



CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS

www.elsevier.es/arterio



ORIGINAL

Identificación de variantes en el gen *LMF1* asociadas con hipertrigliceridemia primaria



Itziar Lamiquiz-Moneo^{a,*}, Ana M. Bea^a, Rocío Mateo-Gallego^a, Lucía Baila-Rueda^a, Ana Cenarro^a, Miguel Pocoví^b, Fernando Civeira^a e Isabel de Castro-Orós^a

^a Unidad Clínica y de Investigación en Lípidos y Arteriosclerosis, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto de Investigación Sanitaria Aragón, Zaragoza, España

^b Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza, Instituto de Investigación Sanitaria Aragón, Zaragoza, España

Recibido el 23 de diciembre de 2014; aceptado el 6 de febrero de 2015

Disponible en Internet el 26 de marzo de 2015

PALABRAS CLAVE

Hipertrigliceridemia;
Factor 1 de
maduración de la
lipasa;
LMF1;
Lipoproteína lipasa;
Mutaciones

Resumen La mayoría de las hipertrigliceridemias (HTG) primarias graves se diagnostican en la edad adulta, y sus bases moleculares no se han dilucidado completamente.

Varios son los genes relacionados con este tipo de HTG, entre ellos el gen *LMF1*, que codifica la proteína Lmf1, la cual participa en la función de la lipoproteína lipasa (LpL). Teniendo en cuenta estos hechos, nuestro objetivo es identificar las variantes génicas comunes y no comunes en el gen *LMF1* en sujetos con HTG primaria.

Hemos secuenciado el promotor, los exones y las regiones exón-intrón del gen *LMF1* en 112 pacientes con HTG primaria grave, definida por triglicéridos por encima de 500 mg/dl, excluyendo causas secundarias. Cinco pacientes (4,46%) fueron portadores de 4 variantes raras en *LMF1* asociadas previamente a HTG. Además, se identificaron 2 variantes comunes con una frecuencia alélica diferente de la que se observa en población general: c.194-28 T>G y c.729+18C>G.

Se llevó a cabo un análisis bioinformático de las variantes encontradas, identificando las variantes p.Arg364Gln, p.Arg451Trp, p.Pro562Arg y p.Leu85Leu como potencialmente dañinas.

Nuestros resultados sugieren que el gen *LMF1* contribuye a la etiología de la HTG primaria grave en un porcentaje significativo de los pacientes, con una combinación de mutaciones de efecto entre moderado y agresivo y polimorfismos clásicamente asociados con esta dislipidemia.

© 2014 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: itziarlamiquiz@gmail.com (I. Lamiquiz-Moneo).

KEYWORDS

Hypertriglyceridemia;
Lipase maturation
factor 1;
LMF1;
Lipoprotein lipase;
Mutations

Identification of variants in *LMF1* gene associated with primary hypertriglyceridemia

Abstract The majority of severe primary hypertriglyceridemia (HTG) are diagnosed in adults, and their molecular bases have not yet been fully defined.

The promoter, coding regions and intron-exon boundaries of *LMF1* were sequenced in 112 patients with severe primary hipertrigliceridemia (defined as TG above 500 mg/dl). Five patients (4.46%) were carriers of four rare variants in the *LMF1* gene associated with HTG, which participate in lipoprotein lipase (LpL) function. Also, we have identified two common variants, c.194-28 T>G and c.729+18C>G that were associated with HTG, with a different allelic frequency to that observed in the general population.

A bioinformatic analysis of all found variants was conducted, defining the following as potentially harmful: p.Arg364Gln, p.Arg451Trp, p.Pro562Arg and p.Leu85Leu.

Our results suggest that *LMF1* mutations are involved in a substantial proportion of cases with severe HTG, putting together the moderate-aggressive effect of rare mutations with polymorphisms classically associated with this disease.

© 2014 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Las hipertrigliceridemias (HTG) son un grupo heterogéneo de enfermedades del metabolismo lipídico que se caracterizan por una elevada concentración, en ayunas, de quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) o sus remanentes. Su importancia clínica viene dada por su elevada frecuencia, y por su asociación con el desarrollo de pancreatitis, enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 y esteatosis hepática¹. La HTG se define con concentraciones de triglicéridos (TG) superiores a 200 mg/dl, y se considera grave cuando estos se encuentran por encima de 500 mg/dl. El fenotipo de la HTG puede cursar con xantomas palmares, esplenomegalia, pancreatitis lipídica y formación de la placa de ateroma que puede conllevar un aumento del evento cardiovascular². La mayor parte de las HTG son consecuencia de factores exógenos como la obesidad, el consumo excesivo de alcohol, una diabetes mal controlada, enfermedad renal crónica o consumo de ciertos fármacos, como estrógenos o ácido retinoico, y se producen por aumento de la síntesis hepática de partículas VLDL, por defectos en el catabolismo periférico de quilomicrones y VLDL, o por defectos en la captación hepática de remanentes^{3,4}.

Las formas primarias más graves de HTG se producen por defectos en el catabolismo periférico de las lipoproteínas ricas en TG. La lipoproteína lipasa (LpL) hidroliza los TG de quilomicrones y VLDL, dependiendo de la apolipoproteína C-II como cofactor esencial para su activación. Recientemente se han descrito 2 proteínas: Lmf1 (factor de maduración de lipasas)⁵ y Gpihbp1, que intervienen en este proceso de hidrólisis, favoreciendo la dimerización de la LpL y su anclaje endotelial, respectivamente^{6,7}.

Se han descrito varias mutaciones en el gen *LMF1* que producen HTG grave por defectos en la actividad LpL, lo que confirma el papel de *LMF1* en la regulación del metabolismo de los TG^{5,8}; sin embargo, se desconoce su frecuencia y su posible implicación en formas menos graves de HTG.

El presente trabajo planteó como objetivo identificar variantes génicas, comunes y no comunes, en el gen *LMF1* en sujetos con HTG grave de causa primaria, analizar bioinformáticamente su efecto, y conocer si existe asociación entre las variantes alélicas de *LMF1* y la HTG.

Material y métodos

Sujetos del estudio

Se seleccionó un grupo de 112 sujetos consecutivos y no relacionados procedentes de la Unidad Clínica y de Investigación en Lípidos y Arteriosclerosis del Hospital Universitario Miguel Servet, con edades comprendidas entre los 21 y los 73 años, afectados de HTG grave, definida por niveles de TG > 500 mg/dl sin tratamiento hipolipemiante en al menos 2 determinaciones diferentes, y al menos una de ellas tras una dieta baja en grasas.

Fueron criterios de exclusión las hipertrigliceridemias secundarias: diabetes descompensada (HbA1c $\geq$ 7,5%), obesidad (índice de masa corporal [IMC] $\geq$ 30 kg/m²), consumo de alcohol superior a 30 g/día, insuficiencia renal crónica (filtrado glomerular por debajo de 30 ml/min), hemocromatosis, hipotiroidismo y tratamiento con fármacos que aumentan los TG, como estrógenos, antirretrovirales, corticoides, andrógenos y ácido retinoico.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado, que fue previamente aprobado por el comité ético local (Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón).

Determinaciones clínicas y bioquímicas

Se elaboró una historia clínica completa que incluyó: edad, antecedentes personales y familiares de hipertrigliceridemia y enfermedad cardiovascular, y sus diferentes factores de riesgo, consumo de tabaco, alcohol, nivel de actividad física y consumo de fármacos. La exploración clínica incluyó:

Tabla 1 Cebadores para la amplificación del gen *LMF1*

Exón	Nombre	Cebador		Producto	
		Secuencia	Temp	Tamaño	Tamaño (pb)
1	Directo	5'-GTGCTCCGGGACTGTGA-3'	62 °C	18	422
	Reverso	5'-CGGAGGAGTCTCGAGGGA-3'		18	
2	Directo	5'-ATTCTGAGCTGCGCCCAT-3'	60 °C	18	466
	Reverso	5'-CAGTGCCTGTGCTGAGTGAC-3'		20	
3	Directo	5'-CAAGCCAAAGTGTTAATACTCGTTTC-3'	55 °C	26	170
	Reverso	5'-GAAGGCTGATGGCAGAGGCTAAGGAA-3'		26	
4	Directo	5'-GGCTGGTGTCTCTCAGTAGCA-3'	60 °C	21	345
	Reverso	5'-AAGCCCTCACAGTTAGAAGAG-3'		21	
5	Directo	5'-CTTCGTGGATGGTTCGTCTT-3'	55 °C	20	269
	Reverso	5'-TGATGCGACAGCTCACCA-3'		18	
6	Directo	5'-GGGGATCCTGTGTGCAGTAG-3'	62 °C	20	354
	Reverso	5'-GGGCAGCCAGAAATAGGG-3'		18	
7	Directo	5'-GCTCCAGGAAGAGAGGCG-3'	62 °C	18	308
	Reverso	5'-CCGACTTTCTCCTGCCCT-3'		18	
8	Directo	5'-AGCAGCAGCTGGGGTCTC-3'	62 °C	18	320
	Reverso	5'-GCACTGTAACCCACCTGAA-3'		20	
9	Directo	5'-ATGGACAGTCGGGGAACC-3'	62 °C	18	330
	Reverso	5'-AAGAGGGTGGGGGTACAG-3'		17	
10	Directo	5'-ATGGACAGTCGGGGAACC-3'	63 °C	18	259
	Reverso	5'-AAGAGGGTGGGGGTAC-3'		17	
11	Directo	5'-CAGCAGCAGGCTGAGGAG-3'	62 °C	18	363
	Reverso	5'-CTCTCCTCTCCACGTCTCTCT-3'		22	

Los cebadores de *LMF1* utilizados se basan en los descritos por Peterfy et al.⁵

presión arterial sistólica y diastólica, peso, talla, perímetro de cintura, presencia de arco corneal, xantomas tendinosos y xantelasmas. Se calculó el IMC y el consumo total de tabaco (número de paquetes de cigarrillos al día $\times$ número de años fumando).

Se extrajo una muestra de sangre tras, al menos, 10 h de ayunas, sin tratamiento hipolipemiente en las últimas 5 semanas, y se determinaron las concentraciones de: colesterol total, colesterol HDL (cHDL), TG, apo A-I, apo B, Lp(a), HbA1c, glucosa y TSH.

Análisis genético

Se aisló el ADN de cada uno de los sujetos del estudio y se realizó la secuenciación del gen *LMF1*. Para ello, se amplificó por PCR el promotor, los 11 exones y las uniones exón-intrón, utilizando como secuencia de referencia NM_022773. Para la amplificación se usaron diferentes programas térmicos para cada exón (tabla 1).

Para cada reacción de amplificación se mezcló la enzima BioTaq DNA polimerasa (Bioline), tampón 10x, MgCl₂, dNTPs, cebadores correspondientes (que se muestran en la tabla 1), el ADN de interés y agua destilada estéril. El resultado de las diferentes amplificaciones se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa 2% en TAE 1X teñido con SYBR® Safe. Para la purificación de los productos de PCR se utilizó ExoSAP-IT® (USB). Se preparó una dilución 1:10 de ExoSAP-IT® (USB) en dH₂O, de la que se añadieron 2 μ l a 5 μ l del producto de PCR, incubando a 37 °C durante 45 min, y a continuación 80 °C durante a 15 min. Se secuenciaron los fragmentos purificados utilizando el producto

comercial BigDye® Terminator v3.1 CycleSequencing Kit (AppliedBiosystems). Se desnaturalizaron los productos de la secuenciación mediante una incubación durante 2 min a 94 °C. La electroforesis capilar se llevó a cabo en el secuenciador automático ABI 3500XL (AppliedBiosystems). El alineamiento y la lectura de las secuencias obtenidas se llevaron a cabo mediante el programa informático VariantReporter™ (AppliedBiosystems).

Análisis bioinformático

Para evaluar la funcionalidad de las variantes génicas identificadas se usaron los siguientes programas informáticos: PolyPhen-2⁹, SIFT¹⁰ y MutationT@ster¹¹.

PolyPhen-2 clasificó las variantes en benignas, posiblemente dañinas y probablemente dañinas, de acuerdo a la conservación de la secuencia y la estructura de la proteína. SIFT clasificó las variantes en función de la homología de secuencia, como tolerante o intolerante. MutationT@ster se utilizó también para variantes que incluían codones de parada y alteraciones intrónicas o complejas, clasificándolas como posiblemente causales de la enfermedad o posiblemente polimorfismos. El efecto de las variantes en sitios potenciales de ajuste se estudió mediante NetGene2¹² y NNSplice¹³, analizando la estructura de los sitios donador y aceptor.

Análisis estadístico

Se realizó con el software SPSS versión 20.0 (Chicago, Illinois, EE.UU.) usando un nivel de significación $p < 0,05$.

Tabla 2 Características de la población de estudio

	Varones	Mujeres	Total	P
n	87 (77,7%)	25 (22,3%)	112	
Edad, años	45,91 ± 10,58	54,28 ± 12,12	47,83 ± 11,436	0,001
IMC, kg/m ²	27,15 ± 2,845	26,88 ± 2,67	27,09 ± 2,8	0,678
Cintura, cm	96 (92-102)	89 (87-95)	93,73 ± 12,6	0,049
CT, mg/dl	289 ± 73,6	333 ± 86,4	299 ± 78,4	0,015
TG, mg/dl	717 (554-1026)	576 (535-727)	670 (549-998)	0,023
cHDL, mg/dl	34 ± 8,6	40 ± 13,0	36 ± 10,0	0,010
Lp(a), mg/dl	7,1 (3,4-21,9)	7,7 (3,6-42,8)	7,1 (3,6-22,9)	0,959
Apo A1, mg/dl	131 ± 25,3	144 ± 27,2	134 ± 23,1	0,046
Apo B, mg/dl	128 ± 30,8	155 ± 33,2	134 ± 33,0	0,001
Glucosa, mg/dl	96 (83-107)	94 (84-112)	95 (84-110)	0,802
HbA1c (%)	5,4 (5,1-5,8)	5,5 (5,3-6,3)	5,4 (5,1-5,9)	0,288
Diabetes (%)	14,1	8	12,7	0,336
HTA (%)	24,7%	36%	27,3%	0,194
ECV (%)	9,4	8	9,1	0,594
Tabaco (%)				0,114
No fumador	22,1	58,3	30	
Fumador	46,5	29,2	42,7	
Exfumador	31,4	12,5	27,3	
Pancreatitis	0	1	1	NA

Apo A1: apolipoproteína A1; Apo B: apolipoproteína B; cHDL: colesterol HDL; CT: colesterol total; ECV: enfermedad cardiovascular; HTA: hipertensión arterial; IMC: índice de masa corporal; Lp(a): lipoproteína (a); NA: no aplica; TG: triglicéridos.

Los datos de variables cuantitativas se expresan como media ± desviación estándar, excepto para las variables que no siguen la distribución normal (mediana, rango intercuartil). Las variables cualitativas se expresan como porcentaje (%).

El valor p fue calculado por las pruebas t de Student, U de Mann-Whitney o Chi-cuadrado, según fuera conveniente.

Para conocer si las variables presentaron una distribución normal se realizó un análisis de Kolmogorov-Smirnov. Los datos se expresaron como media ± desviación estándar para las variables numéricas con una distribución normal y se analizaron con la prueba t de Student, mientras que aquellas que no siguieron distribución normal se expresaron como mediana y rango intercuartil y se analizaron con el test U de Mann-Whitney. Las variables cualitativas, incluyendo la comparación de frecuencias alélicas y genotípicas, se expresaron en porcentaje y se analizaron mediante el test Chi-cuadrado; dichas frecuencias se compararon con los datos obtenidos del proyecto 1000 Genomas en el subestudio realizado con población general europea¹⁴.

Se realizó un estudio de regresión logística lineal multivariante, introduciendo como variables independientes: edad, sexo, perímetro de cintura, presencia de diabetes y todas las variantes génicas identificadas en este estudio.

Resultados

Características de los sujetos

El estudio incluyó 112 sujetos: 87 varones y 25 mujeres. En la [tabla 2](#) se muestran las características clínicas y bioquímicas de los sujetos estudiados. La media de edad fue 47,8, y la mediana de concentración de TG fue de 670 mg/dl. Las mujeres, en comparación con los varones, eran mayores, con concentraciones más elevadas de colesterol, cHDL, apo A-I y apo B (p < 0,05) y menor concentración de TG (p < 0,05).

Análisis del gen *LMF1*

En la población estudiada se identificaron las variantes raras c.1352G>A (p.Arg451Trp), c.897+28G>A, c.897+27C>T y c.1685C>G (p.Pro562Arg) que se muestran en la [tabla 3](#), considerando como tales aquellas que no habían sido encontradas en el proyecto de los 1000 Genomas.

Las variantes comunes en el gen *LMF1*, y sus frecuencias alélicas, se muestran en la [tabla 4](#). Los polimorfismos c.194-28T>C y c.729+18C>G mostraron una frecuencia significativamente menor en los sujetos con HTG en comparación con la población europea del estudio de los 1000 Genomas (p < 0,05).

Todas las variantes que supusieron un cambio de aminoácido no sinónimo se analizaron con los programas informáticos PolyPhen-2⁹, SIFT¹⁰ y MutationT@ster¹¹. Las mutaciones que se encontraban en el promotor o dieron lugar a un codón de parada solo pudieron ser analizadas por MutationT@ster. El resultado de este análisis bioinformático de las variantes del gen *LMF1* se muestra en la [tabla 5](#).

El análisis mediante PolyPhen-2, MutationT@ster y SIFT mostró que las variantes p.Arg364Gln, p.Arg451Trp y p.Pro562Arg eran potencialmente dañinas y posiblemente la causa de la HTG que presentan los sujetos portadores.

Modelo de regresión logística lineal entre las variables génicas encontradas y la concentración de triglicéridos

Al realizar el análisis de regresión lineal entre todas las variantes encontradas en el gen *LMF1* y la concentración

Tabla 3 Características clínicas de los sujetos portadores de las variantes raras del gen *LMF1*

Sujeto	TG máximos	Edad	CT	IMC	ApoE	Sexo	Variante
N.º 53	631	48	266	29,8	E3/E3	Hombre	c.1352G>A
N.º 809	576	68	289	27,76	E3/E3	Mujer	c.1685C>G
N.º 3006	1.209	34	235	23,5	E3/E3	Hombre	c.1685C>G
N.º1699	3.473	60	300	20,7	E3/E3	Hombre	c.897+28G>A
N.º1094	960	65	381	27,45	E3/E3	Hombre	c.897+27C>T

CT: colesterol total; IMC: índice de masa corporal; TG: triglicéridos.
Los TG y el CT están expresados en mg/dl.

de TG, se encontró que la variante p.Leu85Leu explicaba el 11,7% de la variabilidad en la concentración de TG, ajustada por edad, sexo, perímetro de cintura y presencia de diabetes de manera estadísticamente significativa (tabla 6).

Discusión

LMF1 codifica una proteína de membrana localizada en el retículo endoplasmático, que es esencial para la maduración tanto de LpL como de la lipasa hepática. La forma activa de LpL actúa como un homodímero, y *Lmf1* favorece su dimerización^{15,16}. Por tanto, mutaciones que generen una pérdida de función en *LMF1* es de esperar que afecten a la actividad de LpL, como ya ha sido demostrado anteriormente y confirman nuestros resultados^{5,8}.

En este trabajo hemos identificado 5 pacientes (4,46% de 112) portadores de 4 variantes raras en heterocigosidad, c.1352G>A (p.Arg451Trp), c.897+28G>A, c.897+27C>T y c.1685C>G (p.Pro562Arg) en el gen *LMF1* asociadas previamente a HTG. Además, hemos identificado variantes comunes o polimorfismos que se asocian con la HTG, ya que se encuentran con una frecuencia alélica diferente de la que se observa en población general: c.194-28T>G y c.729+18C>G. Los pacientes de este estudio presentaron una concentración media de TG de 670 mg/dl, lo que explica la menor frecuencia de defectos raros (4,46%) en nuestro

estudio comparada con el trabajo publicado por Surendran et al.²⁰, quienes encontraron 8 pacientes (9,3%) portadores de variantes raras en el *LMF1* seleccionados por sufrir hiperquilomicronemia y, por tanto, con niveles más altos de TG.

Varias conclusiones, a nuestro juicio importantes, se derivan de nuestros resultados.

En primer lugar, defectos genéticos funcionalmente importantes en *LMF1* en heterocigosidad se asocian con HTG en un porcentaje pequeño pero significativo.

LMF1 se ha asociado recientemente con niveles elevados de TG cuando hay mutaciones en homocigosidad en el dominio C-terminal de la proteína^{10,15}. Las variantes raras de *LMF1* p.Arg451Trp y p.Pro562Arg son dañinas de acuerdo con el análisis bioinformático y se encuentran localizadas cercanas a la región crítica para la dimerización de LpL¹⁷. Para determinar si los polimorfismo c.194-28T>G y c.729+18C>G contribuyen a la causa de HTG en los sujetos portadores harían falta más estudios tanto epidemiológicos como funcionales.

De los 5 pacientes que son portadores de las variantes raras, todos presentan TG máximos entre 576 y 3.473 mg/dl, con una mediana de 1.370 mg/dl. Destacan 2 de los pacientes, uno con 60 años y TG de 3.473 mg/dl portador de la variante c.897+28 G>A con tan solo un IMC de 20,7 kg/m², y otro portador de la variante c.1685C>G de 23 años y con 23,5 kg/m² de IMC. Por tanto, parece indicar

Tabla 4 Frecuencias alélicas de los SNP identificados en el gen *LMF1* en la población HTG estudiada y los 1000 Genomas de la población europea

Variante		Alelo menor	Frecuencia alélica HTG	Frecuencia alélica de los 1000 Genomas	p
p.Leu85Leu	rs12448005	C	0,071	0,065	0,690
p.Thr102Thr	rs371667	A	0,237	0,206	0,322
c.194-28T>C	rs3751666	C	0,281	0,385	0,004
p.Tyr180Tyr	rs2277892	A	0,129	0,096	0,153
p.Glu181Glu	rs2277893	A	0,223	0,177	0,118
c.664-58G>C	rs4984706	C	0,223	0,263	0,235
c.194-28T>C	rs3751666	T	0,090	0,016	0,444
c.729+18C>G	rs11864203	G	0,129	0,273	< 0,001
p.Ala252Ala	rs2076425	A	0,080	0,104	0,293
p.Arg351Gln	rs192520307	A	0,040	0,010	0,359
p.Arg354Trp	rs138461953	T	0,022	0,025	0,815
p.Arg364Gln	rs351683	A	0,027	0,033	0,641

Todas las variantes se describen de acuerdo con las últimas recomendaciones de HGVS (<http://www.hgvs.org/mutnomen>). El valor p fue calculado por el test χ^2 .

Tabla 5 Análisis bioinformático de las variantes encontradas en el gen *LMF1*

Variante	Análisis « <i>in silico</i> »		
	PolyPhen	SIFT	MutationT@ster
p.Arg351Gln rs19520307	Benigno	0,63	Polimorfismo 0,999
p.Arg354Trp rs138461953	Benigno	0,78	Polimorfismo 0,999
p.Arg364Gln rs35168378	Probablemente dañino	0,07	Causal de enfermedad 0,999
p.Arg451Trp COSM417215	Probablemente dañino	0,04	Causal de enfermedad 0,999
p.Pro562Arg rs4984948	Posiblemente dañino	0,23	Causal de enfermedad 0,999
p.Leu85Leu rs12448005	NA	NA	Causal enfermedad 1,00
p.Thr102Thr rs3751667	NA	NA	Polimorfismo 0,999
c.194-28T>C rs3751666	NA	NA	Polimorfismo 0,999
p.Tyr180Tyr rs2277892	NA	NA	Polimorfismo 0,999
p.Glu181Glu rs2277893	NA	NA	Polimorfismo 0,00
c.664-58G>C rs4984706	NA	NA	Polimorfismo 0,999
c.664-35T>C rs4989705	NA	NA	Polimorfismo 0,999
c.729+18C>G rs11864203	NA	NA	Polimorfismo 0,999
p. Ala252Ala rs2076425	NA	NA	Polimorfismo 0,00
c.897+28G>A rs18431133	NA	NA	Polimorfismo 0,999
c.897+27C>T rs76200860	NA	NA	Polimorfismo 0,999

NA: no analizado.

Todas las variantes se describen de acuerdo con las últimas recomendaciones de HGVS (<http://www.hgvs.org/mutnomen>). Las predicciones de los efectos deletéreos se realizaron utilizando SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) y MutationT@ster (<http://www.mutationtaster.org/>).

que estas mutaciones ejercen un efecto importante en la función de *LMF1*. Si estos sujetos tienen asociadas otras mutaciones en otros genes desconocidos que han contribuido junto con *LMF1* en el desarrollo de la HTG, no podemos descartarlo. Los sujetos portadores de mutaciones graves en heterocigosidad en genes causantes de hipertrigliceridemia tienen concentraciones de TG muy variables, desde

la normalidad a la HTG grave, lo que pone de manifiesto la complejidad de la etiología de la HTG, y la posibilidad de otros factores asociados¹⁸.

En segundo lugar, diferencias en la frecuencia de determinados alelos en *LMF1* apoyan la idea que la variación genética en *LMF1* contribuye a la patogenia de la HTG. Recientemente ha sido demostrado que los pacientes con HTG muestran un exceso de variantes raras en los genes seleccionados por los GWAS (*APOA5*, *GCKR*, *LPL* y *APOB*) comparados con la población normolipémica, y que, por tanto, muchas HTG son el resultado de la acumulación de variaciones genéticas comunes con efectos hipertriglicéridémicos pequeños de forma aislada, pero confiriendo susceptibilidad especialmente si la acumulación es elevada, o se combinan con otras situaciones ambientales. Sin embargo, las variantes comunes de estos genes tan solo explicarían en un 25% las diferencias de las concentraciones lipídicas en plasma, y esto sugiere el potencial genético que queda por dilucidar en el campo de la HTG. Ante esta situación se han

Tabla 6 Variables independientemente asociadas con la concentración de TG mediante regresión logística lineal

Variable	Coefficiente tipificado beta	p	R ² corregida
p.Leu85Leu	-0,265	0,005	0,117

Modelo de regresión logística lineal para TG (1/TG) como variable dependiente. El modelo ha sido ajustado por edad, sexo, perímetro de cintura y presencia de diabetes.

realizado diferentes estudios intentando aumentar el *background* genético de esta patología, estudiando genes como *APOC2*, *GPIHBP1* y *LMF1*, entre otros, donde ha quedado demostrada la implicación de estos genes en la patología de la HTG^{17,19}.

Por último, nuestros resultados confirman que la HTG primaria es heterogénea en su etiología y que posiblemente se produce por la acumulación de variantes comunes y raras en los genes involucrados en el metabolismo de los TG.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la HTG primaria del adulto con concentración de TG superior a 500 mg/dl presenta mayor cantidad de variantes genéticas en el gen *LMF1* respecto a la población general, con una combinación de mutaciones de efecto entre moderado y agresivo, y polimorfismos clásicamente asociados con esta dislipidemia.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes y que todos los pacientes incluidos en el estudio han recibido información suficiente y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en dicho estudio.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Financiación

Trabajo financiado con el proyecto PI12/01087 y la RETIC RD12/0042/0055.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Murad et al., BMC Endocr Disord 2012;12:2, y Hjellvik et al., Clin Epidemiol 2012;4:213-224.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. 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.
- Santamarina-Fojo S. The familial chylomicronemia syndrome. Endocrinol Metab ClinNorth Am. 1998;27:551-5.
- Hegele R, Pollex RL. Hypertriglyceridemia: Phenomics and genomics. Mol Cell Biochem. 2009;326:35-43.
- Péterfy M, Ben-Zeev O, Mao HZ, Weissglas-Volkov D, Aouizerat BE, Pullinger CR, et al. Mutations in *LMF1* cause combined lipase deficiency and severe hypertriglyceridemia. Nature Genet. 2007;29:1483-7.
- Beigneux AP, Davies BS, Gin P, Weinstein MM, Farber E, Qiao X, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 plays a critical role in the lipolytic processing of chylomicrons. Cell Metab. 2007;5:279-90.
- Davies BS, Beigneux AP, Barnes II, Tu Y, Gin P, Weinstein MM, et al. GPIHBP1 is responsible for the entry of lipoprotein lipase into capillaries. Cell Metab. 2010;12:42-52.
- Cefalu AB, Noto D, Arpi ML, Yin F. Novel *LMF1* nonsense mutation in a patient with severe hypertriglyceridemia. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94:4584-90.
- Adzhubei IA, Schmidt L, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. Nature Method. 2010;7:248-9.
- Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. Nature Protocols. 2009;4:1073-81.
- Schwarz JM, Rödelsparger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. Nature Methods. 2010;7:575-6.
- Brunak S, Engelbrecht J, Knudsen S. Prediction of human mRNA donor and acceptor sites from the DNA sequence. J Mol Biol. 1991;220:49-65.
- Reese MG, Eeckman FH, Kulp D, Haussler D. Improved splice site detection in Genie. J Comput Biol. 1997;4:311-23.
- An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. Nature. 2012;491:56-60.
- Doolittle MH, Ehrhardt N, Peterfy M. Lipase maturation factor 1: structure and role in lipase folding and assembly. Curr Opin Lipidol. 2012;21:198-203.
- Doolittle MH, Neher SB, Ben-Zeev O, Ling-Liao J, Gallagher CM, Hosseini M, et al. Lipase maturation factor *LMF1*, membrane topology and interaction with lipase proteins in the endoplasmic reticulum. J Biol Chem. 2009;284:33623-33.
- Johansen C, Wang J, McIntyre A, Martins R, Ban M, Lanktree M, et al. Excess of rare variants in non-genome-wide association study candidate genes in patients with hypertriglyceridemia. Circ Cardiovasc Genet. 2012;5:66-72.
- Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Averna M, et al., European Atherosclerosis Society Consensus Panel. The polygenic nature of hypertriglyceridemia: Implications for definition, diagnosis, and management. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2:655-66.
- De Castro-Orós I, Cenarro A, Tejedor T, Baila-Rueda L, Mateo-Gallego R, Lamiquiz-Moneo I, et al. Common genetic variants contribute to primary hypertriglyceridemia without differences between familial combined hyperlipidemia and isolated hypertriglyceridemia. Circ Cardiovasc Genet. 2014;7:814-21.
- Surendran RP, Visser ME, Heemelaar S, Wang J, Peter J, Defesche JC, et al. Mutations in *LPL*, *APOC2*, *APOA5*, *GPIHBP1* and *LMF1* in patients with severe hypertriglyceridaemia. J Intern Med. 2012;272:185-96.