



## REVISIÓN

# Secuenciación de Siguiete Generación en el Diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar

## *Next Generation Sequencing in the Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia*

Maritza Jenny Hernández-Cuevas, Carlos Alberto Matías-Cervantes, Iván  
Antonio García-Montalvo

*Escuela de Medicina, Universidad Anáhuac Oaxaca, Oaxaca, México*

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [ivan.garciam22@anahuac.mx](mailto:ivan.garciam22@anahuac.mx) (Iván Antonio García-Montalvo).

Recibido el 12 de abril de 2019; aceptado el 13 de julio de 2019.

### Como citar este artículo:

Hernández-Cuevas MJ, Matías-Cervantes CA, García-Montalvo IA. Secuenciación de Siguiete Generación en el Diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar. JONNPR. 2019;4(9):910-24. DOI: 10.19230/jonnpr.3072

### How to cite this paper:

Hernández-Cuevas MJ, Matías-Cervantes CA, García-Montalvo IA. Next Generation Sequencing in the Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia. JONNPR. 2019;4(9):910-24. DOI: 10.19230/jonnpr.3072



This work is licensed under a Creative Commons  
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License  
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,  
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

## Resumen

**Objetivo.** Presentar una revisión sistemática de estudios publicados relacionados con el abordaje genético de la Hipercolesterolemia Familiar (HF) y la inclusión de la Secuenciación de Siguiete Generación (NGS) como apoyo para el diagnóstico de la patología.

**Resultados.** La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno que se presenta en la mayoría de los casos por mutaciones en genes que codifican para el receptor de LDL, esta se puede transmitir de forma autosómica dominante o bien autosómica recesiva, la relevancia de su diagnóstico radica en que personas afectas presentan una elevada frecuencia de enfermedad coronaria prematura, reduciéndose de forma importante su expectativa de vida, el diagnóstico genético podría permitir demostrar defectos funcionales en el gen del receptor LDL, constituyendo la confirmación definitiva del diagnóstico, y la inclusión de nuevas tecnologías, como lo es la secuenciación de siguiete generación (NGS) puede dar



pie a conocer nuevas variantes en los genes ya conocidos o bien nuevos genes candidatos que pudiesen participar en el desarrollo de HF.

**Conclusiones.** El potencial clínico que puede obtenerse con el empleo de esta tecnología va dirigido hacia un diagnóstico más eficiente y oportuno para un paciente o su familia, pudiendo servir para prevenir o bien establecer la mejor de las estrategias para el abordaje de la patología, sin embargo aún sigue siendo una tecnología que se considera alta en cuanto al costo lo que dificulta el acceso para la población.

#### Palabras clave

*Hipercolesterolemia familiar, Secuenciación de siguiente generación, genes, hiperlipemias*

#### Abstract

**Objective.** To present a systematic review of published studies related to the genetic approach of Familial Hypercholesterolemia (FH) and the inclusion of Next Generation Sequencing (NGS) as support for the diagnosis of the pathology.

**Results.** Familial hypercholesterolemia (FH) is a disorder that occurs in most cases due to mutations in genes that code for the LDL receptor, this can be transmitted in an autosomal dominant or autosomal recessive manner, the relevance of its diagnosis is that affected people have a high frequency of premature coronary disease, significantly reducing their life expectancy, genetic diagnosis could allow demonstrating functional defects in the LDL receptor gene, constituting the definitive confirmation of the diagnosis, and the inclusion of new technologies, such as next-generation sequencing (NGS) can give rise to new variants in the genes already known or new candidate genes that could participate in the development of FH.

**Conclusions.** The clinical potential that can be obtained with the use of this technology is aimed at a more efficient and timely diagnosis for a patient or his family, which may serve to prevent or establish the best strategies for the approach of the pathology, however, It is still a technology that is considered high in terms of cost, which hinders access for the population.

#### Keywords

*Familial hypercholesterolemia, Sequencing of next generation, genes, hyperlipemia*

## Introducción

Las dislipidemias son consideradas enfermedades asintomáticas detectadas por concentraciones sanguíneas anormales de colesterol, triglicéridos y/o colesterol-HDL, su aterogenicidad se debe a dos mecanismos: primero, al acúmulo en el plasma de partículas que tienen la capacidad de alterar la función del endotelio y depositarse en las placas de ateroma; y segundo, a una concentración insuficiente de partículas que protegen contra el desarrollo de



aterosclerosis<sup>(1-3)</sup>, siendo su prevalencia es mayor en sujetos con diabetes, hipertensión arterial o sobrepeso<sup>(4)</sup>. Las hiperlipemias son uno de los principales factores en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular y pueden ser el resultado de un defecto genético de la persona, la expresión secundaria de un proceso primario o consecuencia de factores exógenos (alimenticios, culturales, socio-económicos, etc.) que conducen a la elevación de los niveles de lípidos plasmáticos. Si bien la hipercolesterolemia poligénica es la hiperlipemia más común, suponiendo el 80% de las hipercolesterolemias, siendo la hipercolesterolemia familiar (HF) una de ellas. La HF es una enfermedad hereditaria de transmisión autosómica dominante (OMIM no. 143890), conocida también como hiperbetalipoproteinemia, debido al aumento en la circulación de la fracción beta lipoproteína o LDL, la forma homocigota de la enfermedad es muy rara (prevalencia de 1/1.000.000) y los individuos afectados carecen de receptores de LDL, al tener mutado ambos alelos del gen, presentando concentraciones muy elevadas de colesterol plasmático total (entre 700 y 1000 mg/dl), por ello desarrollan aterosclerosis en una etapa temprana de la vida y a pesar de la instauración de tratamientos agresivos, los niveles elevados de LDL se modifican muy poco, falleciendo generalmente por enfermedad cardíaca antes de los 30 años de edad. El trastorno heterocigoto es mucho más frecuente y afecta aproximadamente a uno de cada 500 individuos. En ellos, el número de receptores de LDL se reduce hasta un 50%, siendo suficientes los restantes para que se una la misma cantidad de LDL a la célula, pero a costa de elevarse de 2 a 3 veces la concentración extracelular de LDL. Esto hace que estos pacientes presenten un riesgo elevado de cardiopatía isquémica precoz, entre los 30 y los 50 años, aunque muchos de ellos tienen una vida de duración normal<sup>(5)</sup>. El defecto básico de la hipercolesterolemia familiar radica en el receptor de LDL (LDLr), el cual es codificado por un gen de aproximadamente 45 kilobases (Kb), localizado en el brazo corto del cromosoma 19 (entre las regiones p13.1-p13.3) y consta de 18 exones y 17 intrones<sup>(6)</sup>, para enero de 2006 se habían descrito 861 mutaciones que afectan al gen que codifica a este receptor<sup>(7-9)</sup>. Entre ellas destacan deleciones de distinto tamaño, originando algunas una proteína truncada, en tanto que las que afectan al promotor del gen impiden que éste se transcriba, no produciéndose por tanto la síntesis de la proteína correspondiente, otras mutaciones incluyen sustituciones, y las que afectan al dominio citoplasmático del receptor, impiden su internalización. Las mutaciones del gen del *LDLr* causantes de HF se suelen dividir en 5 clases<sup>(6)</sup>: Mutación tipo 1: es la más frecuente, para ella los alelos son nulos, impidiéndose la síntesis de cualquier receptor. Se pueden producir alelos nulos por deleciones que eliminan el promotor del *LDLr*, 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; Mutación tipo 2: los alelos son defectuosos para el transporte, ya que las proteínas codificadas del receptor no adoptan una estructura tridimensional adecuada, quedando bloqueadas completa o parcialmente en el proceso de transporte entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi; Mutación tipo 3: los alelos son defectuosos para la unión, codificando las proteínas del receptor y siendo transportadas a la superficie celular de forma normal, pero careciendo de la capacidad de unión a las partículas LDL; Mutación tipo 4: los alelos son defectuosos para la internalización, codificando proteínas que se transportan a la superficie celular y se unen a la LDL normalmente, pero siendo incapaces de agruparse en vesículas recubiertas de clatrina y por tanto, no internalizando las LDL unidas; Mutación tipo 5: 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. Si la síntesis del receptor LDL, su transporte, su unión, su internalización o su reciclado no funcionan correctamente, se producirá una acumulación de colesterol en sangre, facilitándose así la formación de placas ateromatosas, xantalesmas, xantomas tendinosos y arcos corneales.

## Genes relacionados a la hipercolesterolemia familiar (HF)

En la HF no solo preocupan las mutaciones presentadas en el gen *LDLr*, recientemente se ha observado que otros genes (*APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1/ARH* y *APOE*) tienen participación directa en el desarrollo de la patología (ver Tabla 1). A continuación describiremos brevemente cada uno de ellos.



**Tabla 1.** Genes implicados en Hipercolesterolemia Familiar (HF).

Gen	Locus (ubicación)	Fenotipo
<b><i>LDLR</i></b>	<b>19p13.1-13.3</b>	<b>Acumulación de colesterol en sangre y formación de placas ateroscleróticas.</b>
<b><i>APOB</i></b>	<b>2p24-23</b>	<b>Aumento de colesterol en sangre.</b>
<b><i>PCSK9</i></b>	<b>1p32</b>	<b>Relacionado con la Hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD) y elevación de los niveles de colesterol en sangre.</b>
<b><i>LDLRAP1/ARH</i></b>	<b>1p36-35</b>	<b>Relacionado con la Hipercolesterolemia autosómica recesiva (HAR) y acumulación del receptor de LDL en membranas celulares.</b>
<b><i>APOE</i></b>	<b>19q13.32</b>	<b>Relacionado con Hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD) y con la deposición excesiva de colesterol en tejidos.</b>

### Gen *APOB*

La apolipoproteína B-100 (ApoB-100) es un componente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), está ubicado en 2p24-p23, el gen está conformado por 29 exones que codifica dos isoformas principales, ApoB-48 y ApoB-100, cuando se encuentra dañada la apolipoproteína B, el colesterol-LDL no puede unirse a su ligando ante ello permanece elevada en la circulación<sup>(10)</sup>, existe un número limitado pero importante de mutaciones en la *ApoB-100* que puede causar el fenotipo de HF, la variación R3527Q es la más importante<sup>(11)</sup>, de estas



mutaciones solo para Europa representa el 2.5% de la HF<sup>(12)</sup>, estas variantes han sido funcionalmente caracterizadas demostrando así la relación dinámica presente entre el LDL-LDLR<sup>(13)</sup>.

### Gen *PCSK9*

El gen de la protoproteína convertasa subtilina/kexina tipo 9 (*PCSK9*), cuyo peso molecular es de 3.6 Kb se encuentra ubicado en el cromosoma 1p32 surgió como un tercer *locus* relacionado con la Hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD), con el descubrimiento en 2003 de dos enfermedades debido a mutaciones en dicho gen para población francesa<sup>(14)</sup>. Este gen tiene un peso molecular de 25 Kb, la proteína esta codificada por 12 exones y está conformada por 695 aminoácidos, se encuentra relacionado con el Factor de Crecimiento Epidérmico de tipo A (EGF-A) el cual incide en la disminución del LDLr, los niveles reducidos del LDLr pueden conducir a HF. Durante los últimos años, *PCSK9* ha sido estudiado en muchas poblaciones con HF y actualmente se conocen alrededor de 30 variantes genéticas con características de ganancia de función para este gen (aumento de transcripción, autocatalisis alterada o mejora del receptor), en su mayoría son mutaciones de sentido equivocado ubicándose en tres dominios de *PCSK9*<sup>(15,16)</sup>. Estas variaciones afectan a *PCSK9* de diferentes maneras, ejemplo de ello es una disminución del LDLr superficial que conlleva a un fenotipo grave de HF<sup>(14)</sup> estos cambios afectan de diferentes maneras a las poblaciones. Como causa de la HAD, *PCSK9* es rara en comparación con LDLr y apoB-100; sin embargo, un gran número de polimorfismos de este gen se asocian con niveles elevados de colesterol según reportes de estudios poblacionales<sup>(17)</sup>. Robles et al., 2006 realizaron un estudio colaborativo de cinco centros de investigación reuniendo 46 probandos y 68 casos detectados entre los familiares de los casos identificándose 17 mutaciones en el receptor LDL, una apolipoproteína B y dos casos relacionados con variaciones en *PCSK9*, estudios recientes se han enfocado en inhibir a *PCSK9*, esto como parte del tratamiento de las dislipidemias<sup>(18-20)</sup>.

### Gen *LDLRAP1/ARH*

El gen receptor de LDL adaptado a la proteína 1 (*LDLRAP1*) es responsable de causar la Hipercolesterolemia de tipo autosómica recesiva (HAR) de ahí sus siglas *LDLRAP1/ARH*<sup>(21)</sup>. Este gen se encuentra ubicado en el cromosoma 1p36-35<sup>(22)</sup>, con un peso de 25 Kb y está conformado por 9 exones que codifican a una proteína de 308 aa. En la HAR, la internalización del complejo ligando-receptor no se lleva a cabo con ello todos los receptores de LDL son acumulados en la membrana de la célula. A pesar de lo antes mencionado es mucho menos



frecuente encontrar casos de HAR en comparación con HAD, el número de casos reportados hasta hoy, no rebasa los 100<sup>(23)</sup>, estos casos se han encontrado en poblaciones libanesas, mexicanas, japonesas, indias, inglesas, turcas, americanas y sirias<sup>(24)</sup>.

### **Gen APOE**

La apolipoproteína E (ApoE) es un componente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), está ubicado en 19q13.32, el gen está conformado por 4 exones, se ha encontrado que daños en la apolipoproteína B puede estar asociado a hiperlipoproteinemia tipo 3, enfermedad de alzheimer, glomerulopatía lipoproteica e HF, ocasionando en esta última una deposición excesiva de colesterol en los tejidos, ya que media la unión, internalización y catabolismo de las lipoproteínas, actuando como un ligando del receptor de LDL en tejidos hepáticos, siendo la mutación más conocida Leu167del<sup>(25)</sup>.

## **Secuenciación de Siguiete Generación (NGS)**

Las tecnologías de secuenciación de siguiete generación (NGS) son adecuadas para llevar a cabo una gran cantidad de diseños experimentales, sin embargo son dependientes del número de personas para el estudio, el número de genes para ser analizada y la elección de la plataforma para secuenciación. En estudios donde los cohortes son homogéneos y pequeños la NGS funciona de manera bastante adecuada<sup>(26)</sup>, otro factor a tomar en consideración es el número de genes a analizar, en patologías multifactoriales causadas por variaciones en más de un gen, el estudio simultáneo de un gran número de genes hace posible comprender todas las mutaciones presentes en un paciente y analizar la posible correlación entre estas variantes y la patología. Para un diagnóstico molecular, consideramos útil centrarse en un grupo limitado y seleccionado de genes asociados con la patología en estudio<sup>(27)</sup>, en los últimos años, varias plataformas de NGS se han venido desarrollando; las principales características de estas se presentan en la Tabla 2. La secuenciación de genoma completo (WGS), como su nombre lo indica es la secuenciación completa que involucra no solo regiones codificantes sino también las no codificantes además de regiones consideras como no importantes por su ubicación, aunque una de las desventajas que presenta es el hecho de manejar una gran cantidad de datos<sup>(28)</sup>, mientras que la secuenciación de exoma completo (WES) permite la captura y secuenciación de la porción codificante del genoma humano convirtiéndose así en un apoyo con fines diagnósticos. Constituye además una prueba única y similar para todos los pacientes, que no necesitaría ser actualizada cada vez que se descubriera un nuevo gen como causa de una enfermedad concreta, esto resulta benéfico para tratar enfermedades raras ya que no se



requiere un número mínimo de pacientes con una determinada enfermedad para reducir los costes de elaborar un ensayo específico para esa enfermedad. Además, permite identificar las causas genéticas de enfermedades o discapacidades en un individuo, debe tenerse en consideración que los diagnósticos clínicos no son siempre correctos y que los fenotipos pueden variar sustancialmente, con lo que la información generada en un único experimento debería de ser revisada. La secuenciación de exoma permite una aproximación sin sesgos al diagnóstico genético que podría revelar muchos casos en los que el fenotipo no se corresponde al fenotipo clínico estándar asociado a la enfermedad<sup>(29,30)</sup>. Técnicamente se realiza a partir de una librería construida por fragmentación del genoma completo a estudiar, posteriormente se capturan los fragmentos del genoma que corresponden a los exones mediante un arreglo con sondas específicas para dichas regiones. Una vez capturados todos los exones se procede a secuenciarlos; finalmente, por una serie de procedimientos bioinformáticos, estas secuencias se vuelven a mapear sobre el mapa del genoma de referencia y se pueden apreciar los cambios (mutaciones) existentes. La ventaja que ofrece este abordaje es que permite capturar mucha más información, pues no sólo identifica los Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) asociados a la enfermedad, sino también las propias mutaciones causantes o directamente asociadas a ella, cuando se trata de buscar mutaciones en enfermedades monogénicas, se efectúa un complejo mapeo de las secuencias de cada uno de los individuos, identificando las variaciones en la población analizada y, finalmente, se emplean controles (secuencias de individuos sanos) para filtrar esas variaciones. De esa manera, se identifican entre todas las mutaciones encontradas, aquellas que son compatibles con la enfermedad, por ello se considera una herramienta muy poderosa para descubrir las mutaciones que originan, entre otros, trastornos del desarrollo, enfermedades neurológicas, desórdenes metabólicos congénitos, cegueras hereditarias, alteraciones en la hematopoyesis, o síndromes familiares poco frecuentes de predisposición al cáncer<sup>(30)</sup>. Para el secuenciación de RNA (RNA-Seq) se busca la codificación hacia proteína y aquellas no codificantes, ello en un tipo de célula o tejido particular y en una etapa específica del desarrollo o bien con respecto a la edad. Hasta ahora el RNA-Seq se está convirtiendo en una herramienta muy útil debido a su capacidad para estudiar el transcriptoma en un alto rendimiento, de manera cuantitativa y a bajo costo<sup>(31)</sup>.





**Tabla 2.** Plataformas empleadas en la Secuenciación de Siguiete Generación (NGS).

PLATAFORMA	MÉTODO EMPLEADO	LONGITUD DE LECTURA	*ADQUISICIÓN (Q)	LECTURAS POR CORRIDA	COSTO POR 1 MILLÓN DE BASES (**\$)	VENTAJAS	DESVENTAJAS
454 GS FLX (Roche)	Pirosecuenciación	700 pb	Q > 30	1 millón	\$ 10	Es rápido y buena capacidad de lectura	Corridas caras, errores por homopolímeros y bajo rendimiento
HiSeq 2000 (Illumina)	Secuenciación por síntesis	50-250 pb	20 < Q > 30	Más de 3 millones	\$ 0.05-0-15	Alto rendimiento	Es caro, requiere altas concentraciones de DNA y lecturas cortas
SOLiDv4 (Applied Biosystems)	Secuenciación por ligación	35-50 pb	Q > 30	1.2 -1.4 billones	\$ 0.13	Bajo costo por base y buena adquisición	Método lento, errores por secuencias palindrómicas y lecturas cortas
Ion torrent (Life Technologies)	Semiconductor de iones	400 pb	Q = 20	Más de 80 millones	\$ 1	Es rápido y equipo económico	Errores por homopolímeros

\*Por arriba de 20 es adecuado; \*\* Dolares

La NGS genera un enorme volumen de datos, lo que representa un reto mayor el análisis y la interpretación de los resultados que la obtención de la propia secuencia. La estrategia para examinar los resultados de la secuenciación genómica o exómica completa a fin de encontrar la mutación causante está todavía en un estadio primitivo, debido a su aparición tan reciente y a la escasa experiencia en el tema. Debido al enorme tamaño del genoma humano, 3.000 millones de pares de bases, y a la variabilidad de éste, el número de variantes que vamos a encontrar en un estudio genómico va a ser muy alto. El resultado obtenido en la NGS se compara con un genoma de referencia, y de esta comparación surgen las posibles variantes genéticas, entre las que estarán las que causan la enfermedad<sup>(32)</sup>. Para ello es necesario hacer uso de páginas que contienen a dichos genomas de referencia, por ejemplo: 1000 genomes (<http://www.1000genomes.org>), ExAC (<http://exac.broadinstitute.org>) y Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) por mencionar algunos. Después se consideran aquellos genes de interés, bien por coincidencia en otros familiares o bien por estar presentes en una región seleccionada por análisis de ligamiento, y finalmente se determina su causalidad según su función y nivel de conservación<sup>(33)</sup>. Las enfermedades hereditarias son de baja prevalencia y existen muy pocos individuos que compartan una misma mutación. En algunos casos, las mutaciones sólo existen en una misma familia afectada (mutaciones



privadas). Por lo tanto, uno de los métodos para valorar si estas variantes son causantes de enfermedad es examinar si no existen como descritas en las bases de datos de polimorfismo más usuales<sup>(32)</sup>. El primer filtro que la mayoría de los investigadores utiliza para atribuir causalidad a una mutación es si esa variante tiene una repercusión funcional, es decir, si está en una región que codifica (mutaciones *missense*, *nonsense*, *Indels* y mutaciones en el aparato de *splicing*) o en otras regiones no codificantes del RNA mensajero. La principal razón es que estas variantes suelen tener un efecto mayor que aquellas mutaciones en regiones no codificantes, y también porque es mucho más difícil conocer el efecto de mutaciones no codificantes y mutaciones sinónimas. En algunas ocasiones, cuando existan varias mutaciones codificantes, puede ser difícil conocer cual de todas ellas es la responsable del cuadro. En este caso es posible considerar el potencial efecto de la mutación en la estructura de la proteína y en su función. Pueden ayudar a valorar este efecto las puntuaciones de conservación, para lo cual existen herramientas de programas como:

GERP (<http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/gerp/>)

SIFT (<http://sift.jcvi.org>)

PolyPhen (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)

MutPred (<http://mutpred.mutdb.org>)

CDPred (<http://research.nhgri.nih.gov/software/CDPred/>)

Mutation Taster-PhyloP ([http://www.mutationtaster.org/info/PhyloP\\_PhastCons\\_Test.html](http://www.mutationtaster.org/info/PhyloP_PhastCons_Test.html))

que generalmente asignan una mayor puntuación a la mutación en función de lo anteriormente señalado<sup>(32,34,35)</sup>. Para patologías poligénicas o multifactoriales en el que más de un gen están involucrados, como cardiomiopatías, el análisis mediante NGS podría producir un aumento significativo en el rendimiento del diagnóstico. Lo cierto es que, el diagnóstico molecular está jugando un papel cada vez más importante en el diagnóstico y clasificación de las enfermedades, así como en la personalización de las estrategias de tratamiento para los pacientes. Las tecnologías NGS han ido en desarrollo en un lapso de tiempo muy corto, transformando nuestra capacidad para comprender las bases genéticas de las enfermedades humanas. Un aspecto que pudiera ser considerado problemático de una prueba diagnóstica de NGS es la posibilidad de llegar a detectar hallazgos no solicitados o bien secundarios. El tema de la privacidad suscita preocupación entre el público, y esto puede inhibir el consentimiento de las personas a participar en los estudios genéticos, los aspectos éticos pueden eclipsar el retorno de información para los participantes del estudio, por ello los informes sobre los resultados de NGS deben seguir los principios generales de la presentación de informes genética clínica<sup>(36)</sup> y estar de acuerdo con las normas de diagnóstico internacionales (ISO



15189), y con las pautas profesionales, así como los acuerdos emitidos por el país en el que estos sean realizados. Es aconsejable aclarar, previamente a la realización del estudio, si se va a analizar sólo parte del estudio de secuenciación, por ejemplo, los genes para los cuales se indicó el estudio, o si, además, se examinarán aquellos genes que tienen especial repercusión, como pueden ser genes tumorales, y si este examen se reducirá sólo a aquellos genes sobre los cuales hay una posible intervención o incluirá genes de enfermedades sin capacidad de prevención o tratamiento<sup>(37)</sup>. En el caso de los menores de edad, se contempla la posibilidad de evitar el acceso a resultados de enfermedades de inicio en la edad adulta, pudiendo demorarse la comunicación de estos resultados hasta que el sujeto alcance la mayoría de edad. Además, hay que plantearse la posibilidad de que los familiares del paciente tengan que ser informados de los resultados genéticos encontrados en el estudio, y de que el riesgo de algunas enfermedades puede cambiar a medida de que se tenga nueva información sobre la función o causalidad de algunos genes encontrados. Algunos estudios tal como el de Al-Allaf *et al.* (2015), presentaron a la NGS como una herramienta útil para identificar nuevas variantes genéticas en los genes causantes de HF de tipo autosómica dominante, siendo la más importante en el gen *LDLR* (p.Gly676fs) presente en el exón 14 para la población Saudí<sup>(38)</sup>; Kim *et al.* (2018), encontraron nuevas mutaciones en los genes *LDLR*, *APOB* y *PCSK9*, siendo las más importantes p.Leu680Val y p.Thr734Phe para poblaciones de Corea del Sur<sup>(39)</sup>.

## Consideraciones finales

Como consideraciones finales podemos mencionar que, la Secuenciación de Siguiete Generación (NGS) ofrece nuevas oportunidades de estudios y de diagnóstico sobre enfermedades monogénicas o bien multifactoriales, tal como la HF, donde la realización de estudios genéticos en casos aislados, familias y grupos numerosos de pacientes que padezcan HF ha permitido el reconocimiento de diversos genes que son esenciales para el desarrollo de esta patología, hoy en día no existen criterios clínicos específicos que tengan un valor predictivo absoluto para el diagnóstico de HF, el diagnóstico genético permitiría demostrar defectos funcionales en el gen del receptor LDL, constituyendo la confirmación definitiva del diagnóstico, siendo esta información de gran importancia no sólo para una mejor comprensión de esta patología, sino para un adecuado asesoramiento genético a las familias afectadas, desafortunadamente el costo del equipo y del material aun sigue siendo bastante elevado, una reducción en dichos costos generaría que este procedimiento de diagnóstico pueda ser de fácil acceso a la población que lo requiera.



## Referencias

1. Villarreal-Molina MT, Aguilar-Salinas CA, Rodríguez-Cruz M, et al. The ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant affects HDL cholesterol levels and BMI in the Mexican population: association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes*. 2007, 56: 1881-7.
2. Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, et al. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset Type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes*. 2008, 57: 509-13.
3. Rivas-Gomez B, Almeda-Valdés, Tussíé-Luna MT, Aguilar-Salinas CA. Dyslipidemia in Mexico, a call for action. *Revista de Investigación Clínica*. 2018; 70: 211-6.
4. Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Rull J, et al. Prevalence of dyslipidemias in the Mexican national health and nutrition survey 2006. *Salud Publica Mex*. 2010; 52 Suppl 1: S44-53.
5. Matías-Pérez D, Pérez-Campos E, García-Montalvo IA. Una visión genética de la hipercolesterolemia familiar. *Nutr Hosp*. 2015, 32(6): 2421-6.
6. WHO. Human Genetic Program. Familial Hypercholesterolemia, report of a second WHO Consultation. WHO publication n° WHO/HGN/FH/CONS/99.2; 1999.
7. Pocovi M, Castillo S. Genética de las hipercolesterolemias familiares. Métodos de diagnóstico. *Cardiovascular Risk Factors*. 2002, 11: 144-156.
8. University College Of London. The low density lipoprotein receptor (LDLR) gene in familial hypercholesterolemia. Disponible en: <http://www.ucl.ac.uk/fh/>.
9. Graham CA, McIlhatton BP, Kirk CW, Beattie ED, Lyttle K, Hart P, et al. Genetic screening protocol for familial hypercholesterolemia which includes splicing defects gives an improved mutation detection rate. *Atherosclerosis*. 2005, 182(2): 331-40.
10. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, Wiklund O, Hegele RA, Raal FJ, Defesche JC. et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: Guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. *Eur. Heart J*. 2013; 34: 3478-90
11. Alves AC, Etxebarria A, Soutar AK, Martin C, Bourbon M. Novel functional APOB mutations outside LDL-binding region causing familial hypercholesterolaemia. *Hum Mol Genet*. 2014; 23: 1817-28.
12. Myant NB: Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 1993, 104: 1-18.



13. Fernández-Higuero JA, Benito-Vicente A, Etxebarria A, Milicua JCG, Ostolaza H, Martin C. Functional characterization and classification of frequent low-density lipoprotein receptor variants. *Hum Mutat.* 2015; 36: 129-41.
14. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, et al: Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature genetics.* 2003, 34: 154-6.
15. Russell DW, Schneider WJ, Yamamoto T, et al: Domain map of the LDL receptor: sequence homology with the epidermal growth factor precursor. *Cell.* 1984, 37: 577-85.
16. Dron JS, Hegele RA. Complexity of mechanisms among human proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 variants. *Curr Opin Lipidol.* 2017; 28: 161-9.
17. Abifadel M, Rabes JP, Devillers M, et al: Mutations and Polymorphisms in the Proprotein Convertase Subtilin Kexin 9 (PCSK9) Gene in Cholesterol Metabolism and Disease. *Human Mutation.* 2009, 30: 520-9.
18. Seidah NG: PCSK9 as a therapeutic target for dyslipidemia. *Expert opinion on therapeutic targets.* 2009, 13: 19-28.
19. Marian AJ: PCSK9 as a therapeutic target in atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports.* 2010, 12:151-4.
20. Duff CJ, Hooper NM: PCSK9: an emerging target for treatment of hypercholesterolemia. *Expert opinion on therapeutic targets.* 2011, 5(2): 157-68.
21. Garcia CK, Wilund K, Arca M, et al: Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science.* 2001, 292: 1394-8.
22. Eden ER, Naoumova RP, Burden JJ, et al: Use of homozygosity mapping to identify a region on chromosome 1 bearing a defective gene that causes autosomal recessive homozygous hypercholesterolemia in two unrelated families. *American Journal of Human Genetics.* 2001, 68: 653-60.
23. Soutar AK, Naoumova RP, Traub LM: Genetics, clinical phenotype, and molecular cell biology of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2003, 23: 1963-70.
24. Canizales-Quinteros S, Aguilar-Salinas CA, Huertas-Vasquez A, et al: A novel ARH splice site mutation in a Mexican kindred with autosomal recessive hypercholesterolemia. *Human Genetics.* 2005, 116: 114-20.
25. Harada K, Miyamoto Y, Morisaki H, et al: A novel Thr56Met mutation of the autosomal recessive hypercholesterolemia gene associated with hypercholesterolemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis.* 2010, 17: 131-40.



26. Awan Z, Choi HY, Stitzel N, Ruel I, Bamimore MA, Husa R, et al. APOE p.Leu167del mutation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2013, 231(2): 218-22.
27. Arad M, Penas-Lado M, Monserrat L, Maron BJ, Sherrid M, Ho CY, et al. Gene mutations in apical hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2005, 112; 2805-11.
28. Morini E, Sangiuolo F, Caporossi D, Novelli G and Amati F. Application of Next Generation Sequencing for personalized medicine for sudden cardiac death. *Frontiers in Genetics*. 2015, 6; 1-6.
29. Metzker ML. Sequencing technologies the next generation. *Nat Rev Genet*. 2010, 11; 31-46.
30. Worthey EA, Mayer AN, Syverson GD, Helbling D, Bonacci BB, Decker B. et al. Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease. *Genet Med*. 2011, 13; 255-62.
31. Montenegro G, Powell E, Huang J, Speziani F, Edwards YJ, Beecham G. et al. Exome sequencing allows for rapid gene identification in a Charcot-Marie-Tooth family. *Ann Neurol*. 2011, 69; 464-70.
32. Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet*. 2009, 10; 57-63.
33. Jiménez-Escrig A, Gobernado I, Sánchez-Herranz A. Secuenciación de genoma completo: un salto cualitativo en los estudios genéticos. *Rev Neurol*. 2012, 54; 692-98.
34. Borsani G, Balabio A, Banfi S. A practical guide to orient yourself in the labyrinth of genome databases. *Hum Mol Genet*. 1998, 7; 1641-8.
35. Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS, Parhar RS, Al-Mohanna FA, Meyer BF. et al. Mutation prediction by PolyPhen or functional assay, a detailed comparison of CYP27B1 missense mutations. *Endocrine*. 2011, 40; 14-20.
36. Flanagan SE, Patch AM, Ellard S. Using SIFT and PolyPhen to predict loss-of-function and gain-of-function mutations. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010, 14; 533-7.
37. Claustres M, Kožich V, Dequeker E, Fowler B, Hehir-Kwa JY, Miller K. et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *Eur J Hum Genet*. 2014, 22; 160-70.
38. Kaye J, Boddington P, De Vries J, Hawkins N, Melham K. Ethical implications of the use of whole genome methods in medical research. *Eur J Hum Genet*. 2010, 18; 398-403.
39. Al-Allaf FA, Athar M, Abduljaleel Z, Taher MM, Khan W, Ba-hammam FA, Abalkhail H, Alashwal A. Next generation sequencing to identify novel genetic variants causative of



---

autosomal dominant familial hypercholesterolemia associated with increased risk of coronary heart disease. *Gene*. 2015; 565(1): 76-84.

40. Kim HN, Kweon SS, Shin MH. Detection of Familial Hypercholesterolemia using Next Generation Sequencing in Two Population-Based Cohorts. *CMJ*. 2018, 54(1): 31-5.