática
- Tratamiento oncológico (quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia)
- Hepatopatía alcohólica
- Falta de ficha de datos
- Falta de datos de contacto
- Pacientes no pertenecientes al Área Hospitalaria Virgen Macarena

Se emplearon como criterios para la exclusión de pacientes de estudio por sospecha de disbetalipoproteinemia los siguientes:

- Hepatopatía alcohólica
- Falta de antecedentes tanto personales como familiares de enfermedad cardiovascular precoz.
- Falta de ficha de datos
- Falta de datos de contacto
- Pacientes no pertenecientes al Área Hospitalaria Virgen Macarena
- Sin Consentimiento informado

Los criterios de exclusión empleados para la población con sospecha de síndrome de hiperquilomicronemia fueron los siguientes:

- Hepatopatía alcohólica o consumo excesivo de alcohol
- Diabetes incontrolada
- Hipotiroidismo
- Dieta rica en grasas y/o azúcares
- Tratamientos farmacológicos como glucocorticoides, etinilestradiol o neurolépticos
- Falta de ficha de datos
- Falta de datos de contacto
- Pacientes no pertenecientes al Área Hospitalaria Virgen Macarena
- Sin Consentimiento informado

6. DISEÑO DEL ESTUDIO:

El estudio realizado se divide en dos partes:

6.1. ESTUDIO RETROSPECTIVO PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

Para la captación de pacientes con HF pertenecientes al área hospitalaria Virgen Macarena de Sevilla se ha realizado un estudio retrospectivo desde noviembre de 2016 a noviembre de 2017 que comprende las siguientes fases:

- Consulta de las bases de datos del Sistema de Información del Laboratorio
- Valoración de analíticas con concentraciones cLDL > 250 mg/dl en adultos y cLDL > 190 mg/dl en niños (265) para el diagnóstico de HF y descartar causas secundarias
- Contacto telefónico con pacientes y derivación prioritaria a Unidad de lípidos
- Consulta clínica del paciente en Unidad de lípidos
- Solicitud y realización de estudio genético
- Estudios en cascada

Desarrollaremos en el próximo epígrafe las etapas particulares llevadas a cabo en este estudio retrospectivo y posteriormente, aquellas que presenta en común con el estudio prospectivo:

- **Consulta de las bases de datos del Sistema de Información del laboratorio (SIL):**

En noviembre de 2017 se realizó una búsqueda retrospectiva a través del Sistema de Información del Laboratorio *Servolab (Siemens)*, vigente durante los años 2016 y 2017, de concentraciones de cLDL directo y cLDL ultra superiores a los 250 mg/dl para la detección de posibles pacientes con hipercolesterolemia familiar en adultos y concentraciones de cLDL directo y cLDL ultra superiores a 190 mg/dl en niños.

Esta búsqueda proporcionó un listado de pacientes que fue exportado como archivo .xls en el que se incluían los siguientes parámetros: Nhusa, concentración de cLDL directo, calculado o cLDL ultra y número de teléfono de contacto. Este archivo se ordenó de mayor a menor concentración de cLDL directo o cLDL ultra para los pacientes con posible HF.

- **Valoración de analíticas con concentraciones cLDL > 250 mg/dl en adultos y cLDL > 190 mg/dl en niños para el diagnóstico de HF y descarte de causas secundarias:**

A través del listado exportado anteriormente desde el SIL, se consultaron los parámetros analíticos disponibles en *Servolab*.

Se comenzó con aquellas concentraciones de cLDL directo y cLDL más altas, teniendo en cuenta simultáneamente a adultos y niños, ya que este SIL no permite una clasificación de pacientes por rango de edad. Se revisaron todos los parámetros analíticos y se realizó una búsqueda de analíticas posteriores para comparar parámetros y determinar si la manifestación de la dislipemia era puntual.

Se descartaron a aquellos pacientes con posibles dislipemias de origen secundario a través de diferentes métodos:

- Revisión de los siguientes parámetros analíticos: TSH, microalbuminuria o proteinuria, glucosa y/o HbA1c.
- Detección del origen de la unidad a la que pertenecía el médico petionario ya que permitía detectar a embarazadas, pacientes oncológicos, ...
- Consideración de comentarios incluidos por los clínicos en las analíticas.

Aquellos pacientes que superaron los filtros comentados con anterioridad fueron clasificados en adultos y niños en función de la concentración cLDL más alta presente en cualquiera de su/s analítica/s.

6.2. ESTUDIO PROSPECTIVO PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR, DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR O HIPERQUILOMICRONEMIA:

Para la captación de pacientes con HF, disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia familiar y multifactorial pertenecientes al área hospitalaria Virgen Macarena de Sevilla se ha realizado un estudio prospectivo desde noviembre de 2017 a junio de 2020 para la HF, desde noviembre de 2017 hasta junio de 2019 para la disbetalipoproteinemia y desde junio de 2019 hasta junio de 2020 para la hiperquilomicronemia, que comprenden las siguientes fases:

- Validación de analíticas de rutina por el especialista y establecimiento de alertas
- Contacto telefónico o vía email del clínico con el laboratorio y teleconsulta
- Valoración de analíticas con cLDL > 250 mg/dl en adultos y cLDL > 190 mg/dl en niños para el diagnóstico de HF y descarte de causas secundarias
- Valoración del cociente cVLDL/TG entre 0.2 y 0.3 para el diagnóstico de disbetalipoproteinemia y descarte de causas secundarias
- Valoración de concentraciones de TG \geq 885 mg/dl y de ApoB-100 < 100 mg/dl y del cociente TG/CT > 5 para el diagnóstico de hiperquilomicronemia familiar y descarte de causas secundarias y confirmación del cociente TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5
- Contacto telefónico con pacientes y derivación prioritaria a Unidad de lípidos
- Consulta clínica del paciente en Unidad de lípidos
- Solicitud y realización de estudio genético
- Estudios de segregación familiar

Desarrollaremos en el siguiente epígrafe las etapas particulares llevadas a cabo en este estudio prospectivo y posteriormente aquellas que presenta en común con el estudio retrospectivo.

- **Validación de analíticas de rutina por el especialista y establecimiento de alertas:**

El estudio prospectivo para la captación de pacientes con HF, disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia se inicia con la validación rutinaria de analíticas e inserción de alertas y comentarios por parte del analista de laboratorio.

En función del perfil lipídico del paciente se incluirán una serie de alertas que llamarán la atención del clínico sobre el posible origen de la dislipemia o sobre su elevado riesgo vascular que promoverán el contacto del clínico con el analista de laboratorio y el establecimiento de una posible teleconsulta.

En aquellas analíticas de pacientes con posibles dislipemias genéticas sin perfil lipídico ampliado se añadirá el siguiente comentario:

“Se recomienda realizar al paciente estudio completo de Riesgo Vascular. Consulte con laboratorio de Nutrición y Riesgo vascular. Dr. Arrobas. Extensión 308110. La hoja de

interconsulta de petición del Perfil de RCV que está disponible en la intranet del hospital, columna izquierda/UGC protocolos específicos /bioquímica /documentos de interés/Riesgo vascular/Pet_perf_Rv.”

La sospecha de HF y de disbetalipoproteinemia promoverá la inclusión de distintos comentarios.

Aquellos pacientes que presenten CT > 310 mg/dl serán considerados como pacientes de alto riesgo cardiovascular por lo que, tras revisar su historia clínica, en caso de no encontrarse bajo tratamiento farmacológico se le hará la siguiente recomendación al clínico:

“Paciente de alto riesgo según 2019 ESC/EAS Guidelines. Se recomienda intensificar tratamiento dietético y/ o farmacológico hipolipemiante”

En aquellos pacientes mayores de 18 años en los que se halla realizado una determinación analítica del cLDL y esta sea superior a los 220 mg/dl se establecerá la siguiente alerta:

“Paciente con dislipemia severa. Descartar causas secundarias y valorar posible Hipercolesterolemia familiar con escala MED PED y las Clínicas Holandesas. Puede consultar con laboratorio de lípidos, Dra. Arrobas. Extensión 308110”

En función de los niveles lipídicos obtenidos por el paciente y los factores de riesgo consultados en su historia clínica por el analista, se le realiza al paciente un cálculo del SCORE de riesgo cardiovascular, por lo que se le añadirá uno de los siguientes comentarios según directrices de la Sociedad Europea de Cardiología 2019 para la prevención primaria en función de la puntuación obtenida:

“Paciente de Muy alto riesgo: SCORE >10%. Se recomienda una reducción de LDL-C de >50% con respecto al valor basal y LDL-C <55 mg/dL”

“Paciente de Alto riesgo: SCORE > 5% y <10%. Se recomienda una reducción de LDL-C >50% con respecto al valor basal y c-LDL <70 mg/dL”

“Paciente riesgo moderado : SCORE > 1% y < 5% . LDL < 100mg/dl o una reducción de LDL-C > 50% con respecto al valor basal”

“Paciente riesgo bajo: SCORE < 1%. c-LDL < 116mg/dl”

En aquellos casos en los que no se halla realizado una determinación del cLDL y sea posible el cálculo del c-noHDL ($c\text{-noHDL} = \text{CT} - \text{cHDL}$) se establecerán los siguientes objetivos terapéuticos como alternativa:

“Paciente muy alto riesgo (SCORE): $c\text{-noHDL} < 100 \text{ mg/dL}$ ”

“Paciente alto riesgo(SCORE) : $c\text{-noHDL} < 130 \text{ mg/dL}$ ”

“Paciente riesgo moderado(SCORE): $c\text{-noHDL} < 145 \text{ mg/dL}$ ”

Los rangos de normalidad para la concentración de ApoE se encuentran entre los 2.3-6.6 mg/dl, por lo que a aquellos pacientes cuya concentración supere el rango determinado se le ampliará el estudio lipídico y se informará al clínico del siguiente modo:

“Estudio de lípidos ampliado por laboratorio. Concentración elevada de Apolipoproteína E señala un alto contenido de productos de desintegración de quilomicrones y remanentes de VLDL potencialmente aterogénicas”

A aquellos pacientes que presenten un cociente cVLDL ultracentrifugación / TG > 0.3 o que cumplan los siguientes tres criterios: TG $> 200 \text{ mg/dl}$, CT/ApoB > 2.4 y TG/ApoB < 8.85 se les incluirá el siguiente comentario:

“Posible sospecha de disbetalipoproteinemia familiar. Se recomienda estudio genético isoformas APOE”

Al finalizar los comentarios aportados a la analítica se incluirá el modo de contacto con el laboratorio para solventar dudas o aportaciones:

“Para consultas analíticas, contacte con el laboratorio de lípidos Dra. Arrobas ext. 30811”

Con el objetivo de incrementar el número de pacientes captados con alteraciones lipídicas se han implementado los siguientes algoritmos diagnósticos:

- Si el CT $> 310 \text{ mg/dl}$ (Paciente de alto riesgo según recomendaciones EAS) ampliar cLDL directo. Si cLDL directo $> 200 \text{ mg/dl}$, ampliar ApoB100 y cociente cLDL/ApoB100
- Si cLDL directo o calculado $> 200 \text{ mg/dl}$, ampliar ApoB100 y cociente cLDL/ApoB100

- Si cLDL directo o calculado > 250 mg/dl, ampliar Lp(a)
- Si existe glucemia > 126 y/o HbA1c > 7, TG > 300 mg/dl y cHDL < 40 mg/dl, ampliar cLDL directo, ApoB100 y cociente cLDL/ApoB100 e incluir en comentarios *“Triada lipídica aterogénica: Hipertrigliceridemia, cHDL bajo y presencia de partículas de cLDL pequeñas y densas”*

- **Contacto telefónico o vía email del clínico con el laboratorio y teleconsulta:**

La alerta establecida en la analítica en la que se incluye el modo de contacto con la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular fomenta la sinergia clínico-analista y una posible orientación diagnóstica para el paciente.

Por ello, en el caso de contacto vía telefónica o vía email con el analista, se realizará una teleconsulta en la cuál el clínico comentará aquellos aspectos que considere más relevante del paciente y el analista guiará al clínico en función de los parámetros lipídicos obtenidos, ofrecerá ampliación de parámetros si fuera necesario para descartar causas secundarias teniendo en cuenta las características clínicas del paciente, promoviendo una mejor orientación diagnóstica hacia el paciente.

En dicha teleconsulta, en aquellos casos en los que se sospeche de una alteración lipídica de origen genético, se ofrecerá la posibilidad al clínico, la derivación prioritaria con un especialista de la Unidad de Lípidos.

Asimismo, se le ofrecerá al clínico soporte y una posible orientación diagnóstica o derivación a la Unidad de Lípidos .

- **Valoración de analíticas con cLDL > 250 mg/dl en adultos y cLDL > 190 mg/dl en niños para el diagnóstico de HF y descarte de causas secundarias:**

Desde el inicio del estudio prospectivo hasta noviembre de 2018 el SIL de laboratorio empleado era *Servolab (Siemens)*, el cuál no permitía realizar una búsqueda sencilla de las concentraciones de cLDL diarias, por lo que el analista del laboratorio, en su labor rutinaria de validación analítica, apuntaba en un Excel los códigos de analíticas de aquellos pacientes que presentaban concentraciones de cLDL superiores a 250 mg/dl en adultos y a 190 mg/dl en niños.

Una vez se realizó el cambio de SIL y se implementó el nuevo SIL, *Smartlis (Roche)*, se modificó el sistema de búsqueda debido a que este nuevo sistema informático permite realizar búsquedas según los parámetros analíticos que seleccionemos entre aquellos rangos de fecha y concentración establecidos. Llegando incluso a incorporarse al SIL, por petición del analista, apartados de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, en los cuales se tenían en cuenta las concentraciones de cLDL (cLDL directo, cLDL calculado y cLDL ultracentrifugación) y de triglicéridos (TG directo, TG ultracentrifugación), respectivamente para consultar diariamente.

Todas aquellas analíticas que presentaban concentraciones de cLDL superiores a 250 mg/dl en adultos y superiores a 190 mg/dl en niños fueron revisadas en ambos SIL durante los periodos correspondientes por sospecha de hipercolesterolemia familiar. Al igual que en el estudio prospectivo, se examinaron todos los parámetros analíticos y se realizó una búsqueda de analíticas posteriores para comparar parámetros y determinar si la manifestación de la dislipemia era puntual.

Del mismo modo, se descartaron a aquellos pacientes con posibles dislipemias de origen secundario a través de diferentes procedimientos:

- Revisión de los siguientes parámetros analíticos: TSH, microalbuminuria o proteinuria, glucosa y/o HbA1c.
- Detección del origen de la unidad a la que pertenecía el médico peticionario ya que permitía detectar a embarazadas, pacientes oncológicos,...
- Consideración de comentarios incluidos por los clínicos en las analíticas.

Aquellos pacientes que superaron los filtros comentados con anterioridad, fueron clasificados en adultos y niños en función de la concentración cLDL más alta presente en cualquiera de su/s analítica/s.

- **Valoración del cociente cVLDL/TG entre 0.2 y 0.3 para el diagnóstico de disbetalipoproteinemia y descarte de causas secundarias:**

Desde noviembre de 2017, hasta junio de 2019 se realizó una valoración de los cocientes cVLDL/TG a través de los SIL. Al igual que para la valoración de las concentraciones de cLDL, desde noviembre de 2017, hasta diciembre de 2018 se empleó el SIL *Servolab*. Durante ese periodo, el analista realizó un Excel con aquellos cocientes cVLDL/TG que

se encontraban dentro del rango [0.2-0.3] en pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia.

Posteriormente, tras la implementación del nuevo SIL, *Smartlis*, hasta que finalizó el estudio prospectivo para la búsqueda de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia, se realizó una búsqueda diaria de los posibles cocientes cVLDL/TG superiores a 0.2.

Se comenzó con aquellos valores del cociente cVLDL/TG más elevados, con indiferencia de la edad. Se revisaron todos los parámetros analíticos y se realizó una búsqueda de analíticas posteriores para comparar parámetros y determinar si el exceso de remanentes de VLDL era puntual.

Se descartaron a aquellos pacientes con posibles dislipemias de origen secundario considerando los posibles comentarios incluidos por los clínicos en las analíticas.

Aquellos pacientes que superaron los filtros comentados con anterioridad, fueron clasificados en función de los valores más elevados del cociente cVLDL/TG presente en cualquiera de sus analíticas y se priorizó aquellos procedentes de cardiología o rehabilitación cardíaca, debido a que posiblemente habían sufrido un evento cardiovascular previo.

- **Valoración de concentraciones de TG \geq 885 mg/dl, ApoB-100 $<$ 100 mg/dl y del cociente TG/CT $>$ 5 para el diagnóstico de hiperquilomicronemia familiar y multifactorial, descarte de causas secundarias y confirmación del cociente TG(QM)/TG(VLDL) $>$ 4.5:**

Desde junio de 2019 hasta junio de 2020 se realizó una búsqueda de pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia. Por ello, a través del SIL *Smartlis*, se realizó una filtración diaria de las concentraciones de TG \geq 885 mg/dl y de ApoB-100 $<$ 100 mg/dl. Durante ese periodo, a los pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial se les determinó el cociente TG/CT mediante ultracentrifugación y el analista realizó un Excel con aquellas concentraciones de triglicéridos, ApoB-100 y cocientes TG/CT.

Al igual que en los otros trastornos lipídicos, se revisaron todos los parámetros analíticos y se realizó una búsqueda de analíticas previas para comparar parámetros y determinar si el exceso de remanentes de triglicéridos era puntual.

Asimismo, se descartaron a aquellos pacientes con posible incremento de la concentración de triglicéridos de origen secundario mencionados en los criterios de exclusión.

Aquellos pacientes que superaron los filtros comentados con anterioridad, fueron clasificados en función de los valores más elevados del cociente TG/CT y de la concentración de triglicéridos y se determinó posteriormente el cociente $TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5$ por ultracentrifugación.

6.3. CONTACTO TELEFÓNICO CON PACIENTES Y DERIVACIÓN PRIORITARIA A UNIDAD DE LÍPIDOS:

Una vez se ordenaron prioritariamente a los pacientes con posible HF, disbetalipoproteinemia familiar e hiperquilomicronemia según los criterios comentados anteriormente, se contactó vía telefónica con el médico de atención primaria y el paciente.

Habiendo establecido el contacto telefónico y en el caso de consentir telefónicamente el paciente, procederemos a realizar una entrevista telefónica sobre posibles antecedentes tanto personales como familiares relacionados con la hipercolesterolemia o la disbetalipoproteinemia, la enfermedad cardiovascular precoz, sobre antecedentes personales o familiares de hiperquilomicronemia así como sobre los posibles eventos sufridos de pancreatitis aguda o dolor abdominal; además se preguntó a los pacientes sobre posibles patologías que influyan y que no se encuentren reflejadas en sus parámetros analíticos, sobre su tratamiento (en caso de tener) actual y/o anterior y sobre los valores analíticos de cLDL y triglicéridos en los momentos de tratamiento.

En caso de tener familiares de primer grado con posible HF que pertenezcan al área del Hospital Virgen Macarena, se revisarán, con su consentimiento, las últimas determinaciones de cLDL con el objetivo de corroborar la dislipemia.

Aquellos pacientes en los que se descarte una posible hipercolesterolemia poligénica penetrante, se le realizará un cálculo preliminar de la Puntuación de las Clínicas Holandesas. En caso de que el paciente presente una puntuación superior a 6 puntos y de presentar antecedentes familiares de hipercolesterolemia o de 8 puntos, a pesar de no presentar antecedentes familiares de hipercolesterolemia, se les ofrece ser derivados para una consulta prioritaria.

Asimismo, aquellos pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar con antecedentes personales de enfermedad cardiovascular precoz y/o antecedentes familiares y mayor cociente cVLDL/TG, se les ofrecerá una consulta prioritaria con el clínico especialista de la Unidad de Lípidos, seguida de aquellos pacientes que presentan sospecha del mismo diagnóstico pero sin haber sufrido un evento cardiovascular previo.

Al igual que para las patologías lipídicas mencionadas anteriormente, aquellos pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial con antecedentes personales o familiares de hipertrigliceridemia y/o dolor abdominal y pancreatitis aguda y con cocientes TG/CT > 5 y TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5, se les ofrecerá asistir a través de una consulta prioritaria con el clínico especialista de la Unidad de Lípidos.

En caso de aceptar la derivación se le remite el paciente al clínico con una cita prioritaria a la consulta de dislipemias genéticas con el clínico especialista de la Unidad de Lípidos.

6.4. CONSULTA CLÍNICA DEL PACIENTE EN LA UNIDAD DE LÍPIDOS:

El día de consulta, el paciente es atendido por el clínico especialista perteneciente a la Unidad de lípidos. En este momento se le facilita el consentimiento informado y se le vuelve a informar sobre el proyecto. Se revisa la historia clínica, la medición de la tensión sistólica y diastólica con un esfigmomanómetro, la determinación de altura y el peso con una balanza-tallador Asimed® con el paciente descalzado y con la espalda erguida y en último lugar se le realiza una exploración general con la intención de detectar la presencia de signos físicos relacionados con la HF y la disbetalipoproteinemia familiar como pueden ser xantomas, xantelasmas o arco corneal y con la hiperquilomicronemia familiar como los xantomas eruptivos, la lipemia retinalis, la hepatoesplenomegalia, el dolor abdominal y la pancreatitis aguda.

Además, se le pregunta al paciente acerca de antecedentes personales de dislipemia (año de detección, tratamientos recibidos, adherencia a los tratamientos, tipo de seguimiento recibido, intolerancia a algún tipo de tratamiento,...) y de enfermedad cardiovascular y de eventos de pancreatitis para los pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia; sobre los antecedentes familiares de dislipemia y de enfermedad cardiovascular precoz y se realiza un árbol familiar del paciente con el objetivo de detectar precozmente a través de cascada directa o inversa a aquellos familiares de primer grado que se encuentren afectados de la misma patología; en último lugar se le preguntará al paciente por sus hábitos físicos y alimenticios y se le recomendarán medidas higiénico-dietéticas.

A cada paciente con sospecha de HF se le asigna una puntuación en según la Clínica de las Escalas Holandesas en función de los ítems referenciados anteriormente y se les clasifica en función de la probabilidad de presentar una mutación positiva para la hipercolesterolemia familiar. A aquellos pacientes que presenten una puntuación superior a los 8 puntos o entre 6 y 8 puntos con antecedentes familiares según la puntuación de las Clínicas Holandesas, se les valorará el solicitar un estudio genético a través de la comisión hospitalaria de genética del Hospital Universitario Virgen Macarena.

De similar manera, a aquellos pacientes que cumplan criterios clínicos diagnósticos de una posible disbetalipoproteinemia, se les solicitará a través de la misma comisión un estudio genético de isoformas de la ApoE.

A los pacientes que cumplan criterios de hiperquilomicronemia familiar o multifactorial se les ofrecerá la posibilidad de realizar un estudio genético para los genes LPL, APOE, ApoA-V, ApoB-100, ApoC-II, ApoC-III, GALNT2, GPD1, TRIB1, USF1, LIPC, ANGPTL3, GPIHBP1, LMF1, GCKR y MLXIPL, cuyas muestras serán enviadas al Laboratorio de lípidos y aterosclerosis perteneciente al Centro de Investigaciones Médico Sanitarias de Málaga.

Para la solicitud del estudio genético en pacientes con sospecha de HF y disbetalipoproteinemia familiar, el clínico cumplimenta una solicitud telemática disponible en la intranet del hospital en la que se justifica el motivo de sospecha clínica en un informe médico además de adjuntar pruebas analíticas o diagnósticas.

En función de si el paciente se encuentra en la actualidad recibiendo algún tipo de tratamiento o no, se le intensifica el tratamiento según práctica clínica asistencial. Teniendo en cuenta que todos estos pacientes son pacientes de muy alto riesgo vascular y que su objetivo es una disminución de la concentración de cLDL en valores inferiores a los 100 mg/dl en caso de no presentar factores de riesgo como la diabetes mellitus tipo 2 o el haber sufrido un evento cardiovascular previo, en cuyo caso, el objetivo a alcanzar en la concentración de cLDL es inferior a los 70 mg/dl (146).

Para los pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia se rellenó un Excel en el cual se asignaba un código interno a cada paciente y en el que se incluían sus parámetros lipídicos y manifestaciones clínicas.

A las cuatro semanas de tratamiento, el paciente con sospecha de HF se realizará una nueva analítica control en la consulta de Extracciones Especiales pertenecientes a la unidad de bioquímica clínica del Hospital Universitario Virgen Macarena, entre cuyas determinaciones se realizará un Perfil de Riesgo Vascular.

6.5. ESTUDIO GENÉTICO:

Una vez la solicitud del clínico para el estudio genético de pacientes con sospecha de HF y disbetalipoproteinemia familiar ha sido aprobada por la comisión hospitalaria y los pacientes con sospecha de hiperquilomicronemia familiar y de las otras dos patologías han aceptado realizarse el estudio genético, se procederá a realizar la toma de muestras.

6.5.1. FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

En primer lugar se contacta con el paciente con sospecha de HF y disbetalipoproteinemia o hiperquilomicronemia vía telefónica para confirmarle la aprobación de la comisión hospitalaria y confirmarle la cita para realizarse la extracción sanguínea. En el caso concreto de estudios de Hipercolesterolemia familiar, se le comentará al paciente que puede realizarse a través de una muestra de sangre que no necesita que el paciente se encuentre en ayunas o a través de una muestra de saliva que requiere que el paciente no ingiera ningún tipo de alimento, ni bebida (a excepción de agua) y que no fume, las dos horas previas a la toma de la muestra en el caso de aquellos pacientes que presenten sospecha de HF y que prefieran no realizarse una extracción sanguínea.

El día de la cita se le explica detenidamente y de forma comprensible para el paciente, la función de este tipo de estudio, en qué consiste la realización de este tipo de pruebas, el lugar al que se envía su muestra.

Finalmente, el paciente firma un consentimiento informado por duplicado (una copia para el paciente, otra copia para el hospital) en el que el paciente confirma que ha recibido esta información y en el cual, se le da la opción de proporcionar sus resultados para la investigación, de rechazar el realizar la determinación de la prueba y de rechazar el recibir y subir a su historia clínica los resultados.

6.5.2. TOMA DE MUESTRAS:

En el caso en el que el paciente prefiera realizarse la prueba a través de una extracción sanguínea, este se dirigirá hacia Extracciones especiales, donde las enfermeras le realizarán una extracción de entre 3 y 10 ml de sangre recogida en tubos modelo Vacuette® (Becton Dickinson®) que contienen EDTA-K3. Estas muestras serán remitidas a la Unidad de Lípidos y Riesgo Vascular, convenientemente codificados con el código de extracción y el código externo del laboratorio al que se enviarán las muestras y serán conservados en la nevera a -4°C durante un periodo inferior a una semana hasta su envío o congeladas.

Si por el contrario, el paciente opta por realizarse el estudio genético a través de una muestra de saliva (si sospecha de HF), se le proporcionará un salivero (DNA SALIVA COLLECTOR) *Genefix (Isohelix)* y se le explicará al paciente cómo deben rellenarlo adecuadamente, alcanzando un determinado nivel de saliva descontando la espuma que se pueda formar. Una vez se ha obtenido la muestra, se procede a la conservación de la misma añadiéndole el conservante facilitado en el kit y agitando la muestra para que esta se conserve. Las muestras recepcionadas serán convenientemente codificadas con el código interno del laboratorio al que se enviarán y conservadas en la nevera a -4°C durante un periodo inferior a una semana hasta su envío.

6.5.3. SOLICITUD DE ESTUDIO GENÉTICO:

6.5.3.1. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

Obtenidas las muestras de los pacientes para los estudios genéticos en el caso de pacientes con sospecha de HF, se rellenan online a través de las páginas de los laboratorios externos disponibles Gen inCode o Health[in]Code los siguientes ítems:

- Tipo de estudio a realizar:
 - **Caso índice NGS:** Primer paciente de una familia en donde se requiere identificar una variante genética patogénica. Análisis mediante tecnología de ultrasecuenciación o NGS.
 - **Familiar SEQ:** Caso familiar con variante genética conocida en la familia. Confirmación de la/s variante/s mediante tecnología SANGER (todos los genes) / MLPA (gen LDLR), según proceda. Se proporcionará un informe de los resultados confirmando la presencia/ausencia de la/s variante/s familiar en el sujeto analizado.
 - **Familiar NGS:** Caso familiar con alteración genética conocida en la familia en el que se solicita el análisis mediante servicio NGS completo.
- Tipo de servicio a realizar en función del laboratorio al que se envíe la muestra
- Idioma del informe
- Código de muestra
- Referencia de muestra
- Tipo de muestra y fecha de extracción
- Aceptación/no aceptación para recibir la información relativa al Score genético de Hipercolesterolemia de causa poligénica (LDLc Score) y al Score genético.
- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Etnia
- Puntuación según los Criterios de la Red de Clínicas de Lípidos de Holanda
- Niveles plasmáticos de cLDL e indicar si se encontraba con o sin tratamiento
- Forma de pago, referencia de facturación y documento personal del paciente emitido por la comisión hospitalaria
- Confirmación de que el paciente ha firmado un consentimiento informado

- Datos de recogida de muestra

Una vez rellenado el formulario del paciente, las muestras son enviadas por mensajería al laboratorio correspondiente conservadas en una nevera con frío.

6.5.3.2. DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:

El análisis genético de ApoE realizado para el diagnóstico de disbetalipoproteinemia familiar se realiza en el Laboratorio de Biología Molecular perteneciente al Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena, por lo que las extracciones sanguíneas que han sido remitidas a la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular son derivadas al Laboratorio de Biología Molecular para su análisis, donde son conservadas en frío a -4°C en el caso de realizar la determinación en la misma semana, o congeladas a -20°C , en caso de que el análisis se vaya a demorar más.

6.5.3.3. HIPERQUILOMICRONEMIA:

El análisis de los genes LPL, APOE, ApoA-V, ApoB-100, ApoC-II, ApoC-III, GALNT2, GPD1, TRIB1, USF1, LIPC, LIPG, ANGPTL3, ANGPTL4, GPIHBP1, LMF1, GCKR, CETP, FADS1, FADS2, FADS3, PLTP, CREB3L3 y MLXIPL realizado para el diagnóstico de hiperquilomicronemia familiar se realiza en el Laboratorio de lípidos y aterosclerosis del Centro de Investigaciones Médico Sanitarias perteneciente a la Universidad de Málaga. Por lo que las muestras son enviadas por mensajería en una nevera a 4°C con hielo seco.

6.5.4. OBTENCIÓN DE RESULTADOS:

Los laboratorios externos ofrecen un tiempo de respuesta aproximado de uno a dos meses para proporcionar los informes genéticos, los cuales son remitidos a la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular mediante email corporativo del centro hospitalario y a la responsable de la comisión, la cual adjunta a la historia clínica del paciente el informe genético.

6.5.4.1. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

El modelo de informe de resultados obtenidos se representa en la Figura 25 en el que se indica si el resultado del diagnóstico genético es positivo, si presenta una variable genética no descrita, si presenta una hipercolesterolemia poligénica o si por el contrario el estudio genético es negativo para los 5 genes estudiados en hipercolesterolemia familiar. En caso de presentar un estudio genético positivo o una variable genética

alterada no descrita, se adjunta en el informe la información de la variante de ADN codificante del gen mutado, la variante de ADN genómico del gen mutado, la variante proteínica y si la mutación que presenta se encuentra en heterocigosis o en homocigosis; además, se clasifican las mutaciones en tres tipos en función de lo descrito en la base de datos *GenDiag.exe* (I: Variable Patogénica; II: Variable Posiblemente patogénica; III: Variable de significado clínico incierto).

Los informes realizados por Gen inCode incluyen información sobre los genotipos asociados a la respuesta a simvastatina (probabilidad de si presenta el paciente el mayor riesgo a aparición de miopatías asociadas a simvastatina y probabilidad de que el paciente presente una menor respuesta a tratamiento con simvastatina) y sobre los genotipos asociados a los niveles de Lp(a). En cambio, los informes del segundo laboratorio, Health[in]Code ofrecen un informe más amplio respecto a la farmacocinética, ya que incluyen más variantes genéticas en los distintos tipos de estatinas que hay actualmente en el mercado.

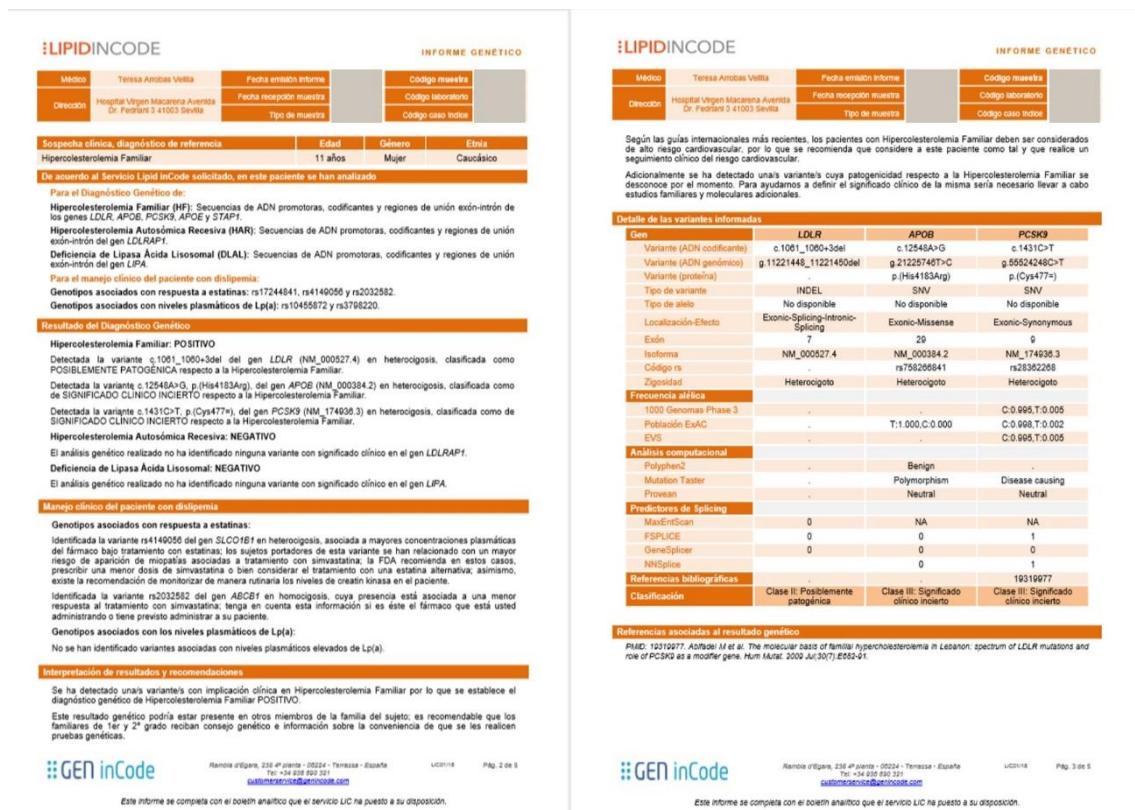


Figura 25. Informe genético hipercolesterolemia familiar Gen inCode

Los estudios genéticos realizados en Gen inCode incluyen los siguientes genes (Tabla 20): las secuencias de ADN promotoras y codificantes así como regiones de unión exón-intrón (± 25 pb) de los genes LDLR, APOB, PCSK9, APOE, STAP1, LDLRAP1 y LIPA.

Y las siguientes variantes rs17244841(6) , rs4149056 y rs2032582 asociadas con respuesta a estatinas; las variantes rs10455872 y rs3798220 asociadas con niveles plasmáticos elevados de Lp(a); las variantes rs7412, rs429358, rs1367117, rs4299376, rs629301, rs1564348, rs1800562, rs3757354, rs11220462, rs8017377, rs6511720 y rs2479409 incluidas en LDLc Score y las variantes rs10455872, rs10507391, rs12526453, rs1333049, rs17222842, rs17465637, rs501120, rs6725887, rs9315051, rs9818870 y rs9982601 incluidas en Cardio inCode Score.

Los estudios realizados en Health[in]Code incluyen los genes más prevalentemente asociados a hipercolesterolemia familiar: **LDLR**, **APOB**, **PCSK9**, **LDLRAP1**, **APOE** y el principal gen asociado a miopatía inducida por estatinas **SLCO1B1**. También incluye **variantes en 49 genes con implicación farmacogenética**: *ABCB1, AMPD1, CH25H, COQ2, CPT2, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, NPC1L1, PYGM, RYR1, SLC22A8, SLCO1B1, ABCC2, ABCG2, ACE, ADAMTS1, CFAP44, CRP, CXCL5, CYBA, CYP19A1, CYP2C9, CYP7A1, F3, FABP1, FDPS, FMO3, GATM, GNB3, HLA-DRB1, HLA-G, HTR3B, HTR7, IL1B, IL6, KIF6, MMP3, MTHFR, NOS3, POR, RHOA, RYR2, SCAP, SREBF1, TLR4, TNF, UGT1A3, UGT1A9*.

Cuando un paciente presenta un diagnóstico genético negativo, se calcula la probabilidad que tiene el mismo de padecer una hipercolesterolemia poligénica, para ello se examinan los genotipos de las variantes indicadas anteriormente y se aplica la ecuación de Talmud (266), de modo que un valor superior a 0,73 será indicativo de una elevada probabilidad de causa poligénica para las elevadas concentraciones de cLDL. No sólo se les aplica este cálculo a aquellos pacientes con diagnóstico genético negativo, sino que también se les realiza un cálculo del riesgo de enfermedad cardiovascular para determinar la aportación de los factores genéticos al riesgo cardiovascular mediante la suma ponderada del peso de cada variante genética que se encuentra presente en el individuo.

Gen	Isoforma
RLDL	chr19
	NM_000527.4
	NP_000518.1
APOB	chr2
	NM_000384.2
	NP_000375.2
PCSK9	chr1
	NM_174936.3
	NP_777596.2
APOE	chr19
	NM_000041.3
	NP_000032.1
STAP1	chr4
	NM_012108.3
	NP_036240.1
LDLRAP1	chr1
	NM_015627.2
	NP_056442.2
LIPA	chr10
	NM_000235.3
	NP_000226.2

Tabla 20. Variantes genéticas analizadas para la determinación de hipercolesterolemia familiar

6.5.4.2. DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:

El Laboratorio de Biología Molecular proporciona en la mayor brevedad posible un informe sobre el análisis de genotipos de ApoE (Figura 26), en el cual se indica el resultado obtenido por el paciente, junto con un comentario explicativo. Se pueden obtener diferentes genotipos: ϵ_3/ϵ_3 (característico de la población normal), ϵ_2/ϵ_3 , ϵ_2/ϵ_2 (característico de los pacientes que desarrollan disbetalipoproteinemia), ϵ_2/ϵ_4 , ϵ_3/ϵ_4 y ϵ_4/ϵ_4 .

Solicitante: Dra. Arrobas

Servicio peticionario: Bioquímica Clínica
Hospital Universitario Virgen Macarena

Laboratorio de Biología Molecular
Servicio de BIOQUÍMICA CLÍNICA
Hospital Universitario Virgen Macarena

INFORME DE ANÁLISIS DE GENOTIPOS DE APOE

Técnica: Extracción del ADN de leucocitos. Amplificación por PCR con cebadores específicos de secuencias correspondientes a codones 112 y 158 de gen ApoE que determinan las variantes alélicas de los genotipos E2, E3 y E4. Posterior purificación y secuenciación Sanger de la región amplificada.

RESULTADO DEL TEST: E2/E2

La paciente presenta genotipo e2 en homocigosis.

COMENTARIO: Las personas homocigotas para el alelo e2 tienen propensión a desarrollar disbetalipoproteinemia (Tipo III). El principal defecto metabólico en el tipo III es un aclaramiento alterado de lipoproteínas remanentes secundario a una afinidad reducida de ApoE2 por su receptor, la única ApoE presente en la superficie de los remanentes en personas con fenotipo E2/E2.

Se ruega la máxima confidencialidad en el consejo genético y la no publicación sin el acuerdo con el laboratorio.

Sevilla, 23 enero de 2017



Dra. Flora Sánchez Jiménez





F. Solano

Figura 26. Informe genético genotipo APOE

6.5.4.3. HIPERQUILOMICRONEMIA:

Estos análisis han sido llevados a cabo en el Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis pertenecientes al CIMES con la financiación de la I+D+i Biomédica y en Ciencias de la Salud en Andalucía asociada al proyecto de innovación de excelencia titulado “Aplicación de métodos de secuenciación de nueva generación o NGS para el diagnóstico molecular del síndrome de hiperquilomicronemia familiar” y liderado por la Dra María José Ariza Cobo.

El Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis proporciona en la mayor brevedad posible un informe sobre el análisis de los genes LPL, APOE, ApoA-V, ApoB-100, ApoC-II, ApoC-III, GALNT2, GPD1, TRIB1, USF1, LIPC, LIPG, ANGPTL3, ANGPTL4, GPIHBP1, LMF1, GCKR, CETP, FADS1, FADS2, FADS3, PLTP, CREB3L3 y MLXIPL (Figura 27), en el cual se indica el resultado obtenido por el paciente, junto con un comentario explicativo.

INFORME DE RESULTADOS

PETICIONARIO		Dra. Teresa Arrobas Velilla	
Fecha del informe		30/04/2020	
PACIENTE		MUESTRA PRIMARIA	
Nombre y apellidos		Sangre extraída en EDTA congelada.	
DNI o NIE de Historia Clínica		Muestra de suero basal	
Código de laboratorio			
ANÁLISIS SOLICITADOS		PROCEDIMIENTOS	
1. Determinación del fenotipo de hiperlipoproteïnemia.		Ultracentrifugación secuencial de la muestra de suero.	
2. Búsqueda de mutaciones compatibles con el Síndrome de Quilomicronemia Familiar (SQF).		Extracción de ADN genómico, ensayo HRM [1] y confirmación de resultados por secuenciación Sanger.	
		ANALISTAS	
		MIAC	
RESULTADOS			
1. En la tabla 1 se detalla el perfil lipídico de la muestra analizada. El valor de la ratio TG-QM/TG-VLDL ha sido 13,7 lo que indica un fenotipo de Hiperlipoproteïnemia tipo I con un 100% de probabilidad.			
2. La paciente EGH ₁₅₁ es heterocigota para dos variantes patogénicas en el exón 5 del gen LPL compatibles con el Síndrome de Quilomicronemia Familiar (Figura 1): c.390G>A, p.Arg197His; rs372668179 [2] c.680T>G, p.Val227Gly; no registradas en bases de datos			
COMENTARIOS E INCIDENCIAS			
Sin incidencias en los procedimientos. Resultados informados con finalidad investigadora. Se recomienda realizar un estudio de segregación para confirmar que se trata de variantes dialélicas.			
DIRECCIONES TÉCNICAS:			
M ⁸ José Ariza Corbo		Jose Riba Vilodres	

Tabla 1. Concentración de lípidos en la muestra de suero recibida el 22/05/2018

Freción Lipídica	Concentración (mg/dL)
TG-TOTAL	2740,2
COL-TOTAL	848,4
TG-QUILOMICRONES	2569,2
COL-QUILOMICRONES	763,8
TG-VLDL	186,9
COL-VLDL	30,4
TG-LDL	133,8
COL-LDL	31,4
TG-HDL	21,9
COL-HDL	7,9
TG-QM/TG-VLDL	13,7

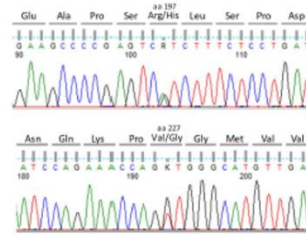


Figura 1. Secuencia parcial de nucleótidos del exón 5 de LPL. Los electroferogramas muestran dos doble picos covalentes que corresponden a la segunda base de los codones para los aminoácidos 197 y 227 (secuencia referencia NM_000237.2; NP_000228.1). Estos cambios indican la presencia de heterocigosis de las variantes mencionadas.

Figura 27. Informe genético Hiperquilomicronemia familiar

6.5.5. COMUNICACIÓN DE RESULTADOS DE ESTUDIO GENÉTICO:

Una vez el laboratorio ha enviado el informe genético completo del paciente a la comisión hospitalaria y al contacto indicado previamente del Hospital Universitario Virgen Macarena, procedemos a contactar telefónicamente de nuevo desde la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular con el paciente para comunicarle la disponibilidad de ellos resultados. Se le ofrecerá una cita en la consulta de dislipemias genéticas.

6.6. CRIBADO EN CASCADA:

Se empleará como estrategia de captación de pacientes con HF y disbetalipoproteinemia familiar los cribados en cascada directa o inversa. Esta metodología de detección precoz de pacientes se ha aplicado a aquellos casos con resultado genético positivo o de significado incierto para la HF; y en aquellos pacientes con fenotipo ε2 para la disbetalipoproteinemia familiar.

Partiendo de los árboles familiares realizados por el clínico en la consulta prioritaria de la Unidad de Lípidos, aquellos familiares que hayan comunicado su consentimiento

verbal previo, se les revisará a través del SIL los parámetros lipídicos más recientes en analíticas previas.

Posteriormente se contactará con ellos vía telefónica desde la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular con el objetivo de averiguar si las cifras analíticas de CT y cLDL (para los pacientes con sospecha de HF) y los cocientes cVLDL/TG (para los pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia) obtenidos previamente, fueron determinados bajo tratamiento farmacológico o en su ausencia. En caso de que el familiar no tenga analíticas con determinaciones lipídicas recientes, se le priorizará una cita en la Unidad de Lípidos y Riesgo Vascular para solicitarle un Perfil de Riesgo Vascular.

A aquellos pacientes en los que se sospeche de HF y aquellos familiares de casos índice positivo de disbetalipoproteinemia o con fenotipo $\epsilon 2$, serán derivados a una consulta clínica prioritaria de dislipemias genéticas en la Unidad de Lípidos, siguiendo el mismo circuito que los casos índice. En dicha consulta se les revisará tratamiento en caso de no alcanzar objetivos terapéuticos y se les solicitará un estudio genético cuyos trámites respecto a la firma de consentimientos informados, extracción y envío de muestras y comunicación de resultados, serán gestionados de nuevo por la Unidad de Nutrición, Lípidos y Riesgo Vascular.

7. ELABORACIÓN DE BASE DE DATOS Y RECOGIDA DE DATOS:

Se realizará una recopilación de datos analíticos, clínicos y genéticos de aquellos pacientes que han sido priorizados en consulta en la Unidad de lípidos, los cuales serán incluidos en una base de datos anonimizada con extensión .xls que posteriormente será tratada con el programa estadístico SPSS 25. En dicha base de datos, se han incluido datos antropométricos, antecedentes familiares, resultados de estudios genéticos en caso de haberlo realizado, parámetros analíticos y tratamiento farmacológico.

Las variables analizadas con distribución normal son descritas a través de la media y la desviación estándar. Las frecuencias son expresadas a través de porcentajes.

La base de datos de pacientes con posible HF se ha elaborado a través de los siguientes ítems:

- Nº de paciente
- Nhusa

- Sexo
- Edad
- Caso índice / Familiar
- HTA
- Altura (cm)
- Peso (kg)
- IMC
- Diabetes Mellitus Tipo 2 (Si / No)
- Tabaquismo (Si / No / Exfumador)
- Alcohol (Si / No)
- Resultado Test Genético (Positivo / Variable no descrita / Poligénico / Negativo)
- Variante de ADN codificante gen mutado
- Variante ADN genómico gen mutado
- Variante protéica
- Clase de la mutación (Patogénica / Posiblemente patogénica / Significado Clínico Incierto)
- Gen mutado HF
- LDL Score (Si test negativo y >0.73 Hipercolesterolemia Poligénica)
- LDL inCode Score (>1 aumento del riesgo cardiovascular)
- Score RCV
- Mayor probabilidad de baja respuesta a tratamiento con Simvastatina (Si / No)
- Variante gen mutado baja respuesta a Simvastatina
- Gen mutado baja respuesta a Simvastatina
- Mayor probabilidad de aparición de mialgias / miopatías con Simvastatina (Si / No)
- Variante gen mutado aparición de mialgias / miopatías con Simvastatina
- Gen mutado aparición de mialgias / miopatías con Simvastatina
- Mayor probabilidad de incremento de Lp(a) (Si / No)
- Variante gen mutado incremento de Lp(a)
- Gen mutado incremento de Lp(a)
- Antecedentes Familiares ECV precoz (antes de los 55 años) (Si / No)

- Antecedentes personales de ECV (Si / No)
- Nº de familiares afectados por hipercolesterolemia
- Tratamiento preconsulta
- Intensidad del tratamiento preconsulta
- Tratamiento post-primera consulta
- Intensidad del tratamiento post-primera consulta
- Puntuación según los Criterios de las Ligas Holandesas
- Objetivos terapéuticos tras primera consulta (Si / No)
- Efectos adversos a tratamiento dislipemia (No, Estatinas, Ezetimiba, anticuerpos monoclonales antiPCSK9)
- Concentración cLDL (preconsulta y postconsulta)
- Cociente cLDL/ApoB100 (preconsulta y postconsulta)
- Concentración CT (preconsulta y postconsulta)
- Concentración triglicéridos (preconsulta y postconsulta)
- Concentración cHDL (preconsulta y postconsulta)
- Concentración ApoB100 (preconsulta y postconsulta)
- Concentración Lp(a) (preconsulta y postconsulta)

Para realizar la clasificación de la intensidad del tratamiento de los pacientes pre y postconsulta de pacientes con HF hemos seguido la clasificación descrita en el artículo *“Programa de cribado en cascada para la detección de hipercolesterolemia familiar”* (252) publicado en 2017 por Patricia Rubio Martín et al. en la revista *Endocrinología, diabetes y nutrición* representada en la Tabla 21.

Baja Intensidad: disminución de cLDL < 30%
Simvastatina 10 mg
Pravastatina 10 – 20 mg
Lovastatina 10 – 20 mg
Fluvastatina 40 mg
Pitavastatina 1 mg
Ezetimiba 10 mg
Moderada Intensidad: disminución de cLDL del 30 al 50%
Atorvastatina 10 – 20 mg
Rosuvastatina 5 – 10 mg
Simvastatina 20 – 40 mg
Pravastatina 40 mg
Lovastatina 40 mg
Fluvastatina 80 mg
Pitavastatina 2 – 4 mg
Simvastatina 10 mg + Ezetimiba 10 mg
Prasvastatina 20 mg + Ezetimiba 10 mg
Lovastatina 20 mg + Ezetimiba 10 mg
Fluvastatina 40 mg + Ezetimiba 10 mg
Pitavastatina 1 mg + Ezetimiba 10 mg
Alta intensidad: disminución de cLDL del 50 al 60%
Atorvastatina 40 – 80 mg
Simvastatina 20 – 40 mg + Ezetimiba 10 mg
Pravastatina 40 mg + Ezetimiba 10 mg
Lovastatina 40 mg + Ezetimiba 10 mg
Fluvastatina 80 mg + Ezetimiba 10 mg
Pitavastatina 2 – 4 mg + Ezetimiba 10 mg
Atorvastatina 20 – 40 mg + Ezetimiba 10 mg
Rosuvastatina 5 – 10 mg + Ezetimiba 10 mg
Muy alta intensidad: disminución d cLDL > 60%
Atorvastatina 40 – 80 mg + Ezetimiba 10 mg
Rosuvastatina 10 – 20 mg + Ezetimiba 10 mg
Anticuerpos monoclonales antiPCSK9 75 – 150 mg
Anticuerpos monoclonales antiPCSK9 75 – 150 mg + cualquier estatina
Anticuerpos monoclonales antiPCSK9 75 – 150 mg + Ezetimiba 10 mg
Anticuerpos monoclonales antiPCSK9 75 – 150 mg + cualquier estatina + Ezetimiba 10 mg

Tabla 21. Clasificación en función de intensidad tratamiento hipolemiante (252)

En la base de datos de pacientes con disbetalipoproteinemia familiar se han recogido los siguientes ítems:

- Nhusa

- Sexo
- Edad
- Caso índice / Familiar
- Enfermedad cardiovascular precoz (Si / No)
- HTA (Si /No)
- Diabetes Mellitus Tipo 2 (Si / No)
- Genotipo Disbetalipoproteinemia
- Cociente cVLDL/TG
- Cociente nonHDLc/ApoB100
- Algoritmo: TG > 200 mg/dl + CT / ApoB100 > 2.4 + TG / ApoB100 < 8.85 (mg/dl)
- Concentración cVLDL
- Concentración cLDL
- Concentración triglicéridos
- Concentración cHDL
- Concentración CT
- Concentración ApoB100
- Concentración Lp(a)

En la base de datos de pacientes con sospecha de síndrome de hiperquilomicronemia se han recogido los siguientes ítems:

- Nhusa
- Sexo
- Edad
- Presencia de ECV (Si/No)
- Presencia de pancreatitis
- Presencia de dolor abdominal
- HTA (Si /No)
- Diabetes Mellitus Tipo 2 (Si / No)
- Consumo excesivo de alcohol (Si/No)
- Hábito tabáquico habitual (Si/No/Exfumador)
- Cociente TG/CT

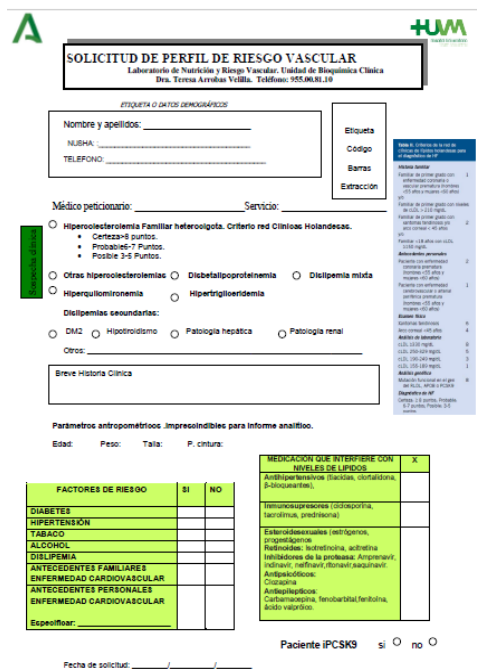
- Cociente TG(QM)/TG(VLDL)
- Concentración triglicéridos captación
- Concentración triglicéridos máxima y mínima
- Concentración glucosa
- Concentración cLDL
- Concentración cHDL
- Concentración CT
- Tratamiento con fibratos, estatinas, omegas 3 y/o ezetimiba (Si/No)

8. PERFIL DE RIESGO VASCULAR:

El perfil de riesgo vascular es un perfil analítico especializado ofertado para todo el área hospitalaria, formando parte de su cartera de servicios y realizado en la Unidad de Nutrición y Riesgo Vascular perteneciente al Laboratorio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Virgen Macarena.

8.1. SOLICITUD:

Este perfil es solicitado por aquellos clínicos que presentan alguna sospecha clínica de dislipemia, para lo cual deben cumplimentar la siguiente solicitud (Figura 28):



SOLICITUD DE PERFIL DE RIESGO VASCULAR
Laboratorio de Nutrición y Riesgo Vascular. Unidad de Bioquímica Clínica
Dra. Teresa Arribas Velilla. Teléfono: 955008110

ETIQUETA O DATOS DEMOGRÁFICOS

Nombre y apellidos: _____
NUSHA: _____
TELEFONO: _____

Médico peticionario: _____ Servicio: _____

Hipercolesterolemia Familiar heterocigota. Criterio red Clínica Holiandaca.
 Contar 5 puntos:
 Probable 7 Puntos.
 Posible 3-5 Puntos.

Otras hipercolesterolemias Disbetaloproteínemia Dislipemia mixta

Hiperquilomirronemia Hipertrigliceridemia

Dislipemias secundarias:
 DM2 Hipotiroidismo Patología hepática Patología renal

Otro: _____

Breve Historia Clínica

Parámetros antropométricos. Imprescindibles para Informe analítico.
 Edad: _____ Peso: _____ Talla: _____ P. cintura: _____

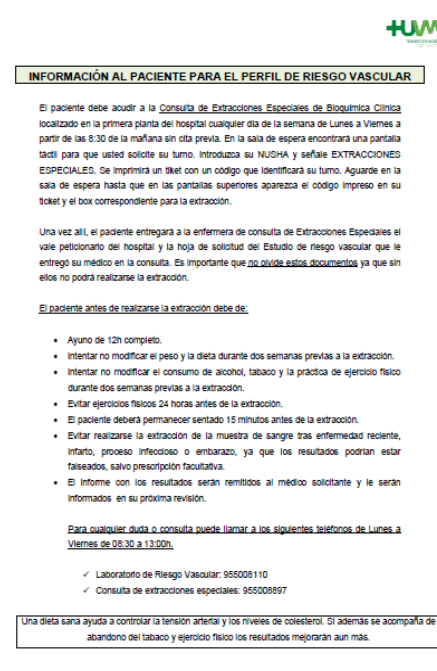
FACTORES DE RIESGO	SI	NO
DIABETES		
HIPERTENSION		
TABACO		
ALCOHOL		
DISLIPEMIA		
ANTECEDENTES FAMILIARES ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR		
ANTECEDENTES PERSONALES ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR		

Medicación que interfiere con niveles de lípidos

Medicación	SI	NO
Antidiabéticos (insulina, sulfonilureas, glicazina, glimepirid, glipizina, glimepirid)		
Trifluoracetatos (rosiglitazona, acarbose, prednisona)		
Esteroides anabólicos (testosterona, propionato)		
Retinoides (tretinoína, acritina)		
Inhibidores de la proteasa (Aprenavir, Indinavir, nelfinavir, zalcitabina)		
Antifúngicos (Ciclosporina)		
Antidiabéticos (Glimepirid, Glipizina, Glimepirid)		
Cardíacos (Carbamazepina, fenobarbital, fenofibrato, ácido valproico)		

Paciente IPCSKS SI NO

Fecha de solicitud: _____/_____/_____



INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA EL PERFIL DE RIESGO VASCULAR

El paciente debe acudir a la Consulta de Extracciones Especiales de Bioquímica Clínica localizada en la primera planta del hospital cualquier día de la semana de Lunes a Viernes a partir de las 8:30 de la mañana sin cita previa. En la sala de espera encontrará una pantalla táctil para que usted solicite su turno. Introduzca su NUSHA y señale EXTRACCIONES ESPECIALES. Se imprimirá un ticket con un código que identificará su turno. Espere en la sala de espera hasta que en las pantallas superiores aparezca el código impreso en su ticket y el box correspondiente para la extracción.

Una vez allí, el paciente entregará a la enfermera de consulta de Extracciones Especiales el vale peticionario del hospital y la hoja de solicitud del Estudio de riesgo vascular que le entregó su médico en la consulta. Es importante que no olvide estos documentos ya que sin ellos no podrá realizarse la extracción.

El paciente antes de realizarse la extracción debe de:

- Ayuno de 12h completo.
- Intentar no modificar el peso y la dieta durante dos semanas previas a la extracción.
- Intentar no modificar el consumo de alcohol, tabaco y la práctica de ejercicio físico durante dos semanas previas a la extracción.
- Evitar ejercicios físicos 24 horas antes de la extracción.
- El paciente deberá permanecer sentado 15 minutos antes de la extracción.
- Evitar realizarse la extracción de la muestra de sangre tras enfermedad reciente, infarto, proceso infeccioso o embarazo, ya que los resultados podrían estar falseados, salvo prescripción facultativa.
- El informe con los resultados serán remitidos al médico solicitante y le serán informados en su próxima revisión.

Para cualquier duda o consulta puede llamar a los siguientes teléfonos de Lunes a Viernes de 09:30 a 13:00h.

- ✓ Laboratorio de Riesgo Vascular: 955008110
- ✓ Consulta de extracciones especiales: 955008957

Una dieta sana ayuda a controlar la tensión arterial y los niveles de colesterol. Si además se acompaña de abandono del tabaco y ejercicio físico los resultados mejorarán aun más.

Figura 28. Solicitud de perfil de riesgo vascular

Dicha solicitud de interconsulta es completada por el médico a través del siguiente formulario para lo cual además de los datos personales del paciente y de la identificación del médico petionario y su servicio, deberán rellenar una serie de ítems para orientar al especialista del laboratorio y adecuar en la mayor medida las determinaciones a realizar. Los ítems que se han de completar son los siguientes:

- Sospecha del tipo de dislipemia: HFHe, otras hipercolesterolemias, disbetalipoproteinemia, dislipemia mixta, hiperquilomicronemia, hipertrigliceridemia
- Sospecha de si existe algún tipo de dislipemia secundaria: DM2, hipotiroidismo, patología hepática, renal u otra a completar
- Breve historia clínica
- Parámetros antropométricos: Edad, peso, talla y perímetro de cintura

Además de determinar los factores de riesgo marcando las casillas de si / no:

- Tabaco
- Diabetes
- Hipertensión
- Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular
- Antecedentes personales de enfermedad cardiovascular
- Dislipemia
- Tratamiento de diabetes
- Tratamiento de hipertensión
- Tratamiento de dislipemia
- Tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-PCSK9
- Posibles interferencias de medicación en los niveles lipídicos como antihipertensivos, inmunosupresores, esteroides sexuales, retinoides, inhibidores de proteasas, antipsicóticos y antiepilépticos.

El perfil de riesgo vascular incluye la determinación de los siguientes parámetros analíticos: CT, cLDL, cHDL, cVLDL, triglicéridos, apolipoproteína B100, apolipoproteína A1, apolipoproteína A2, apolipoproteína E. También se determinan otros marcadores de riesgo e

inflamación como la homocisteína, el fibrinógeno, PCR ultrasensible, la lipoproteína a y los cocientes de riesgo Apolipoproteína B/ Apolipoproteína A1, cLDL/ApoB100 y cVLDL/TG.

En caso de que la concentración de homocisteína sea muy elevada se cuantifican las concentraciones del ácido fólico y de la Vitamina B12 para descartar que dicho se deba a un déficit vitamínico.

La recomendación para realizar un perfil de riesgo vascular es la obtención de muestras con un ayuno de al menos 12 horas debido a que es habitual un aumento de quilomicrones que contienen una elevada concentración de triglicéridos en el plasma posprandial, siendo muy extraña su presencia en el plasma tras 12 horas de ayuno.

Se realiza la obtención de muestras sanguíneas mediante una punción en la vena antecubital, de la que se obtiene sangre venosa con el Kit de extracción sanguínea Discardit™ (Becton Dickinson ®). Mediante este kit se recolectan las siguientes alícuotas de sangre:

- 5 ml de sangre en un tubo de sangre modelo Vacutainer ® (Becton Dickinson ®) que tienen una capacidad de 8,5 ml y que contiene en su interior un gel separador y paredes siliconadas a partir del cuál obtendremos el suero. De este volumen de sangre extraído tomaremos una alícuota para realizar la determinación del perfil bioquímico y otra para el perfil de riesgo vascular.
- 3 ml de sangre en tubos modelo Vacuette ® (Becton Dickinson ®) que contienen EDTA-K³ que se empleará para la determinación de HbA1c y del hemograma.
- 3 ml de sangre en tubos modelo Vacuette ® (Becton Dickinson ®) que contienen citrato potásico para la determinación del fibrinógeno.

8.2. MÉTODOS ANALÍTICOS:

El perfil de riesgo vascular se basa en la determinación analítica de lipoproteínas por ultracentrifugación y por inmunonefelometría.

Los tubos que contienen la muestra a analizar para realizar el perfil de riesgo vascular son remitidos a la Unidad de Nutrición y Riesgo Vascular en el cuál, se dejan reposar durante un tiempo para que se produzca la retracción del coágulo. Acto seguido los tubos son centrifugados durante quince minutos a 3.000 rpm en la Centrifuga Beckman Coulter Allegra™.

Para realizar el perfil bioquímico general se toma la alícuota del suero y esta se procesa en el autoanalizador Cobas 8000 (Roche Diagnostic) y nefelómetro (BN Prospec).

8.3. SEPARACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS POR ULTRACENTRIFUGACIÓN:

Para la determinación del cociente cVLDL/TG y de lipoproteínas por ultracentrifugación se ha empleado el siguiente procedimiento:

- **Materiales:**

Para la separación y determinación de los diferentes parámetros se han empleado:

- Ultracentrífuga Beckman Óptima™ L-90 K
- Rotor Type 50.4 para 40 tubos
- Nefelómetro Dade Bering BN Prospec
- Autoanalizador modular Cobas Integra 8000 (Roche).
- Tubos especiales para ultracentrifugación
- Centrífuga Beckman Coulter Allegra™

- **Reactivos:**

Se han empleado los siguientes reactivos para la síntesis de reactivos:

- NaCl Merck®
- Cloramfenicol. Ega Cheme®
- Sulfato de Gentamicina
- EDTA-N₄ Merck®
- Azida Sódica Merck®
- Apronitina Sigma®
- Etanol Merck®
- Solución de densidad 1.006 kg/l
- Sueros controles

- **Síntesis de reactivos:**

Para realizar las determinaciones lipídicas del perfil de riesgo vasculares se necesitan dos reactivos que es necesario sintetizar

- **Solución de densidad 1.006 kg/l:** Disolvemos en un vaso de precipitados 1g de Cloramfenicol, 23.1 mg de NaCl, 820 mg de EDTA-N₄, 1 g de azida sódica en 4 ml de sulfato de gentamicina y 2 L de agua destilada. Ajustamos a pH = 7.4 con HCl. Guardamos la solución en botes a 4°C.
- **Solución conservante A:** 500 mg de cloranfenicol, 4,1g de AEDT, 5g de azida sódica, 1g de sulfato de gemtamicina y 100 ml de agua destilada. Ajustada a pH 7,4 con HCl.
- **Solución conservante B:** 1000 mg de cloranfenicol, 23,1 mg de NaCl, 0,82g de Na₄ AEDT, 4 ml de sulfato de gemtamicina, 1g de azida sódica y 2000 ml de agua destilada. Ajustada a pH 7,4 con HCl.

- **Ultracentrifugación:**

La Unidad de Nutrición y Riesgo Vascular del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla es el único laboratorio hospitalario de Andalucía que dispone de una ultracentrífuga de altas prestaciones modelo Beckman Beckman Óptima™ L-90 K para separar las diferentes lipoproteínas que contienen colesterol en función de un gradiente de densidad en práctica clínica diaria. Esta ultracentrifugación se realiza rutinariamente para la determinación de colesterol asociado a lipoproteínas para los perfiles de riesgo vascular.

La ultracentrifugación es un proceso muy sencillo y muy prolongado que se lleva a cabo del siguiente modo: en primer lugar aquellas muestras de sangre recogidas en tubos modelo Vacuette® (Becton Dickinson®) que contienen EDTA-K³ y que requieran de un análisis de lipoproteínas mediante ultracentrifugación son remitidas a la Unidad de Nutrición y Riesgo Vascular; estas muestras son ultracentrifugadas en la centrífuga Coulter Allegra™ para obtener el suero de la sangre. Se pipetea 1.5 ml de suero en un tubo de ultracentrífuga Beckman Coulter Allegra™ y se le añade una alícuota de 1.1 ml de la disolución de densidad 1.006 kg/l previamente preparada alcanzando un volumen total de 2.6 ml e intentando que no se mezclen ambas fases. En el caso de que el volumen de suero sea insuficiente para alcanzar el volumen total indicado anteriormente, se añadirá tanto volumen de disolución de densidad 1.006 kg/l como sea

necesario. Los tubos serán calibrados con una balanza analítica adicionando volumen de la disolución de densidad 1.006 kg/l requiriendo una precisión de ± 0.01 g.

Los tubos son centrifugados a 40.000 rpm, durante 17 horas a 15°C, de manera que se produce la separación de las lipoproteínas en función de su densidad, por lo que, como se representa en la Figura 29, en la parte de arriba quedarán las VLDL en forma de un halo blanquecino espeso y debajo quedarán las LDL y las HDL. Las VLDL se recogen con una micropipeta, siendo el volumen máximo de 1.5 ml y el mínimo de 1 ml y se pasan a un tubo para su análisis en el COBAS 8.000. *El volumen que se ha recogido de VLDL es calculado al pesar por diferencia la cantidad de VLDL extraídas y expresado en mg/dl.*

El resto de parámetros se analizan del mismo modo en el COBAS 8.000, para lo cual se homogeneiza el resto del contenido del tubo a través de dos vortex, entre los cuales se deja un espacio de 5 minutos. El volumen extraído se calcula restando al volumen total (2.6 ml) el volumen de VLDL calculado previamente. *La concentración de colesterol unido a lipoproteínas es expresado en mg/dl.*

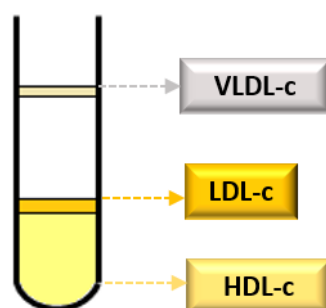


Figura 29. Separación de lipoproteínas por ultracentrifugación

8.3.1. ULTRACENTRIFUGACIÓN SECUENCIAL PARA HIPERLIPEMIAS GRAVES:

Este es el procedimiento de ultracentrifugación realizado según el protocolo del Laboratorio de Lípidos y Arteriosclerosis perteneciente al CIMES, en la Universidad de Málaga para la determinación del cociente TG(QM)/TG(VLDL).

- **Materiales:**

Para la separación y determinación de los diferentes parámetros se han empleado:

- Ultracentrífuga Beckman Óptima™ L-90 K
- Rotor Type 50.4 para 40 tubos
- Nefelómetro Dade Bering BN Prospec
- Autoanalizador modular Cobas Integra 8000 (Roche).
- Tubos especiales para ultracentrifugación

- **Reactivos:**

Se han empleado los siguientes reactivos para la síntesis de reactivos:

- EDTA-N₄ Merck®
- Solución de densidad 1.006 kg/l
- H₂O destilada
- Ácido fosfotúngstico Merck®
- Sueros controles

- **Ultracentrifugación:**

La ultracentrifugación secuencial para hipertrigliceridemia se realiza mediante el empleo de la ultracentrífuga de altas prestaciones modelo Beckman Beckman Óptima™ L-90 K para separar las diferentes lipoproteínas que contienen colesterol en función de un gradiente de densidad.

El protocolo de ultracentrifugación es muy similar al mencionado anteriormente y de larga duración. Este se lleva a cabo del siguiente modo: en primer lugar aquellas muestras de sangre recogidas en tubos modelo Vacuette® (Becton Dickinson®) que contienen EDTA-K³ y que requieran de un análisis de lipoproteínas especial por exceso de triglicéridos mediante ultracentrifugación son remitidas a la Unidad de Nutrición y Riesgo Vascular; estas muestras son ultracentrifugadas en la centrífuga Coulter Allegra™ para obtener el suero de la sangre. Se pipetea 1 ml de suero en un tubo de ultracentrífuga Beckman Coulter Allegra™ y se le añade una alícuota de 1 ml de la disolución de densidad 1.006 kg/l previamente preparada y 0.6 ml de agua destilada, alcanzando un volumen total de 2.6 ml e intentando que no se mezclen las fases. En el

caso de que el volumen de suero sea insuficiente para alcanzar el volumen total indicado anteriormente, se añadirá tanto volumen de disolución de densidad 1.006 kg/l como sea necesario. Los tubos serán calibrados con una balanza analítica adicionando volumen de la disolución de densidad 1.006 kg/l requiriendo una precisión de ± 0.01 g.

Los tubos son centrifugados a 31.200 rpm, durante 37 minutos a 4°C, de manera que se produce la separación de las lipoproteínas en función de su densidad. Se introduce una pipeta pasteur de vidrio de punta larga y se aspira el infranadante que contiene la fracción de VLDL, LDL y HDL, el cual se vierte sobre un tubo de ultracentrífuga vacío, dejando en el tubo centrifugado la parte superior (unos 0.5 – 0.6 ml) que contiene la fracción de quilomicrones. Apuntamos el volumen de quilomicrones obtenido. Pesamos el tubo de ultracentrífuga que contiene los quilomicrones y le restamos el peso del tubo vacío, dado que la su densidad es 1 mg/dl correspondiente al suero fisiológico. Añadimos a cada tubo de ultracentrífuga que contiene los quilomicrones el volumen necesario de suero fisiológico necesario hasta alcanzar un volumen final de 1 ml y cuantificamos mediante el COBAS 8.000 la concentración de triglicéridos y CT que contienen los quilomicrones.

A los tubos de ultracentrífuga que contenían el infranadante obtenido de la ultracentrifugación, le añadimos un volumen de suero fisiológico igual al volumen de quilomicrones determinado anteriormente y los centrifugamos a 31.200 rpm durante 18 horas a 4°C. Una vez ha finalizado la ultracentrifugación, con una pipeta pasteur de vidrio de punta larga aspiramos el infranadante del fondo que contiene la fracción de LDL y HDL y lo vertemos en un tubo de 5 ml, dejando de nuevo en el tubo centrifugado la parte superior (uno 0.5 – 0.6 ml) correspondiente a la fracción de VLDL. Homogeneizamos el sobrenadante de VLDL con un vortex y determinamos su peso, restándole al peso actual obtenido del tubo que contiene la fracción de VLDL, el peso del tubo vacío, cuyo resultado dividiremos por la densidad del suero fisiológico, 1.006. Anotamos el peso de las VLDL. Cuantificamos mediante el COBAS 8.000 la concentración de triglicéridos y CT que contienen las VLDL.

El infranadante obtenido en la última ultracentrifugación que contiene la fracción de LDL y HDL lo agitamos durante 20 segundos en un volumen igual a la diferencia calculada

restando a 2.6 el volumen de VLDL. Anotamos el peso de LDL+HDL y cuantificamos mediante el COBAS 8.000 la concentración de triglicéridos y CT.

En un eppendorf de 1.5 ml añadimos 0.5 ml del infranadante que contiene LDL+HDL y le añadimos 50 µl de ácidos fosfotungstato, agitamos con un vórtex y dejamos reaccionar durante 10 minutos. Centrifugamos el eppendorf a 4.000 rpm durante 20 minutos para separar las LDL de las HDL, encontrándose las HDL en el sobrenadante. Separamos con una pipeta pasteur la fracción correspondiente a las HDL, anotamos el volumen obtenido y cuantificamos mediante el COBAS 8.000 la concentración que contienen de triglicéridos y CT.

8.3.2. INMUNONEFELOMETRÍA:

La inmunonefelometría es una técnica cuantitativa empleada para la determinación de parámetros bioquímicos como Lp(a), PCR ultrasensible, ApoA 1, ApoB-100 y fibrinógeno.

El fundamento de esta técnica se basa en la medida de la dispersión de la luz producida por la interacción antígeno-anticuerpo, detectada con un ángulo de 90° que será proporcional a la cantidad de inmunocomplejos que se forman. Esta técnica presenta como ventajas que puede automatizarse y que es rápida. Sin embargo, la turbidez de muestras puede causar interferencias, es por ello, por lo que aquellas muestras que son muy lipémicas o que presentan turbidez, deben ser centrifugadas previamente durante 10 minutos a 15.000 rpm, para evitar errores.

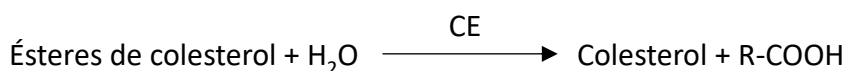
8.4. DETERMINACIÓN QUÍMICA DE PARÁMETROS:

Los parámetros bioquímicos incluidos en el perfil cardiovascular son determinados a través de diferentes reacciones químicas.

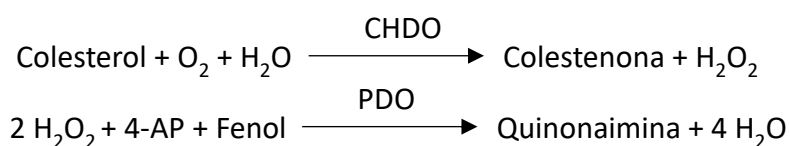
8.4.1. COLESTEROL TOTAL:

El colesterol total (CT) es determinado mediante un ensayo enzimático colorimétrico medido por espectrofotometría UV-visible que se basa en una serie de reacciones químicas por la acción de enzimas como la colesterol esterasa (CE), la colesterol oxidasa (CHOD) y la peroxidasa (POD), que transforman los ésteres de colesterol en un complejo coloreado rojo denominado quinona, cuya intensidad es proporcional a la concentración de colesterol.

La reacción se inicia con la transformación de ésteres de colesterol en colesterol libre y ácidos grasos por acción de la enzima CE.



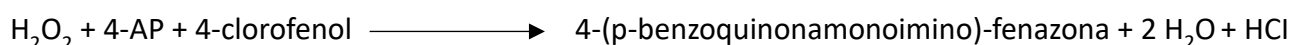
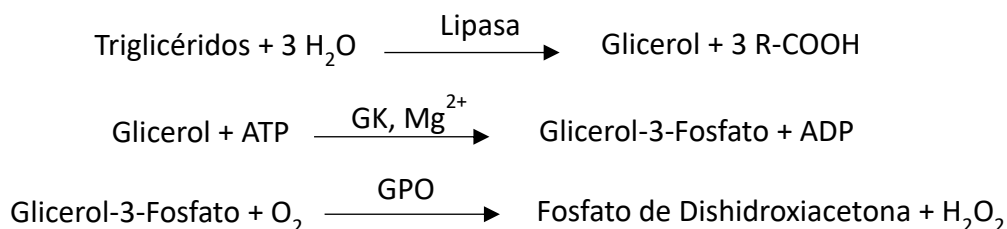
A continuación, el colesterol es oxidado por la CHDO para dar colesteno y peróxido de hidrógeno, el cuál actúa como sustrato junto con la 4-aminofenazona (4-AP) de una peroxidasa, para dar lugar a la formación del complejo rojo quinona.



8.4.2. TRIGLICÉRIDOS:

Al igual que el CT, los triglicéridos son determinados mediante un ensayo colorimétrico medido por espectrofotometría UV-visible a través de una serie de reacciones químicas que descomponen los triglicéridos mediante el empleo de enzimas y sustratos como la enzima lipasa, la glicerol quinasa (114), la glicerol fosfato oxidasa (GPO) y la peroxidasa (POD), para dar lugar a la formación del complejo rojo coloreado, quinona. La concentración de triglicéridos es proporcional a la intensidad de la absorbancia.

Las reacciones que se llevan a cabo son expresadas a continuación:

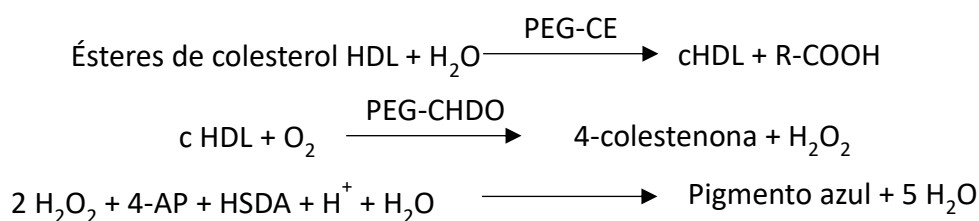


Aquellas muestras con concentraciones de triglicéridos superiores a los 3.000 mg/dl producen interferencias en su determinación a través de este ensayo.

8.4.3. cHDL:

La determinación del cHDL se realiza a través de un ensayo homogéneo, enzimático y colorimétrico basado en la formación selectiva de complejos hidrosolubles con LDL, VLDL y QM con sulfato de dextrano en presencia de sulfato de magnesio, resistentes a las enzimas modificadas por polietilenglicol (PEG), que por la acción de enzimas como la CE, CHDO y la peroxidasa, se produce la formación de un complejo coloreado azul, cuya intensidad es proporcional a la concentración de cHDL. La concentración de cHDL es determinada mediante espectrofotometría UV-visible.

Las reacciones químicas que se llevan a cabo durante esta determinación son expresadas a continuación:

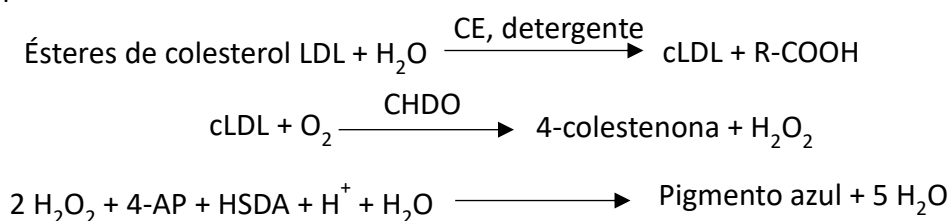


HSDA: N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxianilina sódica

8.4.4. cLDL:

El cLDL se determina del mismo modo, mediante un ensayo homogéneo, enzimático y colorimétrico en el cual intervienen las enzimas CE, CHDO y peroxidasa junto con un detergente no iónico y Mg^{2+} , los cuales aumentan la actividad relativa del colesterol en las fracciones lipoproteicas siguiendo el siguiente orden: HDL < QM < VLDL < LDL; y reducen la reacción enzimática en la determinación de colesterol, respectivamente, de modo que se fomenta la solubilización micelar selectiva del cLDL.

Este proceso se produce a través de una serie de reacciones químicas que son expresadas a continuación y que producen un complejo coloreado azul, cuya intensidad es proporcional a la concentración de cLDL y es determinada mediante espectrofotometría UV-visible.



8.4.5. Lp(a), APOA, APOB100, PCR ULTRASENSIBLE Y FIBRINÓGENO:

Como ya se mencionó anteriormente, las concentraciones de Lp(a), ApoA, ApoB-100, PCR ultrasensible y fibrinógeno son determinados mediante inmunonefelometría.

Las proteínas presentes en el suero o en el plasma forman inmunocomplejos al reaccionar con anticuerpos específicos que desvían la luz de un rayo incidente y cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteína que contiene la muestra.

Para la determinación de la concentración se realizarán valoraciones en comparación con un estándar de concentración conocida.

9. SECUENCIACIÓN DE SANGER PARA DIAGNÓSTICO DE DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:

El análisis genético de la ApoE es realizado en el Laboratorio de Biología Molecular mediante secuenciación de Sanger. Con este método se sintetiza secuencialmente una hebra de ADN complementaria a partir de una hebra de ADN molde a través de la ADN polimerasa, los 2'-deoxinucleótidos (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) y los dideoxinucleótidos o nucleótidos de parada (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP).

- **Materiales:**

- Termocilador Veriti (Applied Biosystems®)
- Centrífuga Heraus™ Biofuge™ Fresco
- Agitador Atomixer (Atom®)
- Equipo de secuenciación y electroforesis capilar ABI3130 (Thermofisher®)
- Equipo extractor de ADN MagCore HF16 Automated Nucleid Acid Extractor (RBC Bioscience Corp®)
- Programa de visualización de secuencias: SNAPGENE viewer
- Kit de extracción de ADN MagCore Genomic DNA Whole Blood Kit

A continuación se desarrollarán los pasos seguidos en la secuenciación de Sanger:

9.1. PCR PRIMARIA:

Para realizar una amplificación del ADN de las regiones comprendidas entre dos cebadores (Forward y Reverse) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR),

se han empleado las muestras de sangre de aquellos pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia y los cebadores específicos del gen de la ApoE.

- **Reactivos:**

Se han empleado los siguientes reactivos:

- 0.5 µl dNTPs 10 mM (Promega®)
- 1.25 µl Cebador Foward 20 µM (Secuencia: CCCCATCCCAGCCCTTCTC) TIB MOLBIOL®
- 5 µl GCRich 3
- 5 µl GCRich 2
- 0.25 µl Taq Polimerasa CG Rich PCR System (Roche®)
- Muestras de ADN

- **Protocolo:**

Para realizar la PCR primaria se estandarizó el termociclador a la temperatura de fusión de los cebadores y se establecieron 37 ciclos cuyas condiciones se encuentran descritos en la Tabla 22.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Nº Ciclos
Desnaturalización inicial	95	5	1
Desnaturalización	95	1	1
Hibridación	58	1	1
Extensión	72	1.5	33
Elongación final	72	5	1

Tabla 22. Condiciones programadas en el termociclador para amplificación ADN en PCR primaria

La reacción de amplificación fue llevada a cabo reajustando un volumen de muestra total de 25 µl. Con los reactivos expresados anteriormente se realiza una *mastermix* específica para regiones ricas en GC que se introduce en el termociclador hasta completar los ciclos.

9.2. PURIFICACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR:

La purificación del producto obtenido de PCR se llevó a cabo mediante columnas siguiendo las instrucciones de la casa comercial Quiagén.

- **Reactivos:**

Se han empleado los siguientes reactivos:

- EtOH 96-100% (Merck®)
- Buffer PE Qiagen®
- Buffer PB Qiagen®
- Buffer EB Qiagen®
- Indicador de pH (Thermofischer®)
- Acetato sódico 3M pH 5 (Merck®)

- **Protocolo:**

Previamente al uso del kit de purificación Qiagen® deben prepararse los siguientes reactivos:

- Añadimos 24 ml de EtOH al buffer PE
- Añadimos un volumen 1:250 de indicador de pH al buffer PB

Una vez los reactivos se encuentran preparados tomamos 20 µl de volumen de reacción de PCR, añadimos 100 µl de buffer PB y homogeneizamos la muestra. En aquellos casos en los que la mezcla tornara a naranja o violeta, añadimos 10 µl de acetato sódico 3M.

Acto seguido, se coloca la columna en su tubo de 2 ml, se añade la muestra anterior y se centrifuga durante 1 minuto a 13.000 rpm, descartando posteriormente el filtrado.

A continuación lavamos la columna añadiendo 700 µl de buffer PE y de nuevo, centrifugamos durante 1 minuto a 13.000 rpm y descartamos el filtrado.

Finalmente, se coloca bajo la columna un tubo eppendorf y eluimos la muestra añadiendo de 30 a 50 µl de buffer EB en el centro de la columna, para lo cual lo dejamos reposar durante al menos 1 minuto y centrifugamos durante 1 minuto a 13.000 rpm, recolectando en el eppendorf el producto purificado.

9.3. PCR SECUNDARIA O DE SECUENCIACIÓN:

El producto purificado obtenido de la PCR primaria es sometido a una segunda PCR, conocida como PCR de secuenciación. Esta PCR se caracteriza por adicionar dideoxynucleótidos característicos de la secuenciación de Sanger.

- **Reactivos:**

Los reactivos empleados son expresados a continuación:

- 2 µl de buffer
- 2 µl de Premix (BigDie Terminator)
- 1 µl de Cebador Reverse 2 µM (Secuencia: GGACGAGGTGAAGGAGCAGGT) TIB MOLBIOL®
- 5 µl de ADN

- **Protocolo:**

Para realizar la PCR de secuenciación se estandarizó el termociclador a la temperatura de fusión de los cebadores y se establecieron 26 ciclos cuyas condiciones se encuentran descritos en la Tabla 23.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Nº Ciclos
Desnaturalización inicial	96	1	1
Desnaturalización	96	10''	1
Hibridación	50	5''	1
Extensión	60	1.5	22
Elongación final	4	1	1

Tabla 23. Condiciones programadas en el termociclador para amplificación ADN en PCR de secuenciación

La reacción de secuenciación fue llevada a cabo con un volumen de muestra total de 10µl. Con los reactivos expresados anteriormente se realiza una *mastermix* que se introduce en el termociclador hasta completar los ciclos, de manera que se obtiene un nuevo producto de reacción de PCR.

9.4. PURIFICACIÓN CON RESINA:

Previamente a realizar la secuenciación de Sanger, el producto obtenido de la PCR de secuenciación debe ser purificado a través de resinas.

- **Reactivos:**

- 45 µl de buffer SAM (Applied Biosystems®)
- 10 µl de buffer X-Terminator (Applied Biosystems®)
- 10 µl PCR de secuenciación impuro

- **Protocolo:**

Para purificar el volumen de PCR de secuenciación obtenido añadimos en un eppendorf de 1.5 mL 10 µl PCR de secuenciación impuro, 10 µl de buffer X-Terminator y 45 µl de buffer SAM y homogeneizamos con un vortex. A continuación, colocamos el eppendorf en el agitador durante 30 minutos y centrifugamos a 5.000 rpm durante 5 minutos.

Al finalizar la centrifugación reservamos el sobrenadante, ya que se corresponde con el volumen de PCR de secuenciación purificado.

9.5. SECUENCIACIÓN CON ABI3130:

El sobrenadante de PCR de secuenciación se carga en una placa de secuenciación ABI3130 directamente o diluida con formamida (9 µl de muestra + 2 µl de formamida), configuramos los parámetros específicos y esperamos hasta la obtención de los resultados de secuenciación.

Resultados

RESULTADOS

A continuación, se procederá a expresar los resultados obtenidos de este estudio.

1. ESTUDIO RETROSPECTIVO:

Desde noviembre de 2016 a noviembre de 2017 se realizaron 11.727 determinaciones de cLDL y 523 perfiles de riesgo vascular, de las cuales, 333 pacientes presentaron concentraciones de cLDL superiores a 250 mg/dl (sin descartar causas secundarias).

De aquellos 333 pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar heterocigótica que presentaban concentraciones de cLDL superiores a 250 mg/dl, el 19.81% fueron descartados por causas secundarias y tan sólo un 13.53% fueron derivados prioritariamente para una consulta con el clínico especialista en la Unidad de Lípidos. El 66.6% de pacientes no fueron derivados a consulta debido a la actual escasez de especialistas de laboratorio que dediquen su labor asistencial a dicho cribado y de especialistas en lípidos dentro del área sanitaria, a la disponibilidad limitada de los especialistas en lípidos, a la falta de interés por parte de los pacientes por asistir debido a que ya se encontraban tomando tratamiento hipolemiante y a la ausencia de respuesta telefónica de los mismos.

2. ESTUDIO PROSPECTIVO:

Desde noviembre de 2017 a noviembre de 2019 se realizaron 30.417 determinaciones de cLDL y 1.124 perfiles de riesgo vascular con cocientes cVLDL/TG. Y desde noviembre de 2019 a junio de 2020 se realizaron 8.700 determinaciones de cLDL y 430 perfiles de riesgo vascular con cocientes cVLDL/TG y concentraciones de triglicéridos.

Si hacemos referencia al cribado de hipercolesterolemia familiar, se ha de decir que a lo largo de todo el estudio se han captado 865 pacientes con concentraciones de cLDL superiores a los 250 mg/dl, de los cuáles se han descartado al 23.65% por presentar patologías secundarias que afectaban a los niveles lipídicos y se han derivado a consulta con los especialistas clínicos a 115 pacientes (13.29%), de los cuáles se han realizado 73

estudios genéticos de casos índice y 21 estudios genéticos de familiares como programa de cribado en cascada, tanto directa como inversa.

Haciendo referencia al cribado de disbetalipoproteinemia, se han detectado 9 casos: 3 posibles casos índice con cocientes cVLDL/TG superiores a 0.3 mg/dl; un pacientes con cociente cVLDL/TG entre 0.25 y 0.3 mg/dl, que después de descartar posibles causas secundarias continuaban presentando una posible sospecha de disbetalipoproteinemia familiar. Además de un paciente con cociente cVLDL/TG con valor 0.202 y 4 pacientes que a pesar de que su cociente era igual o inferior a 0.2, presentaban ECV prematura tanto personal como familiar o hipertrigliceridemia muy acentuada. Por ello se consideró que podían padecer de disbetalipoproteinemia familiar o alguna mutación relacionada con la APOE. El 100% de los pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia fueron derivados a la Unidad de Lípidos con una consulta prioritaria para evaluar el posible diagnóstico y solicitar el estudio genético de la ApoE. Se realizaron además estudios de segregación familiar (N=33) en los familiares de uno de los casos con diagnóstico positivo para disbetalipoproteinemia y en los de un paciente con genotipo E2/E3.

El cribado de hiperquilomicronemia según los criterios de inclusión establecidos han fomentado la captación de 12 pacientes.

3. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

3.1. CASOS ÍNDICE CON VISITA PRIORIZADA EN UNIDAD DE LÍPIDOS:

3.1.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:

Las características de la población captada tanto en el estudio retrospectivo como en el prospectivo para la hipercolesterolemia familiar son desarrolladas a continuación.

Los pacientes con posible hipercolesterolemia familiar (N= 133) eran un 69.9% mujeres y un 30.1% hombres. La edad media de esta población era de 52 ± 14 años, cuya distribución se encuentra representada en la Figura 30.

El 25.2% de la población padecían de HTA y el 12% de diabetes mellitus tipo 2. El 18.8% presentaba un hábito de consumo tabáquico activo y tan sólo el 0.8% de ellos mantenía una ingesta de alcohol diaria elevada.

El 28.8% de los pacientes presentaba antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz (<55 años) y tan sólo un 8.3% había sufrido un evento cardiovascular prematuro. De los cuales, un 27.3% padecían DM2, un 54.5% presentaba HTA, un 18.2% presentaba un consumo tabáquico habitual, un 9.1% eran exfumadores y un 45.5% presentaba familiares de primer grado con ECV precoz.

La posible relación entre los factores potenciadores del riesgo cardiovascular y la presencia de ECV precoz se encuentran desarrollados en la Figura 31 y la Tabla 24.

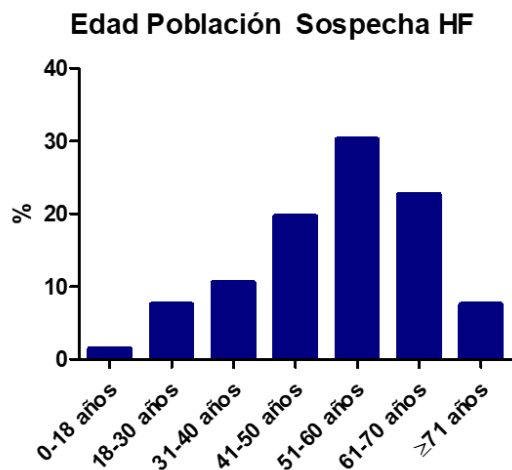


Figura 30. Distribución de la población con sospecha de HF según edad

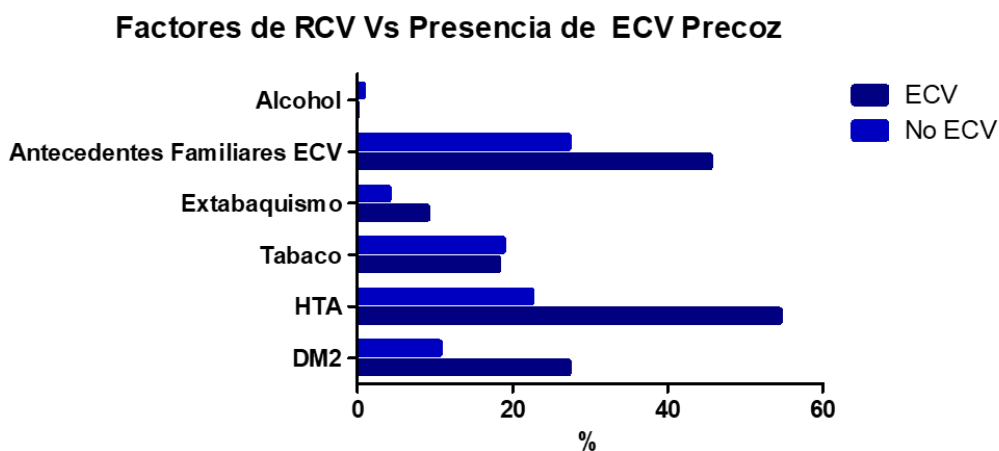


Figura 31. Relación factores de RCV y presencia de ECV precoz

Factores de Riesgo (%)	Alcohol (N=1)	Antecedentes Familiares ECV (N=38)	Extabaquismo (N=6)	Tabaco (N=25)	HTA (N=33)	DM2 (N=16)
ECV Prematura (N=11)	0	45.5	9.1	18.2	54.5	27.3
No ECV Prematura (N=122)	0.8	27.3	4.1	18.9	22.5	10.7

Tabla 24. Relación en porcentaje de factores de RCV y presencia de ECV precoz

En el momento en el que se realizó el cribado, la concentración media de cLDL por la cuál se captaron a los pacientes era de 259.68 ± 56.44 mg/dl. El resto de parámetros lipídicos se encuentran expresados en la Tabla 25 y la Figura 32.

Parámetro	cLDL (N=133)	cLDL/ApoB (N=98)	CT (N=133)	TG (N=131)	cHDL (N=117)	ApoB (N=105)	Lp(a) (N=50)
Media	259,68	1,3827	336,20	175,01	56,03	188,82	60,638
SD	56,443	0,17119	59,735	86,303	16,131	33,056	43,4240

Tabla 25. Concentración y desviación estándar de parámetros bioquímicos preconsulta casos índice HF

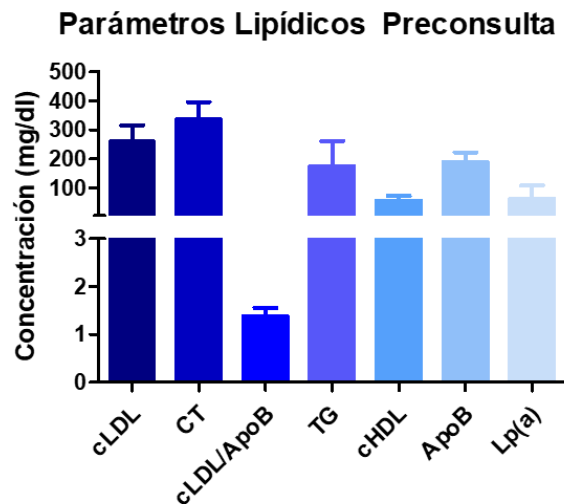


Figura 32. Concentración parámetros bioquímicos preconsulta casos índice HF

El 31.6% de los pacientes (N=98) presentaba el cociente cLDL/ApoB < 1.3 característico de las partículas de LDL pequeñas y densas, potencialmente aterogénicas. El 56% (N=50) presentó concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl, el 55.7% (N=131) concentraciones de triglicéridos superiores a los 150 mg/dl y el 14.5% (N=117) concentraciones de cHDL inferiores a los 40 mg/dl.

Haciendo referencia al tratamiento hipolemiante que se encontraban recibiendo en el momento de su captación se observó que el 59.4% de los pacientes se encontraban sin tratamiento, el 9% con tratamiento de baja intensidad, el 16.5% con tratamiento a dosis intermedias, el 9.8% con tratamiento a intensidad alta y tan sólo un 5.3% con tratamiento de muy alta intensidad.

Los tratamientos farmacológicos fueron intensificados durante la consulta médica con el clínico según practica clínica habitual, durante la cual un 5.3% se mantuvieron sin tratamiento y se le recomendaron medidas higiénico dietéticas, a un 7.6% se le interpuso un tratamiento de baja intensidad, a un 21.4% se le recetó un tratamiento de intensidad intermedia, a un 22.1% se le puso tratamiento a dosis altas y a un 43.5% se le intensificó el tratamiento a dosis muy altas, entre cuyos tratamientos se encuentran los anticuerpos monoclonales anti-PCSK9.

En la Figura 33 y Tabla 26 se observa la variación en porcentaje del tratamiento en pacientes preconsulta y postconsulta.

Tratamiento Preconsulta Vs Postconsulta

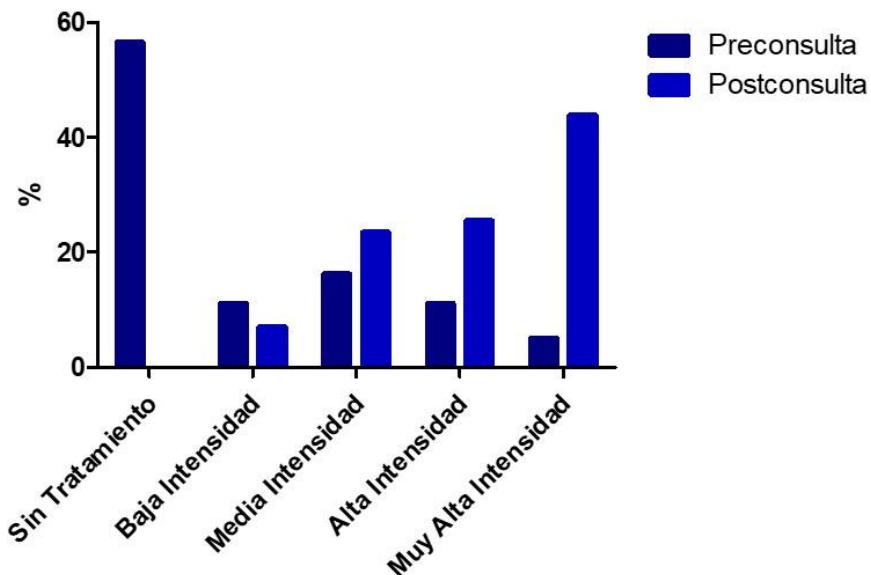


Figura 33. Clasificación del tratamiento preconsulta y postconsulta según intensidad

Tratamiento (N=99)	Sin Tratamiento (%)	Baja Intensidad (%)	Media Intensidad (%)	Alta Intensidad (%)	Muy Alta Intensidad (%)
Preconsulta	56.6	11.1	16.2	11.1	5.1
Postconsulta	0	7.1	23.5	25.3	49.3

Tabla 26. Distribución en porcentaje del tratamiento de pacientes en función de la intensidad

El 74.4% de los pacientes (N=99) vistos en consulta por el clínico especialista de la Unidad de Lípidos se realizaron una analítica control en la que se incluía un perfil de riesgo vascular en la mayoría de los casos, en las cuales se determinó que un 74.4% de los mismos alcanzó los objetivos establecidos por las actuales guías clínicas y según criterio del clínico con concentraciones de cLDL < 130 mg/dl debido a que numerosos pacientes a pesar de estar bajo tratamiento de estatinas a dosis máximas junto con ezetimiba, no llegaban a disminuir lo suficiente la concentración de cLDL según criterios de las guías clínicas, pero tampoco eran candidatos a tratarse con anticuerpos monoclonales anti-PCSK9.

Se relacionó la intensidad del tratamiento prescrito con el alcance de objetivos para cLDL tras la primera consulta con el clínico en aquellos pacientes con determinación analítica postconsulta. El 50% de los pacientes a los que se les prescribió un tratamiento de baja intensidad alcanzó los objetivos terapéuticos para el cLDL, así mismo ocurrió con el 42.9% de los pacientes con tratamiento de intensidad media, con el 72.4% de los pacientes a los que se les prescribió un tratamiento a dosis altas y con el 51.8% de los pacientes con tratamiento a muy alta intensidad (Figuras 34 y 35) (Tabla 27).

Tratamiento posconsulta	Objetivos (%) (N=69)	No Objetivos (%) (N=30)	Sin determinar/Sin analítica (%) (N=34)
Sin tratamiento	0	0	100
Baja Intensidad	50	20	30
Media Intensidad	42,9	39,5	17,9
Alta Intensidad	72,4	13,8	13,8
Muy Alta Intensidad	51,8	23,2	25,0

Tabla 27. Relación porcentual entre el alcance de objetivos terapéuticos postconsulta en pacientes con y sin analítica control y la intensidad de tratamiento hipolemiante

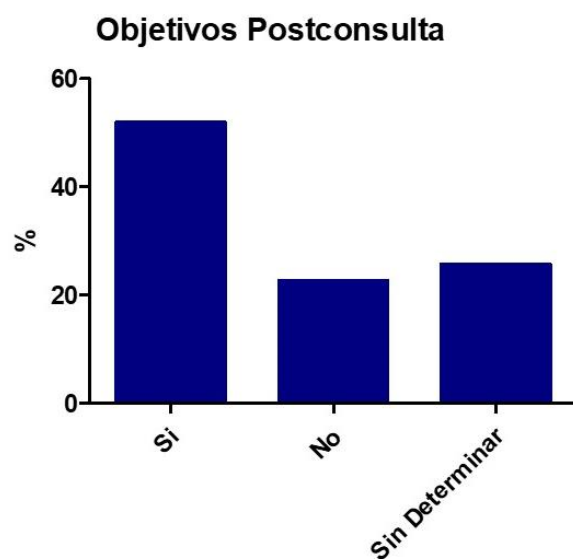


Figura 34. Distribución de pacientes en función del alcance de objetivos con y sin analítica

Intensidad Tratamiento Vs Objetivos 1º Consulta

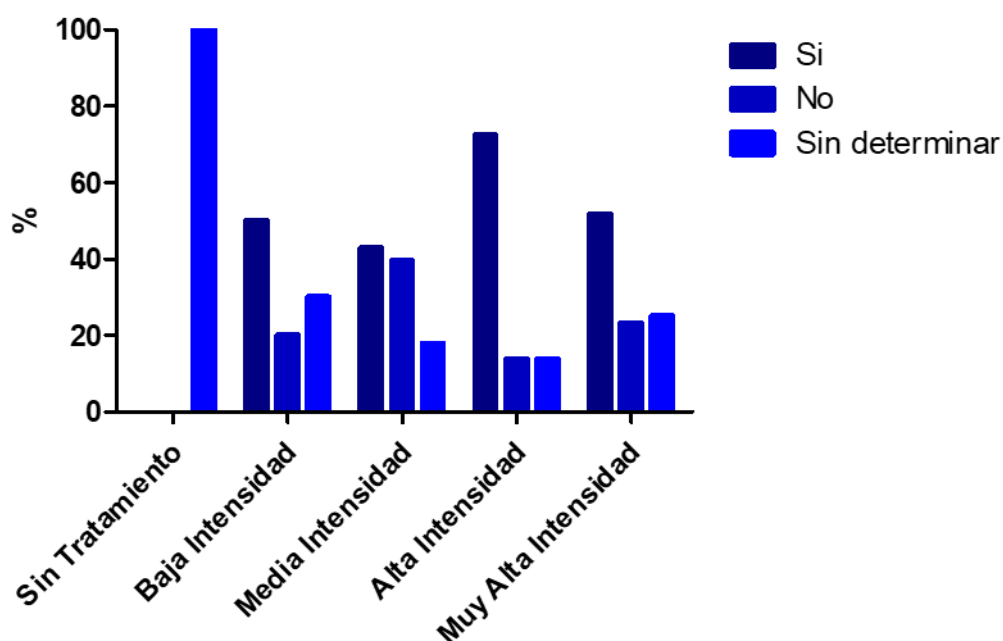


Figura 35. Relación entre la intensidad de tratamiento hipolemiante y el alcance de objetivos terapéuticos en pacientes con y sin analítica control

3.1.2. CASOS ÍNDICE CON ANALÍTICA CONTROL A LAS 4 SEMANAS:

La edad media de la población que se realizó una analítica (N=99) control es de 54 ± 12 años, de los cuales un 72% eran mujeres y un 28% hombres. El 28.3% padecía de HTA y

el 14.1% de diabetes mellitus tipo 2. El 17.2% de los pacientes presentaba un hábito de consumo tabáquico habitual y el 4% eran exfumadores. Tan sólo el 1% presentaba un consumo de alcohol excesivo.

El 31.3% de los pacientes presentaba antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz. El 9.1% había sufrido eventos cardiovasculares precoces.

De los pacientes que habían sufrido un evento cardiovascular precoz (N=9), el 33.3% eran diabéticos tipo 2, el 55.6% presentaban HTA, el 22.2% eran fumadores, el 11.1% exfumadores y el 44.4% presentaban antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz (Figura 36) (Tabla 28).

Factores de RCV Vs Presencia de ECV Precoz

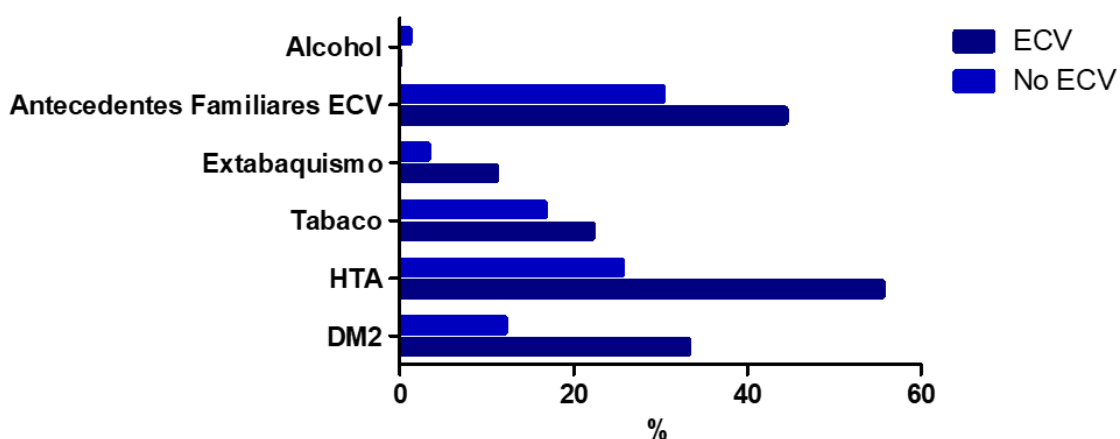


Figura 36. Relación entre factores de RCV y presencia de ECV precoz en casos índice con sospecha de HF con analítica control

Factores de Riesgo (%)	Alcohol (N=1)	Antecedentes Familiares ECV (N=31)	Extabaquismo (N=4)	Tabaco (N=17)	HTA (N=28)	DM2 (N=14)
ECV Prematura (N=9)	0	44.4	11.1	22.2	55.6	33.3
No ECV Prematura (N=90)	1.1	30.3	3.3	16.7	25.6	12.2

Tabla 28. Resultados porcentuales de relación entre factores de RCV y presencal de ECV prematura en casos con sospecha de HF con analítica control

Se ha observado una clara incidencia de la intensificación del tratamiento en la variación de los parámetros lipídicos de los pacientes con analíticas. La concentración media de cLDL de los pacientes preconsulta (N=99) era de 263.26 ± 56.71 mg/dl y a las cuatro semanas de tratamiento (N=96) descendió un 52.48% con una concentración media de 125 ± 53.86 mg/dl. El cociente cLDL/ApoB (N=51) característico de partículas de LDL pequeñas y densas disminuyó a un valor medio de 1.18 ± 0.15 (15.11%). La concentración de colesterol total (N=94), triglicéridos (N=91) y ApoB100 (N=55) disminuyeron a una concentración media de 200.17 ± 50.55 mg/dl (41.05%), 124.57 ± 64.42 mg/dl (27.6%) y 106.33 ± 32.71 mg/dl (42.93%), respectivamente. Las concentraciones de cHDL (N=92) y Lp(a) (N=48) no presentaron variaciones significativas (Figura 37) (Tabla 29).

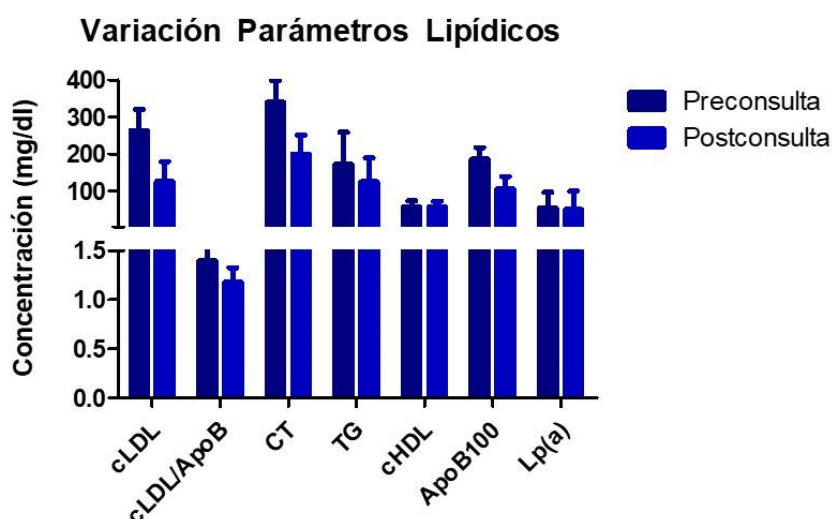


Figura 37. Distribución parámetros bioquímicos de pacientes preconsulta y postconsulta

[C] (mg/dl)	Preconsulta		Postconsulta		% Variación
	Media	SD	Media	SD	Media
cLDL	263.26	56.71	125.0	53.8	-52.48%
cLDL/ApoB	1.39	0.17	1.18	0.14	-15.11%
CT	339.51	58.85	200.17	50.55	-41.05%
TG	172.04	58.85	124.57	64.42	-27.60%
cHDL	56.55	16.45	56.32	16.16	-0.41%
APOB100	186.29	30.45	106.33	32.71	-42.93%
Lp(a)	54.31	41.31	49.18	50.14	-9.45%

Tabla 29. Resultados parámetros bioquímicos medios y desviación estándar preconsulta y postconsulta

Los pacientes fueron clasificados en diferentes rangos para observar la variación de las concentraciones de cLDL postintensificación del tratamiento. El 63.5% de los pacientes disminuyó sus concentraciones de cLDL por debajo de los 130 mg/dl, el 12.5% presentaba concentraciones de cLDL entre los 131-150 mg/dl, el 13.5% entre los 151-180 mg/dl y tan solo el 10.5% mantuvo concentraciones de cLDL superiores a los 180 mg/dl. Estos resultados se encuentran representados en la Figura 38.

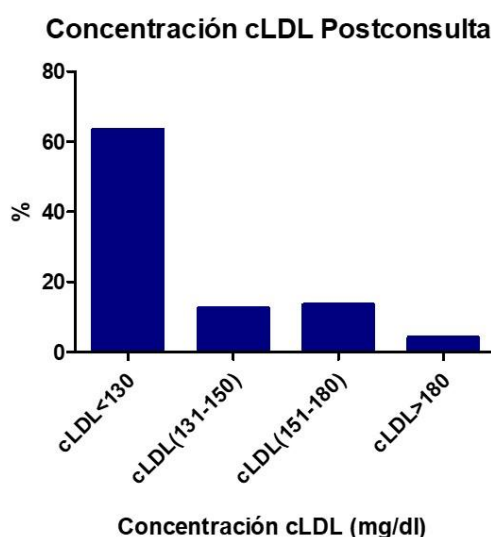


Figura 38. Distribución concentración cLDL postconsulta por rangos

El 82.4% de los pacientes con determinación del parámetro cLDL/ApoB (N=51) a las cuatro semanas de tratamiento presentaba valores de cociente inferiores a 1.3, característico de la presencia de partículas de LDL pequeñas y densas, potencialmente aterogénicas.

El 76.9% de los pacientes con determinación de la concentración de triglicéridos (N=91) presentaba concentraciones inferiores a los 150 mg/dl, encontrándose dentro del rango de normalidad.

El 89.1% de los pacientes con determinación de la concentración de cHDL (N=92) presentó concentraciones superiores a los 40 mg/dl y un 53.3% de aquellos pacientes con determinación de la concentración de Lp(a) presentó concentraciones superiores a los 50 mg/dl.

Aquellos pacientes que alcanzaron objetivos terapéuticos ($cLDL < 130$ mg/dl) continuaron presentando en un 93.9% cocientes $cLDL/ApoB < 1.3$ a pesar de haber disminuido la

concentración de cLDL, de los cuales, un 41.7% presentaba concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl.

La relación entre la concentración de cLDL y el cociente cLDL/ApoB y la relación entre ese mismo cociente y la concentración de Lp(a) se encuentran representadas en las Figura 39. Se observa que 44.5% de los pacientes con cociente cLDL/ApoB < 1.3 y el 37.37% de los pacientes con cociente superior a 1.3, presentaban concentraciones de Lp(a) superiores a 50 mg/dl.

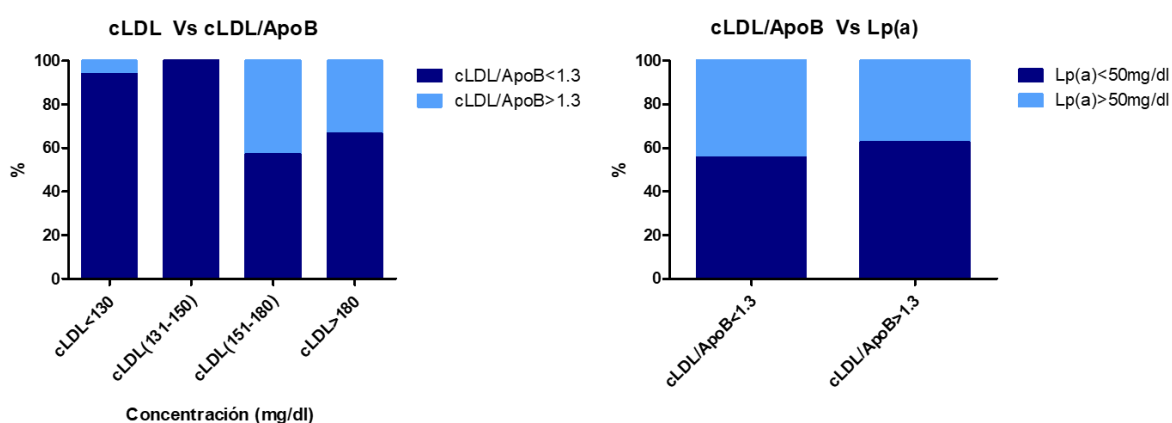


Figura 39. Relación entre concentración de cLDL y partículas de sdLDL y de Lp(a) y partículas de sdLDL

3.1.3. ESTUDIOS GENÉTICOS CASOS ÍNDICE:

A lo largo del cribado se solicitaron 73 estudios genéticos para la confirmación de hipercolesterolemia familiar, de los cuales un 73% se realizaron a mujeres y un 27% en hombres. El 97% de los pacientes con estudio genético solicitado eran de origen caucásico.

3.1.3.1. PUNTUACIÓN CLÍNICAS HOLANDEASAS Y GENES RLDL, APOB, PCSK9, APOE Y STAP1:

Al total de casos índice se le aplicó la Puntuación de las Clínicas Holandesas.

El 18% de los pacientes solicitados presentaba entre 3 y 5 puntos, con un diagnóstico de posible HF; el 38% presentaba entre 6 y 7 puntos, con un diagnóstico de probable HF; y el 41% presentaba 8 puntos o más, con un diagnóstico de certeza para la HF. Tan solo

no se aportó información sobre la puntuación de las Clínicas Holandesas en el 3% de los pacientes (Figura 40)

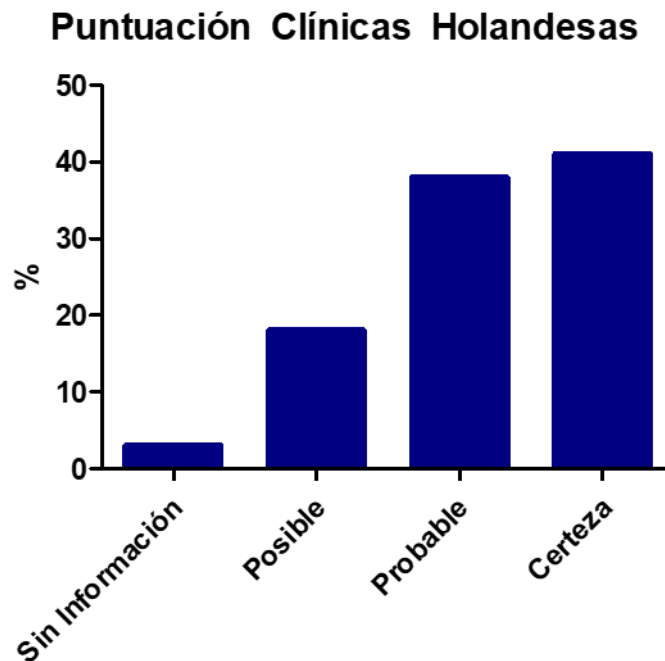


Figura 40. Diagnóstico HF en función de la Escala de Puntos Holandesa en pacientes con estudio genético solicitado

Los estudios genéticos proporcionaron como resultados (Figura 41) un 44% de casos positivos de HF con mutaciones en el gen RLDL, APOB o PCSK9; un 25% de casos no concluyentes con mutaciones en los genes RLDL, APOB o PCSK9 y un 31% de casos negativos.

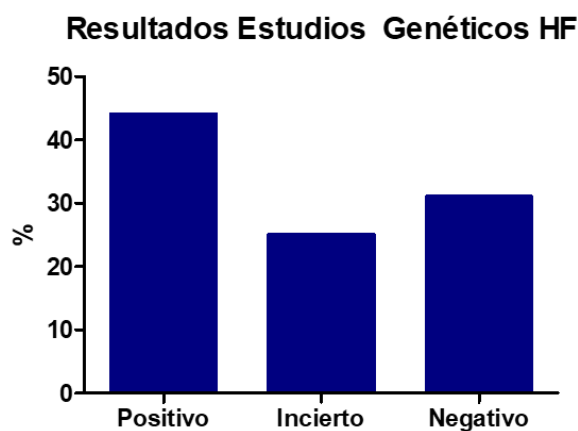


Figura 41. Resultado estudios genéticos casos índice con sospecha de HF

Los diagnósticos obtenidos a través de los estudios genéticos se relacionaron con la puntuación de las Clínicas Holandesas. En la Figura 42 y la Tabla 30 observamos que de los pacientes con más de 8 puntos obtenidos en las Clínicas Holandesas, el 50% de los casos obtuvieron un diagnóstico positivo, el 23% un resultado genético no concluyente y el 27% obtuvieron un resultado negativo. El 46% de los pacientes con puntuación entre 6 y 7 puntos y diagnóstico de HF probable obtuvieron un diagnóstico genético positivo, el 18% obtuvo un resultado no concluyente y el 36% obtuvo un resultado negativo. El 15% de los pacientes con una puntuación entre 3 y 5 puntos con diagnóstico clínico de posible HF obtuvieron un resultado genético positivo, el 46% un resultado no concluyente y el 39% fueron negativos. Los dos pacientes cuyo informe no proporcionó información sobre la puntuación obtenida según los criterios de las Clínicas Holandesas obtuvieron un resultado genético positivo para la HF.

Diagnóstico	Certeza (≥ 8 puntos) (N=30)	Probable (6-7 puntos) (N=28)	Posible (3-5 puntos) (N=13)	Sin información (N=2)
Positivo	50%	46%	15%	100%
No Concluyente	23%	18%	46%	--
Negativo	27%	36%	39%	--

Tabla 30. Resultados en porcentaje de estudios genéticos en función de la Puntuación de las Clínicas Holandesas

Rdos Estudios Genéticos HF - Puntuación CH

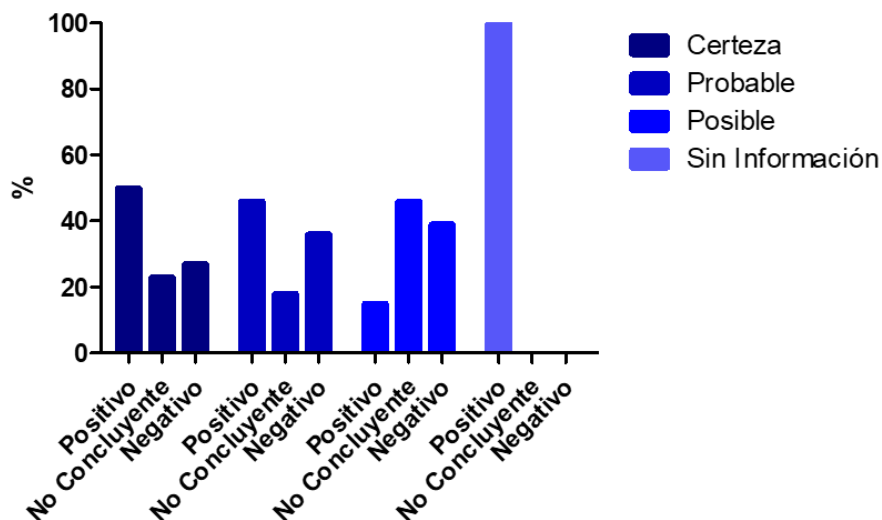


Figura 42. Relación diagnóstico genético HF Vs diagnóstico Puntuación Clínicas Holandesas

Las variantes genéticas que presentaron los pacientes en el análisis genético realizado se han relacionado con el diagnóstico genético positivo y no concluyente en función de la clase de las variantes obtenidas. Las variantes genéticas han sido clasificadas como Clase I o patogénicas, Clase II o probablemente patogénicas y Clase III o de significado clínico incierto.

El 97% de estudios genéticos positivos (N=50) para la HF presentaban mutaciones en el gen RLDL y un 3% en gen APOB, de los cuales, el 68% presentó variantes genéticas de Clase I y Clase II. El 32% de los casos positivos de HF presentó dos variantes genéticas alteradas, a pesar de ello, tan sólo un 6% presentó ambas variantes genéticas de Clase I y/o Clase II y el resto presentó variantes de Clase I y Clase III. Encontrándose un 19% en el gen RLDL, un 63% en el gen APOB, un 6% en el gen PCSK9, un 6% en el gen APOE y un 6% en el gen STAP1.

Los pacientes que obtuvieron un diagnóstico genético no concluyente para la HF (N=23) presentaron mutaciones en los siguientes genes (Figura 43): el 22% en el gen RLDL, el 30% en el gen APOB, el 26% en el gen PCSK9, el 4% en el gen APOE y el 17% en el gen STAP1. El 28% de los sujetos con diagnóstico genético no concluyente presentaron dos mutaciones, ambas de Clase III.

La relación entre las variantes genéticas de clase III según diagnóstico genético positivo y no concluyente son representadas en la Figura 43.

Variante Genéticas Clase III Según Diagnóstico

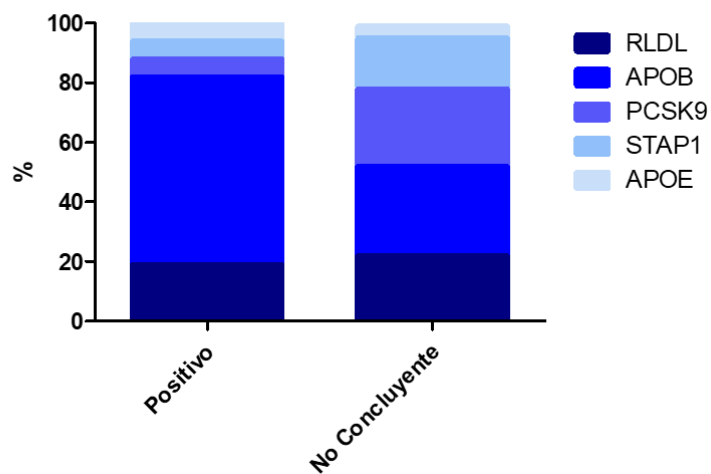


Figura 43. Distribución porcentual de genes según diagnóstico genético positivo y no concluyente

3.1.3.2. HIPERCOLESTEROLEMIA POLIGÉNICA Y cLDL SCORE:

Aquellos pacientes que obtuvieron un resultado genético negativo se les realizó el cálculo del cLDL score para la determinar de la probabilidad de padecer hipercolesterolemia de origen poligénico. El cálculo del cLDL score es realizado a partir de los genotipos de las variantes y siguiendo la ecuación de Talmud y col.(266), la cual establece que un score superior a 0.73 es indicativo de elevada probabilidad de hipercolesterolemia poligénica en el paciente.

El 78% de los pacientes con resultado genético negativo presentaba un cLDL score > 0.73, de los cuales, el 43% presentaba una alta probabilidad de padecer hipercolesterolemia poligénica con cLDL score > 1.09.

El cálculo del cLDL score se le aplicó también al resto de pacientes con diagnóstico genético positivo y no concluyente y se observó que el 12.5% de los pacientes con diagnóstico genético positivo y el 33% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente presentaban una alta probabilidad de padecer hipercolesterolemia poligénica con un cLDL score > 1.09.

La relación porcentual entre la puntuación superior a 1.09 obtenida en el cálculo del cLDL score, característica de la hipercolesterolemia de origen poligénico y el diagnóstico genético, se representa en la Figura 44.

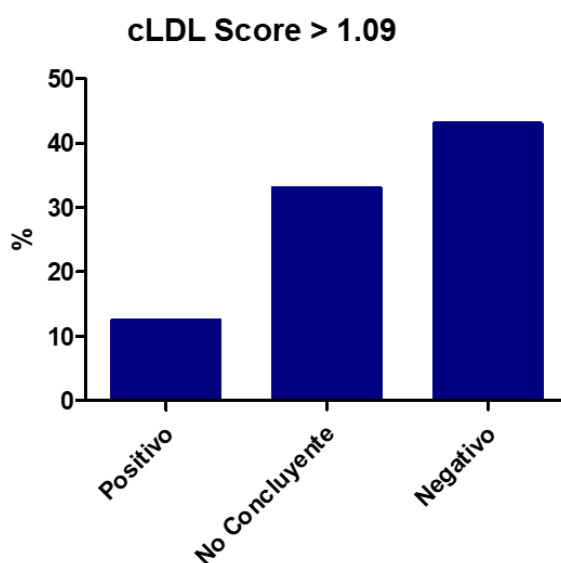


Figura 44. Relación porcentual entre cálculo cLDL score > 1.09 y diagnóstico genético de HF

3.1.3.3. FACTORES GENÉTICOS Y RIESGO CARDIOVASCULAR. Cic SCORE:

A todos los pacientes con diagnóstico genético negativo también se les realizó una estimación del riesgo coronario a través del cálculo del Cic score. El Cic score o FRG es un ratio que indica la influencia de los factores genéticos al riesgo cardiovascular a través de la suma ponderada del peso de las variantes genéticas individuales de cada paciente (267). Un $FRG \geq 1.3$ clasifica a los pacientes dentro del quintil de mayor riesgo cardiovascular de origen genético; Un valor de $FRG \geq 3$ implica que el paciente pueda poseer el mismo riesgo coronario al de una mutación monogénica de HF.

El 43.5% de los pacientes con diagnóstico genético negativo presentaron valores de $FRG \geq 1.3$ y el 4% presentó valores de $FRG \geq 3$.

Esta misma estimación se ha realizado en este estudio en el resto de pacientes con diagnóstico genético positivo y no concluyente, en él se observó que el 37.5% y el 3% los pacientes con diagnóstico positivo presentaban valores de $FRG \geq 1.3$ y $FRG \geq 3$ respectivamente. Y que el 50% y el 5.5% de pacientes con diagnóstico no concluyente presentaban valores de $FRG \geq 1.3$ y $FRG \geq 3$ respectivamente.

La presencia de un mayor riesgo genético coronario estimado a través del cálculo del Cic Score y el diagnóstico genético obtenido para la HF es representado en la Figura 45.

Riesgo Genético Coronario (Cic Score)

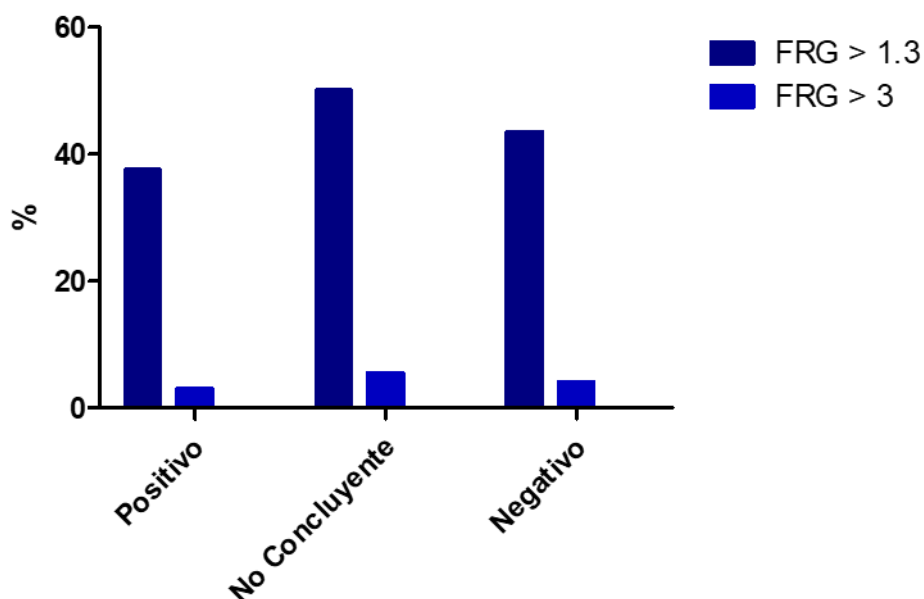


Figura 45. Relación entre el riesgo genético coronario y el diagnóstico genético de HF

La relación del cálculo del cLDL score y del Cic Score >1.3 en función del diagnóstico genético de HF estableció que el 3% de los pacientes con diagnóstico genético positivo, el 22% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente y el 13% de los pacientes con diagnóstico genético negativo, presentaban elevadas probabilidades de padecer hipercolesterolemia poligénica y un mayor riesgo cardiovascular de origen genético.

Asimismo, la relación del cálculo del cLDL score y del Cic Score > 3 en función del diagnóstico genético de HF determinó que el 6% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente, presentaba elevadas probabilidades de padecer hipercolesterolemia poligénica y un riesgo coronario equivalente al de una mutación monogénica característica de la HF.

Ambas equivalencias se encuentran representadas en la Figura 46.

cLDL Score + Cic Score Vs Diagnóstico HF

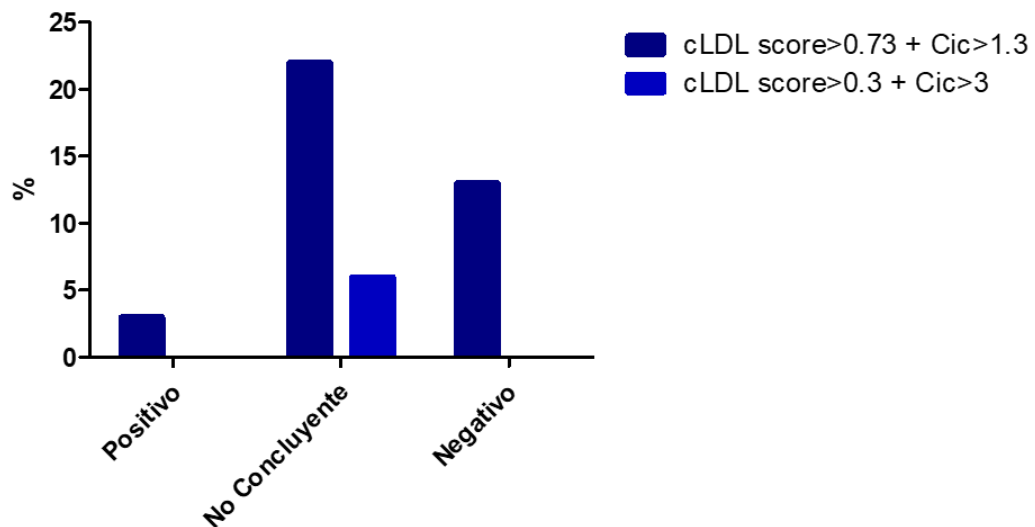


Figura 46. Relación entre diagnóstico genético para la HF, cálculo cLDL Score y Cic Score

3.1.3.4. HIPERCOLESTEROLEMIA AUTOSÓMICA RECESIVA Y DÉFICIT DE LIPASA ÁCIDA LISOSOMAL. GENES LDLRAP1 Y LIPA:

El análisis genético realizado en parte de la población de casos índice incluía además del diagnóstico genético de hipercolesterolemia familiar, el análisis genético de hipercolesterolemia autosómica recesiva (HAR) y el análisis genético de deficiencia de

lipasa ácida lisosomal (LAL), para lo cual se analizaron los genes LDLRAP1 y LIPA, respectivamente.

El 3% de los pacientes (N=2) presentó dos y tres variantes de Clase III o significado clínico incierto en el gen LDLRAP1. Uno de los pacientes presentaba una variante genética positiva para la HF y el otro individuo presentaba un diagnóstico genético negativo para la HF. El resto de pacientes no presentó ninguna mutación genética en el gen LDLRAP1 pero se detectaron 3 variantes en heterocigosis de significado clínico incierto en el gen LDLRAP1. El 4% de los individuos son potenciales portadores sanos.

El 100% de los pacientes obtuvieron un resultado genético negativo para el déficit de LAL. Además se detectaron 2 variantes de significado clínico incierto en el gen LIPA. El 3% de los individuos son potencialmente portadores sanos.

3.1.3.5. NIVELES PLASMÁTICOS ELEVADOS DE LP(A). GEN LPA:

Se analizó en el estudio la predisposición genética a poseer niveles plasmáticos de Lp(a) elevados a través de las variantes rs10455872 y rs3798220 del gen LPA.

El 11% de los pacientes presentaba alelos de riesgo en la variante rs10455872 y el 5% de los pacientes en la variante rs3798220. El 16% de los pacientes presentó al menos un alelo de riesgo, de los cuales, un 15% presentaba un alelo de riesgo en heterocigosis en una única variante y un 1% presentaba un alelo de riesgo en homocigosis en una única variante.

No se detectaron alelos de riesgo en las dos variantes estudiadas del gen LPA de forma simultánea.

En relación con el diagnóstico genético de HF se ha determinado que el 25% de los pacientes con diagnóstico genético positivo, el 17% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente y el 4% de los pacientes con diagnóstico genético negativo, presentaron variantes genéticas en el gen LPA (Figura 47).

Se estableció la relación entre el cálculo del cLDL score determinante de la probabilidad de padecer hipercolesterolemia poligénica y las variantes genéticas asociadas al gen LPA con el diagnóstico genético de HF en la Figura 48. El 3% de los pacientes con diagnóstico genético positivo y el 5.5% con diagnóstico genético no concluyente, presentaron un cLDL score > 0.73 y mutaciones en el gen LPA.

Del mismo modo, se relacionó el cálculo del Cic Score > 1.3 característico de una mayor probabilidad incremento de riesgo cardiovascular y las mutaciones en el gen LPA con el diagnóstico genético de HF. El 12.5% de los pacientes con diagnóstico genético positivo y 5.5% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente contenían presentes ambas variables.

Diagnóstico Genético HF Vs Variante Gen LPA

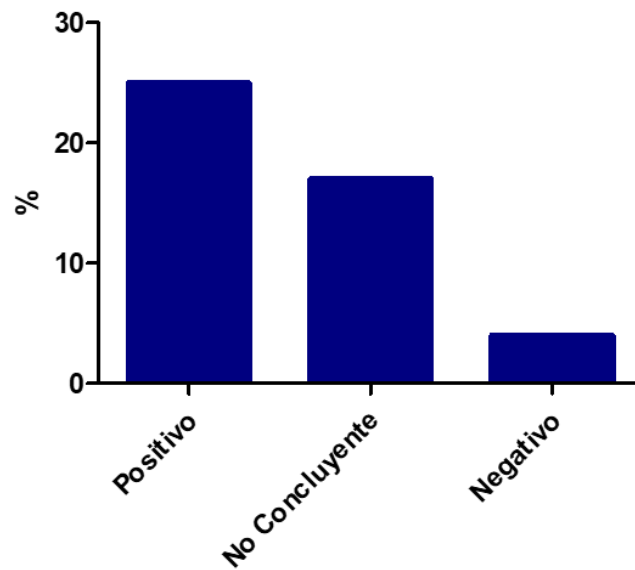


Figura 47. Distribución porcentual entre diagnóstico genético de HF y mutación en gen LPA

cLDL Score>0.73 y Cic>1.3 + LPA Vs Diagnóstico HF

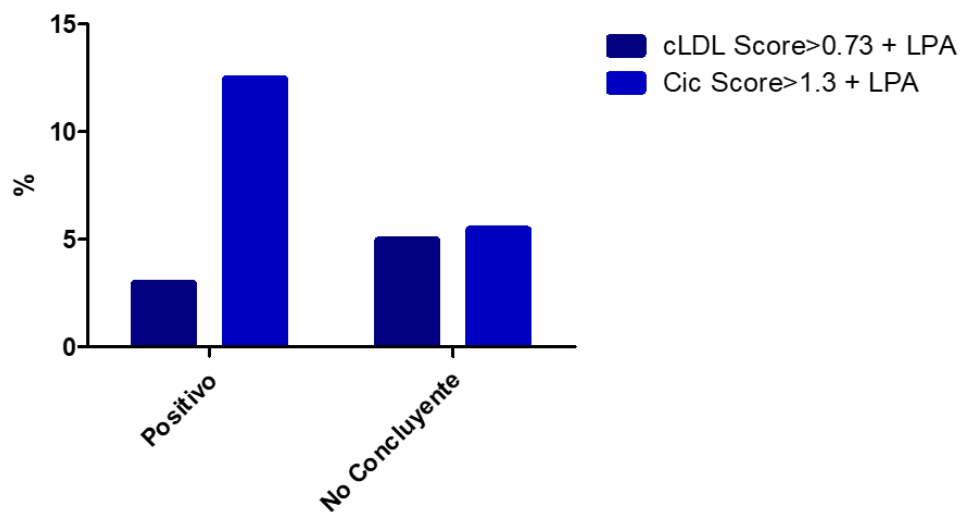


Figura 48. Relación entre diagnóstico genético de HF, cLDL Score y mutación en gen LPA

3.1.3.6. FARMACOGENÉTICA DE RESPUESTA A ESTATINAS. GEN SLC01B1, HMGCR, ABCB1:

Se añadió al estudio la farmacogenética en respuesta a estatinas, para lo cual se realizó un análisis de la variante rs4149056 del gen SLC01B1, cuya presencia se encuentra asociada con un mayor riesgo de aparición de miopatías bajo tratamiento con simvastatina, un análisis de la variante rs1724441 del gen HMGCR y con mayores concentraciones de fármaco bajo tratamiento con estatinas. Además de un análisis de la variante 2032582 del gen ABCB1, cuya presencia se encuentra asociada a una menor respuesta bajo tratamiento con simvastatina.

El análisis de las tres variantes genéticas estableció que el 4% de los pacientes eran portadores heterocigotos de la variante rs1724441 del gen HMGCR. El 25% presentaba variaciones en rs4149056 del gen SLC01B1, de los cuales, el 94% de los pacientes eran heterocigotos. El 84% de los pacientes han presentado variaciones en rs2032582 en el gen ABCB1, siendo el 55% de las variaciones homocigotas (Figura 49).

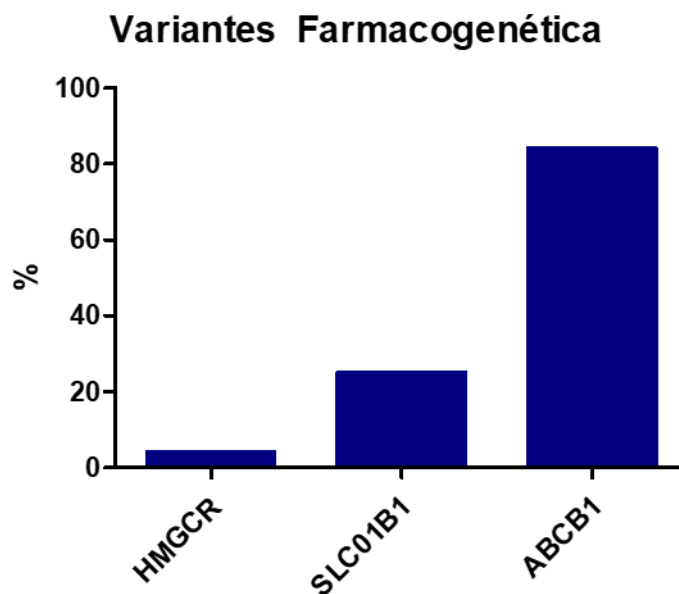


Figura 49. Distribución porcentual de genes con variantes influyentes en la respuesta a estatinas

De la población analizada genéticamente, un 25% ha presentado dos alelos de riesgo en las variantes genéticas estudiadas y tan solo un 1% ha presentado los tres alelos de riesgo.

Se relacionaron las variantes estudiadas en la farmacogenética en respuesta a estatinas con el diagnóstico genético de HF en la Figura 50.

El 84% de los pacientes con diagnóstico genético positivo, el 78% de los pacientes con diagnóstico genético no concluyente y el 91% de los pacientes con diagnóstico genético negativo presentaron una o más variantes con alelos de riesgo para la respuesta a estatinas.

Diagnóstico Genético HF Vs Variantes Farmacogenética

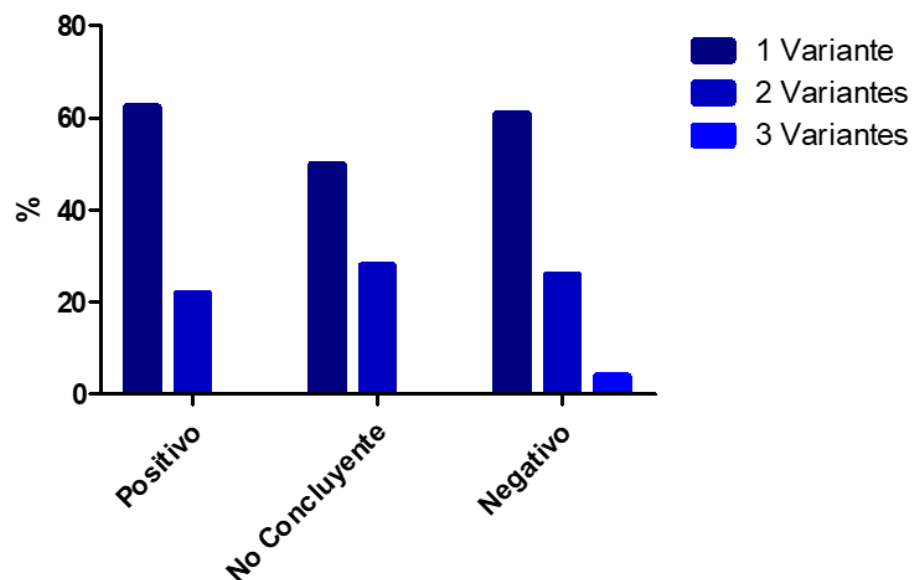


Figura 50. Relación entre diagnóstico genético y número de variantes genéticas asociadas a respuesta con estatinas

3.2. CRIBADO EN CASCADA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

De algunos de los casos índice con estudios genéticos positivos para la HF y mutaciones de clase I, II y III se realizaron cribados tanto de cascada directa como inversa para la detección de aquellos casos que presentaban una alta probabilidad de presentar la misma mutación del caso índice.

3.2.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:

Por ello se realizaron estudios genéticos a 21 familiares de casos índice diagnosticados de HF mediante estudios genéticos. La población estudiada se distribuía en un 57.1% hombres y un 42.9% mujeres, con una edad media de 43 ± 21 años. El 63.2% presentaba antecedentes familiares de ECV precoz y el 9.5% había sufrido un evento cardiovascular prematuro. El 9.5% presentaban HTA, el 4.8% DM2, un 9.5% presentaban un hábito de consumo tabáquico habitual y el 4.8% eran exfumadores.

Se estableció una relación entre los antecedentes personales de ECV precoz y los factores de riesgo asociados (Figura 51 Y Tabla 31).

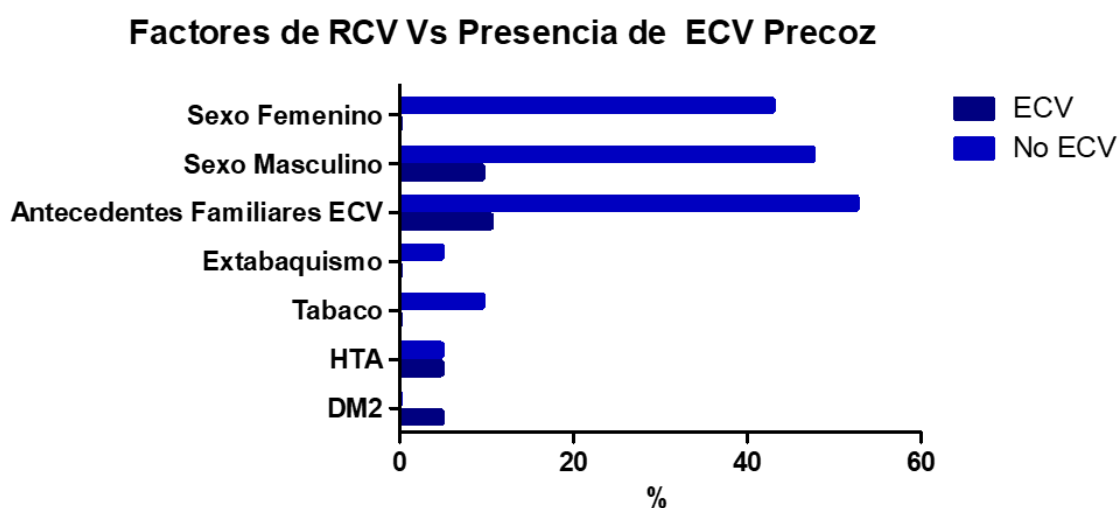


Figura 51. Factores de RCV y presencia de ECV precoz en familiares con posible HF

Factores de Riesgo (%)	Sexo Masculino (N=12)	Sexo Femenino (N=9)	Antecedentes Familiares ECV (N=21)	Extabaquismo (N=1)	Tabaco (N=20)	HTA (N=21)	DM2 (N=21)
ECV Prematura (N=2)	9.5	0	58.8	0	0	50	50
No ECV Prematura (N=19)	47.6	42.9	52.6	5.3	10.5	5.3	0

Tabla 31. Resultados en porcentaje de factores de RCV en familiares con posible HF

Tan sólo el 35% de los casos familiares se encontraba recibiendo tratamiento hipolemiante a expensas de encontrarse o no en objetivos terapéuticos respecto a la concentración de cLDL.

Los parámetros bioquímicos por los que se captaron a estos pacientes se encuentran representados en la siguiente Figura 52 y Tabla 32.

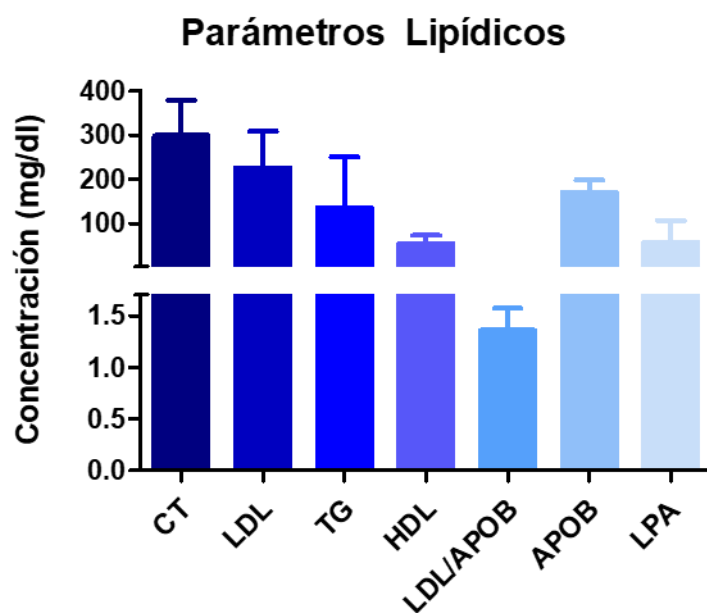


Figura 52. Parámetros bioquímicos familiares con sospecha de HF

Parámetro Lipídico	[C] (mg/dl)	
	Media	SD
cLDL (N=18)	226,3	81,99
cLDL/ApoB (N=11)	1,359	0,214
CT (N=18)	298,8	79,62
TG (N=18)	135,7	115,0
cHDL (N=17)	54,88	17,96
APOB100 (N=14)	170,3	27,92
Lp(a) (N=9)	46,35	37,24

Tabla 32. Concentración media de parámetros bioquímicos de familiares con sospecha de HF

Se observó que el 27.8% de los pacientes con determinación de la concentración de cLDL presentaban concentraciones superiores a los 250 mg/dl. El 45.5% de los pacientes que presentaron el cálculo del cociente cLDL/APOB presentaron un valor inferior a 1.3, característico de la presencia de partículas de LDL pequeñas y densas. El 5.6% presentó una concentración de triglicéridos entre 150-300 mg/dl y un 11.1% superiores a los 300 mg/dl. El 23.5% presentó concentraciones de cHDL inferiores a los 40 mg/dl y un 44.4% de los pacientes con determinaciones de Lp(a) presentaron concentraciones superiores a los 50 mg/dl.

Se estableció la relación entre la concentración de cLDL y de Lp(a) con el cociente cLDL/APOB (Figura 53). Se observó que ninguno de los pacientes con concentraciones de cLDL>250 presentaba el cociente cLDL/APOB<1.3 y que el 83.3% de los pacientes con concentraciones de cLDL>250 mg/dl presentó el cociente cLDL/APOB>1.3. El 25% de los pacientes con cocientes cLDL/APOB<1.3 y que el 100% de los pacientes con el cociente cLDL/APOB>1.3 presentaron concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl.

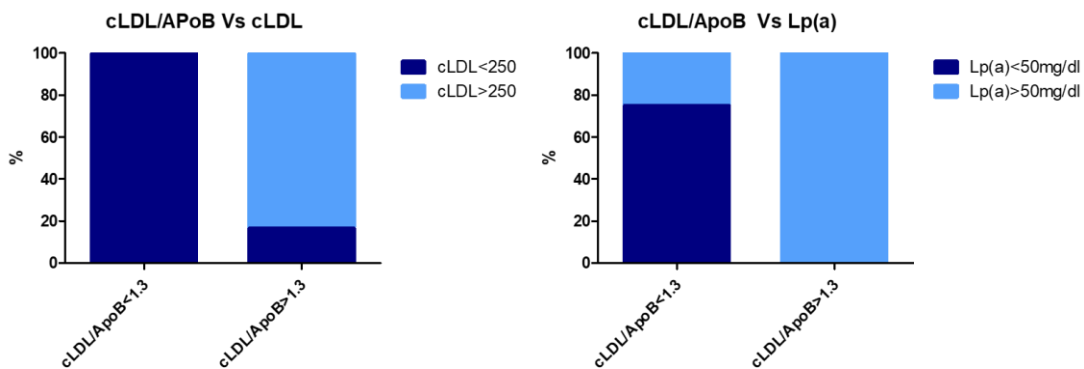


Figura 53. Relación entre concentración de cLDL y Lp(a) con sdLDL

Se aplicaron la puntuación de las Clínicas Holandesas a todos los casos familiares (Figura 54). Un 15.8% de los pacientes obtuvieron 8 puntos o más en la puntuación, obteniendo un diagnóstico de certeza para la HF, un 21.1% obtuvieron entre 6 y 8 puntos y un diagnóstico de probable para la HF y un 63.2% obtuvo entre 3 y 5 puntos y un diagnóstico de posible HF.

Diagnóstico Puntuación Clínicas Holandesas

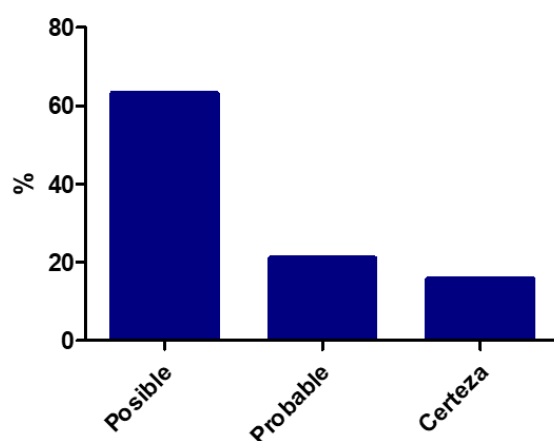


Figura 54. Diagnóstico según Puntuación Clínicas Holandesas de familiares con sospecha de HF

3.2.2. CRIBADO GENÉTICO:

Se realizaron estudios genéticos en los familiares (N=21) en los cuales se analizaron las mismas mutaciones obtenidas previamente en los casos índice, para ello se tomaron un 52.4% de muestras de sangre y un 47.6% de muestras de saliva.

Los resultados que se obtuvieron fueron un 85.7% de resultados positivos para mutaciones asociadas con la HF, un 4.8% obtuvieron un resultado no concluyente y tan sólo un 9.5% obtuvieron un resultado negativo para las mutaciones de HF (Figura 55).

Resultados Estudios Genéticos HF

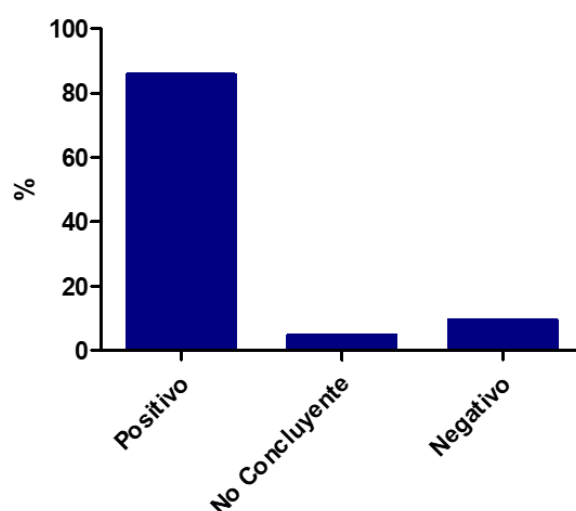


Figura 55. Diagnóstico genético familiares con sospecha de HF

Se determinó la relación entre la puntuación obtenida según las Clínicas Holandesas y su diagnóstico genético representada en la Figura 56 y Tabla 33.

Puntuación Clínicas Holandesas Vs Diagnóstico Genético

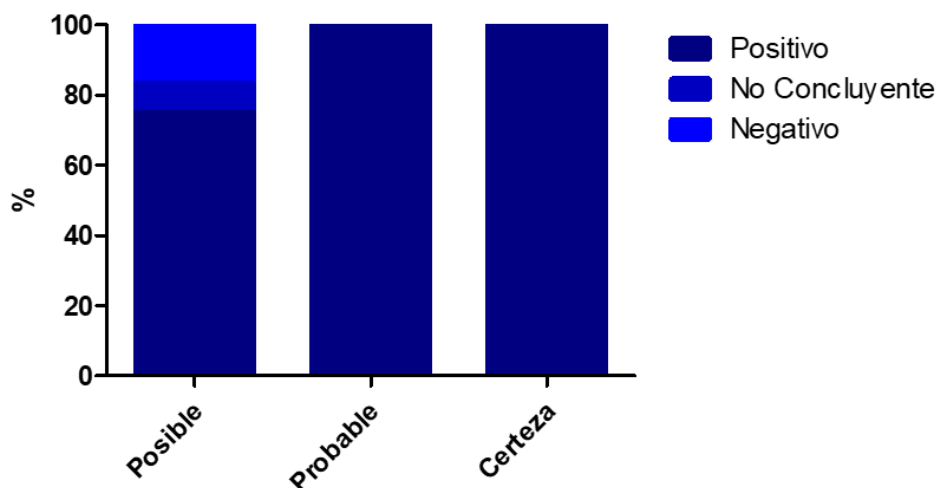


Figura 56. Relación entre diagnóstico por Puntuación Clínicas Holandesas y diagnóstico genético

%	Positivo (N=16)	No Concluyente (N=1)	Negativo (N=2)
Posible (<6 Puntos) (N=12)	75	8.3	16.7
Probable (6-8 Puntos) (N=4)	100	0	0
Certeza (>8 Puntos) (N=3)	100	0	0

Tabla 33. Relación porcentual entre diagnóstico por Puntuación Clínicas Holandesas y diagnóstico genético

De los resultados positivos y no concluyentes se detectaron un 84.2% de mutaciones en el gen RLDL, un 10.5% de mutaciones en el gen APOB y un 5.3% de mutaciones en el gen PCSK9. Un 10.5% y un 5.3% de los pacientes con mutaciones en el gen RLDL presentaron además una mutación en el gen PCSK9 y STAP1 respectivamente (Figura 57).

El 52.6% de los test positivos presentaron mutaciones de Clase I o patogénicas, un 31.6% presentó mutaciones de Clase II o posiblemente patogénicas y un 15.8% presentó mutaciones de Clase III o de significado clínico incierto.

Variantes Genéticas

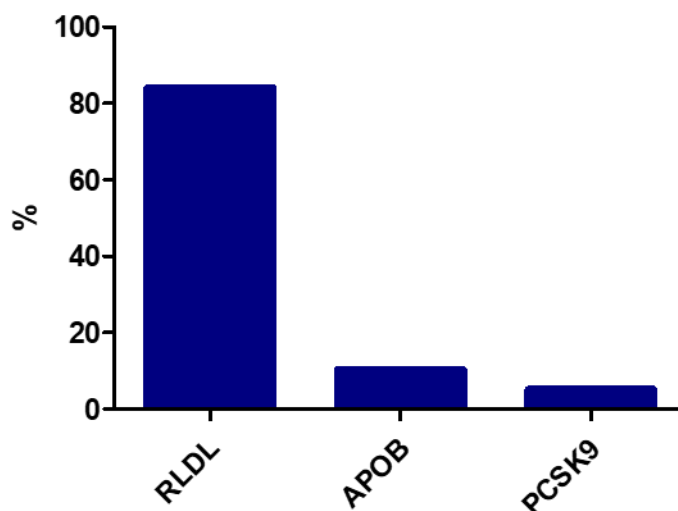


Figura 57. Prevalencia de variantes genéticas en familiares con resultado genético positivo para HF

4. DISBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR:

4.1. CASOS ÍNDICE CON SOSPECHA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

A lo largo del estudio prospectivo se capturaron 9 pacientes a través de la determinación del cociente cVLDL/TG incluido en el perfil de riesgo vascular de las analíticas con posible diagnóstico de disbetalipoproteinemia familiar.

4.1.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:

Durante el estudio se capturaron 9 posibles casos índice de disbetalipoproteinemia, de los cuales un 55.6% eran hombres y un 44.4% mujeres. La edad media de la población era de 58 ± 22 años.

El 44.4% de los pacientes se encontraban diagnosticados de DM2, el 66.7% presentaba HTA y un 77.8% (N=7) presentaba antecedentes de ECV prematura (Figura 58), de los cuales, un 57.14% había sufrido un IAM, un 28.57% CI y un 14.28% accidente cerebrovascular. Un 22.2% de la población con sospecha de disbetalipoproteinemia presentaba un consumo tabáquico habitual.

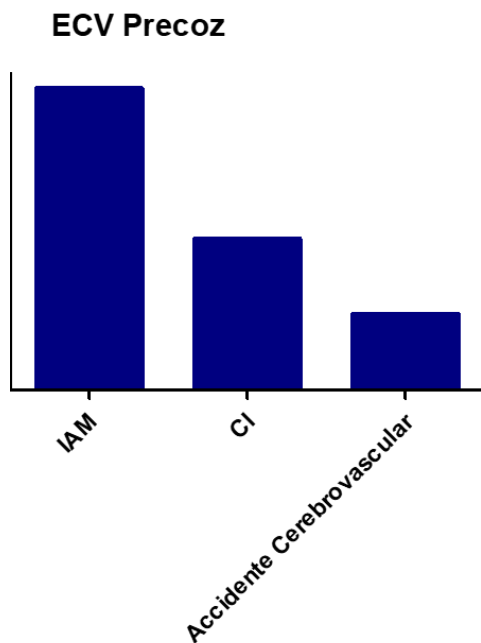


Figura 58. Distribución de eventos cardiovasculares en casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

El 66.7% de los pacientes se encontraba sin tratamiento hipolipemiante.

Los pacientes captados a través de analítica presentaron la siguiente distribución de parámetros lipídicos (Figura 59 y Tabla 34):

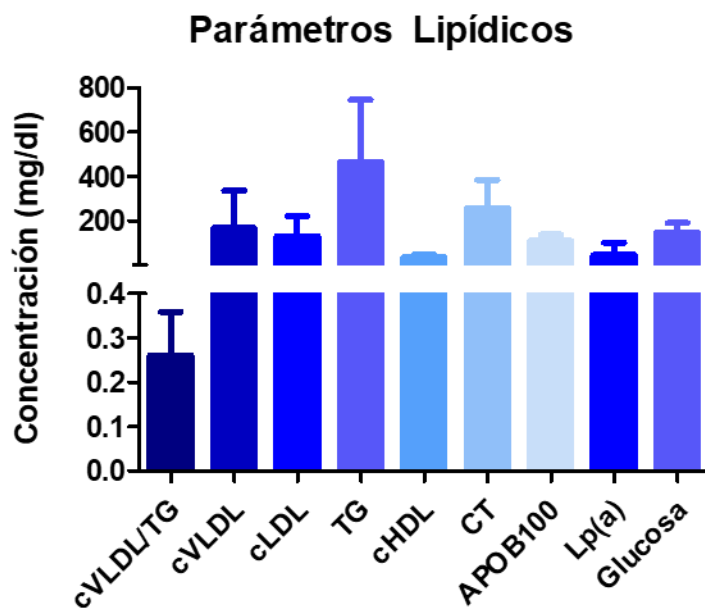


Figura 59. Parámetros bioquímicos casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

Parámetros Lipídico	Media (mg/dl)	SD (mg/dl)
cVLDL/TG	0,26	0,09
cVLDL	166,5	170,4
cLDL	131,2	90,66
TG	465,4	282,0
cHDL	36,870	12,147
CT	258,3	127,2
APOB100	109,0	29,543
Lp(a)	45,160	56,640
Glucosa	146,8	42,883

Tabla 34. Concentración media parámetros bioquímicos casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

El 33.3% (N=3) de los pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia presentó el cociente cVLDL/TG > 0.3 y un 55.5% (N=5) un cociente \geq a 0.2, a excepción de un paciente, cuyo cociente cVLDL/TG era inferior a 0.2, pero presentaba una hipertrigliceridemia grave acompañada de antecedentes de enfermedad cardiovascular prematura (Tabla 35 y Figura 60).

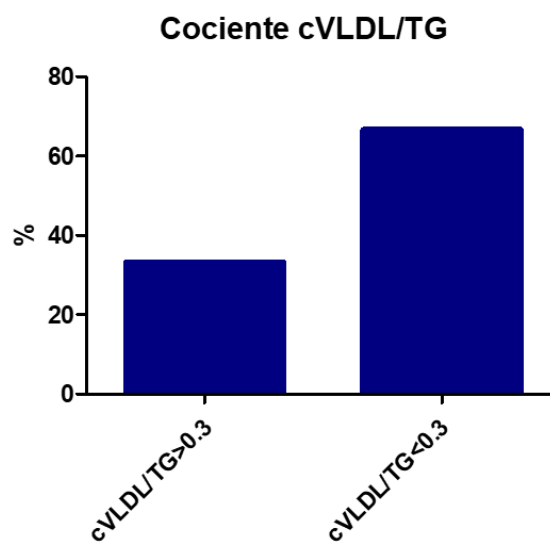


Figura 60. Porcentaje de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia según cociente cVLDL/TG

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sexo	F	F	F	M	M	M	M	M	F
Edad	44	91	78	60	74	48	63	52	12
Fenotipo	E2/E2	E2/E3	E2/E2	E3/E3	E3/E3	E3/E3	E2/E3	E4/E4	E3/E4
cVLDL/TG	0.31	0.34	0.47	0.27	0.2	0.2	0.202	0.16	0.2

Tabla 35. Descripción población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

El 12,5% de los casos índices a los que se les había determinado la concentración de cLDL presentaron concentraciones superiores a los 200 mg/dl, el 44.4% presentó concentraciones de triglicéridos entre los 300 y los 800 mg/dl y el 22.2% presentó concentraciones de triglicéridos superiores a los 800 mg/dl. De forma similar, el 88.9% de los pacientes presentó concentraciones de cVLDL entre los 31-300 mg/dl y un 11.1% presentó concentraciones superiores a los 300 mg/dl.

El 62.5% de los pacientes presentó concentraciones de cHDL inferiores a los 40 mg/dl. El 50% de los pacientes con determinación de la concentración de Lp(a) presentó concentraciones superiores a los 50 mg/dl.

De los pacientes con cocientes $cVLDL/TG > 0.3$, el 33.3% presentó concentraciones de $cLDL > 200$ mg/dl, el 33.3% presentó concentraciones de triglicéridos entre 300-500 mg/dl y el 33.3% superiores a 800 mg/dl. El 66.7% presentó concentraciones de cVLDL entre 100-200 mg/dl y el 33.3% superiores a los 200 mg/dl. El 33.3% de los pacientes presentaba concentraciones de $cHDL < 40$ mg/dl y el 33.3% concentraciones de Lp(a) entre 30-50 mg/dl (ninguno presentó concentraciones de Lp(a) > 50 mg/dl).

Los parámetros analíticos determinados (Tabla 36) son comparados con los rangos del cociente $cVLDL/TG$ en la Figura 61.

Parámetro Lipídico (mg/dl)	cVLDL/TG < 0.3 (%)	cVLDL / TG > 0.3 (%)
cLDL < 200 (N=7)	100	0,0
cLDL > 200 (N=1)	28,6	71,4
TG= 150-300 (N=3)	66,7	33,3
TG = 300-500 (N=3)	66,7	33,3
TG = 500-800 (N=1)	100,0	0,0
TG >800 (N=2)	50,0	50,0
cVLDL= 30-100 (N=4)	100,0	0,0
cVLDL= 101-200 (N=3)	33,3	66,7
cVLDL= 201-300 (N=1)	0,0	100,0
cVLDL>300 (N=1)	100,0	0,0
cHDL <40 (N=5)	80,0	20,0
cHDL >40 (N=3)	33,3	66,7
Lp(a)<30 (N=3)	33,3	66,7
Lp(a) = 31-50 (N=1)	0,0	100,0
Lp(a) = 51-80 (N=1)	100,0	0,0
Lp(a)>80 (N=1)	100,0	0,0

Tabla 36. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia en función del cociente cVLDL/TG

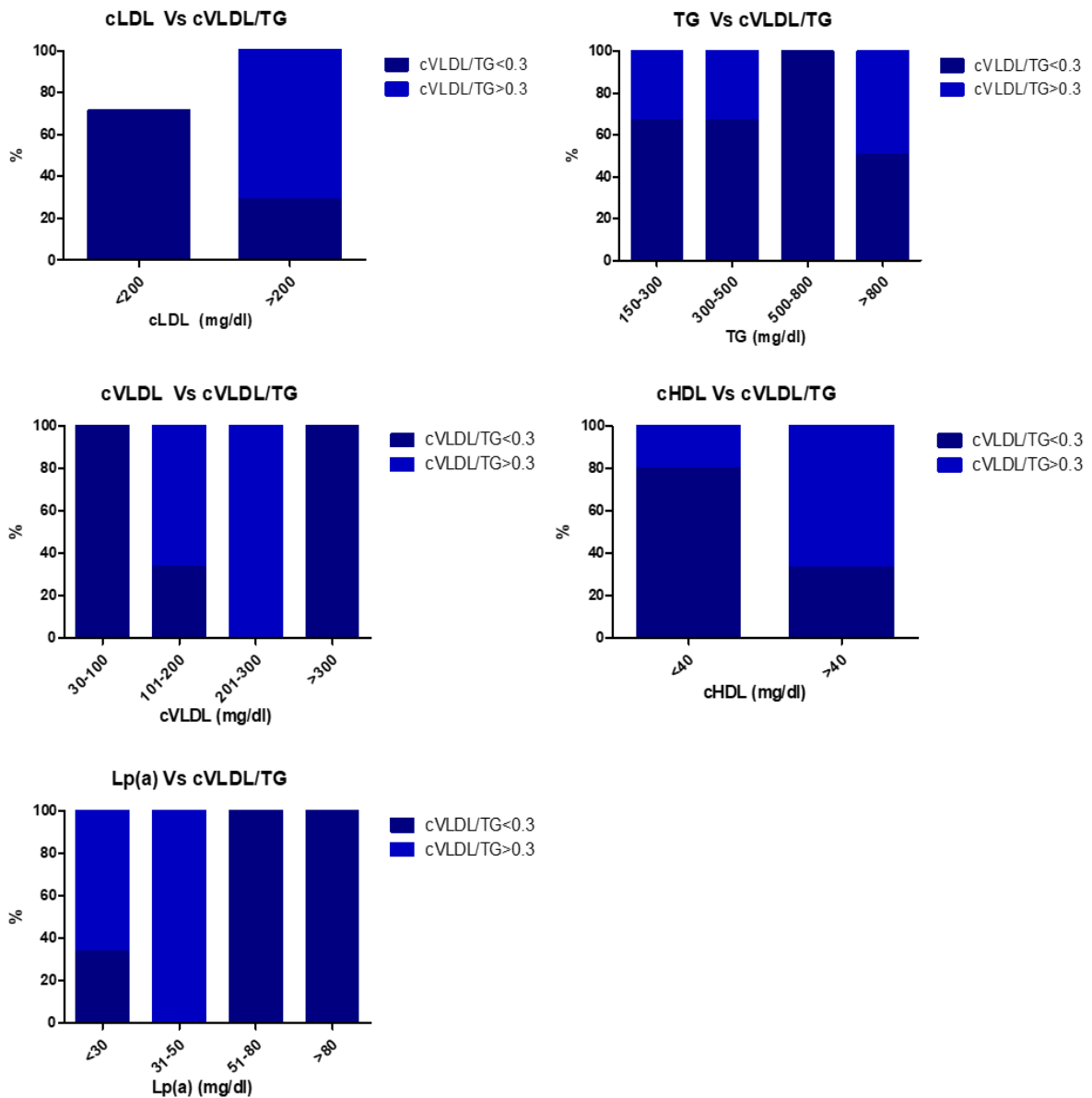


Figura 61. Influencia de concentración de parámetros lipídicos y cociente cVLDL/TG en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

4.1.2. ESTUDIOS GENÉTICOS:

A todos los pacientes se les solicitaron estudios genéticos para determinar las isoformas de la APOE. Con ellos se determinó que el 22.2% (N=2) presentaba el fenotipo E2/E2, característico de disbetalipoproteinemia, un 22.2% (N=2) presentó el fenotipo E2/E3, el 33.3% (N=3) el fenotipo E3/E3 característico de la población normal y un 11.1% (N=1)

presentaron los fenotipos E3/E4 y E4/E4 respectivamente, cuya isoforma E4 se encuentra relacionada con una mayor predisposición a desarrollar Alzheimer (Figura 62).

Resultados Estudios Genéticos APOE

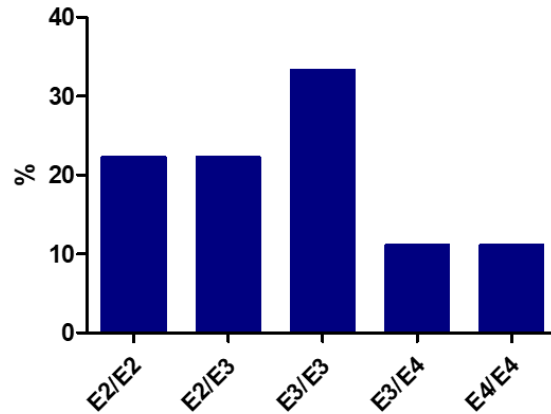


Figura 62. Resultados genéticos genotipo APOE casos índice

Observamos que el 100% de los pacientes con fenotipo E2/E2 (N=2) obtuvieron un cociente cVLDL/TG>0.3 cuando se encontraba sin tratamiento. El 50% de los pacientes con fenotipo E2/E3 (N=2) presentaron ese mismo cociente con valores superiores o iguales a 0.3, ninguno de los pacientes con fenotipo E3/E3 presentó un cociente cVLDL/TG>0.3 pero si superior a 0.21. De forma similar, ninguno de los pacientes con fenotipos E3/E4 y E4/E4 presentaron el cociente cVLDL/TG>0.3 a pesar de ser superior a 0.21. Los factores de riesgo cardiovascular en relación con los fenotipos son expresados en la Figura 63.

Fenotipo Vs Factores de RCV

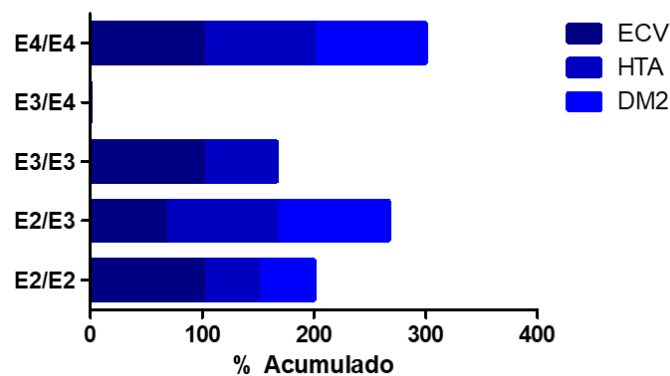


Figura 63. Relación entre genotipo APOE y factores de RCV

El 100% de los pacientes con fenotipo E2/E2 (N=2), E3/E3 (N=3), E4/E4 (N=1) había sufrido eventos cardiovasculares prematuros, así como el 66.7% de los pacientes con fenotipo E2/E3 (N=2). Tanto la HTA como la DM2 se encontraban presentes en todos los fenotipos, a excepción del paciente con fenotipo E3/E4, en un 50% para el fenotipo E2/E2, en el 100% de los pacientes con fenotipo E2/E3 y E4/E4 y un 66.7% de los pacientes con fenotipo E3/E3 tan sólo presentaba HTA.

Los fenotipos fueron comparados con los parámetros lipídicos obtenidos (Figura 64 y Tabla 37):

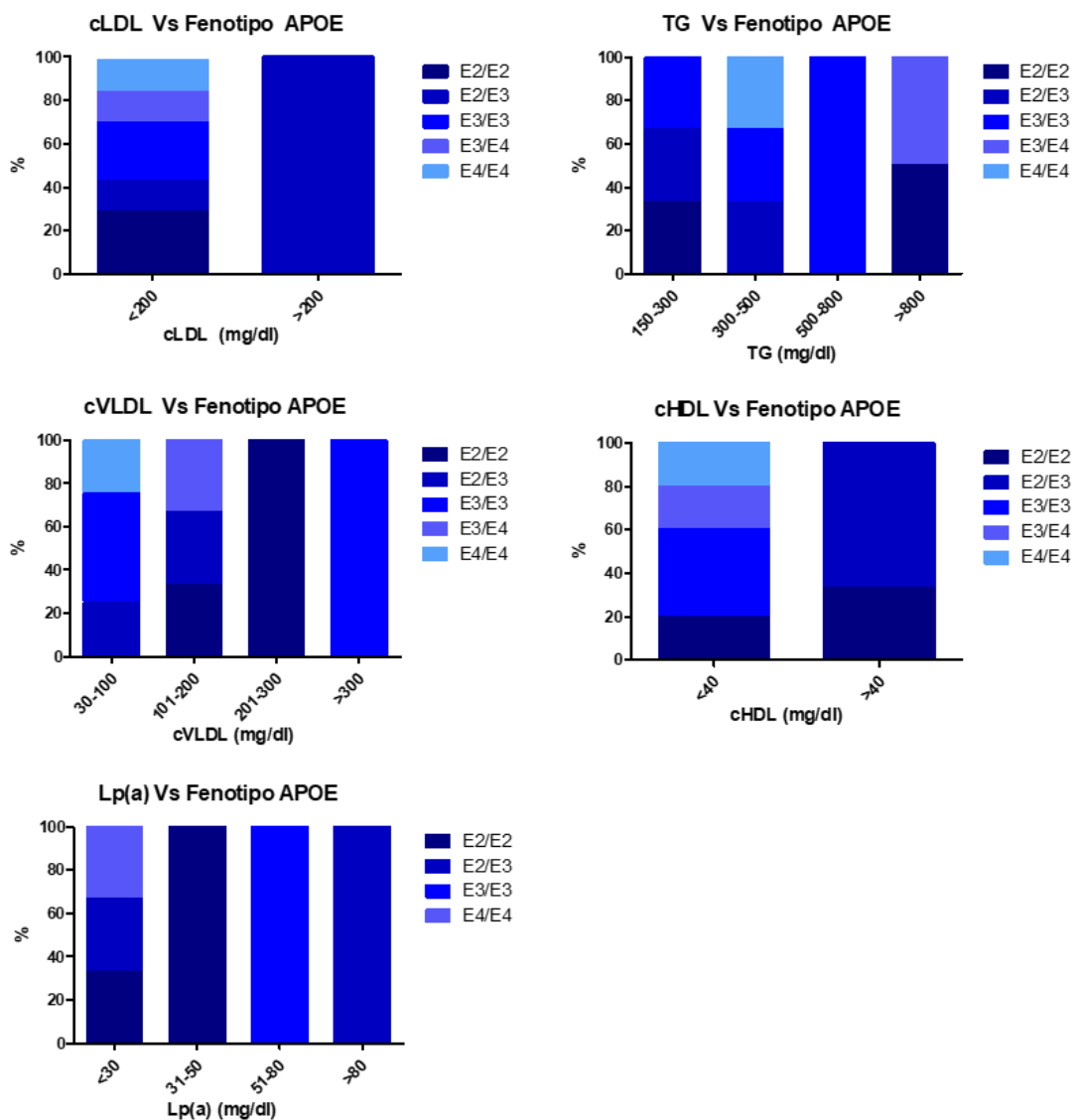


Figura 64. Influencia del fenotipo de APOE en los parámetros lipídicos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

Parámetro Lipídico (mg/dl)	E2/E2	E2/E3	E3/E3	E3/E4	E4/E4
cLDL < 200 (N=7)	28,6	14,3	26,8	14,3	14,3
cLDL > 200 (N=1)	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
TG= 150-300 (N=3)	33,3	33,3	33,3	0,	0,0
TG = 300-500 (N=3)	0,0	33,3	33,3	0,	33,3
TG = 500-800 (N=1)	0,0	0,0	100,0	0,	0,0
TG >800 (N=2)	50,0	0,0	0,0	50,	0,0
cVLDL= 30-100 (N=4)	0,0	25,0	50,0	0,0	25,
cVLDL= 101-200 (N=3)	33,3	33,3	0,0	33,3	0,
cVLDL= 201-300 (N=1)	100,0	0,0	0,0	0,0	0,
cVLDL>300 (N=1)	0,0	0,0	100,0	0,0	0,
cHDL <40 (N=5)	20,0	0,0	40,	20,	20,
cHDL >40 (N=3)	33,3	66,7	0,	0,	0,
Lp(a)<30 (N=3)	33,3	33,3	0,	33,3	33,3
Lp(a) = 31-50 (N=1)	100,0	0,0	0,	0,0	100,0
Lp(a) = 51-80 (N=1)	0,0	0,0	100	0,0	0,0
Lp(a)>80 (N=1)	100	0.0	0.0	0.0	0.0

Tabla 37. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en función del fenotipo en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia

4.1.3. COMPARATIVA DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

A pesar de que el cociente más descrito por la bibliografía y considerado como el *gold standard* para la detección de disbetalipoproteinemia es $cVLDL/TG > 0.3$, a todos los casos índice se les ha realizado un cálculo de otros cocientes o algoritmos diagnósticos descritos previamente para la detección de disbetalipoproteinemia familiar, como lo son el cociente $TG/cHDL > 2$, el algoritmo $(TG > 200 + CT/APOB > 2.4 + TG/APOB < 8.85)$ y el cociente $cNHDL/APOB > 4.91$.

El 33.3% (N=3) de los pacientes presentaba un cociente $cVLDL/TG > 0.3$, de los cuales, tan sólo un 66.67% (N=2) presentó el fenotipo E2/E2 característico de la disbetalipoproteinemia familiar.

El 88.8% de los pacientes a los que se les pudo calcular el cociente TG/cHDL (N=8), obtuvieron valores del cociente superiores a 2, de los cuales, tan solo el 25% (N=2) presentó el fenotipo E2/E2.

De los pacientes a los que se les pudo determinar el algoritmo (N=5) TG>200, CT/APOB>2.4 y CT/APOB<8.85, tan sólo el 40% (N=2) cumplían las tres condiciones diagnósticas de disbetalipoproteinemia, de los cuales el 20% de pacientes (N=1) presentó el fenotipo E2/E2, por lo que sólo se captó al 50% de los pacientes (N=1) con fenotipo E2/E2.

Al aplicar el cociente cNHDL/APOB a los pacientes con determinaciones que lo permitían (N=6), un único paciente que adquirió valores superiores a 4.91, de manera que sólo captó al 50% de los pacientes con fenotipo E2/E2.

Se estableció la relación entre fenotipos E2/E2 y cocientes y algoritmos diagnósticos para la detección de disbetalipoproteinemia (Figura 65 y Tabla 38).

Fenotipo Vs Cocientes y Algoritmo Diagnóstico

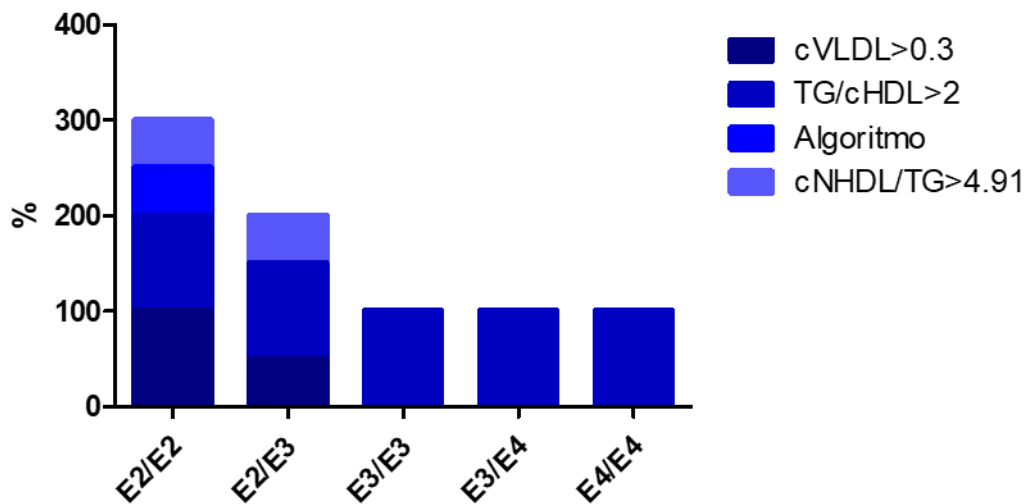


Figura 65. Captación de pacientes en función de fenotipo y cocientes y algoritmos diagnósticos

	cVLDL/TG>0.3 (N=9)	TG/cHDL>2 (N=8)	Algoritmo (TG>200+ CT/APOB>2.4+CT/APOB<8.85 (N=5)	cNHDL/TG>4.91 (N=6)
E2/E2	66.7% (N=2)	25% (N=2)	50% (N=1)	100% (N=1)
E2/E3	33.3% (N=1)	25% (N=2)	50% (N=1)	0%
E3/E3	0%	25% (N=2)	0%	0%
E3/E4	0%	12.5% (N=1)	0%	0%
E4/E4	0%	12.5% (N=1)	0%	0%
Total	100	100	100	100

Tabla 38. Porcentaje de pacientes clasificados según fenotipo que cumplen criterios bioquímicos de disbetalipoproteinemia familiar

Determinamos la especificidad (E) y la sensibilidad (S) de los cocientes para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano y para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo respectivamente.

$$E = \frac{VP}{VP+FN}$$

$$S = \frac{VN}{VN+FP}$$

VP = Verdadero Positivo; FN = Falso Negativo; VN = Verdadero Negativo; FP = Falso Positivo

Determinamos el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) para determinar la proporción de individuos con prueba positiva que presentan la enfermedad y la proporción de individuos con prueba negativa que no presentan la enfermedad.

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP}$$

$$VPN = \frac{FN}{FN+VN}$$

Determinamos los cocientes de probabilidad para test positivo (CPP) y (CPN) para determinar cuanto es más probable obtener un positivo en un enfermo que en un sano y cuanto es más probable obtener un negativo en un enfermo que en un sano respectivamente.

$$CPP = \frac{S}{1-E}$$

$$CPN = \frac{1-S}{E}$$

Determinamos la prevalencia (P) del fenotipo E2/E2 en nuestros casos índice teniendo en cuenta el número de casos de la población de estudio con la enfermedad dividido por el número total de individuos de la población:

$$P = \frac{VP+FN}{VP+FP+FN+VN}$$

Teniendo en cuenta la prevalencia, podemos calcular la incidencia, es decir, la determinación del número de individuos que contraen la enfermedad en un periodo específico. Por ello, determinamos las posibilidades (odds) preprueba y posprueba.

$$\text{Odds Preprueba} = \frac{P}{1-P}$$

Odds Posprueba = Odds Preprueba x razón de verosimilitud

$$\text{Probabilidad posprueba} = \frac{\text{Odds Posprueba}}{\text{Odds Posprueba}+1}$$

Los resultados de las determinaciones mencionadas anteriormente se representan en la Tabla 39.

	cVLDL/TG>0.3 (N=9)	TG/cHDL>2 (N=8)	Algoritmo (N=5)	cNHDL/APOB (N=6)
Sensibilidad (S)	1 (100%)	1 (100%)	0.5 (50%)	0.5 (50%)
Especificidad (E)	0.86 (86%)	0%	0.67 (67%)	0.1 (10%)
Prevalencia (P)	0.22	0.25	0.4	0.33
VPP	0.67 (67%)	0.25 (25%)	0.5 (50%)	1 (100%)
VPN	1 (100%)	--	0.67 (67%)	0.8 (80%)
CPP	7.14	1	1.52	--
CPN	0	--	0.75	0.5
Prior Odds	0.29	0.33	0.67	0.5
Probabilidad Pre-Test	0.22 (22%)	0.25 (25%)	0.4 (40%)	0.33 (33%)
Post Odds +	2.04	0.33	1.01	--
Probabilidad Post Test +	0.67 (67%)	0.25 (25%)	0.5 (50%)	--
Post Odds -	0	0	0.45	0.33
Probabilidad Post Test -	0 (0%)	0 (0%)	0.31 (31%)	0.25(25%)

Tabla 39. Valoración de cocientes y algoritmos para la detección de disbetalipoproteinemia

4.2. CRIBADO EN CASCADA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

4.2.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:

A lo largo del estudio se realizó un cribado en cascada a los familiares (N= 33) de casos índice con fenotipo E2/E2 y E2/E3, de los cuales un 45.5% eran hombres y un 54.5% mujeres. La edad media de la población era de 38 ± 21 años.

El 3% se encontraban diagnosticados de DM2, el 22.4% presentaba HTA, un 21.2% eran obesos y un 12.1% (N=4) presentaba antecedentes de ECV prematura (Figura 66), de los cuales, un 25% había sufrido un IAM, un 50% CI y un 25% accidente cerebrovascular. Un 6.1% presentaba un consumo tabáquico habitual y un 3% eran exfumadores.

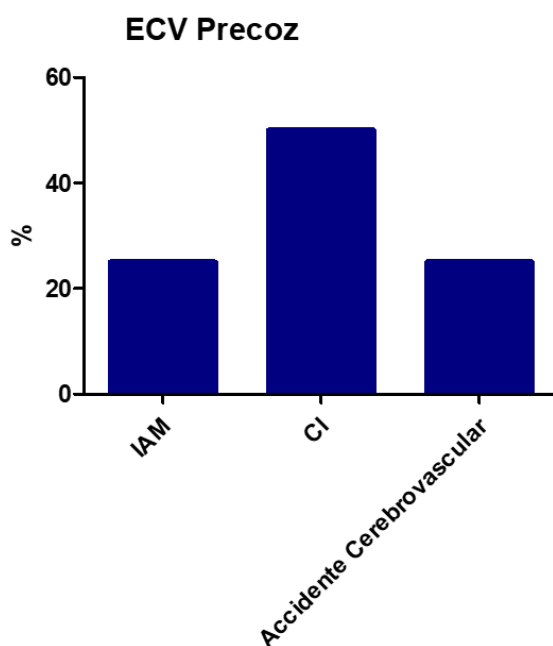


Figura 66. Distribución de eventos cardiovasculares en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

El 78.8% de los pacientes se encontraba sin tratamiento hipolemiante.

Los pacientes captados a través de analítica presentaban la siguiente distribución de parámetros lipídicos representados en la Figura 67 y la Tabla 40:

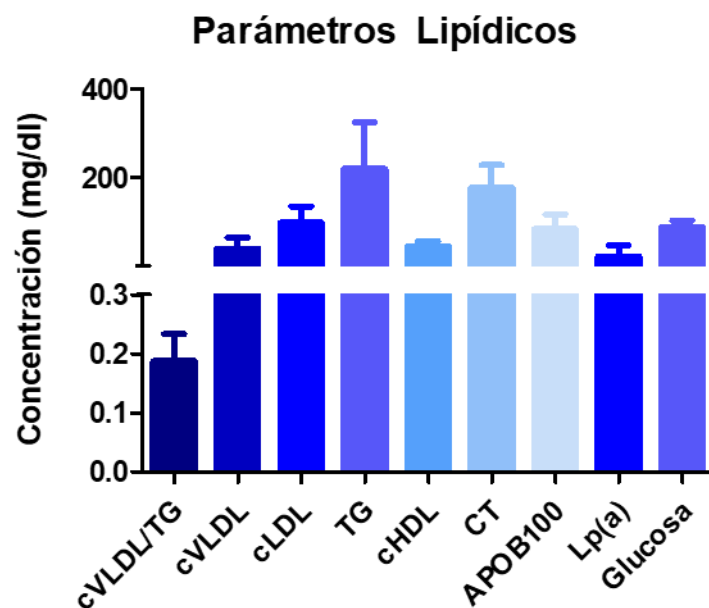


Figura 67. Parámetros bioquímicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

Parámetros Lipídico	Media (mg/dl)	SD (mg/dl)
cVLDL/TG (N=29)	0,187	0,046
cVLDL (N=29)	39,66	25,06
cLDL (N=32)	98,53	36,81
TG (N=33)	219,8	105,6
cHDL (N=32)	44,88	10,97
CT (N=33)	177,5	50,83
APOB100 (N=28)	84,00	32,49
Lp(a) (N=24)	22,42	25,12
Glucosa (N=25)	88,52	14,64

Tabla 40. Concentración media parámetros bioquímicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

El 65.5% de los familiares presentaron cocientes cVLDL inferiores a 0.2, el 27.6% presentó valores del cociente entre 0.2-0.25 y tan sólo el 6.9% presentó valores de cVLDL/TG>0.3 (Figura 68).

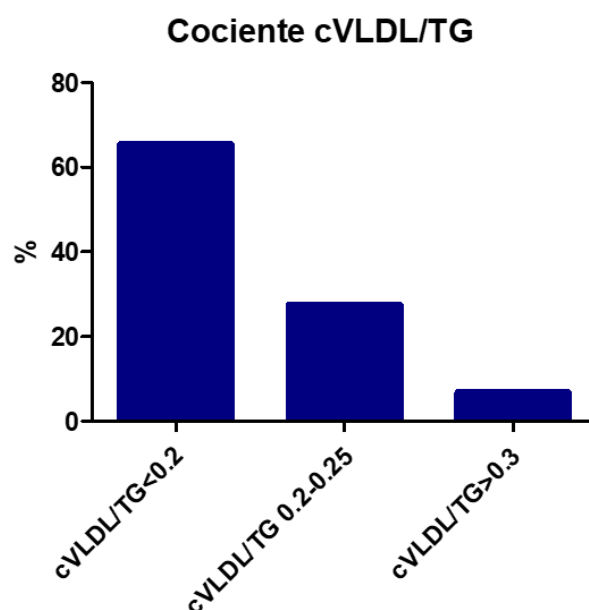


Figura 68. Porcentaje de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia en familiares según cociente cVLDL/TG

El 3% de los casos índices a los que se les había determinado la concentración de cLDL presentaban concentraciones superiores a los 200 mg/dl, el 12.1% presentaba concentraciones de triglicéridos entre los 300 y los 500 mg/dl y el 3% presentaba concentraciones de triglicéridos con concentraciones entre 500-800 mg/dl. De forma similar, el 51.7% de los pacientes presentaba concentraciones de cVLDL entre los 30-100 mg/dl y un 3.4% presentaba concentraciones entre 100-300 mg/dl.

El 37.5% de los pacientes presentaba concentraciones de cHDL inferiores a los 40 mg/dl. El 12.5% de los pacientes con determinación de la concentración de Lp(a) presentaba concentraciones superiores a los 50 mg/dl.

De los pacientes con cocientes cVLDL/TG > 0.3, el 33.3% presentaba concentraciones de cLDL > 200 mg/dl, el 33.3% presentaba concentraciones de triglicéridos entre 300-500 mg/dl y el 33.3% superiores a 800 mg/dl. El 66.7% presentaba concentraciones de cVLDL entre 100-200 mg/dl y el 33.3% superiores a los 200 mg/dl. El 33.3% de los pacientes presentaba concentraciones de cHDL < 40 mg/dl, el 8.3% concentraciones de Lp(a) entre 30-50 mg/dl y entre 50-80 mg/dl y el 4.2% presentaron concentraciones de Lp(a) superiores a 80 mg/dl.

Los parámetros analíticos determinados (Tabla 41) son comparados con los rangos del cociente cVLDL/TG en la Figura 69.

Parámetro Lipídico (mg/dl)	cVLDL/TG < 0.2 (%)	cVLDL / TG 0.2-0.25 (%)	cVLDL/TG > 0.3 (%)
cLDL < 200 (N=29)	65,5	27,6	6,9
cLDL > 200 (N=0)	0	0	0
TG= 150-300 (N=11)	45,5	54,5	0,0
TG = 300-500 (N=14)	85,7	7,1	7,1
TG = 500-800 (N=3)	33,3	33,3	33,3
TG >800 (N=1)	100,0	0,0	0,0
cVLDL= 30-100 (N=13)	53,8	46,2	0,0
cVLDL= 101-200 (N=15)	73,3	13,3	13,3
cVLDL= 201-300 (N=1)	100,0	0,0	0,0
cHDL <40 (N=9)	55,6	33,3	11,1
cHDL >40 (N=20)	70,0	25,0	5,0
Lp(a)<30 (N=18)	66,7	22,2	11,1
Lp(a) = 31-50 (N=1)	100,0	0,0	0,0
Lp(a) = 51-80 (N=2)	100,0	0,0	0,0
Lp(a)>80 (N=1)	100,0	0,0	0,0

Tabla 41. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia en función del cociente cVLDL/TG

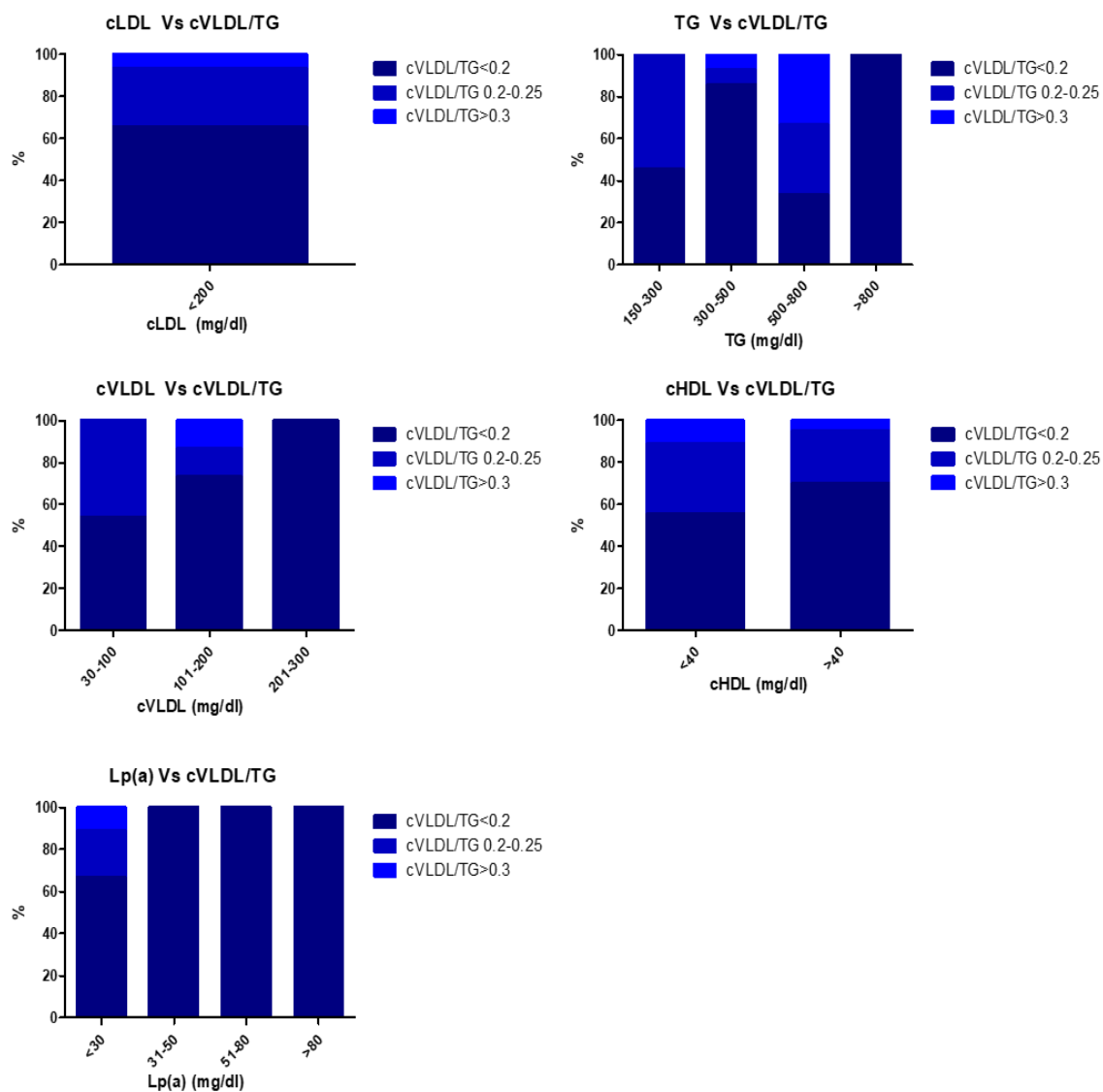


Figura 69. Influencia de concentración de parámetros lipídicos y cociente cVLDL/TG en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

4.2.2. ESTUDIOS GENÉTICOS:

A todos los pacientes se le solicitaron estudios genéticos para determinar las isoformas de la APOE. Con ellos se determinó que el 21.2% (N=7) presentaba el fenotipo E2/E2, característico de disbetalipoproteinemia, un 60.6% (N=20) presentó el fenotipo E2/E3 y el 18.3% (N=6) el fenotipo E3/E3 característico de la población normal (Figura 70).

Resultados Estudios Genéticos APOE

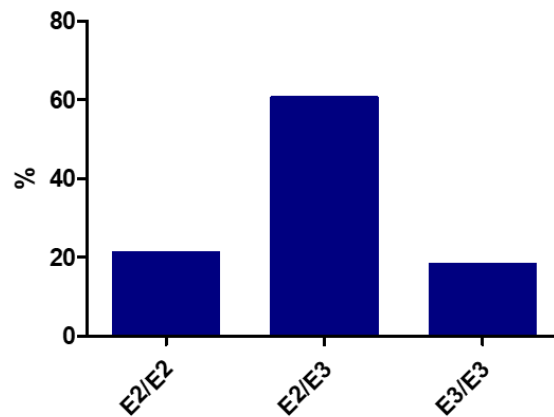


Figura 70. Resultados genéticos genotipo APOE familiares

Se observó que el 14.3% de los pacientes con fenotipo E2/E2 (N=1) y el 6.3% de los pacientes con fenotipo E2/E3 (N=1) obtuvieron un cociente cVLDL/TG entre 0.25-0.3 cuando se encontraba bajo tratamiento. El 14.3% de los pacientes con fenotipo E2/E2, el 31.3% de los pacientes con fenotipo E2/E3 y el 33.3% de los pacientes con fenotipo E3/E3 presentaron el cociente cVLDL/TG entre 0.2-0.25. El resto, presentaron cocientes inferiores a 0.2 (Figura 71).

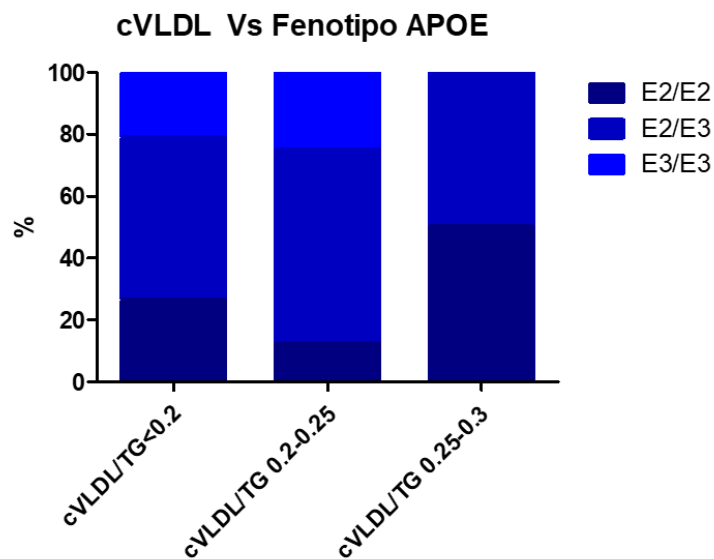


Figura 71. Relación cociente cVLDL/TG y fenotipo APOE en familiares

Los factores de riesgo cardiovascular en relación con los fenotipos se expresan en la Figura 72.

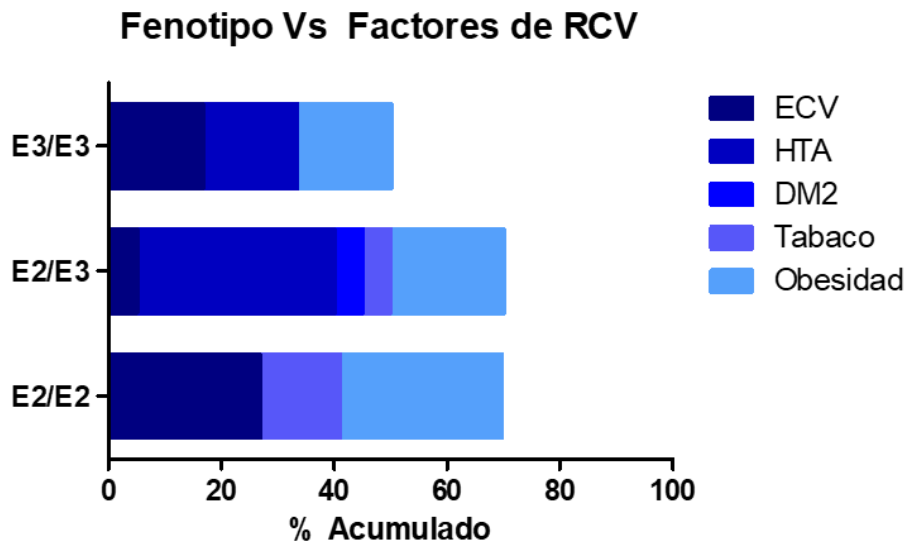


Figura 72. Relación entre genotipo APOE y factores de RCV en familiares

El 28.6% de los pacientes con fenotipo E2/E2 (N=2), el 5% de los pacientes con fenotipo E2/E3 (N=1) y el 16.7% de los pacientes con fenotipo E3/E3 (N=1) había sufrido eventos cardiovasculares prematuros. El 28.6% de los pacientes con fenotipo E2/E2 y el 20% de los pacientes con fenotipo E2/E3 eran obesos. Tanto la HTA como la DM2 se encontraron presentes en el fenotipo E2/E3 con un 35% y 5% respectivamente, a excepción de los pacientes con fenotipo E2/E2 que no presentaba ninguno de los factores de riesgo mencionados. El 16.7% de los pacientes con fenotipo E2/E3 eran HTA pero no presentaban DM2.

Los fenotipos fueron comparados con los parámetros lipídicos obtenidos mediante la Tabla 42 y la Figura 73.

Parámetro Lipídico (mg/dl)	E2/E2 (%)	E2/E3 (%)	E3/E3 (%)
cLDL < 200 (N=7)	21,9	59,4	18,8
TG= 150-300 (N=11)	18,2	63,6	18,2
TG = 300-500 (N=17)	17,6	64,7	17,6
TG = 500-800 (N=4)	25,0	50,0	25,0
TG >800 (N=1)	100,0	0,0	0,0
cVLDL= 30-100 (N=13)	15,4	69,2	15,4
cVLDL= 101-200 (N=15)	26,7	46,7	26,7
cVLDL= 201-300 (N=1)	100,0	0,0	0,0
cHDL <40 (N=12)	25,0	66,7	8,3
cHDL >40 (N=20)	20,0	55,0	25,0
Lp(a)<30 (N=19)	21,1	63,2	15,8
Lp(a) = 31-50 (N=2)	0,0	100,0	0,0
Lp(a) = 51-80 (N=2)	0,0	50,0	50,0
Lp(a)>80 (N=1)	0,0	0,0	100,0

Tabla 42. Distribución porcentual de parámetros lipídicos por rangos en función del fenotipo en familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia

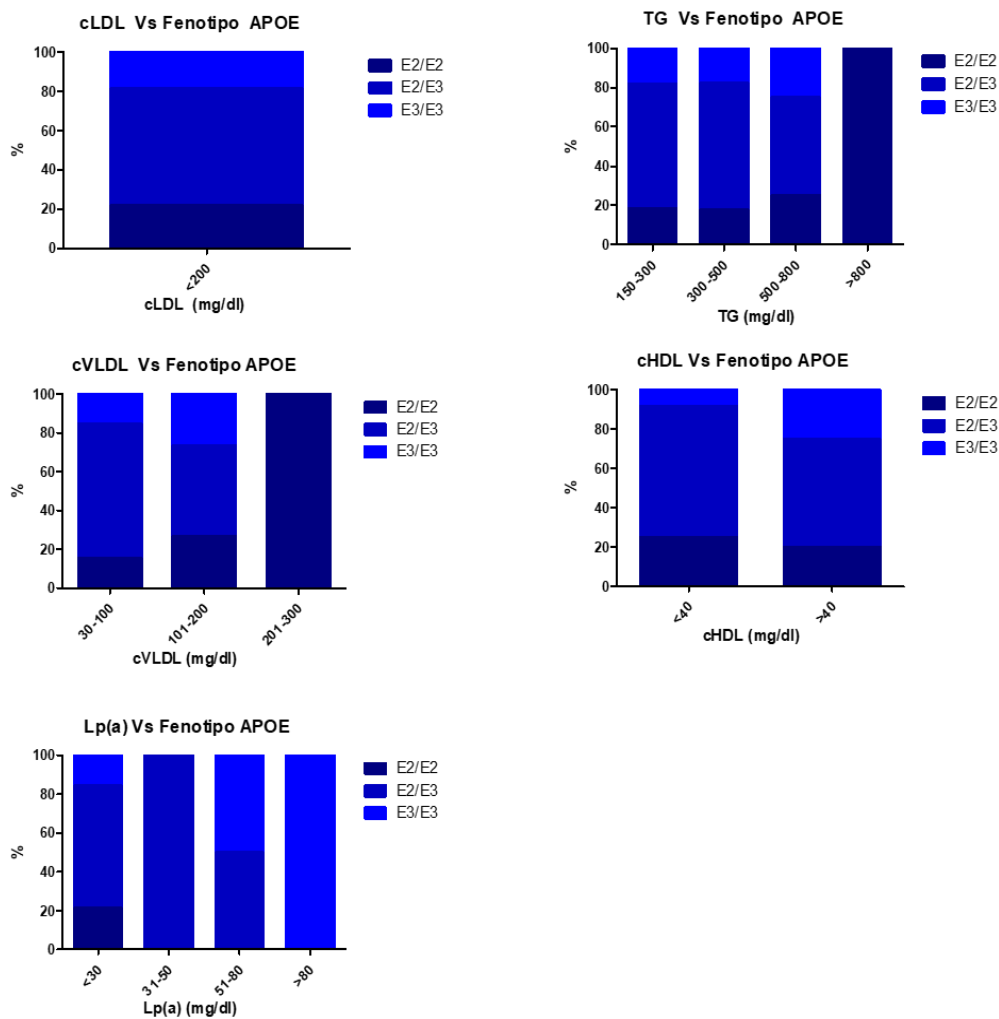


Figura 73. Influencia del fenotipo de APOE en los parámetros lipídicos familiares con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar

4.2.3. COMPARATIVA DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUIMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

Al igual que a los casos índice, a todos los familiares se les ha realizado un cálculo de otros cocientes o algoritmos diagnósticos descritos previamente para la detección de disbetalipoproteinemia familiar, como lo son el cociente $TG/cHDL > 2$, el algoritmo $(TG > 200 + CT/APOB > 2.4 + TG/APOB < 8.85)$ y el cociente $cNHDL/APOB > 4.91$.

El 6.9% (N=2) de los pacientes presentaba un cociente cVLDL/TG entre 0.25-0.3, de los cuales, el sólo un 50% (N=1) presentó el fenotipo E2/E2 característico de la disbetalipoproteinemia familiar.

El 96.9% de los pacientes (N=32) a los que se les pudo calcular el cociente TG/cHDL, obtuvieron valores del cociente superiores a 2, de los cuales, tan solo el 22.6% (N=7) presentó el fenotipo E2/E2.

El 16.6% de los pacientes (N=3) a los que se les pudo calcular el algoritmo (N=18) TG>200, CT/APOB>2.4 y CT/APOB<8.85, cumplían las tres condiciones diagnósticas de disbetalipoproteinemia, de los cuales, a tan solo el 66.7% de pacientes (N=2) presentaba el fenotipo E2/E2, por lo que sólo se captó al 100% de los pacientes con fenotipo E2/E2, además de un paciente con fenotipo E2/E3.

Al aplicar el cociente cNHDL/APOB a los pacientes con determinaciones que lo permitían (N=28), ningún paciente que adquirió valores superiores a 4.91, de manera que no se captó a ninguno de los pacientes con fenotipo E2/E2.

Establecemos la relación entre fenotipos E2/E2 y cocientes y algoritmos diagnósticos para la detección de disbetalipoproteinemia (Figura 74 y Tabla 43):

Fenotipo Vs Cocientes y Algoritmo Diagnóstico

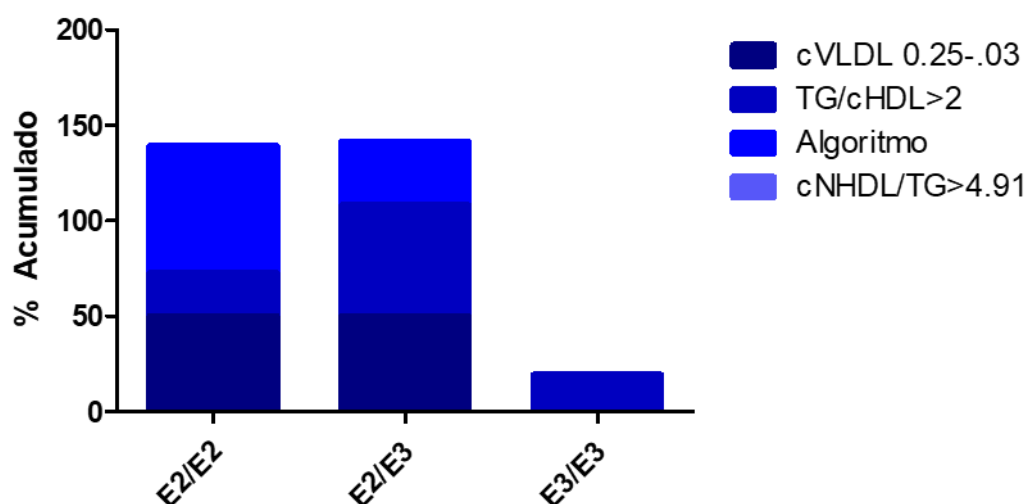


Figura 74. Captación de familiares con sospecha de disbetalipoproteinemias en función de fenotipo y cocientes y algoritmos diagnósticos

	cVLDL/TG 0.25-0.3 (N=2)	TG/cHDL>2 (N=32)	Algoritmo (TG>200+ CT/APOB>2.4+CT/APOB<8.85 (N=3)	cNHDL/TG>4.91 (N=0)
E2/E2	50% (N=1)	22.6% (N=7)	66.7% (N=2)	0% (N=0)
E2/E3	50% (N=1)	58.1% (N=18)	33.3% (N=1)	0% (N=0)
E3/E3	0% (N=0)	19.4% (N=6)	0% (N=0)	0% (N=0)
Total	100	100	100	0

Tabla 43. Porcentaje de familiares clasificados según fenotipo que cumplen criterios bioquímicos de disbetalipoproteinemia familiar

Al igual que para los casos índice, valoraremos los cocientes empleados para la captación de pacientes con disbetalipoproteinemia familiar, para ello determinamos la especificidad (E) y la sensibilidad (S) de los cocientes para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano y para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo respectivamente. El valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) para determinar la proporción de individuos con prueba positiva que presentan la enfermedad y la proporción de individuos con prueba negativa que no presentan la enfermedad. Los cocientes de probabilidad para test positivo (CPP) y (CPN) para determinar cuanto es más probable obtener un positivo en un enfermo que en un sano y cuanto es más probable obtener un negativo en un enfermo que en un sano respectivamente. La prevalencia (P) del fenotipo E2/E2 en nuestros casos índice teniendo en cuenta el número de casos de la población de estudio con la enfermedad dividido por el número total de individuos de la población. Y determinaremos el número de individuos que contraen la enfermedad en un periodo específico. Por ello, determinamos las posibilidades (odds) preprueba y posprueba.

Se emplearán todas las fórmulas expresadas en el apartado anterior para realizar los cálculos pertinentes.

Los resultados de las determinaciones mencionadas anteriormente se representan en la Tabla 44.

	cVLDL/TG>0.3 (N=29)	TG/cHDL>2 (N=32)	Algoritmo (N=18)	cNHDL/APOB (N=28)
Sensibilidad (S)	0%	1 (100%)	1 (100%)	0%
Especificidad (E)	1 (100%)	0%	0.94 (94%)	1 (100%)
Prevalencia (P)	0.07	0.06	0.11	0.07
VPP	--	0.06 (6%)	0.67 (67%)	--
VPN	0.93 (93%)	--	1	0.93 (93%)
CPP	--	1	100	--
CPN	1	--	16.67	1
Prior Odds	0.07	0.07	0.13	0.08
Probabilidad Pre-Test	0.07 (7%)	0.07 (7%)	0.12 (12%)	0.07 (7%)
Post Odds +	--	0.07	2.08	--
Probabilidad Post Test +	--	0.07 (7%)	0.68 (68%)	--
Post Odds -	0.93	--	0	0.93
Probabilidad Post Test -	0.48 (48%)	--	0 (0%)	0.48 (48%)

Tabla 44. Valoración de cocientes y algoritmos para la detección de disbetalipoproteinemia en familiares

4.2.4. ÁRBOLES GENEALÓGICOS:

Se han realizado dos árboles genealógicos de las familias más numerosas con determinación genética de las isoformas de la APOE para la detección de disbetalipoproteinemia familiar (Figuras 75 y 76).

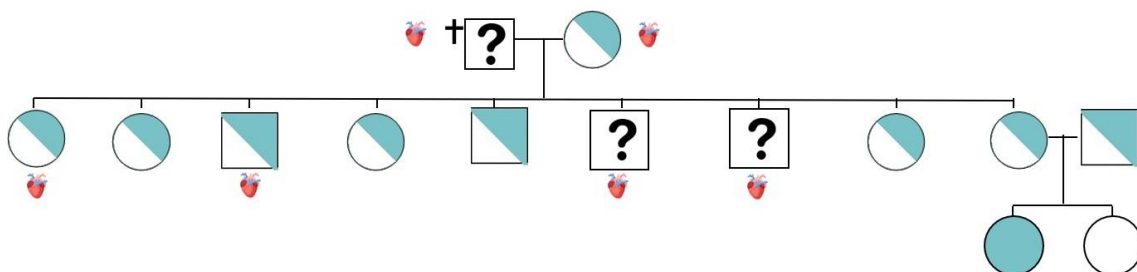


Figura 75. Familia 1 con disbetalipoproteinemia

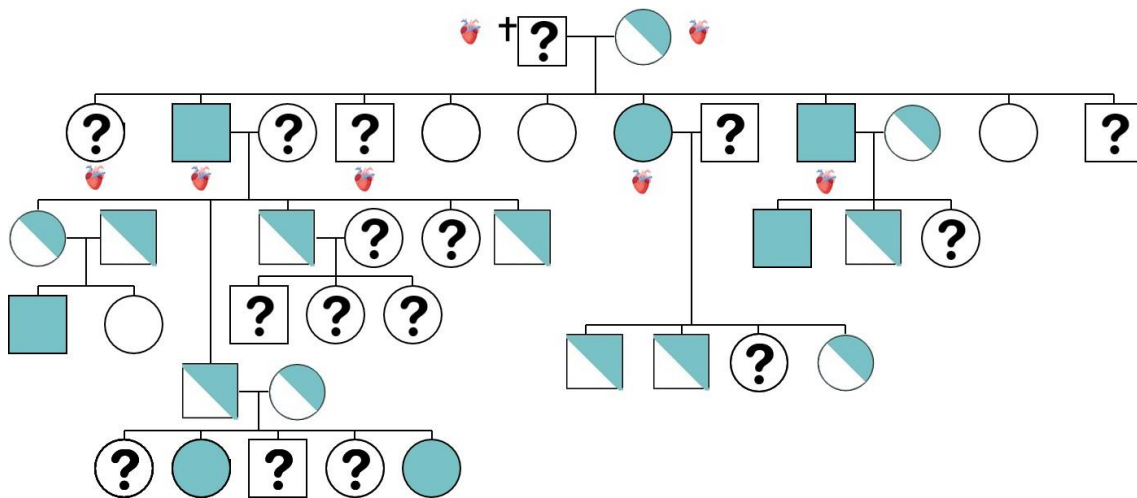


Figura 76. Familia 2 con disbetalipoproteinemia

5. HIPERQUILOMICRONEMIA:

Los resultados obtenidos de la población captada con sospecha de hiperquilomicronemia familiar son expresados a continuación.

5.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN:

Se captó una población índice (N=12) donde el 75% eran mujeres y el 25% hombres con una edad media de 52 ± 8 años que presentaban concentraciones de triglicéridos superiores a 885 mg/dl en al menos dos ocasiones acompañadas de concentraciones de ApoB-100 inferiores a 100 mg/dl.

Esta población se caracterizaba por una serie factores de riesgo ya que el 50% presentaban HTA, el 25% eran diabéticos tipo 2, el 8% había sufrido un evento cardiovascular no prematuro, además de que el 33% consumía alcohol, el 17% eran exconsumidores de alcohol, el 25% presentaban un consumo tabáquico habitual y el 17% eran exfumadores.

Además dos pacientes habían sufrido pancreatitis, uno de ellos un único evento a los 44 años y otro dos eventos, transcurriendo el primero de ellos a los 35 años. Tan sólo un

único paciente sufría de dolor abdominal sin manifestar eventos de pancreatitis presentando el primer episodio a los 40 años.

Los pacientes se caracterizaban por presentar las siguientes concentraciones medias de parámetros lipídicos representados en la Tabla 45 donde se han tenido en cuenta las concentraciones de triglicéridos máximas y mínimas obtenidas en las últimas analíticas.

Parámetros (mg/dl)	TG	TG _{min}	TG _{máx}	CT	cLDL	cHDL	Glucemia
Media	1802.2	654.66	2330.9	302.4	54.33	24.0	115.2
SD	896.15	672.16	1409.2	108.93	30.38	13.0	66.42

Tabla 45. Parámetros lipídicos población con sospecha de hiperquilomicronemia

El 58.3% de los pacientes se encontraba bajo tratamiento con fibratos, el 41.66% recibía estatinas, el 33.3% ezetimiba y el 16.6% se trataba con ácidos omega 3.

5.2. DETERMINACIÓN DE LOS COCIENTES TG/CT Y TG(QM)/TG(VLDL) Y ANÁLISIS GENÉTICO:

A todos los pacientes se les realizó la determinación a través del procedimiento de ultracentrifugación mencionado en la metodología, el cociente TG(QM)/TG(VLDL), el cociente TG/CT y un análisis genético a través de muestras sanguíneas con independencia del resultado del cociente.

Los resultados representados en la Tabla 46 representan los valores obtenidos tanto de los cocientes como de los análisis genéticos donde se puede observar como tan solo el 58.33% presentaba valores superiores a 4.5 en el cociente TG(QM)/TG(VLDL) característicos de la población con hiperquilomicronemia familiar, de los cuales dos pacientes (16.66%) obtuvieron diagnóstico positivo para el síndrome de hiperquilomicronemia familiar: dos mutaciones patogénicas en heterocigosis en el gen LPL y una en homocigosis en el gen APOA5 respectivamente. Uno de los pacientes (8.33%) con cociente TG(QM)/TG(VLDL) < 4.5 presentó también una mutación en el gen

APOA5 en heterocigosis, causante de la hipertrigliceridemia. El resto de pacientes no presentaron mutaciones en ninguno de los genes analizado.

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
TG (mg/dl)	1.029	3.063	933	1.726	1.626	1.722	2.122	1.401	3.565	--	542	2.095
TG_{min} (mg/dl)	832	260	280	127	121	638	154	1.401	2.371	180	542	950
TG_{máx} (mg/dl)	1.029	3.063	933	1.726	1.951	1.722	2.122	2.145	3.565	6.128	1.492	2.095
TG/CT	5.74	6.06	3.66	6.29	5.03	5.04	6.44	4.54	8.97	-	-	18.53
TG(QM)/TG(VLDL)	3,2	16,9	3,9	1,6	5,2	0,6	20,6	8,6	13,7	33,2	2,6	4.9
Gen mutación	APOA5	-	-	-	-	-	-	-	LPL	-	-	APOA5

Tabla 46. Cocientes y genética hiperquilomicronemia

Las variantes genéticas obtenidas en los dos pacientes se caracterizaban por presentar las siguientes características expresadas en la Tabla 47:

Nº Paciente	1	9	12
Gen Mutación	APOA5	LPL	APOA5
Id	rs777046568	rs372668179; No registrada	rs774150500
Cambio ADN	c.427delC	c.590G>A; c.680T>G	c.990_993delAACA
Cambio proteína	p.Arg143AlafsTer57	p.Arg197His; p.Val227Gly	p.Asp332ValfsTer5
Exón	4/4	5	4/4
Interpretación	Patogénica	Patogénica	Patogénica probable
Genotipo	Heterocigosis	Heterocigosis	Homocigosis

Tabla 47. Variantes genéticas en pacientes positivos síndrome hiperquilomicronemia

5.3. VALORACIÓN DEL COCIENTE TG/CT Y TG(QM)/TG(VLDL) PARA LA DETECCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE HIPERQUILOMICRONEMIA:

Al igual que para la detección de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia, valoraremos la capacidad del cociente TG/CT > 5 y el cociente TG(QM)/TG(VLDL) > 4.5 para la detección de pacientes con hiperquilomicronemia familiar, para ello

determinamos la especificidad (E) y la sensibilidad (S) del cociente para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano y para determinar la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo respectivamente. El valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) para determinar la proporción de individuos con prueba positiva que presentan la enfermedad y la proporción de individuos con prueba negativa que no presentan la enfermedad. Los cocientes de probabilidad para test positivo (CPP) y (CPN) para determinar cuanto es más probable obtener un positivo en un enfermo que en un sano y cuanto es más probable obtener un negativo en un enfermo que en un sano respectivamente. La prevalencia (P) de este trastorno lipídico en nuestros casos índice teniendo en cuenta el número de casos de la población de estudio con la enfermedad dividido por el número total de individuos de la población. Y determinaremos el número de individuos que contraen la enfermedad en un periodo específico. Por ello, determinamos las posibilidades (odds) preprueba y posprueba.

Se emplearán para ello todas las fórmulas expresadas en el apartado anterior para realizar los cálculos pertinentes.

Los resultados de las determinaciones mencionadas anteriormente se representan en la Tabla 48.

	TG/CT > 5 (N=10)	TG(QM)/TG(VLDL)>4.5 (N=6)
Sensibilidad (S)	0.6 (60%)	1 (100%)
Especificidad (E)	0%	0.44 (44%)
Prevalencia (P)	0.42	0.18
VPP	0.3 (30%)	0.29 (29%)
VPN	0 (0%)	1 (100%)
CPP	0.6	1.79
CPN	0	0
Prior Odds	0.71	0.22
Probabilidad Pre-Test	0.42 (42%)	0.18 (18%)
Post Odds +	0.43	0.4
Probabilidad Post Test +	0.3 (30%)	0.29 (29%)
Post Odds -	0	0
Probabilidad Post Test -	0 (0%)	0 (0%)

Tabla 48. Valoración de los cocientes para la captación de pacientes con síndrome de hiperquilomicronemia

Discusión de resultados

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajo se basa en remarcar la potencial implicación del laboratorio clínico de bioquímica a la hora de captar pacientes y ofrecer al clínico diferentes orientaciones diagnósticas de dislipemias con posible origen genético. Por ello se ha centrado el estudio en la captación activa y precoz de pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar, disbetalipoproteinemia familiar e hiperquilomicronemia.

1. VALORACIÓN DE LA IMPLICACIÓN DEL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES CON DISLIPEMIAS:

Actualmente se está fomentando con mayor ímpetu la ejecución de programas de cribado para la detección de diferentes tipos de dislipemias en numerosas áreas de salud debido a que ese esfuerzo realizado es compensado por los beneficios de salud de los pacientes y a la reducción de posibles eventos cardiovasculares.

Este hecho es llevado a cabo por asociaciones como La Fundación para la Hipercolesterolemia Familiar y la Federación Mundial del Corazón ya que han incentivado este tipo de cribados al hacer una llamada de acción global para la detección de pacientes con HF en más de 40 países, facilitando una serie de recomendaciones y pautas a seguir (194).

A pesar de ello, no todos los desórdenes del metabolismo lipídico son tan conocidos como la HF, por lo que se encuentran en mayor medida en el olvido. Ejemplo de ellos son la disbetalipoproteinemia familiar y la hiperquilomicronemia familiar.

La realización de cribados universales ya han sido evaluados económicamente y requieren la inversión de mucho capital por lo que se deben buscar alternativas de menor coste que estén al alcance de todas las áreas sanitarias para su implementación (258).

Los laboratorios de bioquímica han sido considerados como un servicio integral para la prestación de servicios a todos los niveles (251) y por ende, deben considerarse como un recurso disponible de fácil acceso que debe aprovecharse para realizar tareas adicionales como cribados de patologías lipídicas.

Por consiguiente, en Australia se evaluó la viabilidad de la comunidad de laboratorios para la detección de pacientes con HF mediante un cribado oportunista debido a que es en el laboratorio donde se realizan todas las determinaciones de lípidos y el acceso a esos resultados lo posee el analista del mismo. A pesar de ello, su estudio concluyó con que tan sólo el establecimiento de un punto de corte en la concentración de cLDL es insuficiente para la captación de casos índice con sospecha de HF debido a la presencia de causas secundarias, poniendo de manifiesto el requerimiento de un método más eficaz para asegurar su detección y su remisión a una atención más especializada (243). En 2014 se realizó también en Australia un cribado para pacientes con HF en el que se excluían a los niños, a través de las bases de datos de los laboratorios hospitalarios y en las de atención primaria en conjunción con los clínicos especialistas en lípidos y los médicos de cabecera, donde el analista de laboratorio se encargaba del contacto con los pacientes y a los cuales se les realizaron estudios genéticos, detectando con mayor eficacia pacientes con diagnóstico genético positivo aquellos que procedían de las bases de datos del laboratorio (268).

No fue hasta 2019, de nuevo en Australia, cuando se evaluó la viabilidad del laboratorio de un hospital de tercer nivel para la identificación de individuos con HF, donde se establecieron puntos de corte en las concentraciones de cLDL para la captación de pacientes y una serie de alertas analíticas para que el clínico revisara las historias clínicas o los derivara a un clínico especialista, descartara aquellos que presentaban causas secundarias y aplicara la Puntuación de las Clínicas Holandesas, demostrando la eficacia de este tipo de cribados a través del laboratorio (258) a pesar de observarse la ausencia de estudios genéticos.

El establecimiento de comentarios en las analíticas de pacientes en función de las concentraciones obtenidas y la ampliación de parámetros analíticos que sirven para guiar a los clínicos en el diagnóstico de patologías lipídicas, se ha implementado en numerosos hospitales (258, 261). Acción que es representativa de la mejora que ha conllevado en el Hospital Virgen Macarena la implementación de algoritmos informáticos en el actual SIL, el cual realiza ampliaciones automáticas en las determinaciones de cLDL, APOB100, Lp(a) y del cociente cLDL/APOB entre otros parámetros. Esto ha supuesto un incremento del 36% del número de determinaciones

de cLDL y APOB100 y del 20% las de Lp(a) respecto a 2017 (cuando se mantenía vigente el anterior SIL), hecho que ha ayudado a evaluar el riesgo cardiovascular de los pacientes y a caracterizar las dislipemias de los mismos según las últimas recomendaciones consensuadas entre la European Atherosclerosis Society (EAS) y LA European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) (269) y en consecuencia, a detectar a pacientes dislipémicos con concentraciones de cLDL muy superiores a los rangos de normalidad entre otros. Según el estudio CAMARGUE (CARDiac MARKer Guideline Uptake in Europe) (270), cuyo objetivo se ha basado en determinar a través de una encuesta la monitorización de implementación de recomendaciones sobre el uso de pruebas y biomarcadores para la evaluación del riesgo cardiovascular, tanto en prevención primaria como secundaria debido a la mala implementación de las actuales guías clínicas en las últimas décadas basándose en la no consecución de objetivos terapéuticos, determinó que no existe una armonización de los perfiles lipídicos en la mayoría de laboratorios de diferentes países, por lo que esta clase de recomendaciones deberían tenerse en cuenta en un futuro a nivel mundial para poder realizar cribados poblacionales de dislipemias.

Sin embargo, es recomendable tener al alcance la posibilidad de realizar estudios genéticos que confirmen las patologías para la cual existe una sospecha clínica a ser posible en el mismo hospital, hecho que vuelve a incidir en el papel crucial que desempeña el laboratorio clínico en la atención continua del paciente en hospitales de tercer nivel (262).

En el estudio desarrollado en el presente trabajo se ha realizado un cribado oportunista ampliando horizontes desde el laboratorio clínico de tres patologías lipídicas de origen genético de las cuales una es muy prevalente y conocida, la HF, y donde otras dos son descritas como enfermedades raras de baja prevalencia y, en consecuencia, poco conocidas como la disbetalipoproteinemia y la hiperquilomicronemia familiar.

Este cribado ha cubierto las limitaciones descritas en los anteriores estudios estableciendo una metodología de trabajo basada en la revisión de analíticas rutinarias en las que se determinan los parámetros analíticos según las recomendaciones de las últimas guías clínicas tanto en adultos como en niños (269) a través de los cuales se han descartado posibles causas de origen secundario como gestaciones y patologías

tiroideas entre otras, que continúan encontrándose de forma muy prevalente en los pacientes con sospecha de HF, ya que suelen descartarse un promedio de 22.13% de pacientes con concentraciones de cLDL \geq 250 mg/dl anualmente; por lo que el papel del analista de laboratorio es fundamental para agilizar el descarte de este tipo de pacientes.

Además de implementar en este estudio una serie de comentarios y de alertas en las analíticas en aquellos pacientes con posible sospecha clínica de dislipemia de origen genético, la oferta de la posibilidad de realizar teleconsultas entre el laboratorio y los clínicos como ya se ha realizado en otros estudios de cribado (271) que ha conllevado el hacer posible una derivación prioritaria a la Unidad de Lípidos por parte del médico de cabecera como directamente de parte del laboratorio, fomentándose la correcta derivación del paciente, la posible individualización de su tratamiento al encontrarse bajo la supervisión de un clínico especialista en trastornos lipídicos y se ha aumentando la posibilidad, en función de cumplir criterios diagnósticos, de realizar al paciente un estudio genético. Este tipo de metodología mediante contacto telefónico constante con los diferentes clínicos pertenecientes al área hospitalaria (255) y su revisión de historias clínicas como en el estudio SEARCH (272) se han valorado previamente como efectivos a la hora de incrementar la tasa de detección de pacientes.

La combinación de estrategias de búsqueda de pacientes a través del laboratorio y el establecimiento de alertas en conjunción con el cribado desde atención primaria y el diagnóstico clínico ya han sido considerados como esenciales para mejorar la asistencia sanitaria (273) no existiendo actualmente estudios que valoren el papel que presenta el laboratorio hospitalario a la hora de captar pacientes con disbetalipoproteinemia e hiperquilomicronemia familiar. A pesar de ello, el esfuerzo realizado en este trabajo por el analista de laboratorio y los clínicos de la Unidad de Lípidos y en otros hospitales, por los clínicos, no es representativo del número de pacientes que finalmente es derivado a consulta, ya que se han derivado un promedio de un 13% de los pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar debido a la falta de tiempo por parte del analista para contactar con los pacientes y del clínico para incorporar a semejante volumen de pacientes a su práctica clínica habitual y en menor proporción, a la reticencia en ciertos casos por parte del mismo paciente para acudir a la consulta con el especialista.

2. POBLACIÓN CON SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR:

2.1. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS LIPÍDICOS PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES Y DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE RIESGO VASCULAR:

Los pacientes que padecen de HF se caracterizan por presentar concentraciones de cLDL muy elevadas que no suelen estar acompañadas de concentraciones superiores de triglicéridos y en algunos casos presentan signos clínicos como xantomas, xantelasmas y arco corneal. Es por ello por lo que normalmente estos pacientes suelen ser captados a través de la determinación de parámetros analíticos y para lo cual, es muy útil establecer una serie de criterios en los mismos para ayudar a diferenciarlos de otro tipo de patologías.

En la actualidad no existe un consenso ni un método estandarizado establecido para la captación de pacientes tanto adultos como niños con HF. En Europa predominan los cribados en cascada aunque el principal reto se encuentra en la detección de casos índice, ya que aunque para los adultos existan criterios como la Puntuación de las Clínicas Holandesas, estos no son aplicables para la detección de niños, por lo que la colaboración entre especialistas en lípidos es fundamental para su captación (274).

El criterio instaurado por la puntuación de las Clínicas Holandesas se basa fundamentalmente en el establecimiento de una serie de rangos en las concentraciones de cLDL y otra serie de parámetros (117), de manera que concentraciones de cLDL entre 250-329 mg/dl proporciona 5 puntos, que fácilmente ascienden a un total de 6 cuando el caso índice posea un familiar con concentraciones de cLDL > 210 mg/dl, obteniendo en consecuencia un diagnóstico de probable HF.

En la práctica habitual los criterios para la derivación de pacientes con sospecha de HF son muy variables.

Determinadas agencias sanitarias recomiendan derivar pacientes con concentraciones de CT > 345 mg/dl y cNoHDL > 290 mg/dl (275), sin embargo en el estudio FAMCAT (260) el punto de corte lo establecen en una concentración de cLDL \geq 290 mg/dl.

A pesar de ello, no todos los estudios ni todas las sociedades científicas establecen puntos de corte tan elevados en las concentraciones de cLDL para la captación de pacientes con HF, como la Sociedad Española de Arteriosclerosis, cuyo criterio de derivación son concentraciones de cLDL > 200 mg/dl acompañadas de concentraciones de Lpa elevadas (254); o como el estudio realizado en Catania, en el Hospital Garibaldi (276), donde se realizó un screening en una población de 1575 pacientes a los cuales se les aplicó como criterios de inclusión el presentar concentraciones de cLDL > 190 mg/dl en adultos y superiores a 160 mg/dl en niños acompañadas en ambas poblaciones de concentraciones de triglicéridos < 200 mg/dl. De la población total tan sólo 125 pacientes cumplían criterios, de los cuales, después de descartar aquellos que presentaban una hipercolesterolemia secundaria, 56 pacientes continuaban cumpliendo criterios por lo que se les realizó un estudio genético, obteniendo un diagnóstico positivo para la HF 26 de ellos. En este estudio se observó que aquellos pacientes que presentaban concentraciones de cLDL < 251 mg/dl se encontraban mayoritariamente en el grupo que había obtenido un diagnóstico genético negativo para la HF y que la mayor parte de los pacientes con concentraciones de cLDL > 250 mg/dl habían obtenido un diagnóstico genético positivo y una puntuación igual o superior a 6 en la Puntuación de las Clínicas Holandesas.

En este estudio hemos tenido en cuenta la importancia que presenta el establecimiento de un punto de corte en las concentración de cLDL y la puntuación obtenida en la escala de puntos de las Clínicas Holandesas para la detección de pacientes con HF en atención primaria, con la cual hemos intentado asegurarnos de obtener una mayor captación de pacientes, siendo la mínima concentración de cLDL obtenida en pacientes adultos sin tratamiento de 250 mg/dl ya que la concentración media de los casos índice de nuestra muestra era de 259.68 ± 56.44 mg/dl.

La población índice captada a lo largo del estudio por sospecha de HF se ha caracterizado además por la presencia de numerosos factores de riesgo vascular clásicos como HTA, DM2, consumo tabáquico habitual y antecedentes personales o familiares de enfermedad cardiovascular ya expresados en otros estudios (277, 278), es por ello por lo que se trata de una población de pacientes considerados de muy alto riesgo vascular en la que se reúne al menos un potencial factor de riesgo vascular (la concentración de

cLDL) que no ha sido controlado en la mayor parte de su vida y a la que se le suman otros factores de riesgo que fomentan un incremento de la probabilidad de sufrir un evento cardiovascular prematuro o no.

A los factores de riesgo vascular prematuros hay que añadir un posible mayor riesgo asociado a parámetros bioquímicos determinados en las analíticas como son la presencia de partículas de LDL pequeñas y densas calculadas por el cociente cLDL/ApoB100, la baja concentración de cHDL y la elevada concentración de Lp(a), cuyas concentraciones elevadas presentan un papel potencialmente aterogénico (279, 280). Estos factores se han vistos reflejados en la población con sospecha de HF, ya que el 31.6% de los pacientes que aportaban determinaciones del cociente cLDL/ApoB100, presentaron un cociente inferior a 1.3, característico de las partículas de LDL pequeñas y densas. El 14.5% de la población se caracterizó por la presencia de concentraciones de cHDL inferiores a los 40 mg/dl y el 56% presentó concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl, concentración que presentaba una fuerte asociación con ECV realizado en una cohorte holandesa (281). Siendo la concentración media de Lp(a) en nuestra población de 60.64 ± 43.42 mg/dl. Estos resultados no se asimilan a los obtenidos en el estudio SAFEHEART (168) donde se observa que el 30% de la población de estudio con HF presentaba concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl, por lo que nuestra población presenta un potencial factor de RCV en una mayor proporción.

En la actualidad se observa una escasez de datos publicados sobre parámetros analíticos en Andalucía. El estudio más reciente, publicado en 1999, es el estudio DRECA (Dieta y Riesgos de Enfermedades Cardiovasculares en Andalucía) (282), desarrollado con el objetivo de detectar los principales factores de riesgo cardiovascular de la Comunidad Autónoma y los parámetros bioquímicos, antropométricos y dietéticos asociados a ECV precoz. Este estudio propuso varios puntos de corte para la detección de hipercolesterolemia, donde concentraciones de cLDL < 130mg/dl se consideraban deseable, concentraciones de cLDL entre 130 y 159 mg/dl las clasificaban como límite y superiores a 160 mg/dl, muy altas. Dicho estudio concluyó con que el 30.9% de los pacientes con HTA, el 30.7% de los pacientes que presentaban tabaquismo y el 30.2% de los pacientes con obesidad presentaban concentraciones de cLDL > 240 mg/dl a pesar de que la prevalencia de CI era muy baja, por lo que la instauración de cribados rutinarios

como el realizado en este estudio ayudarían a actualizar las intervenciones preventivas de este tipo de pacientes con tan elevado RCV.

2.2. DERIVACIÓN PRIORITARIA, TRATAMIENTO HIPOLEMIANTE Y OBJETIVOS TERAPÉUTICOS:

El 59.4% de la población índice a la que se hace referencia en la presente discusión se encontraba sin ningún tipo de tratamiento hipolipemiente a pesar de encontrarse en presencia de concentraciones de cLDL muy elevadas y a expensas de poseer o no, uno o más factores de riesgo vascular. Y tan sólo un 5.3% se encontraba bajo tratamiento hipolipemiente de alta intensidad sin llegar a objetivos terapéuticos, entre los que se incluye en la mayoría de los casos la combinación de estatinas a dosis altas con ezetimiba. Estos datos son representativos del Sistema Sanitario Español ya que en el estudio ENRICA (283) realizado durante 2008-2010 en 11.554 individuos de la población española, tan solo el 41% de los pacientes se encontraba recibiendo tratamiento hipolemiante y de los cuales, el 13.2% se encontraba con concentraciones de cLDL adecuadas según las guías para la práctica clínica.

La insuficiencia de un tratamiento adecuado para cada paciente con sospecha de HF puede encontrarse asociada a la inercia terapéutica atribuible según estudios, a la actitud del paciente y del médico por insuficiencia de información, al desconocimiento de las guías clínicas, a la infrautilización de tratamientos, a un déficit de acuerdo en las recomendaciones, a la falta de formación por parte del clínico para llevar a cabo las recomendaciones, a las diferentes perfecciones por parte del clínico en función de su experiencia (284) y a la organización del sistema sanitario (285) en el cual no se ha estandarizado un procedimiento que dificulta la implementación de recomendaciones, a la falta de recursos o a su mala distribución en el mismo, a la falta de trabajo en equipo y alta rotación de clínicos. A todo ello se le suman aquellas limitaciones propias de las guías para la práctica clínica que, en ocasiones, son poco prácticas y cuya implementación conlleva asociado un elevado coste económico (286).

Estos déficits podrían solventarse o disminuirse mediante la implantación de medidas como la promoción de una formación continuada, establecer con claridad los objetivos terapéuticos de cada paciente, realizar auditorías internas, fomentar la divulgación de las actuales guías de práctica clínica para el manejo de dislipemias, mejorar la relación

entablada entre el médico y los pacientes (287) y al establecimiento de teleconsultas con el laboratorio y la posible derivación a la unidad de lípidos como se ha realizado en el presente trabajo.

Tras pasar por la una primera consulta clínica con el especialista a los pacientes se les modificó el tratamiento hipolipemiente, de manera que al 22.1% se les intensificó el tratamiento a dosis altas y al 43.5% a dosis muy altas en función de las recomendaciones establecidas por la actual guía para la práctica clínica (146) entre los cuales predomina la combinación de estatinas a dosis altas o muy altas en combinación con ezetimiba y en algunos casos, la prescripción de anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 en combinación de estatinas y/o ezetimiba, cuyo uso implica tanto reducciones en la concentración de cLDL como de Lp(a) (288). El empleo de dosis altas de estatinas con ezetimiba y de anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 ha conllevado que el 72.4% y el 51.8% de los pacientes que se realizaron analítica control con tratamiento a dosis altas y muy altas respectivamente, alcance los objetivos terapéuticos establecidos por la actual guía para la práctica clínica. Este alcance de objetivos no se ha logrado en la totalidad de los pacientes debido a la falta de adherencia al tratamiento por parte del paciente a la hora de tomar el tratamiento o por la aparición de efectos secundarios derivados del mismo como mialgias y miopatías, asociados en su mayoría a las altas dosis de estatinas y en menos casos al uso de ezetimiba. Incluso en algunos de los pacientes que se encontraban recibiendo anticuerpos monoclonales anti-PCSK9, el paciente describió efectos secundarios de secreción nasal y nasofaringitis descritos por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios asociados a los mismos (289, 290).

Es por ello, por lo que la falta de adherencia o baja persistencia al tratamiento por la presencia de factores secundarios ya descritos en numerosos estudios (291-295) es otro de los factores, que junto con la inercia terapéutica, conllevan la presencia de pacientes en el sistema sanitario con concentraciones de cLDL muy elevadas.

La prescripción de estatinas a dosis altas o muy altas no implica que las LDL de cada paciente modifiquen su tamaño, ya que de los pacientes que se realizaron una analítica control, el 84.2% presentaba partículas de LDL pequeñas y densas determinadas a través del cociente cLDL/ApoB. Este no es un factor a tener en cuenta en las actuales guías clínicas para el manejo de dislipemias (146) a la hora de estimar el riesgo cardiovascular

que presenta el paciente, pero que quizás se debería tener en cuenta su presencia debido a que el paciente suele presentar otros factores de riesgo como la edad, el sexo, la HTA, la DM2 y/o tabaquismo, potenciadores de la posible aparición de un evento cardiovascular (296).

La Lp(a) es otro de los factores de riesgo posiblemente modificables bajo tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 cuya concentración no está descrito que disminuya con el uso de estatinas. La concentración media de los pacientes que se realizaron analítica control en este estudio disminuyó de 54.31 ± 41.31 mg/dl a 49.18 ± 50.14 mg/dl, esta leve variación se debe asociar en su mayoría al empleo de anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 en determinados pacientes contrastado en los estudios Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Patients with Elevated Risk (FOURIER) (297) y ODYSSEY ESCAPE (298).

A pesar de ello, el 53.3% de los pacientes ha continuado con concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl, siendo esta concentración a partir de la cuál se considera la Lp(a) un potencial factor de riesgo cardiovascular. Concentraciones elevadas de Lp(a) se han establecido como características de la población con sospecha de HF (99).

2.3. ESTUDIOS GENÉTICOS:

Se realizaron estudios genéticos en aquellos pacientes índice que presentaban una mayor probabilidad de obtener un resultado positivo en función de su concentración de cLDL y de los antecedentes tanto personales como familiares de dislipemia y ECV precoz y a la presencia de signos clínicos característicos de la HF como son el arco corneal, los xantomas tendinosos y los xantelasmas, para lo cual se aplicó la Puntuación de las Clínicas Holandesas (114).

A pesar de que el 41% de los pacientes a los que se les realizó el estudio genético para la confirmación de HF obtuvieron un diagnóstico de certeza para la HF aplicando la escala de las Clínicas Holandesas, tan sólo un 50% obtuvo un resultado genético positivo, el resto de pacientes presentó mutaciones de significado clínico incierto o obtuvieron un resultado negativo para la HF y la hipercolesterolemia poligénica. Este hecho se encuentra asociado a que a día de hoy existen numerosas mutaciones asociadas a los genes que producen la HF de los cuales no se han realizado estudios cualitativos y que

no se encuentran descritos y/o que existe la posibilidad de que la HF sea producida por genes que aún no han sido investigados que promueven tan sólo una detección clínica del 60-80% de los casos (299). También puede ser un desencadenante la hipercolesterolemia de origen poligénico causada por la acumulación de SNP que provocan un incremento de la concentración de LDL y a limitaciones en los análisis genéticos, lo que puede conllevar asociado una situación de confusión e incertidumbre para el paciente (300, 301).

Sin embargo, el haberse realizado un estudio genético con independencia del resultado puede conllevar que el paciente mejore su estilo de vida y a que reflexionen sobre el comportamiento que han tenido hasta ahora y el que deben tener en el futuro (302). Las mutaciones de significado clínico incierto suponen la presencia de una alteración genética en uno de los genes asociados con la HF, cuya implicación no se encuentra aceptada aún por toda la comunidad, por lo que debería confirmarse la segregación familiar de esa mutación en varios miembros y analizar las características de esta población para intentar confirmar este hecho (303).

El 38% y el 18% de los pacientes obtuvieron un diagnóstico de probable y posible HF respectivamente según la Puntuación de las Clínicas Holandesas, de los cuales, un 46% y un 15% obtuvieron resultados positivos, un 18% y un 46% un presentaron mutaciones de significado clínico incierto y un 36% y un 39% un resultado genético negativo para la HF respectivamente. Es por ello por lo que la Puntuación de las Clínicas Holandesas puede considerarse como un método diagnóstico limitado en ocasiones, sobre todo en los diagnósticos de posible y probable HF, debido a la detección de falsos positivos y falsos negativos, a que la presencia de xantomas tendinosos está disminuyendo su prevalencia a pesar de que no existen estudios que lo demuestran, lo que conllevaría una disminución de su valor predictivo (303), a la dificultad para acceder al historial clínico de los familiares (304), a que los familiares afectados estén recibiendo tratamiento hipolipemiente que puede enmascarar tanto la hipercolesterolemia como el fenotipo de enfermedad coronaria y a la reducción de la sensibilidad clínica (305).

El gen cuya manifestación alterada ha predominado en los pacientes con diagnóstico genético positivo y que ya ha sido descrito como predominante en numerosas ocasiones, fue el gen RLDL (244), ya que el 97% de los pacientes presentó mutaciones

en este. Correspondiendo el 3% restante a mutaciones en el gen APOB, las cuales no son las descritas como las más prevalentes de las mutaciones conocidas en el gen APOB en individuos caucásicos de ascendencia europea, registradas recientemente en el Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva (306).

Sin embargo, no se observó este mismo hecho en aquellos pacientes con mutaciones de significado clínico incierto donde se ha observado una mayor variabilidad de genes alterados: el 22% presentó mutaciones en el gen RLDL, el 30% en el gen APOB, el 26% en el gen PCSK9, el 17% en el gen STAP1 y el 4% en el gen APOE. Estos resultados deberían contrastarse con otros pacientes en España que presenten un diagnóstico de significado clínico incierto y con pacientes sin HF (257, 307).

Ante la ausencia de registros a nivel autonómico en Andalucía de pacientes de HF, tan sólo la comparativa de mutaciones se podría realizar ante los dos registros presentes a nivel nacional: el SAFEHEART (308) y el perteneciente a la Sociedad Española de Arteriosclerosis (309), por lo que trabajos como el realizado en este estudio y en el Hospital Juan Ramón Jiménez (306) en otros centros hospitalarios andaluces, podría conllevar a la elaboración de dicho registro autonómico, cuya muestra sería más comparable que la extrapolación a nivel nacional.

A los pacientes que obtuvieron un diagnóstico negativo para la HF se les aplicó el cálculo del cLDL score para determinar la probabilidad de padecer una hipercolesterolemia de origen poligénico en aquellos casos que presenten una puntuación superior al percentil 90 (310). Se determinó que el 78% de los pacientes con resultado genético presentaban una elevada probabilidad de presentar hipercolesterolemia poligénica, de los cuales un 43% presentaba una alta probabilidad más acentuada de hipercolesterolemia poligénica con concentraciones de cLDL muy elevadas a pesar de no presentar las mutaciones descritas para la HF. Hecho que confirma la dificultad que puede presentar el clínico en ocasiones para establecer una clara diferencia entre la hipercolesterolemia de origen familiar y la hipercolesterolemia poligénica (140).

El origen de esta hipercolesterolemia de origen poligénico se determinó en el estudio Global Lipid Genetic Consortium (GLGC) (311), en el cual, se realizó un metaanálisis

donde se identificaron 95 loci cuyas variantes comunes afectaban a la concentración de cLDL y cuya contribución afecta tanto a la variación común de lípidos como a las variaciones extremas (140). Posteriormente, Talmud et al. (266) determinaron en su estudio que una proporción significativa de pacientes con estudio genético negativo para HF, presentan concentraciones de cLDL elevadas asociadas a causa poligénica y que aquellos pacientes con estudio genético positivo para la HF que presenten una contribución poligénica, esta puede incrementar la penetrancia de la enfermedad. Por lo que para calcular ese score es necesario detectar 12 SNPs con sus correspondientes variantes que producen una mayor concentración de cLDL donde cada elevación en un alelo pondera (312). En el caso de estos individuos, un cribado en cascada no se encuentra recomendado debido a que tan sólo el 30% de los familiares podrá ser diagnosticado de hipercolesterolemia poligénica (313).

Se ha determinado a través de estudios previos, que los pacientes con variantes monogénicas de HF presentan un RCV 3.5 veces mayor con aquellos pacientes que a pesar de presentar concentraciones elevadas de cLDL, su diagnóstico genético es negativo (218, 314). Sin embargo, hasta que Trinder et al. no realizaron un estudio para comparar el riesgo ateroscлерótico que presentaban los pacientes con variables monogénicas frente a individuos con hipercolesterolemia poligénica, no se había estratificado la diferencia del RCV que presentaban estos últimos en comparación con el primer grupo. Para ello realizaron un estudio longitudinal y observacional en 626 pacientes adultos registrados en el British Columbia FH Registry con diagnóstico de FH, de los cuales un 33.7% obtuvieron un resultado de hipercolesterolemia poligénica. El estudio concluyó con que con los pacientes con variantes monogénicas presentaban un RCV significativamente mayor que los pacientes con hipercolesterolemia poligénica y que los pacientes con variante monogénica que presentaban una puntuación elevada para el cLDL score presentaban un RCV mayor que aquellos cuya puntuación era menor (315).

Este hecho se ha confirmado en este estudio, ya que se realizó la estimación del riesgo coronario que presentaban todos los pacientes con independencia de su resultado genético a través del cálculo del Cic Score FRG.

La influencia de la puntuación de riesgo genético para la predicción de eventos cardiovasculares primarios y recurrentes ha demostrado su utilidad para estratificar el pronóstico de los modelos clínicos en pacientes con niveles basales de cLDL elevados (316) y en nuestro caso no se ha demostrado una dependencia entre el diagnóstico de HF con dicho riesgo ya que se determinó que el 43.5% de los pacientes con diagnóstico genético negativo, el 37.5% de los pacientes con diagnóstico positivo y el 50% de los individuos con variantes de significado clínico incierto se clasificaron dentro del quintil de mayor riesgo cardiovascular de origen genético. Este cociente nos permite también determinar el posible riesgo coronario equivalente al de una mutación monogénica de HF ($FRG > 3$), el cual permitió diagnosticar como pacientes de mayor riesgo vascular a un pequeño porcentaje de pacientes con resultados genéticos positivos, no concluyentes y negativos. Asimismo, a través de la relación del cLDL Score para la determinación de hipercolesterolemia poligénica y los cocientes $FRG > 1.3$ y $FRG > 3$, se observó que pacientes con diagnóstico genético positivo, concluyente y negativo, presentaban una base genética de origen poligénico.

Por lo que aquellos pacientes con concentraciones de cLDL elevadas con independencia de su origen y del diagnóstico genético, pueden presentar riesgo cardiovascular de origen genético que puede ser equiparable incluso al de una mutación monogénica a pesar de que previamente, se ha considerado que los pacientes con mutaciones patogénicas para la HF presentan un RCV tres veces superior a aquellos cuyas variantes no lo sean y superior en pacientes con HF monogénica en comparación con aquellos que presentan un origen poligénico (244).

Además de haberse realizado un estudio genético en los genes descritos con mayor frecuencia cuyas mutaciones se encuentran asociadas a aumentos en la concentración de colesterol, se analizaron los genes LAL, LDLRAP1 y LIPA y se observó que dos pacientes, uno ellos con diagnóstico positivo para la HF y otro con diagnóstico negativo, presentaban mutaciones de significado clínico incierto en el gen LDLRAP1, cuya función normalizada es la de unión al RLDL para proceder a la eliminación del exceso de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (317) y otras dos variantes de significado clínico incierto en el gen LIPA (318) cuyas mutaciones situadas en el gen LIPA pueden causar un déficit de LAL (199, 319). Lo que conlleva a justificar ese posible

incremento en la concentración de cLDL en el paciente que obtuvo un resultado genético negativo para la HF y un incremento aún mayor en el paciente con una mutación monogénica que presenta una mayor probabilidad de enfermedad coronaria (320).

La predisposición genética a desarrollar concentraciones de Lp(a) elevadas se determinó a través del análisis de los SNPs rs10455872 y rs3798220 del gen LPA, cuya presencia se encuentra asociada a una mayor concentración de Lp(a) cuyos tamaños suelen ser menores al descrito en ausencia de mutaciones en dichas variantes, por lo que un 16% de los pacientes, presenta un mayor riesgo de sufrir un evento cardiovascular prematuro (160, 321). La variante rs10455872 del gen LPA ha sido evaluada previamente en una población diagnosticada genéticamente de HF con presencia de ECV precoz, en la que se determinó que variaciones de SNPs pueden considerarse como predictores de edad a la que se va a sufrir el primer evento cardiovascular con independencia de la edad (322), sin embargo, otro estudio que considera ambas variantes, determinó que la variante rs3798220 del gen LPA era un predictor significativo de ECV precoz (321), por lo que la presencia de ambas debe tenerse en cuenta a la hora de valorar la intensificación de tratamiento de estos pacientes, cuyo riesgo vascular se encuentra exacerbado a falta de más estudios que indaguen más en el papel que realmente representan.

Existe también una mayor predisposición genética a desarrollar efectos adversos como mialgias y miopatías ante la presencia de determinados fármacos como la simvastatina y ante elevadas dosis de estatinas. Por lo que en el presente estudio se ha tenido en cuenta la determinación de los genes aportada en el informe del estudio genético que relacionan esta posible evidencia con una menor eficacia o falta de adherencia a la hora de tratar a un paciente, con el objetivo de individualizar al máximo su tratamiento. Por ello se deberá tener en cuenta que un 4% de los pacientes presentaba una mayor predisposición a presentar mayores concentraciones de fármacos bajo tratamiento con simvastatina, que el 84% de los pacientes presenta una mayor probabilidad de esperar una menor respuesta bajo tratamiento con simvastatina y que el 25% puede manifestar una mayor probabilidad de aparición de miopatías con tratamiento de simvastatina a la

hora de tratar a este tipo de pacientes. La presencia de miopatías por la presencia de mutaciones en la variante rs4149056 del gen SLC01B1 ha sido analizada en función del tratamiento con simvastatina, pero no ha tenido en cuenta las características de la población con HF, por lo que en un estudio realizado en pacientes americanos y afroamericanos intentó solventar dicha brecha, concluyendo con que en la pequeña cohorte sobre la que realizaron el estudio que la edad presentaba una mayor influencia en el desarrollo de dolores musculares que la mutación y manifestando la necesidad de adquirir mayores conocimientos que relacionen la presencia de dicha variante con la aparición de efectos secundarios (323). No se han encontrado estudios que relacionen las variantes rs1724441 del gen HMGCR y rs2032582 del gen ABCB1, cuyas variaciones se asocian con mayores concentraciones de fármaco bajo tratamiento y con menor respuesta a tratamiento con simvastatina en poblaciones de pacientes diagnosticados de HF, por lo que no se puede llevar a cabo una discusión dentro de este campo.

2.4. CRIBADO EN CASCADA:

Esta demostrada a través de numerosos estudios la coste-efectividad de los cribados genéticos en familiares de primer grado, ya sean directos o inversos y a través de los cuales es posible determinar a un elevado porcentaje de la población afectada por la HF (245, 252, 308), siendo el SAFEHEART (252), el más representativo de España debido al elevado número de casos detectados. A diferencia de los estudios referenciados anteriormente, en este estudio se han realizado tan solo 21 estudios genéticos en familiares de primer grado debido a las limitaciones económicas y por lo cual no podemos estimar la incidencia económica que presenta el establecimiento de un programa de cribado genético en cascada. Pero si manifiesta que numerosos familiares de primer grado de casos índice presentan una dislipemia acentuada con una concentración media de cLDL de 226.3 ± 81.99 mg/dl, donde el 45% se caracteriza por presentar partículas de sdLDL determinadas a través del cociente cLDL/ApoB y donde el 44.4% de familiares presenta un factor de riesgo adicional al presentar concentraciones de Lp(a) superiores a los 50 mg/dl, además de otros factores de riesgo mencionados anteriormente en la población índice como lo son el sexo, la HTA, el tabaquismo, la DM2 y los antecedentes familiares y personales de ECV prematura.

Como se ha representado en este estudio, las concentraciones de cLDL de los familiares captados a través del cribado en cascada son más reducidas que la de los casos índice debido a que probablemente han heredado una variable patogénica causal de menor penetrancia que hace que no cumplan criterios de diagnóstico clínico de HF (324) a pesar de que la detección de variables patógenas es proporcional a las concentraciones de cLDL (205), en virtud de lo cual, si sólo se consideran las concentraciones de cLDL como criterio de inclusión para realizar este tipo de cribados, se corre el riesgo de no detectar todos los pacientes que portan esa variable patogénica causal, por lo que conviene siempre realizar un estudio genético para determinar su presencia o ausencia, aumentando de ese modo el número de pacientes con HF captados (244). Este hecho ya ha sido contrastado en la República Checa, donde se determinó a través de una base de datos nacional que se detecta un promedio de 1.77 familiares con casos índice con variable patogénica conocida en comparación con 1.18 familiares con casos índice que no disponen de dicha información (325) y es representativo de un caso particular de este estudio, a través del cuál se detectó un caso índice que obtuvo un diagnóstico genético con una mutación patogénica para la HF, cuya hija presentaba concentraciones de cLDL de 154 mg/dl. Dicha hija tenía tres hijos (dos gemelos y otro menor), de los cuales uno de los gemelos y el menor de ellos presentaban concentraciones de cLDL muy elevadas por lo que se revisaron el resto de parámetros analíticos, descartando así al mayor por presentar alteraciones en la TSH. Finalmente al hijo menor, que con 4 años presentaba una concentración de cLDL de 204 mg/dl sin causas secundarias aparentes, se le realizó el estudio genético que determinó que había heredado la mutación patogénica del caso índice, la cual presentaba también su madre a pesar de no manifestarse a través de concentraciones de cLDL elevadas. De manera que se ha podido realizar una intervención clínica y establecer un control desde la infancia temprana del paciente, hecho que concuerda con la posición que ha tomado la Sociedad Estadounidense de Genética Humana (326).

En general, tanto en este estudio como en otras investigaciones realizadas en los Países Bajos se ha observado una predisposición muy favorable de los padres hacía las pruebas genéticas en niños, las cuales se pueden realizar y se han realizado en este estudio, a través de muestras salivales (327).

La escala de puntuación de las clínicas holandesas aplicada a los familiares proporcionó un diagnóstico mayoritario de posible HF, sin embargo, un 85.7% obtuvo un resultado genético positivo para la HF en el que se observaba una transmisión de la mutación presente en el caso índice y entre los que predominaban alteraciones en el gen RLDL clasificadas en un 52.6% como patogénicas. El beneficio de descartar la HF obteniendo un diagnóstico genético negativo erradica en el bienestar del paciente, el cual presentará alivio al conocer que no está afectado y que no ha transmitido a su descendencia dicha alteración (244), pero también se deberá tener en cuenta que aquellos pacientes que presenten un fenotipo de HF definido según la clínica a pesar de obtener un diagnóstico negativo, no excluyen ese diagnóstico debido a la presencia ya comentada anteriormente de limitaciones en los análisis y/o a la existencia de alteraciones genéticas no identificadas (328) y a que en el estudio realizado, el análisis genético de familiares sólo incluía en el mismo el análisis de la mutación del caso índice. El 65% de los casos familiares se encontraba en el momento de la captación sin tratamiento a pesar de haber obtenido un diagnóstico genético positivo o de significado clínico incierto y elevadas concentraciones de cLDL por lo que se ha fomentado con este tipo de cribado el reducir la edad de diagnóstico clínico para esta patología y fomentar la intensificación o el inicio de tratamiento en estos pacientes de elevado riesgo vascular. En un estudio realizado en los Países Bajos se determinó que la incidencia de tratamiento hipolemiante en familiares de casos índice adultos diagnosticados de HF aumentó del 39% al 91% tras pasar un año de la realización del cribado genético en cascada (329) por lo que a largo plazo se podría determinar el beneficio del cribado en cascada realizado en nuestro estudio.

Este tipo de cribado debería implementarse regularmente en nuestro sistema de salud como lo inició Holanda (330) en 2014 a pesar de suspenderlo posteriormente por la aplicación de nuevas regulaciones, con el objetivo de potenciar la detección y asesoramiento al tratamiento en este tipo de pacientes.

3. POBLACIÓN CON SOSPECHA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

La disbetalipoproteinemia no sólo ha sido descrita como el fenotipo olvidado (144) sino que también se le ha llegado a considerar actualmente como un trastorno huérfano debido a la escasez de tiempo y dedicación a esta patología a la hora de establecer

planes formativos para educar a los clínicos y a que los clínicos expertos en lípidos no han manifestado en ningún momento las deficiencias en su diagnóstico y a que la industria farmacéutica no ha focalizado su investigación en tratamientos específicos para la disbetalipoproteinemia debido a que se pueden emplear fármacos genéricos que son económicos. Hechos que han propiciado la falta de atención y cuidado de los pacientes con disbetalipoproteinemia familiar (190).

Actualmente, continuamos sin poseer un algoritmo validado para la detección de esta patología empleando los perfiles lipídicos, a pesar de lo cual, estos son fundamentales para su detección en conjunción con un diagnóstico genético para su confirmación (306), ni de un registro en Andalucía para pacientes con dicha patología, por lo que el papel que juega el analista de laboratorio es fundamental para la captación de este tipo de pacientes, ya que su captación se basa en el análisis de parámetros lipídicos, cocientes y el análisis genético y el protocolo llevado a cabo puede incentivar que otros hospitales de Andalucía capten a más pacientes con esta patología, pudiendo ponerlos en común en un único registro.

3.1. EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE RIESGO VASCULAR:

La disbetalipoproteinemia familiar es una patología que se caracteriza por la presencia de enfermedad cardiovascular prematura cuyo inicio se encuentra descrito mayoritariamente en mujeres posmenopáusicas y en hombres de edad adulta, pudiendo desarrollarse prematuramente en aquellos pacientes con un estrés metabólico más severo (42).

Esta patología presenta una prevalencia de 1/10.000 personas y el genotipo ApoE2/E2 de 1/100 en la población general, por lo que los factores de riesgo obesidad, hipotiroidismo sin tratamiento, consumo excesivo de alcohol y diabetes, contribuyen a que se produzca la aparición de dicha patología e incrementan la probabilidad de desarrollar un evento cardiovascular prematuro (331). Factores de riesgo como la HTA, la DM2, el consumo de tabaco y una elevada concentración de triglicéridos son considerados además como predictores independientes de eventos cardiovasculares precoces que implican una variabilidad en el desarrollo de ECV en pacientes con disbetalipoproteinemia y cuyo riesgo puede ser estratificado (77). Siendo las

enfermedades cardiovasculares más prevalentes de esta patología la enfermedad de arterias periféricas (EAP) y coronarias (EAC) (122).

Estas características de riesgo se manifiestan en la población índice captada con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar, ya que el 77.8% presentaban enfermedad cardiovascular prematura entre cuyos eventos destacaban el IAM y la CI y en los familiares captados a través de cribado en cascada, donde el 12.1% había sufrido también eventos cardiovasculares prematuros; acompañadas de otros factores de riesgo cardiovascular tanto en la población índice como en familiares que pueden desencadenar el inicio de la patología e incrementar el riesgo vascular que se ha estimado que se incrementa ante la presencia de HTA y consumo de tabaco (77). Por ello, a pesar de considerar estos factores de riesgo como predictores independientes de eventos cardiovasculares prematuros, esta población, con independencia de presentar el fenotipo característico de la disbetalipoproteinemia son pacientes de muy elevado riesgo vascular cuyo perfil lipídico debe ser controlado por tratamiento farmacológico debido a que un estudio de casos y controles demostró que el riesgo de sufrir enfermedad de arterias coronarias de estos pacientes es 10 veces superior a los casos (332).

La prevalencia de enfermedades cardiovasculares asociadas a la manifestación de la disbetalipoproteinemia ha sido descrita en un estudio europeo (333) realizado en 305 pacientes, en un estudio realizado en África (334) en 105 pacientes y en un estudio realizado en pacientes de Holanda (335) en 113 pacientes diagnosticados genéticamente de disbetalipoproteinemia, en los cuales se determinó que el 19% presentó EAC, el 11% EAP y el 4% enfermedad cardiovascular; el 19% presentó EAP y un 45% CI; y un 41% presentó enfermedad vascular, respectivamente.

3.2. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS LIPÍDICOS PARA LA CAPTACIÓN DE PACIENTES Y RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS LIPÍDICOS Y COCIENTE cVLDL/TG:

En términos lipídicos, los pacientes con disbetalipoproteinemia se caracterizan por la presencia de concentraciones elevadas de CT y triglicéridos que en ocasiones lo acompañan concentraciones bajas de cHDL y cLDL (336). Este hecho se ha cumplido en

la población índice con sospecha de disbetalipoproteinemia ya que los valores lipídicos alterados en el momento de su captación se caracterizaron por una concentración de CT media de 258.3 ± 127.2 mg/dl y de 465.4 ± 282 mg/dl para los triglicéridos. Acontecimiento que se cumplía también para los familiares pero en una menor proporción. En comparación con estudios realizados en otras poblaciones hemos observado que tanto las concentraciones de CT y TG son inferiores en nuestros casos índice (337), existiendo otros estudios donde la concentración de CT ha sido inferior pero que los TG se encuentran aumentados (338, 339).

Además, los casos índice presentaban una concentración media de APOB100 de 109 ± 29.5 mg/dl. Concentraciones de APOB100 superiores a 120 mg/dl fueron descritas en un grupo de población con disbetalipoproteinemia por Boot et al. (191). Hecho que no ha sido contrastado en la población de familiares. A pesar de ello, la determinación analítica de la concentración de APOB debe considerarse como complementaria para la evaluación de riesgos del paciente (340).

En función del estudio realizado se determinan distintos puntos de corte y rangos de concentraciones para la captación de pacientes con disbetalipoproteinemia. Siendo los criterios más comúnmente empleados en varios estudios la presencia de triglicéridos superiores a 135 mg/dl junto con el cociente $cVLDL/TG > 0.3$ (190, 341, 342) cuya limitación se encuentra en la falta de medios para realizar dichas determinaciones mediante ultracentrifugación por su elevado coste y complejidad (341). Sin embargo, se ha observado que a medida que se incrementa como criterio de inclusión las concentraciones de TG a través de los cocientes que dependen de la ApoB-100 ($TG > 150$ mg/dl (343), $TG > 160$ mg/dl (344) y $TG > 200$ mg/dl (144)) se aumenta la sensibilidad y especificidad del mismo en comparación con el cociente $cVLDL/TG$ (345).

Aún así, en un estudio realizado en la base de datos del Instituto de Investigación Clínica de Montreal se captaron 188 pacientes de una población total superior a 14.000 personas incrementando los criterios de inclusión respecto al estudio anterior con concentraciones de $CT > 200$ mg/dl, $TG > 175$ mg/dl y el cociente $cVLDL/TG > 0.3$ (346).

En nuestro estudio hemos realizado el cribado de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia teniendo en cuenta el cociente $cVLDL/TG$ debido a que en nuestro área hospitalaria disponemos de los medios necesarios para realizar su

determinación por ultracentrifugación, cuya sensibilidad y especificidad discutiremos posteriormente al compararlo con el resto de cocientes que se han descrito con anterioridad. Aquellos pacientes que presentaron el cociente cVLDL/TG inferior a 0.3 debían cumplir como criterio de inclusión el presentar concentraciones de triglicéridos superiores a 300 mg/dl, con lo que se esperaba incrementar la captación de pacientes con disbetalipoproteinemia, mejorando la selectividad de los estudios mencionados anteriormente.

Se estableció la relación entre los parámetros lipídicos de los casos índice y de los familiares con los valores del cociente cVLDL/TG para caracterizar a la población con sospecha de disbetalipoproteinemia.

Se observó que de los casos índice con cocientes cVLDL/TG > 0.3 se caracterizaban por presentar concentraciones de cLDL > 200 mg/dl y de cVLDL entre 101 y 300 mg/dl y de Lp(a) < 30 mg/dl.

A los familiares captados a través del cribado en cascada se les analizaron los parámetros lipídicos según el rango del cociente cVLDL/TG. Aquellos pacientes con valores del cociente entre 0.2 y 0.25 se caracterizaron por presentar concentraciones de cLDL < 200 mg/dl, por concentraciones de cVLDL entre 30 y 200 mg/dl y de Lp(a) < 30 mg/dl. Los familiares que manifestaron el cociente cVLDL/TG por encima de 0.3 se caracterizaron por presentar, al igual que el anterior grupo, concentraciones de cLDL < 200 mg/dl y de Lp(a) < 30 mg/dl y por concentraciones de cVLDL ligeramente superiores entre los 101 y 200 mg/dl en todos los pacientes.

Por lo que se puede indicar en este estudio que aquellos pacientes en los que se ha manifestado la disbetalipoproteinemia, presentan un perfil lipídico más alterado, en comparación con los familiares, cuya manifestación aún parece ser ausente.

A pesar de ello, tan solo el 66.7% de los pacientes índice se encontraba bajo tratamiento hipolemiante, lo que propició la presencia de cocientes de cVLDL/TG superiores a 0.3 y su consecuente captación. Por otro lado, el 78.8% de los familiares se encontraban sin tratamiento, lo que lleva a considerar el uso de tratamiento hipolemiante como una limitación en la captación de este tipo de pacientes (342).

Los pacientes con disbetalipoproteinemia tienden a presentar una elevada sensibilidad al consumo calórico y al incremento de peso, por lo que el tratamiento hipolemiante debe acompañarse de recomendaciones dietéticas donde se restrinjan las calorías donde se puede conseguir una reducción de hasta el 60% y del 80% en los niveles de CT y TG respectivamente (92, 142). Considerándose como tratamiento en primera línea para este tipo de pacientes las estatinas debido a que se ha demostrado una gran eficacia para el control del cNo-HDL y el colesterol remanente junto con los fibratos y el ácido nicotínico (347). No se ha demostrado eficacia de los inhibidores PCSK9 en este tipo de pacientes (92).

3.3. ESTUDIOS GENÉTICOS, COMPARACIÓN DEL GENOTIPO CON PARÁMETROS LIPÍDICOS Y CRIBADO EN CASCADA:

Los resultados obtenidos de los estudios genéticos realizados tanto a los casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia familiar, como a los familiares captados a través de cribado en cascada fueron significativos.

Se determinó que el 22.2% de los casos índice presentaba el genotipo E2/E2 junto con el cociente $cVLDL/TG > 0.3$, característico de la disbetalipoproteinemia y el 22.2% de los pacientes presentó el genotipo E2/E3, de los cuales, el 50% presentó ese resultado junto con el cociente $cVLDL/TG > 0.3$. En el caso de los familiares, el 60.6% presentó el genotipo E2/E3 y el 21.2% presentó el genotipo E2/E2, de los cuales, tan sólo el 14.3% manifestaba ese mismo cociente, presentando el resto de pacientes con diagnóstico genético positivo para la disbetalipoproteinemia, valores del cociente comprendidos entre 0.2 y 0.25. Hasta hoy día se ha considerado en la comunidad científica que rangos comprendidos entre 0.25 y 0.3 del cociente mencionado anteriormente, pueden servir para establecer una posible sospecha de disbetalipoproteinemia (348), lo que puede llevar a la consideración de otro posible rango, entre 0.2 y 0.25 para la captación de este tipo de pacientes, cuya manifestación clínica aún no se ha producido y a determinar que en nuestra población de familiares, el alelo que presenta una mayor frecuencia es el $\epsilon 3$ en comparación con los casos índice, siendo esta frecuencia superior a la encontrada en la población Taiwanesa (339) lo que nos podría llevar a considerar también que la disbetalipoproteinemia no sólo depende del alelo $\epsilon 2$.

De los pacientes índice, el 33.3% presentó el genotipo E3/E3, el 11.1% el genotipo E3/E4 y el 11.1% el genotipo E4/E4. De los pacientes captados por cribado, el 18.3% presentó el genotipo E3/E3. A partir de estos resultados debemos resaltar la dificultad que presentan a diario los clínicos para distinguir la hiperlipemia mixta y la hiperlipemia familiar combinada de la disbetalipoproteinemia (349) además se debería tener en cuenta la posibilidad que presentan las posibles mutaciones en la estructura y estabilidad de la APOE3 que pueden conllevar una alteración en la dinámica estructural de la APOE y que perjudiquen a su función (350).

Los genotipos se relacionaron con los parámetros lipídicos de los pacientes de ambas poblaciones. Se observó que los casos índice con genotipo E2/E2, E3/E3, E2/E3, E3/E4 y E4/E4 presentaban concentraciones de cLDL predominantes inferiores 200 mg/dl, que aquellos pacientes con genotipo E2/E2 presentaban concentraciones de cVLDL entre 101 y 300 mg/dl, los de genotipo E2/E3 concentraciones de cVLDL entre 30 y 200 mg/dl, los de genotipo E3/E3 y E4/E4 concentraciones de cVLDL inferiores a 100 mg/dl y los de genotipo E3/E4 incrementaban levemente su concentración de cVLDL, situándose entre 101 y 200 mg/dl.

Al igual que en los casos índice, los familiares con genotipos E2/E2, E2/E3 y E3/E3, presentaban concentraciones de cLDL inferiores a 200 mg/dl, además de observarse una mayor variabilidad en las concentraciones de cVLDL para todos los genotipos detectados.

Las manifestaciones lipídicas observadas en función de su genotipo, tanto en los casos índice como en los familiares, no se encuentran alteradas a los niveles descritos previamente en la literatura aunque sí se encuentran encaminadas a los mismos (121).

El realizar cribados en cascada para esta patología descrita como de “baja prevalencia” es más que recomendado y no sólo por ser coste-efectivos como se ha descrito previamente para otras patologías para el sistema sanitario por los futuros posibles gastos que puede acarrear este tipo de patología en caso de no ser detectada y controlada previamente a desarrollarla, evitando así la aparición precoz de enfermedad cardiovascular, sino porque se ha observado en nuestra población de familiares su alta transmisibilidad a la descendencia en aquellos pacientes con genotipo E2/E3, asociado en parte al desconocimiento de la patología de los progenitores. A pesar de ello, no hay resultados publicados sobre ningún programa de cribado realizado para esta patología,

por lo que nuestra nueva metodología de trabajo implantada como rutinaria es muy innovadora en ese aspecto.

3.4. COMPARATIVAS DE COCIENTES Y ALGORITMOS DE DETECCIÓN BIOQUÍMICA DE DISBETALIPOPROTEINEMIA:

Se ha realizado una evaluación de los diferentes cocientes y del algoritmo diagnóstico para la detección de los posibles casos de disbetalipoproteinemia a través de los parámetros bioquímicos analizados de forma rutinaria con el objetivo de valorar en nuestro caso si la implementación del cociente cVLDL/TG realizado mediante ultracentrifugación es más efectivo que el resto de determinaciones, o si por el contrario, ha sido menos efectivo. Para lo cual se han analizado parámetros como la especificidad, la sensibilidad y sus valores predictivos, entre otros.

La determinación analítica mediante ultracentrifugación del cociente cVLDL/TG es considerado como el *gold standard* para la captación de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia (187), sin embargo, este cociente ha sido evaluado recientemente en una población de 1637 pacientes, en comparación con el cociente cNHDL/APOB > 4.91 (191), en el cual se ha considerado al cociente cNHDL/APOB como una primera línea para la diferenciación de pacientes con hiperlipemias mixtas enmascaradas que realmente presentan un diagnóstico de disbetalipoproteinemia.

Se confirmó en la nuestra población de casos índice con sospecha de disbetalipoproteinemia que el cociente cVLDL/TG era el que presentaba una mayor sensibilidad y una mayor especificidad para la captación de este tipo de pacientes, a pesar de presentar una prevalencia más baja en comparación con el resto de cocientes y el algoritmos empleado.

Este mismo hecho no se cumple para los casos familiares, ya que es el algoritmo diagnóstico (TG>200 + CT/APOB>2.4 + TG/APOB<8.85) el que presenta una mayor sensibilidad, especificidad y prevalencia para captar a este tipo de pacientes en comparación con los cocientes estudiados. Encontrándose el cociente cVLDL/TG > 0.3 con el mismo nivel de especificidad y prevalencia y con la misma ausencia de sensibilidad que el cociente cNHDL/APOB > 4.91 (191).

Sin embargo, esta relación de cocientes se ha realizado en una pequeña población y no todos los hospitales disponen de los medios para la determinación del cociente cVLDL/TG, por lo que para obtener unas conclusiones más certeras, debería ampliarse el número de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia y debería tenerse en cuenta el cociente cVLDL/TG junto con el algoritmo para la detección del máximo número posible de pacientes con sospecha de disbetalipoproteinemia (187), siempre acompañado de un diagnóstico genético para la confirmación de la patología.

En consiguiente, la necesidad de una ultracentrifuga en el laboratorio para la determinación del cociente cVLDL/TG ha conllevado que se comparen los cocientes para la detección de disbetalipoproteinemia en otros estudios en los que concluyen con que el cociente noHDL/ApoB > 3.69 acompañado de confirmación genética presenta una mayor sensibilidad detectando al 95% de verdaderos positivos, ya que aumentando el mismo a 4.91 tan sólo se detectarían al 65% de su población de estudio además de incrementar el coste en las determinaciones lipídicas (346).

4. POBLACIÓN CON SOSPECHA DE HIPERQUILOMICRONEMIA FAMILIAR:

El síndrome de hiperquilomicronemia familiar según los datos referenciados en el estudio APPROACH (145) es diagnosticada a la edad media de 24 años. Este síndrome es tan poco conocido por parte de los clínicos, que se determinó en el estudio IN-FOCUS (351) que los pacientes que lo padecen habían asistido a consultas médicas diferentes un promedio de 5 veces antes de ser diagnosticadas, hecho que retrasa su diagnóstico (352) y que es representativo de los dos casos que han obtenido un diagnóstico genético positivo para la hiperquilomicronemia familiar, cuya edad era 45 y 66 años.

Las concentraciones de triglicéridos en ambos síndromes de hiperquilomicronemia suelen ser muy similares, lo que dificulta la distinción de pacientes y la presencia de signos clínicos característicos en nuestra población ha sido nula, por ello hay que tener en cuenta que ya se ha descrito previamente en la literatura que la prevalencia de pancreatitis en pacientes con síndrome de hiperquilomicronemia multifactorial es del 6%, frente al 60% de los pacientes con hiperquilomicronemia familiar (353). A pesar de ello, esta distinción no se encuentra del todo definida debido a que se han descrito estudios en los que se han realizado análisis genéticos en pacientes con pancreatitis en los que se ha determinado que su incidencia asociada a las concentraciones elevadas de

triglicéridos es superior debido a que la prevalencia de la hiperquilomiconemia de origen multifactorial es claramente superior a la familiar (354). En este estudio, uno de los pacientes que presentaba antecedentes de pancreatitis no presentó un diagnóstico positivo para ninguna de las patologías, por lo que se debe asociar la aparición de pancreatitis a las concentraciones elevadas de triglicéridos (355) y si fue confirmado el diagnóstico de síndrome de hiperquilomiconemia familiar en el paciente que evidenciaba dolor abdominal y que aún no había desarrollado ningún evento de pancreatitis y en otro paciente que si había desarrollado dos eventos de pancreatitis, siendo el primero a los 35 años.

Se demostró a través de un estudio en una cohorte de 563 pacientes con concentraciones de TG superiores a 885 mg/dl que tan sólo un 1% presentaba el síndrome de hiperquilomiconemia familiar y que en su mayoría el origen de la hipertrigliceridemia era poligénico o multifactorial (239) y aproximadamente un 67% de los pacientes con hiperquilomiconemia familiar se encuentran mal diagnosticados (85) por lo que el empleo de técnicas como la ultracentrifugación facilitan la distinción de ambos tipos de pacientes (352). Basándonos en estas premisas y siguiendo una estrategia similar a la publicada previamente en la Revista del Laboratorio Clínico (356) hemos realizado un cribado de pacientes a cuyo protocolo hemos añadido como puntos para el cribado cocientes TG/CT y TG(QM)/TG(VLDL) calculados a través de concentraciones lipídicas determinadas por ultracentrifugación y evaluados posteriormente con diagnóstico genético para su confirmación.

Las mutaciones en heterocigosis en los genes APOA5 y LPL no suelen promover la aparición de hipertrigliceridemia debido a su herencia recesiva, pero la presencia de factores genéticos acompañados de un estilo de vida sedentario y una mala alimentación incrementa el estrés lipolítico que induce el aumento de concentraciones de triglicéridos y al posible diagnóstico de síndrome de hiperquilomiconemia familiar, habiéndose descrito incluso la transmisión dominante de una misma mutación en el gen LPL en una familia (357). Este es el caso de nuestro paciente 1, cuya mutación heterocigótica en el gen LPL asociada con la presencia de hipertrigliceridemia se ha manifestado con concentraciones de triglicéridos superiores a los 1.000 mg/dl, por lo que se podría analizar en el futuro la posible transmisión del mismo en este paciente.

Ya han sido descritos pacientes heterocigotos compuestos diagnosticados de síndrome de hiperquilomicronemia familiar con mutación en el gen LPL y un cambio de ADN en c.590G>A, con un perfil lipídico similar a nuestro paciente 9, cuyas concentraciones de triglicéridos rondaban los 3.500 mg/dl y sin haber experimentado aún eventos de pancreatitis ambos (358). Este paciente presentaba además una mutación de significado clínico incierto en el gen LPL relacionada con concentraciones elevadas de triglicéridos, por lo que se debería realizar próximamente un estudio de segregación familiar para determinar la penetrancia de ambas mutaciones. Los déficits de actividad de la LPL asociado a mutaciones en heterocigosis suelen presentar un perfil lipídico más leve (359), hecho que no concuerda con mutaciones en homocigosis en el gen APOA5 en el paciente 12, el cual presenta concentraciones de triglicéridos menores a los de una paciente de 4 años la cuál presentaba xantomas tuberosos y genotipo E2/E3 (360), hecho que puede ser explicado por la mutación en la APOE.

Los cocientes evaluados en nuestra pequeña cohorte han sido TG/CT y TG(QM)/TG(VLDL), ambos cocientes, junto con el cociente TG/APOB ya han sido evaluados recientemente por el Centro de Investigaciones Médico Sanitarias de Málaga (CIMES) y el Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) en conjunto con otros autores, donde se ha determinado que valores superiores de 4.5 para el cociente TG(QM)/TG(VLDL) presentan una mayor especificidad y sensibilidad para la detección de pacientes con hiperquilomicronemia familiar respecto a resto de cocientes y a pesar de que se puede emplear un punto de corte inferior (3.8) junto con el diagnóstico genético (192). Análogamente hemos obtenido resultados similares, ya que se ha determinado en este estudio que el empleo del cociente TG(QM)/TG(VLDL) presenta mayor sensibilidad y especificidad que el cociente TG/CT, por lo que el empleo de este último cociente junto con concentraciones de triglicéridos elevadas puede servir como primer paso de cribado para la detección y diferenciación de síndromes de hiperquilomicronemia, acompañados posteriormente de la detección mediante ultracentrifugación de las concentraciones lipídicas para el cálculo del cociente TG(QM)/TG(VLDL) y posteriormente confirmado por análisis genético.

Conclusiones

CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas a través de este estudio son las siguientes:

Primera: La implantación de nuevos algoritmos diagnósticos y ampliaciones lipídicas en analíticas de rutina en atención primaria son un método efectivo para la detección de patologías lipídicas de origen genético como la hipercolesterolemia, la disbetalipoproteinemia familiar y el síndrome de hiperquilomicronemia.

Segunda: La implementación de estudios de segregación familiar para patologías lipídicas del mismo origen es un método muy efectivo para la detección de nuevos casos infradiagnosticados tanto para la hipercolesterolemia familiar como para la disbetalipoproteinemia.

Tercera: El uso de cocientes diagnósticos para la detección de disbetalipoproteinemia y el síndrome de hiperquilomicronemia son un método muy efectivo junto con el algoritmo diagnóstico y el cociente cVLDL/TG determinado por ultracentrifugación, previamente a realizar un estudio genético.

Cuarta: El síndrome de hiperquilomicronemia y la disbetalipoproteinemia familiar presentan una mayor prevalencia a la descrita en nuestro área por lo que se debería intensificar la detección precoz de dichas patologías.

Quinta: La implementación de teleconsultas entre el analista de laboratorio y el clínico y la posible derivación prioritaria de pacientes con dislipemias incrementa la captación de pacientes con alteraciones en el metabolismo lipídico, mejora la calidad asistencial y permite una mayor optimización de recursos sanitarios.

Sexta: El cumplimiento de objetivos terapéuticos en pacientes con sospecha de hipercolesterolemia familiar se incrementa con resultados muy alentadores tras establecer una alerta analítica y posterior derivación prioritaria a clínicos especialistas en lípidos.

Séptima: La caracterización genética de pacientes con posible o probable Hipercolesterolemia Familiar en atención primaria desde la infancia ofrece un

diagnóstico de precisión para evitar el desarrollo de futuros eventos cardiovasculares e instaurar si procede, tratamiento farmacológico hipolemiante.

Anexos

ANEXOS

1. ANEXO 1: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

Unidad de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario Virgen Macarena

La unidad de Bioquímica Clínica posee la capacidad necesaria para llevar a cabo el trabajo de investigación titulado IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE CRIBADO BIOQUÍMICO Y GENÉTICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR Y OTRAS DISLIPEMIAS EN EL ÁREA HOSPITALARIA VIRGEN MACARENA. IMPLCACIÓN DEL LABORATORIO EN LA CONSECUCCIÓN DE OBJETIVOS TERAPÉUTICOS. ESTUDIO ARIAN.

El Hospital Universitario Virgen Macarena es referencia de una población básica de 481.296 habitantes y su Unidad de Bioquímica Clínica recibe más de 2.500 solicitudes analíticas diarias. Posee un laboratorio de Riesgo Cardiovascular y Nutrición que colabora activamente con la Unidad clínica de Riesgo Cardiovascular y un laboratorio de Biología Molecular con una dilatada experiencia en estudios genéticos.

La Unidad de Riesgo Cardiovascular de Laboratorio amplía el estudio lipídico habitual con análisis de ultracentrifugación y estudio de diversas apolipoproteínas Apo A1-I, ApoCA-II, ApoB-100, ...) y actividad lipoproteín lipasa, entre otras.

El estudio se adecúa a la línea de Investigación en dislipemias y riesgo cardiovascular que desarrolla la Unidad liderada por la Dra. Teresa Arrobas Velilla y posee gran interés para la progresión de la misma.

Firmado en Sevilla a 16 de Marzo de 2018

Concepción González Rodríguez

Jefa de Sección, responsable de la Unidad de Bioquímica Clínica

Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla



CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 26/07/2018, acta 08/2018 ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la **Modificación relevante 1: cambio de título** en el estudio:

Título: IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE CRIBADO BIOQUÍMICO Y GENÉTICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR. COLABORACIÓN ENTRE EL LABORATORIO CLÍNICO Y LAS UNIDADES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA CONSECUICIÓN DE OBJETIVOS TERAPÉUTICOS LIPÍDICOS. ESTUDIO ARIAN.

Código Promotor: TAV-HIP-2018-01 **Código Interno:**

Promotor: Investigador

Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: HIP-CI / versión 2 de fecha 27/07/2018

2º. La **Modificación relevante 1: cambio de título**, de tipo **Relevante**, con fecha de registro 06/07/2018 solicita:

Mod. Documentación: Hoja Información Paciente (HIP) + Cambio título proyecto	
Versión HIP	HIP-CI / versión 2 de fecha 27/07/2018

3º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

4º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE A LA MODIFICACIÓN**.

5º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y
Virgen del Rocío

Dra. Teresa Arrobas Vellón
(Bioquímica Clínica) Hospital Universitario Virgen
Macarena

2. ANEXO 2: MODIFICACIÓN 1 APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

Informe Dictamen Modificación Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. TAV-HIP-2018-01 - C.I.

06 de septiembre de 2018

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Dr. Víctor Sánchez Margalef
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 26/07/2018, acta 08/2018 ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la **Modificación relevante 1: cambio de título** en el estudio:

Título: IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE CRIBADO BIOQUÍMICO Y GENÉTICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR. COLABORACIÓN ENTRE EL LABORATORIO CLÍNICO Y LAS UNIDADES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA CONSECUCCIÓN DE OBJETIVOS TERAPÉUTICOS LIPÍDICOS. ESTUDIO ARIAN.

Código Promotor: TAV-HIP-2018-01 **Código Interno:**

Promotor: Investigador

Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: HIP-CI / versión 2 de fecha 27/07/2018

2º. La **Modificación relevante 1: cambio de título**, de tipo Relevante, con fecha de registro 06/07/2018 solicita:

Mod. Documentación: Hoja Información Paciente (HIP) + Cambio título proyecto	
Versión HIP	HIP-CI / versión 2 de fecha 27/07/2018

3º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

4º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE A LA MODIFICACIÓN**.

5º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y
Virgen del Rocío

Dra. Teresa Arrobas Veilla
(Bioquímica Clínica) Hospital Universitario Virgen
Macarena



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

**Informe Dictamen Modificación Favorable
Proyecto Investigación Biomédica**

C.P. TAV-10P-2018-01 - C.2.

06 de septiembre de 2018

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Lo que firmo en Sevilla, a 06 de septiembre de 2018

Fdo:

SANCHEZ
MARGALET
VICTOR MANUEL
- 28691159Q

Firmado digitalmente
por SANCHEZ
MARGALET VICTOR
MANUEL - 28691159Q
Fecha: 2018.09.06
14:31:00 +02'00'

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

3. ANEXO 3: MODIFICACIÓN 2 COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN:



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

Informe Dictamen Modificación Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. TAV-HIP-2018-01 - C.I.

15 de febrero de 2019

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 24/01/2019, acta 01/2019 ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la **Modificación relevante 2 de fecha 02/01/2019** en el estudio:

Título: IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE CRIBADO BIOQUÍMICO Y GENÉTICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR. COLABORACIÓN ENTRE EL LABORATORIO CLÍNICO Y LAS UNIDADES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA CONSECUCCIÓN DE OBJETIVOS TERAPÉUTICOS LIPÍDICOS. ESTUDIO ARIAN.

Código Promotor: TAV-HIP-2018-01 **Código Interno:**
Promotor: Investigador
Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: HIP-CI / versión 2

2º. La **Modificación relevante 2 de fecha 02/01/2019**, de tipo **Relevante**, con fecha de registro **10/01/2019** solicita:

Mod. Documentación: Hoja Información Paciente (HIP)	
Versión HIP	HIP-CI / versión 2

3º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

4º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE A LA MODIFICACIÓN**.

5º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y
Virgen del Rocío

Dra. Teresa Arrobas Veilla
(Bioquímica Clínica) Hospital Universitario Virgen
Macarena



CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Lo que firmo en Sevilla, a 16 de febrero de 2019

Fdo:

SANCHEZ
MARGALET
VICTOR
MANUEL -
28691159Q

Firmado digitalmente
por SANCHEZ
MARGALET VICTOR
MANUEL - 28691159Q
Fecha: 2019.02.16
12:00:33 +01'00'

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

1. Organization WH. Cardiovascular Disease. Available from: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/.
2. Sarre-Álvarez D, Cabrera-Jardines R, Rodríguez-Weber F, Díaz-Greene E. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Revisión de las escalas de riesgo y edad cardiovascular. *Medicina interna de México*. 2018;34:910-23.
3. Lahoz C, Mostaza JM. La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60(2):184-95.
4. Association AD. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Supplement 1):86-104.
5. Ruiz AB, Rados DZ. La placa aterogénica: fisiopatología y consecuencias clínicas. *Med Integral*. 2002;40(9):394-405.
6. George R, George T, Haritha R. Artherosclerosis risk assessment using reynold risk calculator. Conference on Circuit, Power and Computing Technologies (ICCPCT)2016. p. 1-6.
7. Jodas DS, Pereira AS, Tavares JMRS. A review of computational methods applied for identification and quantification of atherosclerotic plaques in images. *Expert Systems with Applications*. 2016;46:1-14.
8. Sary HC, al. e. Definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(9):1512-31.
9. Koenig W, Khuseyinova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(1):15-26.
10. Segrest JP, Jones Mk Fau - De Loof H, De Loof H Fau - Dashti N, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *J Lipid Res*. 2001;42(9):1346-67.
11. Chung SS, Choi Hh Fau - Kim KW, Kim Kw Fau - Cho YM, Cho Ym Fau - Lee HK, Lee Hk Fau - Park KS, Park KS. Regulation of human resistin gene expression in cell systems: an important role of stimulatory protein 1 interaction with a common promoter polymorphic site. *Diabetología*. 2005;48(6):1150-8.
12. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(10):1255-62.
13. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL, et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. *BTI - Endotext*.
14. Gotlieb A. Molecular Basis of Cardiovascular Disease. In: Elsevier, editor. *Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Disease*2018. p. 251-76.
15. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VA, Grechko AV, Orekhov AN. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis. *J Mol Med (Berl)*. 2017;95(11):1153-65.
16. Fau. BM, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34-47.

17. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979;76(1):333-7.
18. Witztum JL, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? *Trends Cardiovasc Med*. 2001;11(3-4):93-102.
19. Gao S, Liu J. Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and atherosclerotic cardiovascular disease. *Chronic Dis Transl Del*. 2017;3(2):89-94.
20. Gómez M, Valle V Fau - Arós F, Arós F Fau - Sanz G, Sanz G Fau - Sala J, Sala J Fau - Fiol M, Fiol M Fau - Bruguera J, et al. Oxidized LDL, lipoprotein (a) and other emergent risk factors in acute myocardial infarction (FORTIAM study). *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(4):373-82.
21. Holvoet P, Jenny Ns Fau - Schreiner PJ, Schreiner Pj Fau - Tracy RP, Tracy Rp Fau - Jacobs DR, Jacobs DR. The relationship between oxidized LDL and other cardiovascular risk factors and subclinical CVD in different ethnic groups: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2017;194(1):245-52.
22. Organization WH. Cardiovascular Disease 2017. Available from: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
23. Organization WH. ¿Qué son las enfermedades cardiovasculares? Available from: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/.
24. Roth GA, Johnson C, Abajobir A, Abd-Allah F, Abera SF, Abyu G, et al. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(1):1-25.
25. Federation WH. CVD World Monitor 2012. Available from: <http://cvdworldmonitor.org/>.
26. Estadística INd. Defunciones Según Causa de Muerte. Available from: <https://www.ine.es/dynt3/inebase/index.htm?padre=1171&capsel=1171>.
27. Baena Díez JM, del Val García JL, Tomàs Pelegrina J, Martínez Martínez JL, Martín Peñacoba R, González Tejón I, et al. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo en atención primaria. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58(4):367-73.
28. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383(9921):999-1008.
29. Hajar R. Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives. *Heart Views*. 2017;18(3):109-14.
30. Mostaza JM, Pintó X, Armario P, Masana L, Ascaso JF, Valdivielso P. Standards for global cardiovascular risk management arteriosclerosis. *Clin Investig Arterioscler*. 2019;31(1):1-43.
31. Ruiz-García A, Arranz-Martínez E, García-Álvarez JC, Morales-Cobos LE, García-Fernández ME, Pena-Antón Ndl, et al. Población y metodología del estudio SIMETAP: Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular, enfermedades cardiovasculares y enfermedades metabólicas relacionadas. *Clin Investig Arterioscler*. 2018;30(5):197-208.
32. Ros-Dié E, Fernández-Quesada F, Sánchez-Rodríguez J, Ros-Vidal R. Aterosclerosis, factores de riesgo vascular y prevención de la cardiopatía isquémica. *Angiología*. 2003;55(1):S47-78.
33. Flores-Mateo G, Grau M, O'Flaherty M, Ramos R, Elosua R, Violan-Fors C, et al. Análisis de la disminución de la mortalidad por enfermedad coronaria en una población mediterránea: España 1988-2005. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64(11):988-96.

34. Kunstmann S, Gainza F. Herramientas para la estimación del riesgo cardiovascular. *Rev Med Clin Condes*. 2018;29(1):6-11.
35. Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, Fernández-Pérez C, Muñiz O, Díaz-Díaz JL, et al. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study). *Circulation*. 2017;135(22):2133-44.
36. Civeira F. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atheroscler*. 2004;173(1):55-68.
37. Bianconi V, Banach M, Pirro M. Why patients with familial hypercholesterolemia are at high cardiovascular risk? Beyond LDL-C levels. *Trends Cardiovasc Med*. 2020:1050-783.
38. Klein-Szanto AJP, Bassi DE. Keep recycling going: New approaches to reduce LDL-C. *Biochem Pharmacol*. 2019;164:336-41.
39. Zhao Y, Hasse S, Zhao C, Bourgoin SG. Targeting the autotaxin - Lysophosphatidic acid receptor axis in cardiovascular diseases. *Biochem Pharmacol* 2019;164:74-81.
40. Carrero I, Herráez A. Lipoproteínas El mundo de los lípidos. Available from: <http://biomodel.uah.es/model2/lip/lipoproteinas.htm>.
41. Díaz JDG, Latorrea JMM, Parra ARV, Fernández DC. Trastornos del metabolismo lipídico. *Medicine*. 2016;12(9):1059-71.
42. Marais AD. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease. (1465-3931 (Electronic)).
43. Carvajal C. Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. *Med Leg Costa Rica*. 2014;31(2):88-94.
44. Ademi Z, Watts GF, Pang J, Sijbrands EJ, van Bockxmeer FM, O'Leary P, et al. Cascade screening based on genetic testing is cost-effective: evidence for the implementation of models of care for familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2014;8(4):390-400.
45. Paththinige C, Sirisena N, Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia – a comprehensive literature review. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):103.
46. Cáceres DG-C. Cellular cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Clin Invest Arterioscl*. 2010;22(1):12-6.
47. J SR, RM FF. In: Santos Dd, editor. Bases fisiológicas del metabolismo lipídico: Control Global del Riesgo Cardiometabólico 2012. p. 487-503.
48. Olea SdA. Epidemiología, definición, clasificación, despistaje y diagnóstico de las dislipemias. *Semergen*. 2009;35(3):3-9.
49. Md F, Bsc SD, Bsc SG, Bermudez V, Velasco M, Lutti y, et al. Dislipidemias primarias como factor de riesgo para enfermedad coronaria. *Revista Latinoamericana de Hipertension*. 2009;4:18-25.
50. Blanch CM, Rovira AF, Borjabad CR, Gerediaga DI, Cardona IP, Marín LM, et al. Hipercolesterolemia familiar: cribado, diagnóstico y tratamiento en la infancia. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2016;7(1):38-47.
51. Ascaso JF, Cenarro A, Civeira F, Gerediaga DI, Martínez-Hervás S, Marín LM, et al. *Lipidología Clínica*: Permanyer; 2017.
52. Łukasz Bułdak AUBMAUDKAUAUAUSJAUABAUM. Endocrine diseases as causes of secondary hyperlipidemia. *Endokrynologia Polska*. 2019;70(6):511-9.

53. Delitala AP, Capobianco G, Delitala G, Cherchi PL, Dessole S. Polycystic ovary syndrome, adipose tissue and metabolic syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;296(3):405-19.
54. García Díaz JD, Mesa Latorre JM, Valbuena Parra AR, Corps Fernández D. Trastornos del metabolismo lipídico. *Medicine.* 2016;12(19):1059-71.
55. Asvold BO, Vatten Lj Fau - Nilsen TIL, Nilsen Ti Fau - Bjørø T, Bjørø T. The association between TSH within the reference range and serum lipid concentrations in a population-based study. The HUNT Study. *Eur J Endocrinol.* 2007;156(2):181-6.
56. Stamatouli A, Bedoya P, Yavuz S. Hypothyroidism: Cardiovascular Endpoints of Thyroid Hormone Replacement. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;10(888).
57. Hernández-Mijaresa A, Ascaso JF, Blasco M, Brea Á, Díaz Á, Mantilla T, et al. Riesgo cardiovascular residual de origen lipídico. Componentes y aspectos fisiopatológicos. *Clin Investig Arterioscler.* 2018;31(2):75-88.
58. Xiao C, Dash S, Morgantini C, Hegele RA, Lewis GF. Pharmacological Targeting of the Atherogenic Dyslipidemia Complex: The Next Frontier in CVD Prevention Beyond Lowering LDL Cholesterol. *Diabetes.* 2016;65(7):1767-78.
59. Chan DC, Barrett PH, Watts GF. The metabolic and pharmacologic bases for treating atherogenic dyslipidaemia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;28(3):369-85.
60. Dutkowska A, Konieczna A, Breska-Kruszewska J, Sendrakowska M, Kowalska I, Rachoń D. Recomendations on non-pharmacological interventions in women with PCOS to reduce body weight and improve metabolic disorders. *Endokrynologia Polska.* 2019;70(2):198-212.
61. Greenman Y. Management of Dyslipidemia in Cushing's Syndrome *Neuroendocrinology.* 2010;92(1):91-5.
62. Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol.* 2016;213:8-14.
63. Ni Q, Lu X Fau - Chen C, Chen C Fau - Du H, Du H Fau - Zhang R, Zhang R. Risk factors for the development of hyperuricemia: A STROBE-compliant cross-sectional and longitudinal study. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(42):e17597.
64. Yousefinejad A, Siassi F, Mirshafiey A, Eshraghian M-R, Koohdani F, Javanbakht MH, et al. Effect of Genistein and L-Carnitine and Their Combination on Gene Expression of Hepatocyte HMG-COA Reductase and LDL Receptor in Experimental Nephrotic Syndrome. *Iran J Public Health.* 2015;44(10):1339-47.
65. Agrawal S, Zaritsky JJ, Fornoni A, Smoyer WE. Dyslipidaemia in nephrotic syndrome: mechanisms and treatment. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(1):57-70.
66. Vaziri ND. Disorders of lipid metabolism in nephrotic syndrome: mechanisms and consequences. *Kidney Int.* 2016;90(1):41-52.
67. Zhang Hw Fau - Zhao X, Zhao X Fau - Xu R-X, Xu Rx Fau - Guo Y-L, Guo Yl Fau - Zhu C-G, Zhu Cg Fau - Wu N-Q, Wu Nq Fau - Cui C-J, et al. Relationship between Plasma Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 and Estimated Glomerular Filtration Rate in the General Chinese Population. *Cardiorenal Med.* 2018;8(4):311-20.
68. Vlad CE, Foia LA-O, Popescu R, Ivanov I, Luca MC, Delianu C, et al. Apolipoproteins A and B and PCSK9: Nontraditional Cardiovascular Risk Factors in Chronic Kidney Disease and in End-Stage Renal Disease. *J Diabetes Res.* 2019:1-17.
69. Morató TM. Manejo de las dislipemias en situaciones especiales: dislipemias secundarias. *Aten Primaria* 2004;34(2):64-8.

70. Paretsa MH, Esmorea ZA, Fernández LJ, Hurtado EMH. Los betabloqueadores y su adecuado uso en pacientes con dislipidemia. *CorSalud*. 2013;5(3):311-20.
71. Goya IL, Bueno MM. Tratamiento de las dislipemias en situaciones especiales. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2012;12(C):26-32.
72. Lin CC, Li CI, Liu CS, Lin WY, Lin CH, Chiang JI, et al. Obesity paradox in associations between body mass index and diabetes-related hospitalization and mortality in patients with type 2 diabetes: Retrospective cohort studies. *Diabetes Metab* 2019;45(6):564-72.
73. Najam O, Ray KK. Familial Hypercholesterolemia: a Review of the Natural History, Diagnosis, and Management. *Cardiol Ther*. 2015;4(1):25-38.
74. Di Taranto MD, Giacobbe C, Fortunato G. Familial hypercholesterolemia: A complex genetic disease with variable phenotypes. *Eur J Med Genet*. 2020;63(4):1-34.
75. Tier 1 Genomics Applications and their Importance to Public Health Genomics & Precision Health 2014. Available from: <https://www.cdc.gov/genomics/implementation/toolkit/tier1.htm>.
76. Tada H, Nohar A, Kawashiri M-a. Monogenic, polygenic, and oligogenic familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2019;30(4):300-6.
77. Paquette M, Bernard S, Paré G, Baass A. Triglycerides, hypertension, and smoking predict cardiovascular disease in dysbetalipoproteinemia. *J Clin Lipidol*. 2020;14(1):46-52.
78. Koopal C, van der Graaf Y, Asselbergs FW, Westerink J, Visseren FL. Influence of APOE-2 genotype on the relation between adiposity and plasma lipid levels in patients with vascular disease. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(2):265-9.
79. de Beer F, Stalenhoef Af Fau - Hoogerbrugge N, Hoogerbrugge N Fau - Kastelein JJP, Kastelein Jj Fau - Gevers Leuven JA, Gevers Leuven Ja Fau - van Duijn CM, van Duijn Cm Fau - Havekes LM, et al. Expression of type III hyperlipoproteinemia in apolipoprotein E2 (Arg158 --> Cys) homozygotes is associated with hyperinsulinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(2):294-9.
80. Riccardi G, Vaccaro O, Costabile G, Rivellese A. How Well Can We Control Dyslipidemias Through Lifestyle Modifications? *Curr Cardiol Rep*. 2016;18:66.
81. Chung SS, Choi Hh Fau - Kim KW, Kim Kw Fau - Cho YM, Cho Ym Fau - Lee HK, Lee Hk Fau - Park KS, Park KS. Regulation of human resistin gene expression in cell systems: an important role of stimulatory protein 1 interaction with a common promoter polymorphic site. *Pancreas*. 2009;38(6):716-7.
82. Morise AP, Hegele RA. Atypical familial dysbetalipoproteinemia associated with high polygenic cholesterol and triglyceride scores treated with ezetimibe and evolocumab. *J Clin Lipidol*. 2019;13(3):411-4.
83. Koopal C, Maraisb AD, Visserena FLJ. Familial dysbetalipoproteinemia: an underdiagnosed lipid disorder. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2017;24(2):133-9.
84. Brahm AJ, Hegele RA. Chylomicronaemia--current diagnosis and future therapies. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(6):352-62.
85. Falko JM. Familial Chylomicronemia Syndrome: A Clinical Guide For Endocrinologists. *Endocr Pract*. 2018;24(8):756-63.
86. Moulin P, Dufour R, Aversa M, Arca M, Cefalù AB, Noto D, et al. Identification and diagnosis of patients with familial chylomicronaemia syndrome (FCS): Expert panel recommendations and proposal of an "FCS score". *Atherosclerosis*. 2018;275:265-72.
87. Farol LT, Hymes KB. Bexarotene: a clinical review. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2004;4(2):180-8.

88. Senosiain Lalastra C, Tavío Hernández E, Moreira Vicente V, Maroto Castellanos M, García Sánchez MC, Aicart Ramos M, et al. Pancreatitis aguda por hipertrigliceridemia. *Gastroenterol Hepatol*. 2013;36(4):274-9.
89. Errico TL, Chen X, Campos JMM, Julve J, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clin Invest Arterioscl*. 2013;25(2):98-103.
90. Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJP, Hovingh GK. The PCSK9 decade. *J Lipid Res*. 2012;53(12):2515-24.
91. Smelt A, Beer F. Apolipoprotein E and Familial Dysbetalipoproteinemia: Clinical, Biochemical, and Genetic Aspects. *Seminars in vascular medicine*. 2004;4(3):249-57.
92. Blum CB. Type III Hyperlipoproteinemia: Still Worth Considering? *Prog Cardiovasc Dis*. 2016;59(2):119-24.
93. Stroes E, Moulin P, Parhofer KG, Rebours V, Löhr JM, Aversa M. Diagnostic algorithm for familial chylomicronemia syndrome. *Atheroscler Suppl*. 2017;23:1-7.
94. González; DF, Olea; SdA, Felices; PV, Sala; XP, Mijares; AH, Herrera; MAR, et al. Documento de Consenso SEMERGEN-SEA. Documento de Consenso Sobre Hipertrigliceridemias. 2011:1-86.
95. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Aversa M, et al. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(8):655-66.
96. Otarod JK, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and its role in regulation of plasma lipoproteins and cardiac risk. *Curr Atheroscler Rep*. 2004;6(5):335-42.
97. Bouhairie VE, Goldberg AC. Familial hypercholesterolemia. *Cardiol Clin*. 2015;33(2):169-79.
98. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2014;35(32):2146-57.
99. Mytilinaiou M, Kyrou I, Khan M, Grammatopoulos DK, Randeve HS. Familial Hypercholesterolemia: New Horizons for Diagnosis and Effective Management. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9(707):1-29.
100. Trinder M, Francis GA, Brunham LR. Association of Monogenic vs Polygenic Hypercholesterolemia With Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *JAMA Cardiol*. 2020;5(4):390-9.
101. Villa G, Wong B, Kutikova L, Ray KK, Mata P, Bruckert E. Prediction of cardiovascular risk in patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes*. 2017;3(4):274-80.
102. Baigent C Fau - Keech A, Keech A Fau - Kearney PM, Kearney Pm Fau - Blackwell L, Blackwell L Fau - Buck G, Buck G Fau - Pollicino C, Pollicino C Fau - Kirby A, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366(9493):1267-78.
103. Ference BA, Yoo W Fau - Alesh I, Alesh I Fau - Mahajan N, Mahajan N Fau - Mirowska KK, Mirowska Kk Fau - Mewada A, Mewada A Fau - Kahn J, et al. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol* 2012;60(25):2631-9.

104. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017;38(2):2459-72.
105. Neefjes LA, Ten Kate GJ, Alexia R, Nieman K, Galema-Boers AJ, Langendonk JG, Langendonk JG, Weustink AC, et al. Accelerated subclinical coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2011;219(2):721-7.
106. Knowles JW, O'Brien EC, Greendale K, Wilemon K, Genest J, Sperling LS, et al. Reducing the burden of disease and death from familial hypercholesterolemia: a call to action. *Am Heart J* 2014;168(6):807-11.
107. Hirobe K, Matsuzawa Y, Ishikawa K, Tarui S, Yamamoto A, Nambu S, et al. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 1982;44(2):201-10.
108. Organization WH. Familial hypercholesterolaemia (FH) : report of a second WHO consultation. Geneva: 1998.
109. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2013;61(4):427-36.
110. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014;384(9943):626-35.
111. Bernelot Moens SJ, Verweij SL, Schnitzler JG, Stiekema LCA, Bos M, Langsted A, et al. Remnant Cholesterol Elicits Arterial Wall Inflammation and a Multilevel Cellular Immune Response in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(5):969-75.
112. Goldberg IJ. Hypertriglyceridemia: impact and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2009;38(1):137-49.
113. Shah NP, Cho L, Ahmed HM. Familial Chylomicronemia Syndrome: Clinical Characteristics and Long-Term Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(10):1177-9.
114. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, Wiklund O, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2013;34(45):3478-90a.
115. Santos RD. Screening and management of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Cardiol*. 2019;34(5):526-30.
116. Watts GF, Juniper A, van Bockxmeer F, Ademi Z, Liew D, O'Leary P, et al. Familial hypercholesterolaemia: a review with emphasis on evidence for treatment, new models of care and health economic evaluations. *Int J Evid Based Healthc*. 2012;10(3):211-21.
117. Mata P, Alonso R, Ruiz A, Gonzalez-Juanatey JR, Badimón L, Díaz-Díaz JL, et al. Diagnóstico y tratamiento de la hipercolesterolemia familiar en España: ~ documento de consenso. *Aten Primaria*. 2014.
118. Zamora A, Masana L, Comas-Cufí M, Vila À, Plana N, García-Gil M, et al. Familial hypercholesterolemia in a European Mediterranean population-Prevalence and clinical data from 2.5 million primary care patients. *J Clin Lipidol*. 2017;11(4):1013-22.

119. Vallejo-Vaz AJ, De Marco M, Stevens CAT, Akram A, Freiburger T, Hovingh GK, et al. Overview of the current status of familial hypercholesterolaemia care in over 60 countries - The EAS Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration (FHSC). *Atherosclerosis*. 2018;277(234-255).
120. Society EA. Improving FH care: first survey data from EAS FHSC. Available from: https://www.eas-society.org/page/commentary_FHSC_survey.
121. Boot CS, Luvai A, Neely RDG. The clinical and laboratory investigation of dysbetalipoproteinemia. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2020;1-12.
122. Koopal C, Marais AD, Westerink J, Visseren FL. Autosomal dominant familial dysbetalipoproteinemia: A pathophysiological framework and practical approach to diagnosis and therapy. *J Clin Lipidol* 2017;11(1):12-3e.1.
123. LaRosa Jc Fau - Chambless LE, Chambless Le Fau - Criqui MH, Criqui Mh Fau - Frantz ID, Frantz Id Fau - Glueck CJ, Glueck Cj Fau - Heiss G, Heiss G Fau - Morrison JA, et al. Patterns of dyslipoproteinemia in selected North American populations. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 1986;73(1-2):12-29.
124. O'Dea LSL, MacDougall J, Alexander VJ, Digenio A, Hubbard B, Arca M, et al. Differentiating Familial Chylomicronemia Syndrome From Multifactorial Severe Hypertriglyceridemia by Clinical Profiles. *Journal of the Endocrine Society*. 2019;3(12):2397-410.
125. Versmissen J, Oosterveer Dm Fau - Yazdanpanah M, Yazdanpanah M Fau - Defesche JC, Defesche Jc Fau - Basart DCG, Basart Dc Fau - Liem AH, Liem Ah Fau - Heeringa J, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008;337:a2423.
126. Mata N, Alonso R, Badimón L, Padró T, Fuentes F, Muñiz O, et al. Clinical characteristics and evaluation of LDL-cholesterol treatment of the Spanish Familial Hypercholesterolemia Longitudinal Cohort Study (SAFEHEART). *Lipids Health Dis* 2011;10:94.
127. Alonso R, Perez de Isla L, Muñiz-Grijalvo O, Mata P. Barriers to Early Diagnosis and Treatment of Familial Hypercholesterolemia: Current Perspectives on Improving Patient Care. *Vasc Health Risk Manag*. 2020;16:11-25.
128. Zimmerman J, Duprez D, Veach PM, Zierhut HA-OX. Barriers to the identification of familial hypercholesterolemia among primary care providers. *J Community Genet*. 2019;10(2):229-36.
129. Francis GA, Brunham LR. Low Rates of Identification and Treatment of Familial Hypercholesterolemia in France and Elsewhere: A Call for Universal Screening. *Can J Cardiol*. 2019;35(6):699-700.
130. Talmud PJ, Shah S Fau - Whittall R, Whittall R Fau - Futema M, Futema M Fau - Howard P, Howard P Fau - Cooper JA, Cooper Ja Fau - Harrison SC, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *Lancet*. 2013;381(9874):1293-301.
131. Ose L. The Real Code of Leonardo da Vinci *Current Cardiology Reviews*. 2008;4(1):1-3.
132. T. A, M. V, M. V. Diagnosis of familial hypercholesterolaemia on first sight? The role of the ophthalmologist in identifying patients with familial hypercholesterolemia. *Čes a slov Oftal*. 2018;74(4):127-31.

133. Bergman R. Xanthelasma palpebrarum and risk of atherosclerosis. *Int J Dermatol.* 1998;37:343-9.
134. Koopal C, Visseren FL, Marais AD, Westerink J, Spiering W. Tendon xanthomas: Not always familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2016;10(5):1262-5.
135. Zhimin W, Hui W, Fengtao J, Wenjuan S, Yongrong L. Clinical and serum lipid profiles and LDLR genetic analysis of xanthelasma palpebrarum with nonfamilial hypercholesterolemia. *J Cosmet Dermatol.* 2020;00:1-4.
136. Civeira F, Perez-Calahorra S, Mateo-Gallego R. Rapid resolution of xanthelasmas after treatment with alirocumab. *J Clin Lipidol.* 2016;10(5):1259-61.
137. Griffith JF, Hu M, Yeung DKW, Guo P, Lam SL, Xiao F, et al. Achilles Tendon Xanthomas: Fat-Water Separation at Baseline and after Treatment. *Radiology.* 2017;285(3):876-84.
138. Descamps OS, Leysen X, Leuven FV, Heller FR. The use of Achilles tendon ultrasonography for the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atheroscler.* 2001;157:514-8.
139. Corral P. Arco corneal: ¿signo del paso del tiempo o de riesgo cardiovascular? Corneal Arcus: Sign of Aging or Cardiovascular Risk? *Rev Fed Arg Cardiol* 2015;44(2):78-81.
140. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep.* 2019;21(6):43.
141. Burnside NJ, Alberta L Fau - Robinson-Bostom L, Robinson-Bostom L Fau - Bostom A, Bostom A. Type III hyperlipoproteinemia with xanthomas and multiple myeloma. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53(5 (Suppl 1)):S281-S4.
142. Morganroth J Fau - Levy RI, Levy Ri Fau - Fredrickson DS, Fredrickson DS. The biochemical, clinical, and genetic features of type III hyperlipoproteinemia. *Ann Intern Med.* 1975;82(2):158-74.
143. Rothschild M, Duhon G, Riaz R, Jetty V, Goldenberg N, Glueck CJ, et al. Pathognomonic Palmar Crease Xanthomas of Apolipoprotein E2 Homozygosity-Familial Dysbetalipoproteinemia. *JAMA Dermatol.* 2016;152(11):1275-6.
144. Hopkins PN, Brinton EA, Nanjee MN. Hyperlipoproteinemia Type 3: The Forgotten Phenotype. *Curr Atheroscler Rep.* 2014;16:440-59.
145. Blom DJ, O'Dea L, Digenio A, Alexander VJ, Karwatowska-Prokopczuk E, Williams KR, et al. Characterizing familial chylomicronemia syndrome: Baseline data of the APPROACH study. *J Clin Lipidol.* 2018;12(5):1234-43.e5.
146. Fau MF, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2019;41(1):111-88.
147. Escobar C AM, Arrarte V, et al. Recommendations to improve lipid control. Consensus document of the Spanish Society of Cardiology. *Rev Esp Cardiol.* 2020;73(2):161-7.
148. Hevonoja T, Pentikäinen MO, Hyvönen MT, Kovanen PT, Ala-Korpela M. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: Basis for understanding molecular changes in modified LDL. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2000;1488(3):189-210.
149. Panasencko OM, Torkhovskaya TI, Gorudko IV, Sokolov AV. The Role of Halogenative Stress in Atherogenic Modification of Low-Density Lipoproteins. *Biochemistry Biokhimiia.* 2020;85(Suppl 1):S34-s55.

150. Venugopal SK, Jialal I. Biochemistry, Low Density Lipoprotein. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

151. Brown MS, Kovanen PT, Goldstein JL. Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors. *Science*. 1981;212(4495):628-35.

152. Borén J, Williams KJ. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27(5):473-83.

153. Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis. Update and Therapeutic Implications. *Circulation*. 2007;116:1832-44.

154. Stock J. Triglycerides and cardiovascular risk: Apolipoprotein B holds the key. *Atheroscler*. 2019;284:221-2.

155. Kraft HG, Menzel HJ, Hoppichler F, Vogel W, Utermann G. Changes of genetic apolipoprotein phenotypes caused by liver transplantation. Implications for apolipoprotein synthesis. *The Journal of Clinical Investigation*. 1989;83(1):137-42.

156. Boffa MB, Koschinsky ML. Oxidized phospholipids as a unifying theory for lipoprotein(a) and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2019;16(5):305-18.

157. Tsimikas S, Fazio S, Ferdinand KC, Ginsberg HN, Koschinsky ML, Marcovina SM, et al. NHLBI Working Group Recommendations to Reduce Lipoprotein(a)-Mediated Risk of Cardiovascular Disease and Aortic Stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(2):177-92.

158. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010;31(23):2844-53.

159. Croyal M, Blanchard V, Ouguerram K, Chétiveaux M, Cabioch L, Moyon T, et al. VLDL (Very-Low-Density Lipoprotein)-Apo E (Apolipoprotein E) May Influence Lp(a) (Lipoprotein [a]) Synthesis or Assembly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(3):819-29.

160. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC, et al. Genetic Variants Associated with Lp(a) Lipoprotein Level and Coronary Disease. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(26):2518-28.

161. Emdin CA, Khera AV, Natarajan P, Klarin D, Won HH, Peloso GM, et al. Phenotypic Characterization of Genetically Lowered Human Lipoprotein(a) Levels. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(25):2761-72.

162. Vuorio A, Watts GF, Kovanen PT. Lipoprotein(a) as a risk factor for calcific aortic valvulopathy in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atheroscler*. 2019;281:25-30.

163. Masana L, Zamora A, Plana N, Comas-Cufí M, Garcia-Gil M, Lluch RM, et al. Incidence of Cardiovascular Disease in Patients with Familial Hypercholesterolemia Phenotype: Analysis of 5 Years Follow-Up of Real-World Data from More than 1.5 Million Patients. *J Clin Med*. 2019;8(7):1080.

164. Tada H, Kawashiri MA, Yoshida T, Teramoto R, Nohara A, Konno T, et al. Lipoprotein(a) in Familial Hypercholesterolemia With Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Gain-of-Function Mutations. *Circ J*. 2016;80(2):512-8.

165. Sabatine MS. PCSK9 inhibitors: clinical evidence and implementation. *Nature reviews Cardiology*. 2019;16(3):155-65.

166. Raal FJ, Giugliano RP, Sabatine MS, Koren MJ, Blom D, Seidah NG, et al. PCSK9 inhibition-mediated reduction in Lp(a) with evolocumab: an analysis of 10 clinical trials and the LDL receptor's role. *J Lipid Res.* 2016;57(6):1086-96.
167. Vuorio A, Watts G, Wj S, Tsimikas S, Kovanen P. Familial hypercholesterolemia and elevated lipoprotein(a): double heritable risk and new therapeutic opportunities. *CPD J Intern Med.* 2019;287:2-18.
168. Alonso R, Andres E, Mata N, Fuentes-Jiménez F, Badimón L, López-Miranda J, et al. Lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia: an important predictor of cardiovascular disease independent of the type of LDL receptor mutation. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(19):1982-9.
169. Kraft HG, Lingenhel A, Raal FJ, Hohenegger M, Utermann G. Lipoprotein(a) in homozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(2):522-8.
170. Sun D, Zhou BY, Zhao X, Li S, Zhu CG, Guo YL, et al. Lipoprotein(a) level associates with coronary artery disease rather than carotid lesions in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lab Anal.* 2018;32(7):e22442.
171. Kronenberg F, Utermann G. Lipoprotein(a): resurrected by genetics. *J Intern Med.* 2013;273(1):6-30.
172. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science.* 1988;240(4852):622-30.
173. Saito T, Matsunaga A, Fukunaga M, Nagahama K, Hara S, Muso E. Apolipoprotein E-related glomerular disorders. *Kidney Int.* 2020;97(2):279-88.
174. Solnica B, Sygitowicz G, Sitkiewicz D, Cybulska B, Józwiak J, Odrowąż-Sypniewska G, et al. 2020 Guidelines of the Polish Society of Laboratory Diagnostics (PSLD) and the Polish Lipid Association (PoLA) on laboratory diagnostics of lipid metabolism disorders. *Arch Med Sci.* 2020;16(2):237-52.
175. Langsted A, Nordestgaard BG. Nonfasting versus fasting lipid profile for cardiovascular risk prediction. *Pathology.* 2019;51(2):131-41.
176. Nordestgaard BG. A Test in Context: Lipid Profile, Fasting Versus Nonfasting. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(13):1637-46.
177. Rasouli M, Mokhtari H. Calculation of LDL-Cholesterol vs. Direct Homogenous Assay. *Journal of clinical laboratory analysis.* 2017;31(3):e22057.
178. Chan DC, Pang J, Hooper AJ, Bell DA, Burnett JR, Watts GF. Effect of Lipoprotein(a) on the Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: Does It Make a Difference in the Clinic? *Clin Chem.* 2019;65(10):1258-66.
179. Aguilar GDG, Alfaro RM, Romero MN, Argany AC, Hidalgo LQ, Doreste JAA. Evaluación de un método directo para la cuantificación de colesterol de LDL. *Química Clínica.* 2006;25(2):58-63.
180. Orejón IMS, Ricra MAB, Huallpa JAC. Derivation and validation of an equation to determine cholesterol-low density lipoproteins in a population of Lima, Peru. *An Fac Med.* 2017;78(1):41-8.
181. Guevara-Cuéllar C, Criollo-Díaz C, Pineda C. Comparison of low-density lipoprotein obtained from the Friedewald formula and new formulae in a heterogeneous population. *Colomb Med.* 2010;41(4):328-35.
182. Aguilar GDG, Alfaro RM, Romero MN, Argany AC, Hidalgo LQ, Doreste JAA. Evaluación de un método directo para la cuantificación de colesterol de LDL. *Quim Clin.* 2006;25(2):58-63.

183. Gómez-Barrado JJ, Gómez-Turégano P, Kounka Z, Gort LEL, Ortiz C, Cortés MJRC, et al. Papel de la lipoproteína (a) en el nivel de colesterol LDL determinado mediante la fórmula de Friedewald. *Rev Esp Cardiol*. 2019;72(Supl 1):1046.
184. Contois JH, McConnell JP, Sethi AA, Csako G, Devaraj S, Hoefner DM, et al. Apolipoprotein B and cardiovascular disease risk: position statement from the AACC Lipoproteins and Vascular Diseases Division Working Group on Best Practices. *Clin Chem*. 2009;55(3):407-19.
185. Langlois MR, Chapman MJ, Cobbaert C, Mora S, Remaley AT, Ros E, et al. Quantifying Atherogenic Lipoproteins: Current and Future Challenges in the Era of Personalized Medicine and Very Low Concentrations of LDL Cholesterol. A Consensus Statement from EAS and EFLM. *Clinical chemistry*. 2018;64(7):1006-33.
186. Mora S, Caulfield MP, Wohlgemuth J, Chen Z, Superko HR, Rowland CM, et al. Atherogenic Lipoprotein Subfractions Determined by Ion Mobility and First Cardiovascular Events After Random Allocation to High-Intensity Statin or Placebo: The Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) Trial. *Circulation*. 2015;132(23):2220-9.
187. Sniderman AD, de Graaf J, Thanassoulis G, Tremblay AJ, Martin SS, Couture P. The spectrum of type III hyperlipoproteinemia. *J Clin Lipidol*. 2018;12(6):1383-9.
188. de Graaf J, Couture P, Sniderman A. A diagnostic algorithm for the atherogenic apolipoprotein B dyslipoproteinemias. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008;4(11):608-18.
189. Marais D, Solomon G, Blom D. Dysbetalipoproteinaemia: A mixed hyperlipidaemia of remnant lipoproteins due to mutations in apolipoprotein E. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2014;51(1):46-62.
190. Sniderman AD. Type III Hyperlipoproteinemia: The Forgotten, Disregarded, Neglected, Overlooked, Ignored but Highly Atherogenic, and Highly Treatable Dyslipoproteinemia. *Clin Chem*. 2019;65(2):225-7.
191. Boot CS, Middling E, Allen J, Neely RDG. Evaluation of the Non-HDL Cholesterol to Apolipoprotein B Ratio as a Screening Test for Dysbetalipoproteinemia. *Clinical chemistry*. 2019;65(2):313-20.
192. Rioja J, Ariza MJ, García-Casares N, Coca-Prieto I, Arrobas T, Muñoz-Grijalvo O, et al. Evaluation of the chylomicron-TG to VLDL-TG ratio for type I hyperlipoproteinemia diagnostic. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(12):e13345.
193. Ellis KL, Pérez de Isla L, Alonso R, Fuentes F, Watts GF, Mata P. Value of Measuring Lipoprotein(a) During Cascade Testing for Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(9):1029-39.
194. Wilemon KA, Patel J, Aguilar-Salinas C, Ahmed CD, Alkhnifsawi M, Almahmeed W, et al. Reducing the Clinical and Public Health Burden of Familial Hypercholesterolemia: A Global Call to Action. *JAMA Cardiol*. 2020.
195. Iacocca MA, Wang J, Sarkar S, Dron JS, Lagace T, McIntyre AD, et al. Whole-Gene Duplication of PCSK9 as a Novel Genetic Mechanism for Severe Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol*. 2018;34(10):1316-24.
196. Usifo E, Leigh SE, Whittall RA, Lench N, Taylor A, Yeats C, et al. Low-density lipoprotein receptor gene familial hypercholesterolemia variant database: update and pathological assessment. *Annals of human genetics*. 2012;76(5):387-401.

197. Sánchez-Hernández RM, Tugores A, Nóvoa FJ, Brito-Casillas Y, Expósito-Montesdeoca AB, Garay P, et al. The island of Gran Canaria: A genetic isolate for familial hypercholesterolemia. *Journal of clinical lipidology*. 2019;13(4):618-26.
198. Loaliza N, Hartgers ML, Reeskamp LF, Balder JW, Rimbert A, Baziotti V, et al. Taking One Step Back in Familial Hypercholesterolemia: STAP1 Does Not Alter Plasma LDL (Low-Density Lipoprotein) Cholesterol in Mice and Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(4):973-85.
199. Sjouke B, Defesche JC, de Randamie JSE, Wiegman A, Fouchier SW, Hovingh GK. Sequencing for LIPA mutations in patients with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2016;251:263-5.
200. Fedoseienko A, Wijers M, Wolters JC, Dekker D, Smit M, Huijkman N, et al. The COMMD Family Regulates Plasma LDL Levels and Attenuates Atherosclerosis Through Stabilizing the CCC Complex in Endosomal LDLR Trafficking. *Circ Res*. 2018;122(12):1648-60.
201. Wijers M, Zanoni P, Liv N, Vos DY, Jäckstein MY, Smit M, et al. The hepatic WASH complex is required for efficient plasma LDL and HDL cholesterol clearance. *JCI insight*. 2019;4(11):e126462.
202. Yang L, Qian G, Xue Z, Lei H, Kui X, Yan-qing H, et al. PNPLA5-knockout rats induced by CRISPR/Cas9 exhibit abnormal bleeding and lipid level. *J Integr Agric*. 2017;16(1):169-80.
203. Reeskamp LF, Volta A, Zuurbier L, Defesche JC, Hovingh GK, Grefhorst A. ABCG5 and ABCG8 genetic variants in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2020;14(2):207-17.e7.
204. Anagnostis P, Vaitsi K, Mintzioti G, Goulis DG. Non-coronary atherosclerotic cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolaemia. *Curr Med Res Opin*. 2020;36(5):731-40.
205. Wang J, Dron JS, Ban MR, Robinson JF, McIntyre AD, Alazzam M, et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(12):2439-45.
206. Santos RD, Bourbon M, Alonso R, Cuevas A, Vasques-Cardenas NA, Pereira AC, et al. Clinical and molecular aspects of familial hypercholesterolemia in Ibero-American countries. *J Clin Lipidol*. 2017;11(1):160-6.
207. Berrade S, Oyarzábal M, Chueca M. Genética de la hipercolesterolemia familiar. Indicaciones de los estudios genéticos y su utilidad. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2012;3(1):75-80.
208. Al-Allaf FA, Abduljaleel Z, Taher MM, Athar M, Bogari NM, Al-Ahdal MN, et al. Molecular Dynamics Simulation Reveals Exposed Residues in the Ligand-Binding Domain of the Low-Density Lipoprotein Receptor that Interacts with Vesicular Stomatitis Virus-G Envelope. *Viruses*. 2019;11(11):1063.
209. LDLR low density lipoprotein receptor [Homo sapiens (human)]. National Center for Biotechnology Information (NCBI).
210. Banerjee P, Chan KC, Tarabocchia M, Benito-Vicente A, Alves AC, Uribe KB, et al. Functional Analysis of LDLR (Low-Density Lipoprotein Receptor) Variants in Patient Lymphocytes to Assess the Effect of Evinacumab in Homozygous Familial Hypercholesterolemia Patients With a Spectrum of LDLR Activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(11):2248-60.

211. Santos RD, Gidding SS, Hegele RA, Cuchel MA, Barter PJ, Watts GF, et al. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(10):850-61.
212. Khachadurian AK. The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964;37:402-7.
213. Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS. Fat transport in lipoproteins--an integrated approach to mechanisms and disorders. *The New England journal of medicine.* 1967;276(1):34-42.
214. Tudorache IF, Trusca VG, Gafencu AV. Apolipoprotein E - A Multifunctional Protein with Implications in Various Pathologies as a Result of Its Structural Features. *Comput Struct Biotechnol J.* 2017;15:359-65.
215. Phillips MC. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB life.* 2014;66(9):616-23.
216. APOE apolipoprotein E [Homo sapiens (human)]. National Center for Biotechnology Information.
217. Avena M, Cefalù AB, Casula M, Noto D, Arca M, Bertolini S, et al. Familial hypercholesterolemia: The Italian Atherosclerosis Society Network (LIPIGEN). *Atheroscler Suppl.* 2017;29:11-6.
218. Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17093.
219. Bănescu C. Do we really need genetic tests in current clinical practice? *RJLabM.* 2019;27(1):9-14.
220. Moldovan V, Banescu C, Dobreanu M. Molecular diagnosis methods in familial hypercholesterolemia. *Anatol J Cardiol.* 2020;23(3):120-7.
221. Bertolini S, Pisciotta L, Fasano T, Rabacchi C, Calandra S. The study of familial hypercholesterolemia in Italy: A narrative review. *Atheroscler Suppl.* 2017;29:1-10.
222. Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res.* 1990;31(3):545-8.
223. Ariza MJ, Rioja J, Ibarretxe D, Camacho A, Díaz-Díaz JL, Mangas A, et al. Molecular basis of the familial chylomicronemia syndrome in patients from the National Dyslipidemia Registry of the Spanish Atherosclerosis Society. *J Clin Lipidol.* 2018;12(6):1482-92.e3.
224. Strom SP, Lee H, Das K, Vilain E, Nelson SF, Grody WW, et al. Assessing the necessity of confirmatory testing for exome-sequencing results in a clinical molecular diagnostic laboratory. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2014;16(7):510-5.
225. Martínez-Barrios E, Martínez-Puchol AI, Roset A, Zambón D, Clària J, Berna M. Aplicación de la secuenciación masiva de nueva generación al diagnóstico molecular de la hipercolesterolemia familiar. *Rev Lab Clin.* 2015;8(1):8-18.
226. Khera AV, Chaffin M, Zekavat SM, Collins RL, Roselli C, Natarajan P, et al. Whole-Genome Sequencing to Characterize Monogenic and Polygenic Contributions in Patients Hospitalized With Early-Onset Myocardial Infarction. *Circulation.* 2019;139(13):1593-602.
227. Page MM, Bell DA, Watts GF. Widening the spectrum of genetic testing in familial hypercholesterolaemia: Will it translate into better patient and population outcomes? *Clin Genet.* 2020;97(4):543-55.

228. VV. A. Enfermeros/as. Servicio de Salud de Castilla-La Mancha (SESCAM). Madrid.2017. 648 p.
229. Corral P. Hipercolesterolemia familiar heterocigota. Revisión de las estrategias para su identificación y detección sistemática. *Insuf Card*. 2015;10(3):126.
230. Blanch CM, Rovira AF, Borjabad CR, Gerediaga DI, Cardona IP, Marín LM, et al. Hipercolesterolemia familiar: cribado, diagnóstico y tratamiento en la infancia. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2017;7(1):38-47.
231. Pang J, Sullivan DR, Brett T, Kostner KM, Hare DL, Watts GF. Familial Hypercholesterolaemia in 2020: A Leading Tier 1 Genomic Application. *Heart Lung Circ*. 2020;29(4):619-33.
232. Rico OC. Cribado de la Hipercolesterolemia. *PrevInfad (AEPap)/PAPPS infancia y adolescencia*. 2008:1-35.
233. Kavey RE, Daniels SR, Lauer RM, Atkins DL, Hayman LL, Taubert K. American Heart Association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Circulation*. 2003;107(11):1562-6.
234. Betteridge DJ, Broome K, Durrington P, Mann JI, Miller JP, Neil HAW, et al. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ*. 1991;303:893-6.
235. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171-6.
236. Paquette M, Dufour R, Baass A. The Montreal-FH-SCORE: A new score to predict cardiovascular events in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017;11(1):80-6.
237. Civeira F, Ros E, Jarauta E, Plana N, Zambon D, Puzo J, et al. Comparison of genetic versus clinical diagnosis in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2008;102(9):1187-93, 93.e1.
238. Shah NP, Ahmed HM, Wilson Tang WH. Familial hypercholesterolemia: Detect, treat, and ask about family. *Cleve Clin J Med*. 2020;87(2):109-20.
239. Dron JS, Wang J, Cao H, McIntyre AD, Iacocca MA, Menard JR, et al. Severe hypertriglyceridemia is primarily polygenic. *J Clin Lipidol*. 2019;13(1):80-8.
240. Marais D. Dysbetalipoproteinemia: an extreme disorder of remnant metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2015;26(4):292-7.
241. Henneman L, McBride CM, Cornel MC, Duquette D, Qureshi N. Screening for Familial Hypercholesterolemia in Children: What Can We Learn From Adult Screening Programs? *Healthcare (Basel)*. 2015;3(4):1018-30.
242. Kramer AI, Trinder M, Brunham LR. Estimating the Prevalence of Familial Hypercholesterolemia in Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. *Can J Cardiol*. 2019;35(10):1322-31.
243. Bell DA, Hooper AJ, Bender R, McMahan J, Edwards G, van Bockxmeer FM, et al. Opportunistic screening for familial hypercholesterolaemia via a community laboratory. *Ann Clin Biochem*. 2012;49(Pt 6):534-7.
244. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed CD, Ballantyne CM, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(6):662-80.
245. Knowles JW, Rader DJ, Khoury MJ. Cascade Screening for Familial Hypercholesterolemia and the Use of Genetic Testing. *JAMA*. 2017;318(4):381-2.
246. Vinson A, Guerra L, Hamilton L, Wilson DP, Fnlá. Reverse Cascade Screening for Familial Hypercholesterolemia. *J Pediatr Nurs*. 2019;44:50-5.

247. Pang J, Poulter EB, Bell DA, Bates TR, Jefferson VL, Hillis GS, et al. Frequency of familial hypercholesterolemia in patients with early-onset coronary artery disease admitted to a coronary care unit. *J Clin Lipidol*. 2015;9(5):703-8.
248. Haase A, Goldberg AC. Identification of people with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2012;23(4):282-9.
249. Bender R, Bell DA, Hooper AJ, Edwards G, van Bockxmeer FM, Watts GF, et al. Screening for familial hypercholesterolaemia. *Pathology*. 2012;44(2):122-8.
250. Lázaro P, Pérez de Isla L, Watts GF, Alonso R, Norman R, Muñiz O, et al. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017;11(1):260-71.
251. Watts GF, Sullivan DR, Poplawski N, van Bockxmeer F, Hamilton-Craig I, Clifton PM, et al. Familial hypercholesterolaemia: a model of care for Australasia. *Atheroscler Suppl*. 2011;12(2):221-63.
252. Patricia Rubio-Marína, Michán-Doña A, Maraver-Delgado J, Arroyo-Olivares R, Varea RB, Islad LPd, et al. Programa de cribado en cascada para la detección de la hipercolesterolemia familiar. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2018;65(5):280-6.
253. Humphries SE, Cooper JA, Seed M, Capps N, Durrington PN, Jones B, et al. Coronary heart disease mortality in treated familial hypercholesterolaemia: Update of the UK Simon Broome FH register. *Atherosclerosis*. 2018;274:41-6.
254. Sánchez-Chaparroa MÁ, Pérez-Martínez P, Ibarretxe D, Suárez-Tembra M, Valdivielso P. Criterios de derivación para pacientes a las unidades de lípidos de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. *Clin Investing Arterioscl*. 2018;31(1):26-30.
255. Bell DA, Hooper AJ, Edwards G, Southwell L, Pang J, van Bockxmeer FM, et al. Detecting familial hypercholesterolaemia in the community: impact of a telephone call from a chemical pathologist to the requesting general practitioner. *Atherosclerosis*. 2014;234(2):469-72.
256. Bates TR, Burnett JR, van Bockxmeer FM, Hamilton S, Arnolda L, Watts GF. Detection of familial hypercholesterolaemia: a major treatment gap in preventative cardiology. *Heart Lung Circ*. 2008;17(5):411-3.
257. Watts GF, Gidding S, Wierzbicki AS, Toth PP, Alonso R, Brown WV, et al. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation. *Int J Cardiol*. 2014;171(3):309-25.
258. Mirzaee S, Choy KW, Doery JCG, Zaman S, Cameron JD, Nasis A. The tertiary hospital laboratory; a novel avenue of opportunistic screening of familial hypercholesterolemia. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 2019;23:100354.
259. Stephen RD. Screening for Familial Hypercholesterolemia. *JAMA Cardiol*. 2019;4:689-90.
260. Weng S, Kai PJ, Akyea R, Qureshi PN. Detection of familial hypercholesterolaemia: external validation of the FAMCAT clinical case-finding algorithm to identify patients in primary care. *Lancet*. 2019;4(5):256-64.
261. Australian Pathology Lipid Interest G, Appleton CA, Caldwell G, McNeil A, Meerkin M, Sikaris K, et al. Recommendations for lipid testing and reporting by Australian pathology laboratories. *Clin Biochem Rev*. 2007;28(2):32-45.
262. Watts GF, Sullivan DR, Bockxmeer FMv, Poplawski N, HamiltonCraig I, Clifton PM, et al. A Model of Care for Familial Hypercholesterolaemia: Key Role for Clinical Biochemistry. *Clin Biochem Rev*. 2012;33:25-31.

263. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. Guía ESC/EAS 2016 sobre el tratamiento de las dislipemias. *Rev Esp Cardiol*. 2017;70(2):115.e1-e64.
264. (WHO) WHO. Familial Hypercholesterolemia (FH) World Health Organization (WHO): World Health Organization (WHO); 1999. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66346/WHO_HGN_FH_CONS_99.2.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
265. Plana N, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Masana L. Hipercolesterolemia familiar en la infancia y la adolescencia: una realidad oculta. *Clin Invest Arterioscl*. 2017;29(3):129-40.
266. Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *Lancet*. 2013;381(9874):1293-301.
267. Iribarren C, Lu M, Jorgenson E, Martínez M, Lluís-Ganella C, Subirana I, et al. Clinical Utility of Multimarker Genetic Risk Scores for Prediction of Incident Coronary Heart Disease: A Cohort Study Among Over 51 000 Individuals of European Ancestry. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2016;9(6):531-40.
268. Kirke AB, Barbour RA, Burrows S, Bell DA, Vickery AW, Emery J, et al. Systematic detection of familial hypercholesterolaemia in primary health care: a community based prospective study of three methods. *Heart Lung Circ*. 2015;24(3):250-6.
269. Nordestgaard BG, Langlois MR, Langsted A, Chapman MJ, Aakre KM, Baum H, et al. Quantifying atherogenic lipoproteins for lipid-lowering strategies: Consensus-based recommendations from EAS and EFLM. *Atherosclerosis*. 2020;294:46-61.
270. De Wolf HA, Langlois MR, Suvisaari J, Aakre KM, Baum H, Collinson P, et al. How well do laboratories adhere to recommended guidelines for dyslipidaemia management in Europe? The CARDiac MARKer Guideline Uptake in Europe (CAMARGUE) study. *Clin Chim Acta* 2020;508:267-72.
271. Ned RM, Sijbrands EJ. Cascade Screening for Familial Hypercholesterolemia (FH). *PLoS Curr*. 2011;3:Rrn1238.
272. Safarova MS, Liu H, Kullo IJ. Rapid identification of familial hypercholesterolemia from electronic health records: The SEARCH study. *J Clin Lipidol*. 2016;10(5):1230-9.
273. Martin AC, Bell DA, Brett T, Watts GF. Beyond cascade screening: detection of familial hypercholesterolaemia at childhood immunization and other strategies. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(4):321-7.
274. Ibarretxe D, Rodríguez-Borjabad C, Feliu A, Bilbao J, Masana L, Plana N. Detecting familial hypercholesterolemia earlier in life by actively searching for affected children: The DECOPIIN project. *Atherosclerosis*. 2018;278:210-6.
275. Duerden M, O'Flynn N, Qureshi N. Cardiovascular risk assessment and lipid modification: NICE guideline. *Br J Gen Pract*. 2015;65(636):378-80.
276. Scicali R, Di Pino A, Platania R, Purrazzo G, Ferrara V, Giannone A, et al. Detecting familial hypercholesterolemia by serum lipid profile screening in a hospital setting: Clinical, genetic and atherosclerotic burden profile. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018;28(1):35-43.
277. Wong B, Kruse G, Kutikova L, Ray KK, Mata P, Bruckert E. Cardiovascular Disease Risk Associated With Familial Hypercholesterolemia: A Systematic Review of the Literature. *Clinical therapeutics*. 2016;38(7):1696-709.

278. Miname MH, Santos RD. Reducing cardiovascular risk in patients with familial hypercholesterolemia: Risk prediction and lipid management. *Prog Cardiovasc Dis.* 2019;62(5):414-22.
279. Burgess S, Ference BA, Staley JR, Freitag DF, Mason AM, Nielsen SF, et al. Association of LPA Variants With Risk of Coronary Disease and the Implications for Lipoprotein(a)-Lowering Therapies: A Mendelian Randomization Analysis. *JAMA Cardiol.* 2018;3(7):619-27.
280. Kosmas CE, Martinez I, Sourlas A, Bouza KV, Campos FN, Torres V, et al. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. *Drugs in context.* 2018;7:212525.
281. Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, et al. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. *J Intern Med* 2004;256(6):482-90.
282. De la Higuera González JM, Pereiro Hernández R, San Juan Lozano P, Aranda Lara JM, Aranda Lara P, Briones Pérez E, et al. Estudio DRECA. Dieta y Riesgo de Enfermedades Cardiovasculares de Andalucía. In: *Salud Cd*, editor.: Junta de Andalucía; 1999. p. 1-147.
283. Guallar-Castillón P, Gil-Montero M, León-Muñoz LM, Graciani A, Bayán-Bravo A, Taboada JM, et al. Magnitud y manejo de la hipercolesterolemia en la población adulta de España, 2008-2010: el estudio ENRICA. *Revista Española de Cardiología.* 2012;65(6):551-8.
284. Carratala-Munuera C, Gil-Guillen VF, Orozco-Beltran D, Maiques-Galan A, Lago-Deibe F, Lobos-Bejarano JM, et al. Barriers to improved dyslipidemia control: Delphi survey of a multidisciplinary panel. *Family practice.* 2015;32(6):672-80.
285. C Morales MMLV. Vencer la inercia terapéutica en el manejo del paciente dislipidémico: Un reto en la práctica clínica diaria. *Clin Invest Arterioscl.* 2014;26(4):193-9.
286. Carlos Brotons Cuixarta JJAS, José Ramón Banegas Banegasc, Carlos Fondón Leónd, José María Lobos-Bejaranoe, Enrique Martín Rioboóf, Jorge Navarro Pérezg, Domingo Orozco-Beltránh, Fernando Villar Álvarez. Recomendaciones preventivas cardiovasculares. Actualización PAPPs 2018. *Aten Primaria.* 2018;50(S1):4-28.
287. Blasco M, Pérez-Martínez P, Lahoz C. Decálogo de la Sociedad Española de Arteriosclerosis para disminuir la inercia terapéutica. *Clin Invest Arterioscl.* 2017;29(5):218-23.
288. Juan Francisco Ascaso FC, Carlos Guijarro, José López Miranda, Luis Masana, José María Mostaza, Juan Pedro-Botet, Xavier Pintó, Pedro Valdivielso. Indicaciones de los inhibidores de PCSK9 en la práctica clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), 2019. *Clin Invest Arterioscl.* 2019;31(3):128-39.
289. Sanitarios AEdMyP. Prospecto Praluent 75mg Solución Inyectable en Pluma Precargada Madrid. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/p/1151031002/P_1151031002.pdf.
290. Sanitarios AEdMyP. Prospecto Repatha 140mg Solución Inyectable en Pluma Precargada Madrid. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/p/1151016002/P_1151016002.html.
291. Khunti K, Danese MD, Kutikova L, Catterick D, Sorio-Vilela F, Gleeson M, et al. Association of a Combined Measure of Adherence and Treatment Intensity With

- Cardiovascular Outcomes in Patients With Atherosclerosis or Other Cardiovascular Risk Factors Treated With Statins and/or Ezetimibe. *JAMA Netw Open*. 2018;1(8):e185554.
292. Colantonio LD, Huang L, Monda KL, Bittner V, Serban MC, Taylor B, et al. Adherence to High-Intensity Statins Following a Myocardial Infarction Hospitalization Among Medicare Beneficiaries. *JAMA Cardiol*. 2017;2(8):890-5.
293. Selva-O'Callaghan A, Alvarado-Cardenas M, Pinal-Fernández I, Trallero-Araguás E, Milisenda JC, Martínez M, et al. Statin-induced myalgia and myositis: an update on pathogenesis and clinical recommendations. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018;14(3):215-24.
294. Abd TT, Jacobson TA. Statin-induced myopathy: a review and update. *Expert Opin Drug Saf*. 2011;10(3):373-87.
295. Alonso R, Cuevas A, Cafferata A. Diagnosis and Management of Statin Intolerance. *J Atheroscler Thromb* 2019;26(3):207-15.
296. Hirayama S, Miida T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2012;414:215-24.
297. Giugliano RP, Pedersen TR, Park JG, De Ferrari GM, Gaciong ZA, Ceska R, et al. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. *Lancet*. 2017;390(10106):1962-71.
298. Moriarty PM, Parhofer KG, Babirak SP, Cornier MA, Duell PB, Hohenstein B, et al. Alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia undergoing lipoprotein apheresis: the ODYSSEY ESCAPE trial. *Eur Heart J*. 2016;37(48):3588-95.
299. Youngblom E, Pariani M, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. Updated 2016 Dec 8]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*[®] [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174884/2014>.
300. Tada H, Okada H, Nomura A, Yashiro S, Nohara A, Ishigaki Y, et al. Rare and Deleterious Mutations in ABCG5/ABCG8 Genes Contribute to Mimicking and Worsening of Familial Hypercholesterolemia Phenotype. *Circ J*. 2019;83(9):1917-24.
301. Hilgart J, Mercer J, Thirlaway K. Individuals' experiences of, and responses to, a negative genetic test result for familial hypercholesterolaemia. *J Health Psychol*. 2013;18(3):339-49.
302. Hollands GJ, Armstrong D, Macfarlane A, Crook MA, Marteau TM. Patient accounts of diagnostic testing for familial hypercholesterolaemia: comparing responses to genetic and non-genetic testing methods. *BMC Med Genet*. 2012;13:87-.
303. Hughes DP, Viljoen A, Wierzbicki AS. Familial Hypercholesterolaemia in the Era of Genetic Testing. *Curr Cardiol Rep*. 2016;18(5):42.
304. Morris JK, Wald DS, Wald NJ. The evaluation of cascade testing for familial hypercholesterolemia. *Am J Med Genet A*. 2012;158a(1):78-84.
305. Leren TP, Finborud TH, Manshaus TE, Ose L, Berge KE. Diagnosis of familial hypercholesterolemia in general practice using clinical diagnostic criteria or genetic testing as part of cascade genetic screening. *Community Genet*. 2008;11(1):26-35.
306. Roa Garrido J, Carrasco Salas P, Toscano Pérez C, Arrobas Velilla T, Vázquez Rico I, Díaz Fernández JF. Particularidades genéticas y bioquímicas de la hipercolesterolemia familiar en el suroeste de la Península Ibérica. *Clín Investig Ateroscler*. 2020.

307. Hooper AJ, Burnett JR, Bell DA, Watts GF. The Present and the Future of Genetic Testing in Familial Hypercholesterolemia: Opportunities and Caveats. *Curr Atheroscler Rep.* 2018;20(6):31.
308. Oliva J, López-Bastida J, Moreno SG, Mata P, Alonso R. Análisis coste-efectividad de un programa de cribado genético en familiares directos de pacientes con hipercolesterolemia familiar en España. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62(1):57-65.
309. Pérez-Calahorra S, Sánchez-Hernández RM, Plana N, Valdivielso P, Civeira F. Registro Nacional de Dislipemias de la Sociedad Española de Arteriosclerosis: situación actual. *Clin Invest Arterioscl.* 2017;29(6):248-53.
310. M N, S S. Polygenic Hypercholesterolemia Treasure Island (FL)2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559143/>.
311. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al. Association of Apolipoprotein E Genotypes With Lipid Levels and Coronary Risk. *JAMA.* 2007;298(11):1300-11.
312. Futema M, Bourbon M, Williams M, Humphries SE. Clinical utility of the polygenic LDL-C SNP score in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2018;277:457-63.
313. Hadfield SG, Horara S, Starr BJ, Yazdgerdi S, Marks D, Bhatnagar D, et al. Family tracing to identify patients with familial hypercholesterolaemia: the second audit of the Department of Health Familial Hypercholesterolaemia Cascade Testing Project. *Ann Clin Biochem.* 2009;46(Pt 1):24-32.
314. Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Yamagishi M. Impact of clinical signs and genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia on the prevalence of coronary artery disease in patients with severe hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 2017;38(20):1573-9.
315. Trinder M, Li X, DeCastro ML, Cermakova L, Sadananda S, Jackson LM, et al. Risk of Premature Atherosclerotic Disease in Patients With Monogenic Versus Polygenic Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2019;74(4):512-22.
316. Rincón LM, Sanmartín M, Alonso GL, Rodríguez JA, Muriel A, Casas E, et al. Una puntuación de riesgo genético predice recurrencias en pacientes jóvenes con infarto agudo de miocardio. *Rev Esp de Cardiol.* 2020;73(8):623-31.
317. Plus M. LDLRAP1 gene. Available from: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/ldrap1/>.
318. Reeskamp LF, Tromp TR, Defesche JC, Grefhorst A, Stroes ES, Hovingh GK, et al. Next-generation sequencing to confirm clinical familial hypercholesterolemia. *Eur J Prev Cardiol.* 2020:2047487320942996.
319. Chora JR, Alves AC, Medeiros AM, Mariano C, Lobarinhas G, Guerra A, et al. Lysosomal acid lipase deficiency: A hidden disease among cohorts of familial hypercholesterolemia? *J Clin Lipidol.* 2017;11(2):477-84.e2.
320. Tada H, Kawashiri MA, Nomura A, Teramoto R, Hosomichi K, Nohara A, et al. Oligogenic familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, and coronary artery disease. *J Clin Lipidol.* 2018;12(6):1436-44.
321. Page MM, Ellis KL, Pang J, Chan DC, Hooper AJ, Bell DA, et al. Coronary artery disease and the risk-associated LPA variants, rs3798220 and rs10455872, in patients with suspected familial hypercholesterolaemia. *Clinica Chimica Acta* 2020;510(211-215).
322. Paquette M, Bernard S, Thanassoulis G, Baass A. LPA genotype is associated with premature cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2019;13(4):627-33.e1.

323. Khine H, Yuet WC, Adams-Huet B, Ahmad Z. Statin-associated muscle symptoms and SLCO1B1 rs4149056 genotype in patients with familial hypercholesterolemia. *Am Heart J*. 2016;179:1-9.
324. Garcia-Garcia AB, Ivorra C, Martinez-Hervas S, Blesa S, Fuentes MJ, Puig O, et al. Reduced penetrance of autosomal dominant hypercholesterolemia in a high percentage of families: importance of genetic testing in the entire family. *Atherosclerosis*. 2011;218(2):423-30.
325. Vrablík M, Vaclová M, Tichý L, Soška V, Bláha V, Fajkusová L, et al. Familial hypercholesterolemia in the Czech Republic: more than 17 years of systematic screening within the MedPed project. *Physiol Res*. 2017;66(Suppl 1):S1-s9.
326. Botkin JR, Belmont JW, Berg JS, Berkman BE, Bombard Y, Holm IA, et al. Points to Consider: Ethical, Legal, and Psychosocial Implications of Genetic Testing in Children and Adolescents. *Am J Hum Genet*. 2015;97(1):6-21.
327. Umans-Eckenhuis MAW, Oort FJ, Ferenschild KCMP, Defesche JC, Kastelein JJP, de Haes JCJM. Parental attitude towards genetic testing for familial hypercholesterolaemia in children. *J Med Genet*. 2002;39(9):e49-e.
328. Perak AM, Ning H, de Ferranti SD, Gooding HC, Wilkins JT, Lloyd-Jones DM. Long-Term Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in US Adults With the Familial Hypercholesterolemia Phenotype. *Circulation*. 2016;134(1):9-19.
329. Umans-Eckenhuis MAW, Defesche JC, Sijbrands EJG, Scheerder RLJM, Kastelein JJP. Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolaemia in the Netherlands. *The Lancet*. 2001;357(9251):165-8.
330. Louter L, Defesche J, Roeters van Lennep J. Cascade screening for familial hypercholesterolemia: Practical consequences. *Atheroscler Suppl*. 2017;30:77-85.
331. Mahley RW, Huang Y, Rall SC, Jr. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res*. 1999;40(11):1933-49.
332. Hopkins PN, Nanjee MN, Wu LL, McGinty MG, Brinton EA, Hunt SC, et al. Altered composition of triglyceride-rich lipoproteins and coronary artery disease in a large case-control study. *Atherosclerosis*. 2009;207(2):559-66.
333. Koopal C, Retterstøl K, Sjouke B, Hovingh GK, Ros E, de Graaf J, et al. Vascular risk factors, vascular disease, lipids and lipid targets in patients with familial dysbetalipoproteinemia: a European cross-sectional study. *Atherosclerosis*. 2015;240(1):90-7.
334. Blom DJ, Byrnes P, Jones S, Marais AD. Dysbetalipoproteinaemia clinical and pathophysiological features. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 2002;92(11):892-7.
335. Henneman P, van der Sman-de Beer F, Moghaddam PH, Huijts P, Stalenhoef AF, Kastelein JJ, et al. The expression of type III hyperlipoproteinemia: involvement of lipolysis genes. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(5):620-8.
336. Nawawi HM, Chua YA, Watts GF. The brave new world of genetic testing in the management of the dyslipidaemias. *Curr Opin Cardiol*. 2020;35(3):226-33.
337. Feussner G, Wagner A, Kohl B, Ziegler R. Clinical features of type III hyperlipoproteinemia: analysis of 64 patients. *Clin Investig*. 1993;71(5):362-6.
338. Brewer HB, Jr., Zech LA, Gregg RE, Schwartz D, Schaefer EJ. NIH conference. Type III hyperlipoproteinemia: diagnosis, molecular defects, pathology, and treatment. *Ann Intern Med*. 1983;98(5 Pt 1):623-40.

339. Lin H-P, Kao J-T. Apolipoprotein ϵ 2/3 genotype and type III hyperlipoproteinemia among Taiwanese. *Clinica Chimica Acta*. 2003;330(1):173-8.
340. Blom DJ, O'Neill FH, Marais AD. Screening for dysbetalipoproteinemia by plasma cholesterol and apolipoprotein B concentrations. *Clin Chem* 2005;51(5):904-7.
341. Sniderman A, Tremblay A, Bergeron J, Gagné C, Couture P. Diagnosis of type III hyperlipoproteinemia from plasma total cholesterol, triglyceride, and apolipoprotein B. *J Clin Lipidol*. 2007;1(4):256-63.
342. Fredrickson DS, Morganroth J, Levy RI. Type III hyperlipoproteinemia: an analysis of two contemporary definitions. *Ann Intern Med*. 1975;82(2):150-7.
343. Holewijn S, Sniderman AD, den Heijer M, Swinkels DW, Stalenhoef AF, de Graaf J. Application and validation of a diagnostic algorithm for the atherogenic apoB dyslipoproteinemias: ApoB dyslipoproteinemias in a Dutch population-based study. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(4):423-33.
344. Pallazola VA, Sathiyakumar V, Park J, Vakil RM, Toth PP, Lazo-Elizondo M, et al. Modern prevalence of dysbetalipoproteinemia (Fredrickson-Levy-Lees type III hyperlipoproteinemia). *Arch Med Sci*. 2020;16(5):993-1003.
345. Varghese B, Park J, Chew E, Sajja A, Brownstein A, Pallazola VA, et al. Importance of the triglyceride level in identifying patients with a Type III Hyperlipoproteinemia phenotype using the ApoB algorithm. *J Clin Lipidol*. 2020.
346. Paquette M, Bernard S, Blank D, Paré G, Baass A. A simplified diagnosis algorithm for dysbetalipoproteinemia. *J Clin Lipidol*. 2020;14(4):431-7.
347. Zelis R, Mason DT, Braunwald E, Levy RI. Effects of hyperlipoproteinemias and their treatment on the peripheral circulation. *J Clin Invest*. 1970;49(5):1007-15.
348. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for Measurement of LDL-Cholesterol: A Critical Assessment of Direct Measurement by Homogeneous Assays versus Calculation. *Clin Chem*. 2002;48(2):236-54.
349. Solanas-Barca M, de Castro-Orós I, Mateo-Gallego R, Cofán M, Plana N, Puzo J, et al. Apolipoprotein E gene mutations in subjects with mixed hyperlipidemia and a clinical diagnosis of familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 2012;222(2):449-55.
350. Georgiadou D, Chroni A, Vezeridis A, Zannis VI, Stratikos E. Biophysical analysis of apolipoprotein E3 variants linked with development of type III hyperlipoproteinemia. *PloS one*. 2011;6(11):e27037.
351. Davidson M, Stevenson M, Hsieh A, Ahmad Z, Crowson C, Witztum JL. The burden of familial chylomicronemia syndrome: interim results from the IN-FOCUS study. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2017;15(5):415-23.
352. Baass A, Paquette M, Bernard S, Hegele RA. Familial chylomicronemia syndrome: an under-recognized cause of severe hypertriglyceridaemia. *J Intern Med*. 2020;287(4):340-8.
353. Paquette M, Bernard S, Hegele RA, Baass A. Chylomicronemia: Differences between familial chylomicronemia syndrome and multifactorial chylomicronemia. *Atherosclerosis*. 2019;283:137-42.
354. Berberich AJ, Ziada A, Zou GY, Hegele RA. Conservative management in hypertriglyceridemia-associated pancreatitis. *J Intern Med*. 2019;286(6):644-50.
355. Stefanutti C, Labbadia G, Morozzi C. Severe hypertriglyceridemia-related acute pancreatitis. *Ther Apher Dial*. 2013;17(2):130-7.

356. Candás Estébanez B, Pocoví Mieras M, Romero Román C, Vella Ramírez JC, Esteban Salán M, Castro Castro MJ, et al. Estrategia para el diagnóstico de las dislipidemias. Recomendación 2018. Rev del Lab Clin. 2019;12(4):e21-e33.
357. Koopal C, Bemelmans R, Marais AD, Visseren FL. Severe hypertriglyceridaemia and pancreatitis in a patient with lipoprotein lipase deficiency based on mutations in lipoprotein lipase (LPL) and apolipoprotein A5 (APOA5) genes. BMJ Case Rep. 2019;12(4):e228199.
358. Alves; AC, Sequeira; S, Moldovan; O, Antunes; H, Martins; E, Gonçalves; R, et al. Familial chylomicronemia syndrome in Portugal. Boletim Epidemiológico Observações. 2020;9(27):22-6.
359. Lozada; DA, Elikir; DGD. Genética de las dislipidemias. PROSAC. 2014;10(2):73-96.
360. Mendoza-Barberá E, Julve J, Nilsson SK, Lookene A, Martín-Campos JM, Roig R, et al. Structural and functional analysis of APOA5 mutations identified in patients with severe hypertriglyceridemia. J Lipid Res. 2013;54(3):649-61.