

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
MÉDICO CIRUJANO
DEPARTAMENTO DE EVALUACIÓN PROFESIONAL



**DESCRIPCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PCSK9 EN PACIENTES DEL
CMLALM CON ALTA SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA
FAMILIAR**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO

ALUMNOS

LUIS EDGAR CONCEPCIÓN CARRILLO

BRANDON ITURBE ESQUIVEL

DIRECTORES

DR. HUGO MENDIETA ZERÓN

M. EN S. H. O. HECTOR URBANO LOPEZ DÍAZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, 2021

RESUMEN

La Hipercolesterolemia Familiar (HF) se define como una enfermedad hereditaria autosómica dominante del metabolismo de las lipoproteínas, caracterizada por concentraciones plasmáticas de colesterol LDL (cLDL) entre 350 y 550 mg/dL, en la forma heterocigota, y mayores de 550 mg/dL en la homocigota,

Este trastorno se debe a un grupo de errores genéticos que resultan en niveles anormalmente elevados de colesterol LDL (c-LDL), que causan deposición de placas ateroscleróticas en las arterias incrementando el riesgo de infarto agudo de miocardio en población joven. Se sabe que existen tres mutaciones genéticas asociadas: del receptor de LDL (rLDL), de la apolipoproteína B (ApoB) y de la pro-teína convertasa subtilisina/kexina 9 (PCSK9).

El proyecto consistió en un estudio prospectivo, descriptivo, clínico, transversal en el que se realizó medición de la expresión del gen PCSK9, ya que se ha demostrado que la pérdida de la función de este se asocia a niveles disminuidos de cLDL. Se reportó y describieron los casos sospechosos de hipercolesterolemia familiar en la consulta externa de dislipidemias y diabetes del Centro Médico “Lic. Adolfo López Mateos”, contribuyendo con un estudio que representó a una parte de la población mexiquense, con el fin de difundir el uso de los criterios de sospecha clínica.

Aplicando la correlación de Spearman se halló una correlación negativa entre la expresión del gen PCSK9 y los niveles de colesterol LDL sin demostrar significancia tras el análisis estadístico, probablemente debido a la población, a variables como la edad, localización sociodemográfica, factores medio ambientales u otros que no fueron considerados dentro del análisis estadístico.

Además tras realizar una regresión lineal para predecir los niveles de colesterol LDL, se encontró que los niveles de triglicéridos tienen valor predictor para colesterol LDL, más que la expresión del gen PCSK9.

TÍTULO
DESCRIPCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PCSK9 EN PACIENTES DEL
CMLALM CON ALTA SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA
FAMILIAR

INDICE

RESUMEN	3
TÍTULO	4
MARCO TEÓRICO.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
Pregunta de investigación	26
JUSTIFICACIONES	27
HIPÓTESIS	28
OBJETIVOS	28
Objetivo general	28
Objetivos específicos	28
MÉTODO.....	29
Tipo de estudio	29
Diseño del estudio.....	29
Operacionalización de las variables.....	31
Universo.....	32
Muestra	32
Muestreo	32
Criterios de inclusión.....	32
Criterios de exclusión.....	33
Criterios de eliminación.....	33
Instrumentos de investigación.....	33
Descripción	33
Validación	34
Desarrollo del proyecto	35
Recolección de tejido y extracción de RNA	35
Medición de la expresión génica	36

Diseño de análisis	37
IMPLICACIONES ÉTICAS	38
RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	44
CONCLUSIÓN	46
RECOMENDACIONES	47
ORGANIZACIÓN.....	48
PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO	48
BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXOS	55
ANEXO 1	55
ANEXO 2	56
ANEXO 3	58
ANEXO 4	59

MARCO TEÓRICO

HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

La Hipercolesterolemia Familiar (HF) se define como una enfermedad hereditaria autosómica dominante del metabolismo de las lipoproteínas, caracterizada por concentraciones plasmáticas de colesterol LDL (cLDL) entre 350 y 550 mg/dL, en la forma heterocigota, y mayores de 550 mg/dL en la homocigota, xantomas tendinosos y un alto riesgo de enfermedad coronaria prematura (1,2). Su penetrancia es próxima al 100%, lo que significa que la mitad de la descendencia de una persona afectada tendrá el cLDL elevado desde el nacimiento, sin diferencias entre sexos (3).

Este trastorno se debe a un grupo de errores genéticos que resultan en niveles anormalmente elevados de colesterol LDL (c-LDL), que causan deposición de placas ateroscleróticas en las arterias e incrementa el riesgo de infarto agudo de miocardio en población joven (4). Se sabe que existen tres mutaciones genéticas asociadas: del receptor de LDL (rLDL), de la apolipoproteína B (ApoB) y de la proproteína convertasa subtilisina/kexina 9 (PCSK9) (5).

Existen dos formas de presentación de la HF: heterocigota, de la cual se ha documentado una prevalencia de 1 en 500 casos y la forma homocigota de 1 en 1,000,000 de casos respectivamente (6). Se ha calculado que entre 14 a 34 millones de personas en el mundo sufren hipercolesterolemia familiar, de las cuales menos del 1% se les ha realizado un diagnóstico integral (7). En la primera se clasifican niveles de colesterol entre 350-550 mg/dl, que se relaciona con aparición de enfermedad coronaria en hombres menores de 55 años y mujeres menores de 60 años. En la segunda se alcanzan niveles de c-LDL con valores entre 650 y 1000 mg/dl relacionados con muerte por causas cardiovasculares en menores de 30 años (8). Se ha calculado que entre 14 a 34 millones de personas en el mundo sufren HF, donde a menos del 1% se les realiza un diagnóstico aceptable.

A pesar de que se tiene un registro aproximado del índice de personas que la padecen a nivel mundial, en México no se cuenta con datos específicos, por lo tanto es muy probable que en su mayoría de las que la padecen no estén conscientes de ello, de acuerdo al artículo *Clinical and molecular aspects of familial hypercholesterolemia in Ibero-American countries* se cree que en México hay un total de 200,000 personas con la enfermedad, en su mayoría sin ser diagnosticadas aún (9).

Generalidades del colesterol

El colesterol (3-hidroxi-5,6 colesteroeno), es una molécula de suma importancia en el organismo ya que desempeña distintas funciones biológicas importantes. Se encuentra situado en las membranas de las células, con la finalidad de proporcionar estabilidad y flexibilidad, la forma de su estructura permite el anclaje de proteínas con actividad enzimática y proteínas transportadoras ubicadas en las membranas de las células, además de que proporciona la flexibilidad a las membranas para que no sean del todo rígidas. También está involucrado en la absorción de grasas de la dieta diaria, ya que por medio de un proceso de emulsificación permite la absorción de éstas grasas a nivel del intestino delgado. Fisiológicamente es precursor de otras sustancias importantes como las hormonas esteroideas (andrógenos, estrógenos, progestágenos, gluco y mineralocorticoides, ácidos biliares y la vitamina D) (10).

A 37°C el colesterol en la superficie membranal aumenta la fluidez, efecto de las interacciones entre los grupos hidroxilo de las moléculas de colesterol y las cabezas polares de los fosfolípidos y entre sus anillos y las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos, en el centro aumenta un poco debido a que las moléculas de colesterol actúan dispersando las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos. Lo último explica porque a temperaturas bajas las bicapas lipídicas sin colesterol se rigidizan, por lo tanto su presencia preserva la fluidez membranal (11).

El colesterol puede provenir de dos fuentes: De la dieta y de la síntesis endógena, la síntesis está controlada por una enzima ubicada en el retículo endoplásmico de células ubicadas a nivel hepático la cual es la HMG-CoAR (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa), mientras que a su vez se encuentra regulada por el flujo de colesterol absorbido a nivel intestinal hacia el hígado (12).

La molécula clave en la síntesis de colesterol es la acetil CoA, ya que proporciona los átomos de carbono para su síntesis. Su síntesis se menciona a continuación de forma resumida:

Primera etapa: Consiste en la condensación de 3 moléculas de acetilo para formar el metabolito de 3-hidroxi-3-metil glutaril CoA (HMG CoA también se forma en la cetogénesis del catabolismo acelerado de ácidos grasos en el hígado el cual se lleva a cabo en las mitocondrias y la síntesis del colesterol lo realiza en el citosol.

Segunda etapa: HMG CoA se transforma en mevalonato por medio de la enzima HMG CoA reductasa.

Tercera etapa: El mevalonato se transforma en farnesil pirofosfato. Proceso en el cual el mevalonato se trifosforila a partir de ATP y posteriormente se descarboxila, lo cual ayuda a la liberación de uno de los 3 grupos fosfato, quedando 2 fosfato en serie, por lo tanto, es el primero de los dos derivados de isopentilpirofosfato, luego pasa por una fosforilación lo cual produce dimetialilpirofosfato.

Cuarta etapa: Reaccionan dos moléculas de farnesil pirofosfato para generar un derivado de 30 carbonos el cual requiere NADPH, el escualeno, se cicla para producir lanosterol y éste pierde 3 carbonos y posteriormente sufre cambios estructurales que lo transforman en colesterol. A partir de la formación de escualeno, todas las reacciones que intervienen en la síntesis de colesterol se hallan en el retículo endoplásmico.

Absorción del colesterol

A nivel de intestino delgado en la porción proximal es donde se absorbe mayoritariamente el colesterol, teniendo en cuenta que para su absorción se debe considerar la edad, cantidad, composición de los ácidos biliares secretados para su absorción, dieta alimenticia, genética y composición y densidad bacteriana de la microbiota intestinal (13).

El colesterol presente a nivel intestinal en parte proviene de la ingesta alimentaria, otra de las mismas sales biliares secretadas y una pequeña cantidad de la descamación del epitelio intestinal.

En el proceso de absorción conviene dividirla en 3 fases.

1.- Fase intraluminal: Consiste en su emulsificación por medio de los movimientos peristálticos, que esparcen las moléculas de colesterol, para poder ser encapsuladas en micelas formadas a partir de las sustancias contenidas en la bilis, esto con la finalidad de mantener en su porción interna al colesterol para poder ser absorbido. Las micelas tienen las características de poseer afinidad hidrofílica en su porción externa otorgada por sus grupos polares, y en su interior su parte hidrofóbica, la cual interactúa con el colesterol y le da la posibilidad de ser absorbido por las células enterocíticas a través de las vellosidades que recubren su superficie (14).

2.- Fase mucosa: El colesterol presente en el lumen del citoplasma de los enterocitos pasa a través del borde en cepillo hacia la membrana basolateral de la célula hacia la circulación sanguínea, por medio de una proteína que permite su internalización, la cual es conocida como proteína de Niemann-Pick C1-like protein 1 (NPC1L1) (15).

3.- Fase intracelular: El colesterol absorbido se difunde al retículo endoplásmico donde se reesterifica por acción de la enzima Aciltransferasa-2 (ACAT2) presente en el intestino. Principalmente se esterifica con moléculas como el ácido palmítico o con el ácido oleico (16).

Regulación del colesterol

El hígado es uno de los principales reguladores y lo realiza por mecanismos de retroalimentación. Cuando la cantidad endógena o la exógena de colesterol está disminuida, aumenta la actividad de la HMG-CoAR, la cual aumenta la síntesis de colesterol, mientras que cuando hay cantidad en exceso es inhibida la HMG-CoAR y se produce una regulación a la baja de los receptores de LDL, además de la respectiva disminución de la absorción de LDL, e inversamente cuando hay carencia (17).

Transporte del colesterol

Los lípidos plasmáticos son insolubles en la sangre debido a su carácter no polar, por ello necesitan ser transportados por medio de partículas que los vuelvan solubles, tales moléculas indispensables son las lipoproteínas. Éstas están compuestas por un núcleo de lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) rodeados por una capa externa donde se encuentran superficialmente proteínas denominadas apolipoproteínas (apo) lípidos anfipáticos (con dos cargas, una polar y otra apolar), cada lipoproteína contiene en su superficie distintas apoproteínas que proporcionan estabilidad estructural y sirven como ligandos para ser reconocidas en distintas partes del organismo por medio de receptores especiales, dependiendo de la molécula y sus proteínas de membrana cada uno será metabolizado de distinta forma (18).

Cada lipoproteína tiene distinta densidad que está determinada por la proporción de lípidos o proteínas que las componen. Entre ellas encontramos las de alta densidad o HDL (High-Density Lipoprotein), de baja densidad o LDL (Low-Density Lipoprotein), de muy baja densidad o VLDL (Very Low-Density Lipoprotein), de densidad intermedia o IDL (Intermediate-Density Lipoprotein), lipoproteína a Lp(a) y los quilomicrones (19).

Quilomicrones: Son sintetizados en los enterocitos, constituidos aproximadamente 90% triglicéridos, 7% fosfolípidos, 1% colesterol y 2% de proteínas especiales como la apo B-48, son sintetizados en el intestino delgado, mientras que las VLDL, IDL y HDL son sintetizados en el hígado (20).

Los lípidos exógenos (de la dieta) son absorbidos en el intestino por los quilomicrones, después de su absorción son secretados a la linfa que se dirige hacia el conducto torácico para pasar a la sangre posteriormente. Después son sometidos a una lipólisis rápida llevada a cabo por la enzima Lipoprotein Lipasa (LPL) en los lechos capilares extrahepáticos. A continuación los productos remanentes (lípidos, colesterol) son utilizados para la síntesis de VLDL.

VLDL: Tienen un origen endógeno; están compuestos por colesterol plasmático, fosfolípidos y presentan en su superficie a las apoproteínas: Apo B-100, apo C-I, apo C-II y apo E. Estas lipoproteínas son transportadas por la sangre desde el hígado hasta el músculo y tejido adiposo donde la LPL es activada gracias a la apo C-II que le indica llevar a cabo la hidrólisis de los triglicéridos que contiene, liberando ácidos grasos para poder ser almacenados por los adipocitos. La pérdida de triglicéridos modifica a las lipoproteínas convirtiéndolas en su caso de VLDL a LDL (21).

LDL: Son sintetizadas en el hígado, tienen alta concentración de colesterol y de fosfolípidos y no contienen triglicéridos, la apoproteína asociada a ellas es la apo B-100 que es indispensable para unirse a su receptor rLDL presente en casi todas las membranas celulares, es utilizado para introducir a las LDL. Representan alrededor del 70% del colesterol sérico total y su función es transportar colesterol desde el hígado hacia los tejidos periféricos (22).

HDL: Su función consiste en transportar el colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado con la finalidad de excretarlo por medio de las sales biliares y finalmente para su eliminación a nivel intestinal. Es producido en el hígado y en el intestino, su principal proteína es la apo A-I, la cual constituye más del 70% del

contenido proteínico de la lipoproteína. La ApoA-II es la segunda más abundante en las HDL, también se encuentran las apo C-I, apo C-II, apo C-III y la apo-E. En el plasma la HDL es convertida en un éster de colesterol por acción enzimática de la éster de colesterol transferasa (LCAT), se encarga de aproximadamente el transporte del 30% de colesterol sérico (23).

La Apo C-II es sintetizada en el hígado y forma parte de los quilomicrones, VLDL, LDL y HDL. Mientras que la Apo C-III es sintetizada en el hígado e intestino delgado y tiene la importante función de inhibir la actividad de la LPL. Por último la lipoproteína a (Lpa) contiene ésteres de colesterol y fosfolípidos, presenta una apo que está unida a la apo B-100 por medio de un puente disulfuro y es estructuralmente parecida al plasminógeno, lo cual le da la capacidad de unirse con la fibrina y a las proteínas de las membranas celulares. Puede favorecer por ello a los depósitos de lípidos y estimular el crecimiento de células musculares lisas, favoreciendo la aterosclerosis (24).

Una vez abordado el tema del colesterol en sus generalidades, es conveniente mencionar una de las principales patologías resultantes de los defectos en la transcripción de genes que sintetizan los receptores, transportadores y que afectan en si el metabolismo del colesterol y tienen como consecuencia la hipercolesterolemia familiar.

Hipercolesterolemia familiar (HF) (25–27)

Es la dislipidemia más frecuente e importante, por la presencia de niveles elevados de colesterol en la sangre por distintas causas y es la primera causa hereditaria de Enfermedad Coronaria Prematura. Además, las personas con HF tienen de 2.5 a 10 veces más riesgo de Enfermedad Cardiovascular Ateroesclerótica. De acuerdo a su etiopatogenia se clasifica en:

Primarias: Con base genética o familiar que afectan a las apoproteínas, a las enzimas que intervienen en su metabolismo o a los receptores celulares y es causante de los trastornos lipoproteicos.

- Hipercolesterolemia familiar
- Hiperlipidemia familiar combinada

Secundarias: Está asociada a otras enfermedades como:

- Diabetes mellitus tipo II
- Alcoholismo tipo Gamma
- Enfermedad hepática colestásica
- Síndrome nefrótico
- Enfermedad renal crónica
- Hipotiroidismo
- Tabaquismo
- Obesidad

Fisiopatología de la Hipercolesterolemia Familiar

Fisiopatología de la Hipercolesterolemia Familiar

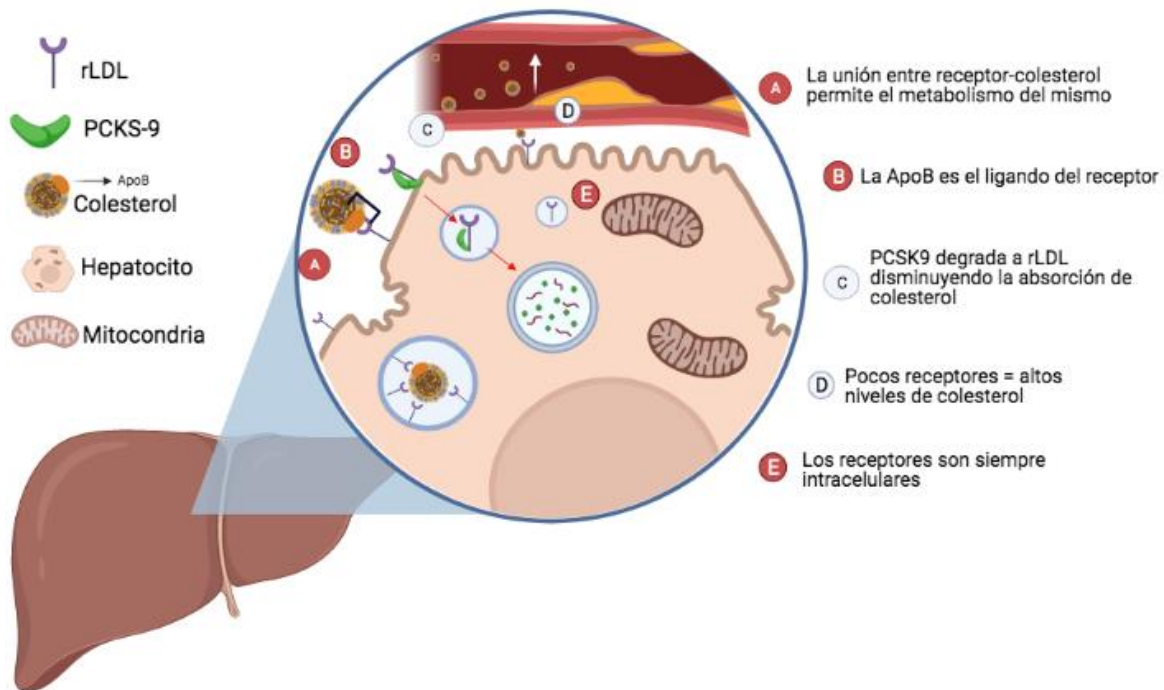


Figura 1. A. El primer paso en el metabolismo del cLDL es la presencia de receptores de colesterol LDL (rLDL), que en presencia de cLDL se expresan en la superficie del hepatocito posterior a su transcripción. **B.** Mutaciones en APOB-100 (proteína que es reconocida por el hepatocito para la formación del endosoma del cLDL en el hepatocito) generan alteraciones en el metabolismo del cLDL. **C.** Mutaciones del gen de PCSK9 pueden incrementar o disminuir la degradación del receptor de cLDL, disminuyendo o aumentando el metabolismo del cLDL. **D.** Mutaciones en el receptor de colesterol LDL (rLDL) impiden la endocitosis del complejo APOB-cLDL que resulta en niveles periféricos elevados de cLDL. **E.** Los receptores ante las mutaciones de rLDL, APOB-100 y PCSK-9 se mantienen intracelulares, ocasionando en cualquiera de las 3 condiciones niveles elevados de cLDL periférico como consecuencia de la ausencia de su metabolismo por medio de la endocitosis y formación de lisosomas por parte del hepatocito.

Factores genéticos

La HF se encuentra relacionada con mutaciones en los genes del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR), apolipoproteína B (Apo B), el receptor adaptado de lipoproteína de baja densidad proteína 1 (LDLRAP1) y en la PCSK9, aunque pueden existir distintas variantes (28).

Se sabe que los genes anteriormente mencionados son los que presentan la mayor cantidad de mutaciones en el diagnóstico genético, que condicionan la enfermedad. No se debe de descartar la posibilidad de que algún otro gen se encuentre involucrado en caso de encontrar pacientes con las características propias del padecimiento, por ello es importante tener la sospecha ante un paciente que presente los criterios de sospecha clínica (29). La HF heterocigota es causada por mutación en un alelo, en contraste con la HF homocigota donde son afectados dos alelos de uno de los genes (30,31).

El gen del rLDL está localizado en el brazo corto del cromosoma 19 (región p13.1-p13.3). Hasta la fecha se han descrito más de 1000 mutaciones incluyendo puntuales (en el promotor, en la región codificadora, y en las uniones intrón-exón), micro, macrodeleciones e inserciones. Se han documentado más de 1288 mutaciones asociadas a este receptor, 79% de las cuales pueden generar hipercolesterolemia familiar que la define como la etiología más común de la enfermedad (32). Las mutaciones del gen rLDL se dividen en 5 clases en función de su efecto sobre el ciclo del rLDL (33–35).

Mutaciones de clase 1 (alelos nulos): son las más graves, dado que el defecto conlleva la ausencia total de producción del receptor. Para ella los alelos son nulos, impidiendo la síntesis de cualquier receptor. Se pueden producir alelos nulos por deleciones que eliminan el promotor del *rLDL*, de modo que no se produce RNA mensajero (RNAm). También se originan por mutaciones que afectan a la unión o por grandes deleciones, que producen un RNAm de tamaño anormal.

Mutaciones de clase 2 (alelos defectuosos para el transporte): es la más frecuente y se debe al bloqueo en el proceso de transporte del receptor sintetizado desde el retículo endoplásmico hasta el aparato de Golgi, las proteínas codificadas no adoptan la estructura tridimensional adecuada; la mayoría de estas mutaciones se localizan en los exones que codifican el dominio de unión al ligando o en el dominio homólogo al precursor del factor de crecimiento endotelial (*EGF*).

Mutaciones de clase 3 (alelos defectuosos para la unión): imposibilidad de unión del cLDL al receptor celular. Los alelos son defectuosos para la unión, codificando las proteínas del receptor y siendo transportadas a la superficie celular de forma anormal.

Mutaciones de clase 4 (alelos defectuosos para la internalización): no transportan las moléculas de cLDL hacia el interior de la célula. Los alelos son defectuosos para la internalización, codificando proteínas que se transportan a la superficie celular y se unen al cLDL normalmente, pero siendo incapaces de agruparse en vesículas recubiertas de clatrina y por tanto, no internalizando el cLDL unido.

Mutaciones de clase 5 (alelos defectuosos para el reciclado): impiden que los receptores LDL internalizados regresen de nuevo a la superficie celular para iniciar de nuevo el proceso de captación del colesterol LDL. Los alelos son defectuosos para el reciclado, codificando receptores que unen e internalizan el ligando en vesículas recubiertas de clatrina, pero sin liberar el ligando en el endosoma y por tanto, sin reciclarse a la superficie celular.

Gen Apo B-100

La apolipoproteína B-100 es parte del componente de las lipoproteínas de baja densidad LDL, que se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 2p24-p23. Cuando hay mutación en aquella lipoproteína B, el colesterol LDL es incapaz de unirse a su ligando, teniendo como consecuencia niveles circulantes elevados

de cLDL. Se describen cuatro mutaciones importantes de las cuales la más importante es Arg3500Gln. Esta mutación es causa del 5% de las hipercolesterolemias familiares (36).

Gen PCSK-9 (pro-proteína convertasa subtilisina/kexina 9)

Se encuentra ubicado en el cromosoma 1p32. Es un tercer *locus* relacionado con la Hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD). Se encuentra relacionado con el Factor de Crecimiento Epidérmico de tipo A (EGF-A) que interviene en la disminución del rLDL que puede conducir a hipercolesterolemia. Además es el encargado de la eliminación de los rLDL por medio de los endosomas y lisosomas(37). Las mutaciones que aumentan la acción de esta proteína llevan a niveles disminuidos del rLDL en los hepatocitos y en consecuencia a hiperlipidemia. En poblaciones nórdicas, en particular en la región norte de UK, se ha hallado mutación de Asp374Tyr, presentándose en éstos pacientes un fenotipo clínico severo (38). En general las mutaciones de PCSK-9 forman parte del 1% de las hipercolesterolemias familiares y representa la tercer causa de éstas (39).

Se ha asociado la mutación en el gen del PCSK9 a la HF con un patrón de herencia autosómica dominante. Su papel regulatorio en la actividad del rLDL es complejo y se ha demostrado que la pérdida de la función de este se asocia a niveles disminuidos de cLDL. Esto se explica por qué la PCSK9 se une al complejo extracelular de rLDL-LDL y, posteriormente ocurre la endocitosis del complejo, teniendo como objetivo la degradación lisosomal de tal complejo(40).

Desde hace 15 años se ha ido realizando la secuenciación de 12 exones del gen de PCSK9, sugiriendo así nuevos mecanismos de dislipidemia. Se han identificado sustituciones de Tiamina a Adenina en el exón 2 en el nucleótido 625, resultando en un cambio en el codón 127 de arginina y la sustitución de Tiamina a Citosina,

cambiando los aminoácidos de fenilalanina a leucina entre diferentes familias y generando nuevas variantes de la enfermedad(37).

Gen LDLRAP1/ARH (gen receptor de LDL adaptado a la proteína 1)

Mutaciones en este gen son responsables de producir hipercolesterolemia de tipo autosómica recesiva lo que alude a sus siglas (ARH). Este gen se encuentra ubicado en el cromosoma 1p36-3521. Dicha mutación impide la internalización del complejo ligando-receptor lo que tiene como resultado que todos los receptores de LDL son acumulados en la membrana de la célula. Es una enfermedad poco frecuente en comparación con HAD, donde los casos se han encontrado en poblaciones libanesas, mexicanas, japonesas, indias, inglesas, turcas, americanas y de Siria (41).

Manifestaciones clínicas

Pacientes heterocigotos muestran concentraciones cLDL dobles desde el nacimiento. En la edad adulta muestran cifras entre 250-650 mg/dL en los heterocigotos y por encima de 550 mg/dL en los homocigotos desde el nacimiento. La concentración plasmática de cLDL suele ser elevada desde edades tempranas en homocigotos y la concentración de HDL se encuentra normal. Se pueden observar xantomas tendinosos frecuentemente en personas mayores de 40 años heterocigotos y en la primera década de la vida en homocigotos, siendo su localización más frecuente en el tendón de Aquiles, aunque también se observan en codos y extensores de los dedos de las manos, así como depósito lipídico en el arco corneal e incluso en glúteos (42). La presencia de xantomas se asocia con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular prematura con mayor prevalencia y riesgo de tendinitis en mujeres. En personas jóvenes el depósito de lípidos subcutáneo puede ser confundido con Artritis Juvenil Idiopática debido a la localización de dichos depósitos, por ello es necesario conocer detalladamente las características clínicas y los estudios necesarios para confirmar el trastorno (43,44).

Criterios de diagnóstico

Se basan mayoritariamente en criterios de sospecha clínicos (**Tabla1**), bioquímicos y genéticos. Ello incluye la realización de la historia clínica en busca de antecedentes en la historia familiar y antecedentes personales, así como también la exploración física en busca de signos como la presencia de xantomas, en el aspecto genético nos basamos en la identificación de mutaciones en alguno de los 3 principales genes que se mencionaron anteriormente (25).

Existen distintos índices de diagnóstico entre ellos los índices de MedPed, los del registro de Simon Broome y los de la red de unidades de lípidos de Holanda (índice DLCN). Para una mayor utilidad empleamos los de la red de unidades de lípidos de Holanda que nos permiten dar un diagnóstico definitivo basados en un puntaje, que considera el diagnóstico clínico por medio de 5 aspectos como son la antecedentes heredofamiliares de dislipidemia y cardiopatía isquémica, la historia personal patológica, los datos de exploración física, los datos bioquímicos y los estudios genéticos (**Tabla 2**).

Para el diagnóstico también referido a varias guías no sólo nos basaremos en los criterios de manera estricta, debido a que la HF se puede manifestar de manera diversa de un individuo a otro, existen 3 distintas formas de diagnosticar (45,46):

- 1.- Aquellos que tienen datos clínicos y alteraciones genéticas.
- 2.- Tienen datos clínicos de acuerdo a la red de lípidos Holandesa con un puntaje mayor a 8, pero no alteraciones genéticas.
- 3.- Aquellos con mutación positiva pero sin manifestaciones clínicas.

Consideraciones diagnósticas

La HF puede ser evidente desde edades tempranas debido a que los niños o adolescentes sin distinción de edad, sexo o raza se encuentran con niveles elevados de cLDL, de esta forma podemos inferir a las personas con alto riesgo de sufrir complicaciones por enfermedades cardiovasculares desde edades tempranas, así que debemos conocer los factores de riesgo tales como:

- Familiares de primer grado diagnosticados con HF
- Pacientes con historia familiar de cardiopatía isquémica precoz
- Personas con historia personal de cardiopatía isquémica precoz
- Cifras de cLDL >190 mg/dL en adultos o >160 mg/dL en niños y adolescentes
- Detección de arco corneal antes de los 45 años de edad
- Presencia de xantomas tendinosos que es patognomónico de la enfermedad pero sólo se presenta en un 30% de los pacientes.

Es recomendable realizar en todos los procesos diagnósticos un perfil lipídico; Aquellas personas que obtengan puntajes con valores de alta probabilidad diagnóstica, la OMS recomienda realizar la confirmación por medio del estudio genético con el análisis del gen del rLDL, debido a su prevalencia en cuanto a mutaciones en las que se le ve involucrado en un 90% de los casos, además se recomienda un estudio en cascada con estratificación de riesgo de enfermedades cardiovasculares, lo que a su vez permitiría detectar a nivel familiar posibles casos a través de un test en cascada(47).

El estudio genético se realiza con el objetivo de identificar mutaciones en los genes más comúnmente involucrados en ésta patología, los cuales involucra mutaciones en el rLDL, APO B-100 y PCSK-9.

Tratamiento (48–50)

La modificación del estilo de vida es la base fundamental en cualquier tratamiento, podemos abordar cambios de hábitos en el aspecto alimenticio, realización de actividad física constante, procurar mantenerse en el peso ideal y además evitar el consumo de tabaco. El tratamiento precoz permite a los pacientes llevar una calidad de vida similar al resto de la población, aumentando su esperanza de vida, reintegrándolos a sus labores y disminuyendo los costos sanitarios.

Alimentación

En la alimentación de estos pacientes debemos considerar la reducción del consumo de grasas saturadas, debido a que aumentan la concentración plasmática de cLDL, por medio de la inhibición en la expresión de los receptores de LDL hepáticos, la grasa saturada más abundante en la alimentación es el ácido palmítico. A la inversa los ácidos grasos insaturados son recomendados debido a que reducen la concentración de colesterol plasmático. Los estero/estanoles de origen vegetal tienen gran importancia en la dieta ya que disminuyen el cLDL por medio de la inhibición de la absorción a nivel intestinal del colesterol. Existe una serie de recomendaciones más específicas en la dieta de estos pacientes, el cual se muestra a continuación (51) (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Recomendaciones nutricionales en la Hipercolesterolemia Familiar

Grasa saturada	<7% de las calorías totales
Grasa poliinsaturada	Hasta un 10% de las calorías totales
Grasa monoinsaturada	Hasta un 20% de las calorías totales
Grasa total	25-35% de las calorías totales
Hidratos de carbono	50-60% de las calorías totales
Fibra	20-30 g/día
Proteínas	15% del total de calorías
Colesterol	<200 mg/día
Estanoles, esteroides vegetales	1.5-2 g/día
Tomado y modificado de Executive Summary of The Third Report of the National Cholesterol, Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and treatment of High Blood Cholesterol In Adults(Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-97.	

Tratamiento farmacológico

El uso de estatinas como hipolipomiantes (atorvastatina 80 mg/día o la rosuvastatina 40 mg/día) a altas dosis, es el tratamiento de primera línea, ya como mecanismo de acción involucran la inhibición de la HMG-CoA con lo cual reducen la síntesis endógena de colesterol. La combinación con otros medicamentos y la aféresis de LDL en estos pacientes han demostrado un excelente resultado, en el que se disminuye la mortalidad por cardiopatía coronaria hasta en un 50%.

Los fármacos de elección son la rosuvastatina y secuestradores de ácidos biliares (colesevelam), que igual disminuyen las concentraciones de cLDL entre 10 y 30%, aunque se debe de tener precaución con los últimos mencionados debido a sus efectos secundarios. Las principales metas en éstos pacientes son mantener cifras de cLDL <100mg/dL o por lo menos una reducción del 50%, además del empleo de inhibidores de la absorción del colesterol (ezetimibe) como segunda línea de tratamiento en combinación con las estatinas cuando no se responde a la primera

línea de tratamiento(52). En ciertos casos de difícil control se recomienda el uso de resinas (colesevelam) o inhibidores de la PCSK-9 como el evolocumab (53).

Cabe resaltar que los inhibidores de la PCSK-9 se están incorporando en el manejo de esta dislipidemia, en el caso del fracaso del tratamiento de primera línea con estatinas y dieta, como un nuevo tratamiento innovador que probablemente en pocos años se empleará como segunda línea de opción debido a la cantidad de estudios que avalan su eficacia (54,55).

Actualmente están en uso reciente nuevos tratamientos farmacológicos opcionales, sin contar con un uso muy frecuente; tienen como objetivo la inhibición de la síntesis de apoB, inhibidores de la proteína microsomal de transferencia, inhibidores de la proteína transportadora de ésteres de colesterol, inhibidores del trifosfato de adenosina citrato liasa que reduce la producción de mRNA de la apolipoproteína CIII, a pesar de ser tratamientos nuevos, no se ha realizado su uso cotidiano debido a la poca experiencia con ellos (50,56).

Aféresis de lipoproteínas de baja densidad

La aféresis de LDL es un tratamiento optativo que ha demostrado buenos resultados, indicado en la hipercolesterolemia grave refractaria al tratamiento farmacológico intensivo. Su principal limitación está relacionada en el costo económico y la baja disponibilidad (57). Por ello también es el tratamiento de última elección en hipercolesterolemia familiar heterocigota, pero de primera elección en la homocigota ya que disminuye la concentración plasmática de cLDL hasta en un 50-75% cuando es usada de forma semanal o cada dos semanas (58,59).

En aquellos pacientes en los que los niveles de cLDL no disminuyen por debajo de 100 mg/dL aún después de la aféresis se han realizado combinaciones con fármacos como Evolocumab, un inhibidor de la actividad de PCSK9 sobre los receptores de LDL, mostrando una respuesta bastante eficiente (60).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La HF es una enfermedad hereditaria autosómica dominante, que se caracteriza por una expresión anómala de genes, que involucran el metabolismo del colesterol. De acuerdo al artículo *Clinical and Molecular aspects of hipercolesterolemia in Ibero-American countries* se cree que en México hay un total de 200,000 casos, de los cuales la mayoría aún no han sido diagnosticados y se estima que su prevalencia aproximada es de una de cada 200 a 500 en heterocigotos y de una de cada 160,000 a 1,000,000 de personas en homocigotos en la población general (7,8,30).

La expresión anómala de genes tiene como consecuencia concentraciones plasmáticas de cLDL entre 350 y 550 mg/dL en la forma heterocigota y mayores de 550 mg/dL en la homocigota, xantomas tendinosos y un riesgo de presentar infarto de miocardio antes de los 50 años de 50% en varones y 30% en las mujeres sin tratamiento del colesterol, que condicionan enfermedad cardiovascular periférica (SICA, EVC, enfermedad arterial periférica, etc.), en población económicamente activa que tiene como secuela la incapacidad o la muerte en población menor de 50 años (6,26,36).

Se sabe que el 79% de casos se debe a mutaciones en el receptor de LDL, 5% en el gen de *Apo B-100* y 1% en *PCSK-9* y a pesar de ser la mutación hereditaria más frecuente en el mundo es la menos diagnosticada y por ello no se cuenta con una epidemiología certera (16,19). Este estudio busca realizar el diagnóstico oportuno de la enfermedad. Se creó la organización Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration (FHSC) en el año 2016, que reúne información epidemiológica de todo el mundo para tener una visión más amplia de la enfermedad y poder realizar medidas preventivas para evitar la aparición de secuelas a edad temprana. Entre los países que participan se encuentran Uruguay, Inglaterra, Australia, Estados Unidos, México, entre otros (37,38).

Los altos costos del empleo de la técnica de PCR y su poca disponibilidad han restringido su uso, ya que implica la toma y almacenamiento de muestras

sanguíneas, uso de técnicas como; electroforesis para corroborar los resultados de la PCR, también de equipo específico para la cuantificación de RNA, lo cual imposibilita su aplicación en los hospitales para diagnóstico de esta enfermedad de manera rutinaria. Pese a ello se contó con el apoyo económico de investigadores para su elaboración y aplicación a través de los métodos de análisis necesarios.

Se realizó una investigación que reporta y describe los casos sospechosos de hipercolesterolemia familiar en la consulta externa de dislipidemias y diabetes del Centro Médico “Lic. Adolfo López Mateos”, de esta forma contribuimos con un estudio que representa a una parte de la población mexiquense, para facilitar al sistema de salud un registro propio que pone en evidencia la existencia de estos pacientes en nuestra población y poder difundir los criterios de sospecha clínica, ya que son una herramienta útil para el diagnóstico temprano y reducir el número de secuelas en población económicamente activa, la más severa muerte por enfermedad isquémica coronaria.

Pregunta de investigación

¿Qué grado de expresión manifiesta el gen *PCSK9* en pacientes que acudieron a consulta externa de dislipidemias y Diabetes Mellitus del CMLALM seleccionados con los criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar durante septiembre a diciembre del 2018?

JUSTIFICACIONES

La HF es una enfermedad genética que se encuentra subdiagnosticada en México y en el mundo, representa un reto global para la salud pública. La información disponible sugiere que, de 100 casos, solamente el 5% de ellos han sido diagnosticados y tratados aún en países desarrollados que cuentan con un programa avanzado de detección. Aunque el tratamiento oportuno con estatinas puede mejorar la sobrevida, es subdiagnosticada y por tanto poco tratada, teniendo como consecuencia la enfermedad coronaria prematura (8,38).

Al hablar de hipercolesterolemia entramos a un número sin fin de alteraciones genéticas que causan de forma secundaria un aumento de lípidos en sangre, es por eso que en este estudio nos enfocamos en buscar y diagnosticar por medio de la correlación de los criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar y los criterios de la red de clínicas holandesas el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar, que son dos instrumentos recomendados por la OMS para el diagnóstico de la HF, con el objetivo de prevenir la enfermedad coronaria temprana en la población portadora de la mutación funcional en los genes *LDL*, *APOB*, y *PCSK9*, Poder describir, presentar los casos para fomentar el uso de estos criterios y hacer hincapié en la importancia de tener la sospecha clínica al encontrar valores anormalmente altos de cLDL y utilizar los criterios establecidos de manera oportuna antes de la aparición de los primeros eventos cardiovasculares, ya que estamos frente a una población con difícil control respecto los niveles de cLDL en sangre, que además puede tener secuelas incapacitantes en población económicamente activa, convirtiéndose en un problema de salud pública que se debe atender.

Es necesario hacer hincapié al médico de primer nivel por medio de literatura mexicana, descartar la HF como causa primaria de dislipidemia, la cual se manifiesta en personas jóvenes por medio de enfermedad coronaria prematura, causando incapacidad o muerte.

El diagnóstico temprano permite preservar el tiempo de vida y prevenir secuelas de la ECP en personas menores de 50 años en su mayoría, otorgando la posibilidad de tener una mejor calidad de vida.

HIPÓTESIS

La expresión génica de *PCSK9* se verá aumentada en pacientes con sospecha diagnóstica de Hipercolesterolemia Familiar del CMLALM de Septiembre a Diciembre del 2018.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir la expresión de *PCSK9* en pacientes del CMLALM con sospecha de hipercolesterolemia familiar.

Objetivos específicos

- Usar los criterios de sospecha clínica y de diagnóstico de la red de clínicas de lípidos Holandesas para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar. **(Anexo 3).**
- Medir mediante PCR la expresión del gen *PCSK9* en pacientes con sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar.

MÉTODO

Tipo de estudio

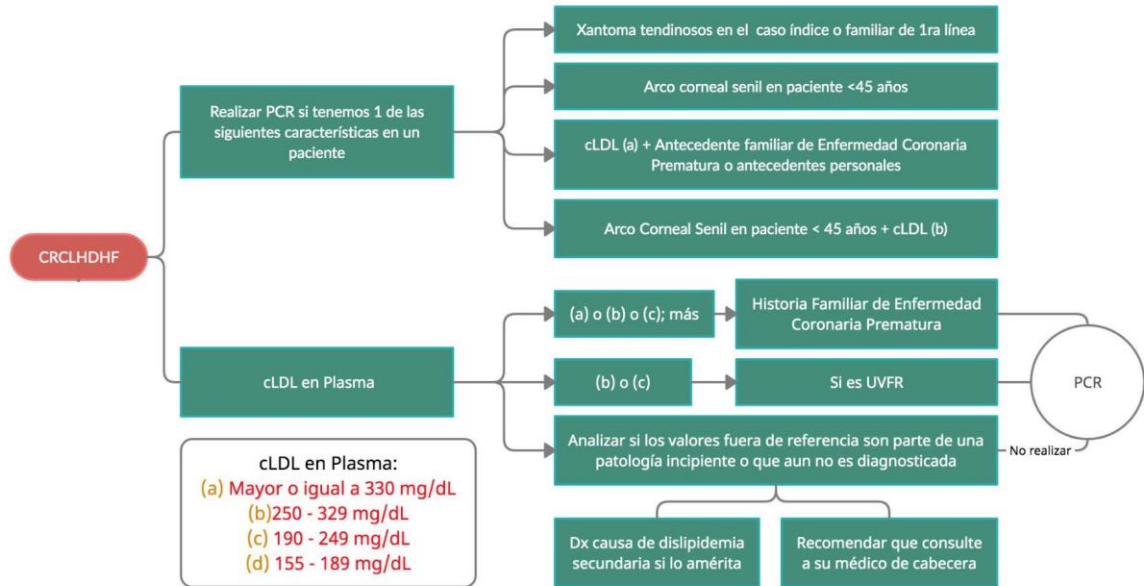
Estudio prospectivo, descriptivo, clínico, transversal.

Diseño del estudio

Se trata de un estudio integrado por pacientes mayores de 18 años tratados en la consulta externa de dislipidemias y Diabetes Mellitus del Centro Médico "Lic. Adolfo López Mateos (CMLALM), Instituto de Salud del Estado de México (ISEM), durante Septiembre a Diciembre del 2018, que por sus antecedentes de enfermedad coronaria prematura personales y/o familiares o una alteración en el perfil de lípidos fueron candidatos a aplicarles los criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar con previa autorización y firma de consentimiento informado para la participación del presente estudio **(Anexo 1)**.

Se integró a los pacientes que tuvieron un cLDL mayor a 220 mg/dL, más alguno de los siguientes criterios: familiar menor de 18 años con cLDL mayor a 150 mg/dL, familiar mayor de 18 años con cLDL mayor de 190 mg/dL, presencia de enfermedad coronaria prematura en el caso índice y/o familiar de primer grado o presencia de xantomas en el caso índice y/o familiar de primer grado. En pacientes en los que no se disponía de datos familiares se incluyeron a personas con cLDL mayor a 300 mg/dL. En los pacientes que fueron candidatos a seguir con el estudio aplicamos los criterios de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas para el diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar; el diagnóstico de HF de certeza mayor o igual a 8 puntos; probable: 6 a 7 puntos o posible: 3 a 5 puntos e improbable menor de 3.

Ante la sospecha clínica se aplicaron los Criterios de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas para el Diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar (CRCLHDHF) siguiendo el algoritmo 1.



Algoritmo 1. CRCLHDHF: Criterios de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas para el diagnóstico de la Hipercolesterolemia Familiar; AF: UVFR: Único Valor Fuera del Rango del Perfil de Lípidos y glucosa > 90 mg/dL y A. úrico > 4 mg/dL; Dx: Diagnóstico. Realización de Algoritmo a partir de 1. Alcorta I, San Vicente R, Rekue I, Mozo C, Urraca J, Ibarгойen N. Guía de Práctica Clínica sobre el manejo de los lípidos como factor de riesgo cardiovascular. Guía Práctica Clínica sobre el manejo los lípidos como factor riesgo Cardiovasc. 2017;.

Operacionalización de las variables

Variable	Definición teórica	Definición operacional	Nivel de medición	Indicador	Ítem
Hipercolesterolemia familiar	Trastorno genético que se manifiesta desde el nacimiento y que causa un aumento en los niveles plasmáticos de colesterol-LDL (cLDL), xantomas y enfermedad coronaria prematura.	Trastorno genético que reúna los criterios de sospecha y expresión génica alterada.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Diagnóstico Positivo Negativo	1-28
Criterios de sospecha clínica de Hipercolesterolemia familiar	Criterios elaborados por un panel de expertos reunido por La Fundación Hipercolesterolemia Familiar estructurando las recomendaciones de acuerdo a normas internacionales y revisión sistemática de la información científica publicada al momento de su realización 2003.	Instrumento de sospecha clínica para iniciar un estudio y diagnóstico de un caso de HF.	Cualitativo Nominal Dicotómico	Criterio Sospechoso No sospechoso	1-7
Criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar	Criterios utilizados en España, ya que han sido validados con el diagnóstico genético que es el Gold estándar.	Criterios estandarizados en cuestionario	Cuantitativo Ordinal	El diagnóstico clínico es; Definitivo ≥ 8 Probable > 6 a 7 Posible 3 a 5 improbable < 3	8-28
Gen PCSK9	Gen situado en el brazo corto del cromosoma 1 (1p32.3) codifica una proteína que se une al complejo LDL-ApoB100.	Gen cuya expresión se evalúe por qPCR	Cuantitativa continua	Expresión Unidades relativas	27

Universo

Pacientes mayores de 18 años con dislipidemia tratados en la consulta externa de dislipidemias y Diabetes Mellitus del CMLALM durante Septiembre a Diciembre del 2018

Muestra

Conformada por 25 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión para la sospecha de hipercolesterolemia familiar.

Muestreo

No probabilístico y por oportunidad.

Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años con:
- Historia personal y/ o familiar de enfermedad coronaria prematura.
- Pacientes que tuvieron un cLDL mayor a 220 mg/dL.
- Pacientes que no conocen su historia familiar y presentaron un cLDL mayor a 300 mg/dL.
- Pacientes que aceptaron participar en el estudio de manera voluntaria, informada y aceptaron responder los instrumentos de investigación.
- Pacientes que autorizaron tomar las fracciones de las muestras en resguardo para control y seguimiento en el laboratorio del CMLALM para cuantificar la expresión gen *PCSK9*, mediante la técnica PCR, previa autorización del consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes con hipotiroidismo, insuficiencia renal crónica, alcoholismo crónico, hepatopatías, síndrome nefrótico.
- Pacientes mayores de 18 años con dislipidemia secundaria a fármacos.

Criterios de eliminación

- Pacientes quienes, una vez iniciado el protocolo de estudio, se negaron a seguir participando con el mismo.
- Pacientes que fallezcan.

Instrumentos de investigación

Para los criterios de inclusión al protocolo de estudio se utilizaron los criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar (**Anexo 3; Tabla 1**) y para clasificar el diagnóstico los criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas para el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar. (**Anexo 3; Tabla 2**).

Descripción

Anexo 3 (Tabla 1) el cual consta de 2 puntos, el primero con 4 incisos. Es de tipo cualitativo, nominal y dicotómico; criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar, toman en cuenta a los pacientes que tienen un cLDL mayor a 220 mg/dL (más alguno de los siguientes criterios; 1: familiar menor de 18 años con cLDL mayor a 150 mg/dL, 2: familiar mayor de 18 años con cLDL mayor a 190 mg/dL, 3: presencia de enfermedad coronaria prematura en el caso índice y/o familiar de primer grado o 4: presencia de xantomas en el caso índice y/o familiar de primer grado) y si no se dispone de datos familiares se sospecha hipercolesterolemia familiar en personas con cLDL mayor de 300 mg/dL.

Anexo 3 (Tabla 2) El segundo instrumento de investigación consta de 9 ítems cada uno con distinto valor es de tipo cuantitativo y ordinal, este corresponde a los criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas para el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar permite establecer el diagnóstico de HF de certeza: mayor o igual a 8 puntos; probable: 6 a 7 puntos o posible: 3 a 5 puntos e improbable menor de 3.

Validación

De acuerdo al documento de consenso: diagnóstico y tratamiento de hipercolesterolemia familiar en España 2017.

El diagnóstico de la HF se basa en niveles elevados de cLDL (generalmente mayor a 220 mg/dl), historia familiar de hipercolesterolemia, presencia de enfermedad coronaria prematura y depósitos de colesterol en forma de xantomas y/o arco corneal. La obtención del árbol familiar es esencial para evaluar la probabilidad de HF y para posteriormente realizar la detección familiar. Se usaron los Criterios de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesa para el Diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar (CRCLHDHF) como herramienta de diagnóstico, siendo los que se utilizan en España, ya que han sido validados para el diagnóstico genético que es el gold standard por la OMS (Anexo 3).

Desarrollo del proyecto

Se aplicaron los criterios de sospecha clínica para el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar a los pacientes que acudieron a consulta externa de dislipidemias y Diabetes Mellitus del CMLALM durante Septiembre a Diciembre del 2018, en los pacientes con sospecha se utilizaron los criterios para el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar, a juicio y por conveniencia se solicitó una fracción de las muestras que se tomaron de rutina y seguimiento almacenadas en el laboratorio del CMLALM, previo a la firma del consentimiento informado en el cual los pacientes aceptaron formar parte de este estudio (Anexo 2).

Recolección de tejido y extracción de RNA

A partir de la fracción de sangre obtenida del laboratorio se extrajo ARNm mediante el uso del kit de Qiagen, en el laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina de la UAEMex.

Procedimiento de extracción de RNA:

1. Tomar 100 μ l de sangre entera del tubo EDTA y colocarlo en un tubo de RNA más 350 μ l de RLT Plus.
2. Vortex por 30 segundos.
3. Transferir a Mini Spin Column 50.
4. Centrifugar a 10,000 revoluciones por 30 segundos.
5. Quitar la columna y guardar el sobrenadante al cual agregamos 600 μ l de Etanol al 70%.
6. Homogeneizar 10 veces gentilmente.

7. Colocar 700 µl en un tubo RNAeasy Spin Column dentro del Collection tubo de 2ml y centrifugar 15 segundos a 10,000 revoluciones.
8. Guardar la columna, añadir 700 µl de Buffer RW1 a la columna dentro del Collection tubo de 2ml, centrifugar 15 segundos a 10,000 revoluciones y desechar el sobrenadante.
9. Añadimos 500 µl de Buffer RPE dentro de la columna y centrifugamos 15 segundos a 10,000 revoluciones, se desecha el sobrenadante.
10. Añadimos 500 µl de Buffer RPE dentro de la columna y centrifugamos a 10,000 revoluciones por 2 minutos.
11. Colocamos la columna de RNA en tubo de 1.5 mL y agregamos 30 µl de RNA SEE FREE WATER y centrifugamos a 10,000 revoluciones por 1 minuto y guardamos el sobrenadante que será la muestra en la cual mediremos concentración y pureza del RNA.

La concentración de RNA se midió con el equipo Qubit (Thermo Fisher) en el Laboratorio de Investigación de Ciprés Grupo Médico CGM SC.

Medición de la expresión génica

La cuantificación de la expresión génica se realizó en el Laboratorio de Investigación de Ciprés Grupo Médico CGM SC. Se utilizaron los primers descritos en el Anexo 4 (Tabla 3) por medio de la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa en tiempo real (qPCR) en el equipo Prime Q (Techne, UK). Las condiciones de la reacción fueron: 0.4 µL de enzima, 25 µL de MIX RT-PCR, 0.2 µL de Primer Forward, y 0.2 µL de Primer Reverse. Todas las muestras se llevaron a 100 ng completando un volumen final de 50 µL con agua.

El ciclaje usado fue:

- a) Paso de retrotranscripción: 48°C 30 minutos por 1 ciclo.
- b) Activación de la enzima: 95°C 10 minutos por 1 ciclo.

- c) Desnaturalización: 95°C 15 segundos por 40 ciclos.
- d) Alineación: 59°C 30 segundos por 40 ciclos.
- e) Extensión: 60°C 30 segundos por 40 ciclos.
- f) Curva de Melting: 72°C ,1 minuto por 61 ciclos.

Límite tiempo y espacio

Límite de tiempo y espacio (Grafica de Gantt)						
Lugar	Actividad	Tiempo				
		Septiembre 2017	Octubre- Noviembre 2017	Diciembre- Enero 2018	Febrero – Agosto del 2018	Abril 2021
Facultad de Medicina	Investigadores Responsables					
	Elección del tema de investigación.	■				
	Búsqueda y elaboración del marco teórico		■			
	Título, planteamiento del problema, hipótesis, objetivo, método y Operacionalización de las variables.			■		
CMLALM	Justificaciones, implicaciones éticas y diseño del análisis.			■		
	Desarrollo del proyecto (trabajo de campo).				■	
Facultad de Medicina	Presentación del Protocolo de Tesis					■
	Presentación de los resultados, cuadros, gráficas, conclusiones de Tesis.					■

Diseño de análisis

Se realizó un análisis descriptivo y posteriormente se evaluaron las diferencias en la expresión relativa de los genes mediante la prueba t de Student o U de Mann-Whitney, de acuerdo al tipo de distribución gaussiana o no de los mismos, con la prueba de Kolmogorov. Se consideró una diferencia significativa a una $p \leq 0.05$ con el uso del programa SPSS versión 23.

IMPLICACIONES ÉTICAS

Este estudio se llevó a cabo siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki con su última actualización de Fortaleza, Brasil.

Es misión del médico salvaguardar la salud de las personas. Su conocimiento y conciencia están dedicados al cumplimiento de esta misión. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico a la aseveración: «La salud de mi paciente será mi empeño principal», y el Código internacional de Ética Médica declara que «cuando un médico proporcione una asistencia médica que pudiera tener un efecto de debilitamiento del estado físico y mental del paciente el médico deberá actuar únicamente en interés del paciente». La finalidad de la investigación biomédica que implica a personas debe ser la de mejorar los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos y el conocimiento de la etiología y patogénesis de la enfermedad.

La planeación y realización de este estudio se rigió bajo los estatutos del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, respetando así cada uno de sus puntos teniendo en cuenta lo siguiente;

- La información relacionada con la identidad de los participantes fue tratada confidencialmente.
- Se contó siempre con el consentimiento de participación de los integrantes en estudio de manera verbal y escrita, con la firma de un consentimiento informado donde se aclaró el uso de la información y la confidencialidad de la misma.
- Los participantes podían abandonar el estudio en cualquier momento si así lo decidían y sin previa explicación.
- No se utilizó lenguaje técnico, sino práctico y comprensible para los participantes, se les explicó cuantas veces fueron necesarias las

características y los motivos del estudio, hasta asegurarnos que los participantes hubieran entendido la explicación.

- Se respondieron de manera satisfactoria todas las interrogantes de interés para los participantes.

Todo lo anterior considerado conforme a las disposiciones del Artículo 16, del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en vigor: “En las investigaciones en seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste los autorice”

Con respecto a la NOM-012-SSA3-2012 la cual enuncia que la investigación científica, clínica, biomédica, tecnológica y biopsicosocial en el ámbito de la salud, son factores determinantes para mejorar las acciones encaminadas a proteger, promover, y restaurar la salud del individuo y de la sociedad en general, por lo que resulta imprescindible orientar su desarrollo en materias específicas y regular su ejecución en los seres humanos, de tal manera que la garantía del cuidado de los aspectos éticos, del bienestar e integridad física de la persona que participa en un proyecto o protocolo de investigación y del respeto a su dignidad, se constituyan en la regla de la conducta para todo investigador del área de la salud. Define los elementos mínimos que deben cumplir de manera obligatoria los investigadores que realizan esta actividad en seres humanos, de acuerdo con las disposiciones que en esta materia se establecen con carácter irrenunciable para la Secretaría de Salud como autoridad sanitaria, según lo establece la propia Ley General de Salud y su Reglamento en materia de investigación para la salud.

En referencia al Artículo 38 de la Ley de Información Estadística y Geográfica, en vigor enuncia: “Los datos e informes que los particulares proporcionen para fines estadísticos o provengan de registro administrativo o civil, serán manejados para efectos de esta Ley; bajo la observancia de los principios de confidencialidad y reserva, no podrán comunicarse, en ningún caso, en forma nominativa o

individualizada, ni harán prueba ante autoridad administrativa o fiscal, ni en juicio o fuera de él”.

También se consideró debido al uso de los expedientes clínicos la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SSA3-2012, DEL EXPEDIENTE CLÍNICO la cual establece los criterios científicos, éticos, tecnológicos y administrativos obligatorios en la elaboración, integración, uso, manejo, archivo, conservación, propiedad, titularidad y confidencialidad del expediente clínico.

Esta norma menciona la importancia de que la autoridad sanitaria, garantice la manifestación de la voluntad del paciente de ser o no atendido a través de procedimientos clínicos o quirúrgicos, para lo cual, el personal de salud debe recabar su consentimiento, previa información y explicación de los riesgos posibles y beneficios esperados.

Además, considera la autonomía del paciente sobre el manejo de sus datos que se refieren a su identidad personal y los que proporciona en relación con su padecimiento; a los cuales se les considera información confidencial. Lo cual consolida el principio ético del secreto profesional.

Esta norma también reconoce la intervención del personal del área de la salud en las acciones de diagnóstico, tratamiento y rehabilitación, que se registran y se incorporan en el expediente clínico a través de la formulación de notas médicas y otras de carácter diverso con motivo de la atención médica. En ellas, se expresa el estado de salud del paciente, por lo que también se brinda la protección de los datos personales y se les otorga el carácter de confidencialidad.

También en el marco federal esta investigación considera la Ley General de Protección de Datos Personales en posesión de sujetos obligados debido a que se hará uso de la información proporcionada por los pacientes.

Esta Ley tiene por objeto establecer las bases, principios y procedimientos para garantizar el derecho que tiene toda persona a la protección de sus datos personales, en posesión de sujetos obligados.

Son sujetos obligados por esta Ley, en el ámbito federal, estatal y municipal, cualquier autoridad, entidad, órgano y organismo de los Poderes Ejecutivo, Legislativo y Judicial, órganos autónomos, partidos políticos, fideicomisos y fondos públicos.

Los sindicatos y cualquier otra persona física o moral que reciba y ejerza recursos públicos o realice actos de autoridad en el ámbito federal, estatal y municipal serán responsables de los datos personales, de conformidad con la normatividad aplicable para la protección de datos personales en posesión de los particulares. Por ello debido a que la investigación se llevará a cabo en una institución de servicios públicos y ésta recibe recursos públicos federales nos regiremos bajo esta ley.

En este sentido, se cumplió con las disposiciones de carácter obligatorio que establece el marco jurídico sanitario mexicano, quienes realizaron investigación para la salud en seres humanos; adaptaron a los principios científicos y éticos que justifican a la investigación médica que se encuentra en los instrumentos internacionales universalmente aceptados y a los criterios que en la materia emita la Comisión Nacional de Bioética.

Tipo de investigación (De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud*)

		<i>Requieren Consentimiento Informado</i>			
Sin riesgo		Riesgo mínimo		Riesgo mayor al mínimo	

RESULTADOS

MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

	FOLIO	TRIGLICÉRIDOS	COLESTEROL	LDL	PUREZA DEL RNA	CONCENTRACIÓN DEL RNA	EXPRESIÓN RELATIVA DE PCSK9
1	3008089	263	275	163	1.923	10	8.27
2	309011	174	246		1.737	13.2	7.99
3	309085	114	270	122	1.8	14.4	1.8
4	309087	850	377	216	1.8	10.8	2.9
5	409083	443	318	218	1.364	6	0.81
6	509003	220	282	150	1.75	5.6	2.04
7	509083	255	262	163	1.964	22	0.93
8	509084	242	313	186	1.786	10	0.77
9	609006	221	252	136	1.923	10	5.38
10	609010	131	279	187	2	7.2	3.31
11	609055	158	263	158	1.576	20.8	0.96
12	609071	379	305	190	1.909	16.8	2.41
13	709003	299	250		1.864	16.4	0.95
14	709079	372	317	202	1.706	11.6	0.42

Cuadro 2. Resultados de perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, pureza del RNA, concentración del RNA y expresión relativa de PCSK9).

		GLUCOSA	UREA	LDL	CREATININA	COLESTEROL	TRIGLICERIDOS	AC. ÚRICO	BUN	EXPRESIÓN
GLUCOSA	Coefficiente de	1	0.54	0.023	-0.098	0.086	0.148	0.078	0.616	0.108
	correlación Sig.	.	0.057	0.944	0.738	0.77	0.615	0.792	0.019	0.713
	(bilateral) N	14	13	12	14	14	14	14	14	14
UREA	Coefficiente de	0.54	1	0.239	0.256	-0.034	-0.077	0.328	0.932	0.462
	correlación Sig.	0.057		0.479	0.399	0.912	0.804	0.274	0	0.112
	(bilateral) N	13	13	11	13	13	13	13	13	13
LDL	Coefficiente de	0.023	0.239	1	0.35	0.823	0.788	0.436	0.339	-0.273
	correlación Sig.	0.944	0.479	.	0.265	0.001	0.002	0.156	0.281	0.39
	(bilateral) N	12	11	12	12	12	12	12	12	12
CREATININA	Coefficiente de	-0.098	0.256	0.35	1	0.04	0.037	0.64	0.432	0.123
	correlación Sig.	0.738	0.399	0.265	.	0.893	0.899	0.014	0.123	0.674
	(bilateral) N	14	13	12	14	14	14	14	14	14
COLESTEROL	Coefficiente de	0.086	-0.034	0.823	0.04	1	0.552	0.071	0.125	-0.349
	correlación Sig.	0.77	0.912	0.001	0.0893	.	0.041	0.81	0.671	0.221
	(bilateral) N	14	13	12	14	14	14	14	14	14
TRIGLICERIDOS	Coefficiente de	0.148	-0.077	0.788	0.037	0.552	1	0.091	0.091	-0.248
	correlación Sig.	0.615	0.804	0.002	0.899	0.041	.	0.758	0.756	0.392
	(bilateral) N	14	13	12	14	14	14	14	14	14
ACIDO ÚRICO	Coefficiente de	0.078	0.328	0.436	0.64	-0.071	0.091	1	0.442	0.34
	correlación Sig.	0.792	0.274	0.456	0.014	0.81	0.758	.	0.114	0.234
	(bilateral) N	14	13	12	14	14	14	14	14	14

Cuadro 3. Valores bioquímicos de pacientes incluidos en el análisis estadístico.

Haciendo la correlación de Spearman se encontró una correlación negativa entre la expresión del gen PCSK9 y los niveles de colesterol LDL, así como son colesterol y triglicéridos, pero no se alcanzó significancia.

Coefficientes(a)

Modelo		Coefficients no estandarizados		Coefficients estandarizados	T	Sig	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error tip	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Constante	176.038	36.169		4.867	0.001	92.632	259.444
	Expresión	-3.419	2.997	-0.257	-1.141	0.287	-10.33	3.492
	Triglicéridos	0.113	0.035	0.737	3.206	0.013	0.032	0.194
	Glucosa	-0.31	0.391	-0.182	-0.792	0.451	-1.212	0.592

a Variable dependiente: LDL

Al hacer una regresión lineal para predecir niveles de LDL se encontró que los niveles de triglicéridos tienen valor predictivo positivo para colesterol LDL más que para la expresión del gen.

DISCUSIÓN

La actividad de la proteína PCSK-9 se ve influenciada por distintos factores, el más importante por ser el común denominador en los pacientes que formaron nuestro estudio se relaciona con el aumento de su actividad al tomar estatinas, fenómeno más evidente cuando se usan dosis plenas de las mismas, condicionando un aumento paradójico de la concentración de colesterol LDL (61). Otros factores de riesgo no modificables y condiciones metabólicas que pueden modificar aumentando la concentración y actividad de la PCSK-9 son el ritmo circadiano, sexo femenino, adultos mayores, postmenopausia, niveles elevados de colesterol LDL, hipertrigliceridemia, obesidad, hiperinsulinemia, prediabetes, diabetes, Proteína C reactiva elevada (62).

De acuerdo a estudios como el presentado por *Marianne Abifadel et al. 2012* donde se realizó un análisis en 75 pacientes con HF con herencia autosómica dominante, se demostró que pese a ser muy pocos pacientes los que presentan mutaciones de ganancia, representan una mira para pensar en tratamientos alternativos ya que pueden presentarse mutaciones no sólo a nivel de PCSK9, sino también sobre otros genes como el rLDL y APOB100 (63). Comparándolo en nuestro caso con una probable ganancia de función, podría realizarse un nuevo estudio con este enfoque, ya que esto resulta en niveles elevados de colesterol en sangre periférica, pensando en una etiología más compleja.

En nuestros resultados la expresión de *PCSK-9* no sigue una correlación directa con la elevación en la concentración de colesterol LDL de nuestros pacientes. Es importante tomar en cuenta que existen mutaciones con ganancia de función y con pérdida de la misma, podemos tener PCSK-9 en concentraciones elevadas sin embargo esta puede no ser funcional al no lograr unirse al receptor de LDL el cual podrá seguir siendo reciclado por el hepatocito entre 100 y 150 veces (37). Esto puede dar lugar a un error metodológico a la hora de evaluar los resultados, por eso es importante mencionarlo en este apartado, no hay forma al menos en nuestro

medio, de diferenciar una mutación con pérdida o con ganancia de función. El realizar la medición de la expresión génica de esta proteína no es un método confiable para diagnosticar HF por el número aún no documentado de polimorfismos en la PCSK-9.

El tratamiento con biológicos inhibidores de la PCSK-9 ha logrado los objetivos terapéuticos nunca antes alcanzados con la terapia dual de estatinas más ezetimibe. Actualmente se logran concentraciones de LDL menores de 70 mg/dL en pacientes con riesgo cardiovascular alto y menores de 100mg/dL en pacientes con riesgo cardiovascular moderado, han comprobado al igual que las estatinas una mayor eficacia para reducir la progresión de la placa ateromatosa (64).

El uso de los criterios clínicos de sospecha para el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar (Anexo 3, tabla 1) son útiles en primer nivel de atención porque te permiten investigar la historia familiar de enfermedad cardiovascular, otorgar la posibilidad de un diagnóstico integral con los Criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar (Anexo 3 tabla 2), así mismo ofrecer la posibilidad de un mejor tratamiento a pacientes de muy difícil control y con riesgo cardiovascular muy elevado por las complicaciones graves a edad precoz.

En nuestros resultados observamos un aumento directamente proporcional en la concentración de colesterol LDL y la presencia de hipertrigliceridemia, situación que concuerda con lo reportado en la literatura; la concentración elevada de triglicéridos aumenta la síntesis y concentración de la PCSK9 detectable en el suero.

De acuerdo a diversos autores se concuerda que los niveles de colesterol LDL muestran correlación con la elevación concomitante de triglicéridos (65–67). Por ello se procura seleccionar pacientes que únicamente cumplan con los criterios de diagnóstico de la red de clínicas de lípidos holandesa para el diagnóstico de HF.

En el estudio no se demostró una correlación lineal entre la expresión génica de *PCSK9* y los niveles de colesterol LDL, pero sí la hay en relación con los triglicéridos, los cuales aumentan proporcionalmente al incremento de colesterol LDL (68).

CONCLUSIÓN

Aplicando la correlación de Spearman se halló una correlación negativa entre la expresión del gen *PCSK9* y los niveles de colesterol LDL sin demostrar significancia tras el análisis estadístico. Lo cual no significa que no haya relación, sino que por la cantidad de pacientes probablemente no se observó dicha significancia, lo que sugiere realizar el estudio con una muestra más grande de individuos podría llegar a un resultado más uniforme.

Al ser una enfermedad poco común y subdiagnosticada, a nivel mundial no se tienen cifras exactas, variando entre las bibliografías. En México se tiene registro de alrededor de 186 pacientes por el INNCM Salvador Zubirán a nivel nacional.

Al hacer una regresión lineal para predecir niveles de colesterol LDL, se encontró que los niveles de triglicéridos tienen valor predictor para colesterol LDL, más que la expresión del gen *PCSK9*.

Se demostró una correlación negativa entre los niveles de expresión de *PCSK9* y los niveles de colesterol LDL, aunque no se alcanzó significancia estadística por la muestra de este estudio piloto.

No se encontró a algún paciente con nula expresión que nos hubiera indicado la presencia de una mutación. A pesar de que no se pudo relacionar se pudo concluir a partir de las muestras que se obtuvieron que no existe relación entre la expresión de *PCSK-9* y los niveles de colesterol LDL, probablemente debido a la población, a variables como la edad, localización sociodemográfica, factores medio ambientales u otros que no fueron considerados dentro del análisis estadístico.

RECOMENDACIONES

- Difundir los criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar y los criterios de diagnóstico de la Red de Lípidos Holandesas (Anexo 3, tabla 1 y 2) en unidades del primer nivel de atención.
- Tener en cuenta que la hipercolesterolemia familiar tiene un amplio grado de penetrancia en los pacientes afectados por lo tanto la evolución de la enfermedad aterosclerosa puede ser más lenta pero no inevitable si evoluciona sin tratamiento.
- No esperar encontrar xantomas tendinosos, arco corneal senil y xantelasmas para sospechar hipercolesterolemia familiar ya que sólo el 30% de los pacientes los manifiestan.
- Hacer una historia clínica completa prestando mayor atención a los hábitos alimenticios, adherencia al tratamiento por parte del paciente. Si cumple con la dieta indicada, cuenta con dosis plena de alguna estatina de alta intensidad más ezetimibe y no se alcanzan niveles terapéuticos, sin causa secundaria evidente de dislipidemia iniciar protocolo diagnóstico de hipercolesterolemia familiar con análisis genético en ausencia de datos clínicos patognomónicos de HF.
- Ofrecer inhibidores de la PCSK9 a pacientes con riesgo cardiovascular elevado en los que no se han alcanzado metas terapéuticas con dosis plenas de estatinas en combinación con Ezetimibe o intolerancia alguno de los anteriores.

ORGANIZACIÓN
TESIS
ALUMNOS
LUIS EDGAR CONCEPCIÓN CARRILLO
BRANDON ITURBE ESQUIVEL
DIRECTOR
DR. HUGO MENDIETA ZERÓN
M. EN S. H. O. HECTOR URBANO LÓPEZ DÍAZ

PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO

Artículo	Cantidad	Costo unitario	Costo total	Financiamiento
Total RNA Purification kit 50 - preps Mca Norgen	1	\$4900.9022	\$4900.90	A cargo de los estudiantes
Tubo rojo de 6mL	100	\$4.60	\$460.00	A cargo de los estudiantes
Tubo lila de 4mL	100	\$4.60	\$460.00	A cargo de los estudiantes
Impresiones	500	\$1.00	\$500.00	A cargo de los estudiantes
Total			\$6320.90	

Los gastos contemplados en este estudio fueron cubiertos por cuenta de los alumnos editores del protocolo de investigación. Los cálculos y lo invertido al momento no superan los \$7, 000.00 00/100 Moneda nacional.

Se aprovecharon los recursos humanos y materiales disponibles al máximo, sin burlar la confianza de la autoridad, de los pacientes que participaron, agradecemos el apoyo, confianza a cada persona que hizo posible la realización de esta investigación sin remuneración alguna.

BIBLIOGRAFÍA

1. Farnier M, Civeira F, Descamps O. How to implement clinical guidelines to optimise familial hypercholesterolaemia diagnosis and treatment. 2017;26:25–35.
2. Minicocci I, Pozzessere S, Prisco C, Montali A, di Costanzo A, Martino E, et al. Analysis of Children and Adolescents with Familial Hypercholesterolemia. *J Pediatr* [Internet]. 2017;183:100-107.e3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.12.075>
3. Masana L, Civeira F, Pedro-Botet J, de Castro I, Pocoví M, Plana N, et al. Consenso de expertos sobre la detección y el manejo clínico de la hipercolesterolemia familiar. *Clin e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2013;25(4):182–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2013.07.005>
4. Adulto CDEL, Duque M, Gaviria MC, González J. Hipercolesterolemia familiar heterocigota en manejo con anti-PCSK9. 2017;24(5).
5. Bartuli A, Macchiaiolo M, Rana I, Buonomo PS. Familial Hypercholesterolemia: new therapeutic approaches. *Ital J Pediatr* [Internet]. '2015;41(S2):A6. Disponible en: <http://www.ijponline.net/content/41/S2/A6>
6. Casula M, Catapano AL, Rossi L. Detection of familial hypercholesterolemia in patients from a general practice database. *Atheroscler Suppl* [Internet]. 2017;29:25–30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosisissup.2017.07.004>
7. Singh S, Bittner V. Familial Hypercholesterolemia — Epidemiology , Diagnosis , and Screening. 2015;
8. Kastelein JJP, D PH. Ef fi cacy of Rosuvastatin in Children With Homozygous Familial Hypercholesterolemia and Association With Underlying Genetic Mutations. 2017;70(9).
9. Santos RD, Bourbon M, Alonso R, Cuevas A, Vasques- A, Pereira AC, et al. Clinical and Molecular Aspects of Familial Hypercholesterolemia in Ibero-American Countries. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2016; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2016.11.004>
10. Montserrat CP. Mecanismos básicos . Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. *Clínica e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2014;26(1):41–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2013.10.008>
11. Errico TL, Chen X, Martin Campos JM, Julve J, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. Mecanismos básicos: Estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clin e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2013;25(2):98–103. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2013.05.003>

12. Jiang SY, Li H, Tang JJ, Wang J, Luo J, Liu B, et al. Discovery of a potent HMG-CoA reductase degrader that eliminates statin-induced reductase accumulation and lowers cholesterol. *Nat Commun* [Internet]. 2018;9(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-07590-3>
13. Kumari A. Cholesterol Synthesis. En: *Sweet Biochemistry* [Internet]. Elsevier; 2018. p. 27–31. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128144534000078>
14. Javaid A, R K, I M. Association between Cholesterol Homeostasis with Intestinal Proteins, Enzymes and Drugs in Absorption of Cholesterol and its Relationship with Vascular Diseases: A Review. *Biochem Pharmacol Open Access*. 2018;07(04):4–7.
15. Huang CS, Yu X, Fordstrom P, Choi K, Chung BC, Roh SH, et al. Cryo-EM structures of NPC1L1 reveal mechanisms of cholesterol transport and ezetimibe inhibition. *Sci Adv*. 2020;6(25):1–12.
16. Shibuya K, Kawamine K, Miura T, Ozaki C, Edano T, Mizuno K, et al. Design, synthesis and pharmacology of aortic-selective acyl-CoA: Cholesterol O-acyltransferase (ACAT/SOAT) inhibitors. *Bioorganic Med Chem* [Internet]. 2018;26(14):4001–13. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.06.024>
17. Luo J, Yang H, Song BL. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2020;21(4):225–45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-019-0190-7>
18. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and Reverse Cholesterol Transport: Basic Mechanisms and their Roles in Vascular Health and Disease. 2020;124(10):1505–18.
19. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins [Internet]. Endotext. MDText.com, Inc.; 2000 [citado el 24 de abril de 2021]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26247089>
20. Taskinen MR, Borén J. Why Is Apolipoprotein CIII Emerging as a Novel Therapeutic Target to Reduce the Burden of Cardiovascular Disease? *Curr Atheroscler Rep* [Internet]. 2016;18(10):1–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11883-016-0614-1>
21. Brown MS, Radhakrishnan A, Goldstein JL. Retrospective on Cholesterol Homeostasis: The Central Role of Scap. *Annu Rev Biochem* [Internet]. el 20 de junio de 2018;87(1):783–807. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-biochem-062917-011852>
22. Holmes M V., Ala-Korpela M. What is 'LDL cholesterol'? *Nat Rev Cardiol* [Internet]. 2019;16(4):197–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41569-019-0157-6>

23. Zhou L, Li C, Gao L, Wang A. High-density lipoprotein synthesis and metabolism (Review). *Mol Med Rep*. 2015;12(3):4015–21.
24. Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO, et al. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis*. 2017;267:49–60.
25. Victoria Enchia Bouhairie M [Clinical, Anne Carol Goldberg M. Familial Hypercholesterolemia. 2016;33(2):169–79.
26. Vallejo-Vaz AJ, Kondapally Seshasai SR, Cole D, Hovingh GK, Kastelein JJP, Mata P, et al. Familial hypercholesterolaemia: A global call to arms. *Atherosclerosis*. 2015;243(1):257–9.
27. Humphries SE. Familial Hypercholesterolaemia ☆. En: Reference Module in Life Sciences [Internet]. Elsevier; 2017 [citado el 24 de abril de 2021]. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128096338064153>
28. Cubedo J, Badimon L, Padro T. Protein changes in non-LDL-lipoproteins in familial hypercholesterolemia : implications in cardiovascular disease manifestation and outcome. 2017;
29. Paththinige CS, Sirisena ND, Dissanayake VHW. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia – a comprehensive literature review. 2017;1–22.
30. Shu H, Chi J, Li J, Zhang W, Lv W, Wang J, et al. A novel indel variant in LDLR responsible for familial hypercholesterolemia in a Chinese family. 2017;1–9.
31. Amor-salamanca A, Castillo S, Gonzalez-vioque E, Dominguez F, Escudier JM, Ortega J, et al. Genetically Confirmed Familial Hypercholesterolemia in Patients With Acute Coronary Syndrome. 2017;70(14).
32. Rincón EA, Gómez Mesa JE, Pachajoa HM. Caracterización clínica y molecular en hipercolesterolemia familiar homocigota. *Rev la Fac Med [Internet]*. el 1 de julio de 2018;66(3):505–8. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/63503>
33. Esperón P, Raggio V, Stoll M. Una nueva mutación en el promotor del gen del receptor de las lipoproteínas de baja densidad asociada a hipercolesterolemia familiar en homocigosis y heterocigosis. *Clin e Investig en Arterioscler [Internet]*. 2009;21(2):51–5. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1053/S0214-9168\(09\)70643-6](http://dx.doi.org/10.1053/S0214-9168(09)70643-6)
34. de Freitas RGA, Campana EMG, Pozzan R, Brandão AA, Brandão AP, Magalhães MEC, et al. Polimorfismos dos genes APOE e RLDL e tracking de dislipidemia em jovens. Estudo do Rio de Janeiro. *Arq Bras Cardiol*. 2015;104(6):468–74.

35. Experto EL, Berrade S, Oyarzábal M, Chueca M. Genética de la hipercolesterolemia familiar . Indicaciones de los estudios genéticos y su utilidad. *Rev Endocrinol Pediatr.* 2012;3:75–80.
36. Devaraj S, Jialal I. Biochemistry, Apolipoprotein B [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2019 [citado el 24 de abril de 2021]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30844166>
37. Guo Q, Feng X, Zhou Y. PCSK9 Variants in Familial Hypercholesterolemia: A Comprehensive Synopsis. *Front Genet.* 2020;11(September):1–13.
38. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: Genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007;4(4):214–25.
39. Shchepina Y V, Stakhneva EM, Voevoda MI. Association of Level of Proprotein Convertase Subtilisin / Kexin Type 9 with Intima-Media Thickness in Patients with Familial Hypercholesterolemia. 2017;163(2):199–202.
40. Hovingh GK, Davidson MH, Kastelein JJP, O'Connor AM. Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 2013;34(13):962–71.
41. LDLRAP1 low density lipoprotein receptor adaptor protein 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [citado el 24 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/26119>
42. López J, Iglesia D, Rodríguez SO, Filloy ML. Imagen Hipercolesterolemia familiar . Signos clínicos. *Form médica Contin en atención primaria* [Internet]. 2016;23(9):554–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fmc.2015.08.006>
43. Amitabh Poonia, M.D. Priya Giridhara MD. Xanthomas in Familial Hypercholesterolemia. 2017;2017.
44. Schou A, Toftedal P, Christensen A. Familial hypercholesterolemia misinterpreted as juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol* [Internet]. 2011;9(S1):P228. Disponible en: <http://www.ped-rheum.com/content/9/S1/P228>
45. Garrett EL, Chodhari R. Integrated lipid clinics for adults and children with familial hypercholesterolaemia. 2018;75(January):2018.
46. Pedro-Botet JC, Millan Nunez-Cortes J, Lahera Julia V, Vázquez Carrera M. El problema de la hipercolesterolemia familiar. *Clin e Investig en Arterioscler.* 2013;25(4):174.
47. Sarraju A, Knowles JW. Genetic Testing and Risk Scores: Impact on Familial Hypercholesterolemia. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6(January):1–7.
48. Polychronopoulos G, Tziomalos K. Novel treatment options for the management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2017;10(12):1375–81.

49. Pt K, Se H. Statins for children with familial hypercholesterolemia (Review). 2017;
50. Pintó X, García Gómez MC. Nuevos tratamientos para la hipercolesterolemia. *Med Clin (Barc)* [Internet]. febrero de 2016;146(4):172–7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775315000767>
51. Watts GF, Pang J. The evolving model of care for familial hypercholesterolaemia. 2017;2–5.
52. Menzin J, Aggarwal J, Boatman B, Yu J, Stern K, Harrison DJ, et al. Ezetimibe Use and LDL-C Achievement: A Retrospective Database Analysis of Patients with Clinical. 2017;23(12).
53. Cheng W, Goldman DP, Angeles L. PCSK9 Inhibitors Show Value for Patients and the U.S. Healthcare System. 2018;20(10):1270–8.
54. Hess GP, Valsdottir L, Yeh RW. PCSK9 Inhibitor Therapy: Payer Approvals and Rejections, and Patient Characteristics for Successful Prescribing. 2018;136(23):2210–9.
55. Catapano AL, Pirillo A, Norata GD. Anti-PCSK9 antibodies for the treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia : patient selection and perspectives. 2017;343–51.
56. Hess GP, Natarajan P, Faridi KF, Fievitz A, Valsdottir L, Yeh RW. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibitor Therapy: Payer Approvals and Rejections, and Patient Characteristics for Successful Prescribing. *Circulation*. 2017;136(23):2210–9.
57. Tanaka A, Inaguma D, Watanabe Y, Ito E, Kamegai N, Shimogushi H. Two Patients with Familial Hypercholesterolemia Who Were Successfully Weaned from Low-density Lipoprotein Apheresis after Treatment with Evolocumab. 2016;(10):1531–5.
58. Raina R, Young C, Krishnappa V, Chanchlani R. Role of lipoprotein apheresis in cardiovascular disease risk reduction. *Blood Purif*. 2019;47(4):301–16.
59. Pottle A, Thompson G, Barbir M, Bayly G, Cegla J, Cramb R, et al. Lipoprotein apheresis efficacy, challenges and outcomes: A descriptive analysis from the UK Lipoprotein Apheresis Registry, 1989–2017. *Atherosclerosis* [Internet]. 2019;290:44–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.09.006>
60. Blaha V, Blaha M, Solichová D, Krčmová LK, Lánská M, Havel E, et al. Antioxidant defense system in familial hypercholesterolemia and the effects of lipoprotein apheresis. *Atheroscler Suppl* [Internet]. 2017;30:159–65. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerissup.2017.05.002>

61. Miranda DN. Inhibidores de la PCSK9: una nueva era en el control del riesgo cardiovascular. *Rev Uruguaya Cardiol.* 2019;34(3).
62. Handelsman Y, Lepor NE. PCSK9 inhibitors in lipid management of patients with diabetes mellitus and high cardiovascular risk: A review. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(13).
63. Abifadel M, Guerin M, Benjannet S, Rabès JP, Le Goff W, Julia Z, et al. Identification and characterization of new gain-of-function mutations in the PCSK9 gene responsible for autosomal dominant hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* agosto de 2012;223(2):394–400.
64. Pokhrel B, Yuet WC, Levine SN. PCSK9 Inhibitors [Internet]. *StatPearls.* 2021. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28846236>
65. Lüscher TF. The next chapter of prevention: From LDL-cholesterol to lipoprotein(a) and triglycerides. *Eur Heart J.* 2020;41(24):2227–30.
66. Lanktree MB, Thériault S, Walsh M, Paré G. HDL Cholesterol, LDL Cholesterol, and Triglycerides as Risk Factors for CKD: A Mendelian Randomization Study. *Am J Kidney Dis.* 2018;71(2):166–72.
67. Azevedo CHM, Wajngarten M, lo Prete AC, Diament J, Maranhão RC. Simultaneous transfer of cholesterol, triglycerides, and phospholipids to high-density lipoprotein in aging subjects with or without coronary artery disease. *Clinics.* 2011;66(9):1543–8.
68. Andreadou I, Tsoumani M, Vilahur G, Ikonomidis I, Badimon L, Varga Z V., et al. PCSK9 in Myocardial Infarction and Cardioprotection: Importance of Lipid Metabolism and Inflammation. *Front Physiol.* 2020;11(November):1–11.

ANEXOS



ANEXO 1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA UAEMex

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: DESCRIPCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PCSK9 EN PACIENTES DEL CMLALM CON ALTA SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Toluca, Estado de México, México a ____ de _____ del 2018

Yo, _____ he sido informado(a) y he leído sobre los propósitos y objetivos de este estudio, que se me realizarán para llevar a cabo esta investigación y siendo enterado(a) de los posibles riesgos que se puedan generar además de los beneficios y criterios de normatividad que requieren este estudio para la protección de mi información y la investigación en seres humanos, aceptó ser partícipe de este estudio.

Firma del participante:	Fecha:
Testigo 1	Fecha:
Testigo 2	Fecha:

NOMBRE DEL INVESTIGADOR _____

Ciprés Grupo Médico en Calle Felipe Villanueva N* 1014, Morelos Segunda Sección, 50120 Toluca de Lerdo México.



ANEXO 2
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA UAEMex
CONSENTIMIENTO INFORMADO

**DESCRIPCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PCSK9 EN PACIENTES DEL CMLALM
CON ALTA SOSPECHA DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR**

Nombre del paciente: _____

Se le hace una cordial invitación a participar en este estudio de investigación informándole acerca de los propósitos de este, beneficios y riesgos a considerar, para esto debe comprender cada uno de los puntos mencionados a continuación, haciéndole la invitación a comentar cada una de sus dudas en caso de aceptar participar en el proyecto.

En caso de aceptar se le solicita realizar su firma con la fecha en el formato de consentimiento informado en el que usted acepta los términos y condiciones de este estudio.

JUSTIFICACIÓN

Investigadores de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), estamos realizando un estudio sobre una enfermedad que predispone al depósito de placas de colesterol en sus venas y arterias. Su aporte sería de gran ayuda para futuros pacientes, ya que con base en estos datos se podrían realizar nuevas recomendaciones al estilo de vida, hábitos alimenticios y deportivos para evitar se presenten complicaciones como claudicación o infarto al corazón.

ACLARACIONES

Dicha participación consiste en:

- El consentimiento para que el estudiante realice una historia clínica y una encuesta anónima.

- Su aprobación para que el laboratorio del CMLALM nos proporcione una fracción de sangre tomada de una de sus muestras en resguardo para seguimiento.
- Su aceptación para que a dicha muestra de sangre se le realicen las determinaciones de lípidos y una muestra para un análisis genético.

Una vez realizadas las mediciones, las fracciones serán desechadas.

En caso de que acepte, la información que se nos proporcione se utilizará de forma confidencial y para propósitos exclusivos de esta investigación científica. Bajo ninguna circunstancia podrá esta información ser objeto de transacción comercial o similar.

Por su seguridad, las muestras serán codificadas de tal forma que nadie podrá saber a quién le pertenecen, únicamente los investigadores tendrán acceso a dicha información

La participación del estudiante es voluntaria y el tratamiento o atención que reciba en el CMLALM no se verá afectado si deciden no participar en este estudio.

Además, están en libertad de retirarse cuando: lo considere conveniente, si no está de acuerdo con el estudio o si tiene algún impedimento social, cultural o religioso.

El entrar a participar en esta investigación no se genera un beneficio económico, para el paciente, para el investigador o para el médico tratante.

Los resultados serán entregados al médico tratante.

Los resultados del estudio se darán a conocer una vez finalizado el proceso de la investigación, mediante la entrega de un trabajo escrito en la institución sede.

Pueden realizar las preguntas que consideren pertinentes en cualquier momento del estudio.

Este consentimiento informado ha pasado por revisión y aprobación del comité de Ética e Investigación del CMLALM.

ANEXO 3

ÍTEM	SEXO: FEMENINO___ MASCULINO___ EDAD _____	
1.	Tabla 1 Criterios de sospecha clínica de hipercolesterolemia familiar	
2.	1. Individuo con cLDL > 220mg/dL y al menos uno de los siguientes criterios;	
3.	a) Familiar < 18 años con cLDL > 150 mg/ dl.	
4.	b) Familiar > de 18 años con cLDL > 190 mg/dl	
5.	c) Presencia de enfermedad coronaria prematura en el caso índice y/o familiar de primer grado	
6.	d) Presencia de xantomas en el caso índice y/o familiar de primer grado	
7.	2. Si no se dispone de datos familiares se debe sospechar una hipercolesterolemia familiar en personas con cLDL > 300mg/dL.	
8.	Tabla 2. Criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar	
9.	Historia familiar	
10.	Familiar de primer grado con enfermedad coronaria prematura (hombres < 55 años y mujeres < 60 años)	1
11.	y/o	
12.	Familiar de primer grado con niveles de cLDL > 210mg/dL	2
13.	y/o	
14.	Familiar < 18 años con LDL > O = 150mg/dl	
15.	Antecedentes personales	
16.	Paciente con enfermedad coronaria prematura (hombres < 55 años y mujeres < 60 años)	2
17.	Paciente con enfermedad cerebrovascular o arterial periférica prematura (hombres < 55 años y mujeres < 60 años)	1
18.	Examen físico	
19.	Xantomas tendinosos	6
20.	Arco corneal < 45 años	4
21.	Análisis de laboratorio.	
22.	c LDL > O = 330 mg/dL	8
23.	c LDL 250 - 329 mg/dL	5
24.	cLDL 190 - 249 mg/dL	3
25.	cLDL 155 - 189 mg/dL	1
26.	Análisis genético	
27.	Mutación funcional del gen del <i>RLDL</i> , <i>APOB</i> , <i>PCSK9</i>	8
28.	Diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar:	
	Certeza: > o = 8 puntos, Probable: 6 a 7 puntos, Posible: 3 a 5 puntos e improbable < 3	
	De: WHO publication No. WHO7HGN/FH/CONS/99.2	

ANEXO 4

Tabla 3. Primers de genes relacionados con Hipercolesterolemia Familiar		
Gen	Forward primer	Reverse primer
Opción 1: <i>PSCK-9</i>	ACCATACCGCCATGCATCAG	TTGCCTTGCTGGTCSTGCTA
Opción 2: <i>PSCK-9</i>	GTTTGTGCCACCACCATACC	GGCAAGTGGATCCAAGACCA
Opción 3: <i>PSCK-9</i>	CACCATACCGCCATGCATCA	ACCTAGCAGCCCTCAGTGTA

Tabla 3. **Primers de genes relacionados con Hipercolesterolemia Familiar.** Consulta para diseño de primers www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/?term=psck9; generación de primers <https://primer3.ut.ee/>