



NOTA TÉCNICA

Protocolo de estudio bioquímico de hipercolesterolemia familiar en un niño de 6 años

Silvia Caparrós Cánovas^a, Teresa Arrobas Velilla^{a,*}, Berta Fernández Pérez^a, Jose Antonio Bermúdez de la Vega^b, Carmen González Martín^a, Isabel Orive de Diego^a, Maria del Carmen Cruz Mengíbar^a y Fernando Fabiani Romero^a

^a Unidad de Riesgo Vascular, UGC de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España

^b Endocrinología Pediátrica, Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España

Recibido el 28 de octubre de 2011; aceptado el 31 de enero de 2012

Disponible en Internet el 10 de marzo de 2012

PALABRAS CLAVE

Hipercolesterolemia familiar;
Análisis genético;
Riesgo cardiovascular;
Colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad;
Colesterol;
Niño;
Aterosclerosis

KEYWORDS

Familial hypercholesterolemia;
Genetic analysis;
Cardiovascular risk;
Low density

Resumen La hipercolesterolemia familiar (HF) es una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, afectando a unas 10 millones de personas en todo el mundo. Se caracteriza por niveles elevados de c-LDL y por una elevada prevalencia de enfermedad cardiovascular prematura. La HF se origina por mutaciones en el gen que codifica el receptor de c-LDL. Presentamos el caso de un niño de 6 años que es remitido al laboratorio de Riesgo Cardiovascular (RCV) por sospecha de hipercolesterolemia familiar. Se le realiza una bioquímica general y un perfil de RCV, donde se observa un colesterol total y un c-LDL elevado, con el resto de los parámetros dentro de los rangos de normalidad. Se procede a la confirmación de la HF heterocigota mediante la determinación de la mutación del receptor de c-LDL (Lipochip®) mediante análisis genético.

© 2011 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Biochemistry study protocol of familial hypercholesterolaemia in a 6 year-old child

Abstract Familial hypercholesterolaemia (FH) is one of the most common hereditary diseases, affecting about 10 million people around the world. It is characterised by high levels of c-LDL, and a high prevalence of premature cardiovascular disease. It is caused by mutations in the gene that encodes the c-LDL receptor. We present the case of a 6 year-old child who was referred to the Cardiovascular Risk (CRV) Laboratory due to suspicion of familial hypercholesterolaemia. General biochemistry analysis and a CRV profile were performed, showing

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: teresaarrobasvelilla@hotmail.com (T. Arrobas Velilla).

lipoprotein
cholesterol;
Cholesterol;
Child;
Atherosclerosis

a high total cholesterol and c-LDL. As the rest of parameters were within the normal ranges, secondary causes of hypercholesterolaemia, such as hypothyroidism and diabetes, were ruled out. The presence of the FH heterozygote was confirmed by determining the mutation of the c-LDL receptor mutation by gene analysis (Lipochip®).

© 2011 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una enfermedad genética autosómica dominante causada por mutaciones en el gen que codifica el receptor de LDL localizado en el cromosoma 19¹. La consecuencia de esta alteración es una reducción importante en el número de receptores funcionales para las partículas de LDL a nivel hepático, lo que da lugar a un aumento en las concentraciones plasmáticas de colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad, asociándose al depósito de colesterol en los tendones y al desarrollo de enfermedad cardiovascular prematura, especialmente cardiopatía isquémica².

Se estima que 1 de cada 400 personas, en el caso de los heterocigotos y 1 de cada millón, en el caso de los homocigotos, presenta HF. En España, se calcula entre 80.000 y 100.000 las personas afectadas. En el mundo se calcula unos 10 millones de personas, de las cuales menos del 10% están diagnosticadas y menos del 25% reciben tratamiento hipolipemiante³.

La HF debe sospecharse en cualquier adulto que presente concentraciones plasmáticas muy elevadas de CT (300-500 mg/dL), generalmente con concentraciones de triglicéridos inferiores a 200 mg/dL. En el caso de la HF homocigota (HFH), las concentraciones de colesterol son extremadamente altas, generalmente superiores a 500 mg/dL, pudiendo alcanzar los 1.000 mg/dL. Si no se diagnostica precozmente, la HF puede dar lugar a manifestaciones clínicas en la edad adulta (depósitos de colesterol en tejidos extrahepáticos formando engrosamientos o tumefacciones) como son el arco corneal (anillo pálido alrededor del iris que tiene valor diagnóstico de HF cuando se da antes de los 45 años)⁴ y/o los xantomas tendinosos. De estos últimos, los más frecuentes se localizan en el tendón de Aquiles y en los tendones extensores de las manos. Además, para valorar el riesgo cardiovascular global, es importante conocer, especialmente en niños, los antecedentes familiares de hipercolesterolemia, ictus y aterosclerosis en edades tempranas en familiares de primer grado.

Actualmente, en el caso de los niños, se recomienda utilizar como valores de referencia en lugar de los puntos de corte del *National Cholesterol Education Program* (NCEP)⁵, los percentiles obtenidos según edad y género de los datos proporcionados por sociedades científicas como la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC)⁶ derivados del estudio DRECE⁷ (Dieta y Riesgo de Enfermedades Cardiovasculares en España), y la *American Academy of Pediatrics* (AAP)⁸, datos derivados del estudio de prevalencia de la «*Lipid Research Clinic Pediatric*»⁹. Ambas recomiendan que se consideren como sospechosos de

HF los pacientes cuyas concentraciones de CT y c-LDL son superiores al percentil 95 (tablas 1 y 2).

Presentación del caso

Paciente varón de 6 años que es remitido de la Unidad de Pediatría al laboratorio de Riesgo Cardiovascular (RCV) de la Unidad de Gestión Clínica de Bioquímica Clínica del Hospital Virgen Macarena de Sevilla. El paciente presenta concentraciones elevadas de colesterol total y c-LDL, con sospecha de HF, rama paterna no confirmada genéticamente. El padre no presenta signos clínicos que manifiesten depósitos de colesterol ni otros factores de riesgo asociados tales como diabetes, hipertensión o hábito tabáquico. Toma como tratamiento hipolipemiante estatinas que mantienen el c-LDL en 125 mg/dL. Es de destacar su elevada concentración de lipoproteína (a), 99 mg/dL (límite superior del intervalo de referencia 30 mg/dL)¹⁰. El abuelo del paciente sufrió un ictus a los 60 años, por lo que se incrementa la probabilidad de riesgo cardiovascular en la rama paterna. Tanto la madre como la hermana tienen concentraciones lipídicas dentro de los intervalos de referencia y sin factores de riesgo.

El paciente presenta un peso comprendido en el percentil 50 y una talla en el percentil 90 para su edad y sexo. La familia afirma que el niño sigue una alimentación correcta y que no toma tratamiento farmacológico.

Se practicaron las determinaciones analíticas siguientes: bioquímica general, que incluye glucosa, HbA1c e insulina (para valorar estado de resistencia a la insulina), transaminasas (valoración de función hepática), TSH (descartar hiperlipidemia secundaria) y un perfil de RCV, en el cual se determinan las lipoproteínas mediante un método de ultracentrifugación en gradiente de densidad, cocientes aterogénicos y factores de riesgo emergentes.

Resultados

Las concentraciones de glucosa, HbA1c, insulina, transaminasas, TSH, calcio y fósforo se encontraron dentro de los intervalos de referencia. Se confirma la elevada concentración del CT (313 mg/dL) y del c-LDL (232 mg/dL), con c-HDL (52 mg/dL), c-VLDL (23 mg/dL) y TG (117 mg/dL) dentro de sus intervalos de referencia. En cuanto a los índices aterogénicos, el cociente CT/c-HDL o índice de Castelli es el único que se encuentra elevado (valores superiores a 4 proporcionan mayor riesgo aterogénico). Los valores de las determinaciones analíticas del perfil de RCV se muestran en la tabla 3. Los factores de riesgo emergentes (us-PCR, fibrinógeno, homocisteína y Lp(a)) se encuentran dentro de

Tabla 1 Percentiles de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y LDL en función de la edad y género de la Academia Americana de Pediatría

	Sexo masculino			Sexo femenino		
	5-9 años	10-14 años	15-19 años	5-9 años	10-14 años	15-19 años
<i>Colesterol total, mg/dL</i>						
50.º percentil	153	161	152	164	159	157
75.º percentil	168	173	168	177	171	176
90.º percentil	183	191	183	189	191	198
95.º percentil	186	201	191	197	205	208
<i>Triglicéridos, mg/dL</i>						
50.º percentil	48	58	68	57	68	64
75.º percentil	58	74	35	74	35	85
90.º percentil	70	94	125	103	104	112
95.º percentil	85	111	143	120	120	126
<i>Colesterol de LDL, mg/dL</i>						
50.º percentil	90	94	93	98	94	93
75.º percentil	103	109	109	115	110	110
90.º percentil	117	123	123	125	126	179
95.º percentil	129	133	130	140	136	13/
<i>Colesterol de HDL, mg/dL</i>						
5.º percentil	38	37	30	36	37	35
10.º percentil	43	40	34	38	40	38
25.º percentil	49	46	39	48	45	43
50.º percentil	55	55	40	52	52	51

Fuente: Plasma lipid distributions in selected North American populations: the Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. The Lipid Research Clinics Program Epidemiology Committee. *Circulation*. 1979;60(2):427-39⁹.

los intervalos de referencia, así como la concentración de apolipoproteína A1.

Discusión

Los datos obtenidos alertan de una concentración de CT y c-LDL anómala para la edad y sexo del paciente (CT = 313 mg/dL y c-LDL = 232 mg/dL) que superan el percentil 95 avalados por los criterios de las 2 sociedades científicas anteriormente mencionadas⁵⁻⁷. Sin embargo, en España los criterios derivados del estudio DRECE⁷ muestran unos puntos de corte mínimamente incrementados en concentración de CT y c-LDL entre niños de sexo masculino de 5 a 9 años, como es nuestro caso, con respecto a los de la *American Academy of Pediatrics*⁸ (CT: 222 mg/dL versus 186 mg/dL y c-LDL 145 mg/dL versus 129 mg/dL, respectivamente). Esto quiere decir que los niños españoles en este intervalo de edad, según los resultados del DRECE, presentan valores de colesterol más elevados para edad y género que los niños estudiados por la *American Academy of Pediatrics*⁸.

Otro dato a destacar es el incremento en la concentración de apolipoproteína B, 131 mg/dL, (el valor en la población global de 5-59 años es de 113 mg/dL¹¹). La combinación de valores elevados de c-LDL y apo B -100 confirman la sospecha de HFH. El niño, en cambio, no presenta concentración elevada de Lp(a) como su padre.

Una vez establecida la sospecha diagnóstica, se procede a la confirmación de la HFH por la determinación de la mutación del receptor de LDL (Lipochip®) mediante

análisis genético. Esta técnica es capaz de identificar más de 250 mutaciones del receptor LDL, 3 mutaciones de apo B-100 y 6 mutaciones de pcsk9 y también es capaz de identificar los cambios en el número de copias (10% de las mutaciones causantes de la HF) más frecuentes en la población española del gen del receptor de LDL. La técnica se basa en la capacidad que tienen las moléculas de ADN de unirse específicamente a su secuencia complementaria¹².

Se cita al paciente en el laboratorio de RCV explicándole previamente que no puede comer, beber, ni masticar goma de mascar en los 30 min previos a la toma de la muestra de saliva. A continuación se cumplimenta un cuestionario de puntuación facilitado por el laboratorio (programa internacional de la OMS MEDPED)¹³ basado en criterios diagnósticos de HFH y se le asigna un código al paciente y muestra para preservar su intimidad. Los criterios diagnósticos comprenden: historia personal y familiar, examen físico (xantoma tendinoso y arco corneal) y valores de c-LDL en ayunas con concentraciones de TG inferior a 200 mg/dL. Se valora el total de puntos, cerciorándose el diagnóstico de HF superior a 8 puntos y probable de 6 a 7 puntos. La puntuación obtenida por el paciente fue de 4 puntos, ya que tanto la exploración física como los antecedentes personales fueron normales, detectándose únicamente concentraciones elevadas de c-LDL.

Previo consentimiento de los padres del paciente (ya que este era menor de edad), la muestra se recolecta en un recipiente especializado proporcionado por el laboratorio que contiene un conservante (2 mL de líquido Oragene). Si

Tabla 2 Percentiles de colesterol total y colesterol de LDL (mg/dL) en la población española. Estudio DRECE

	P5	P10	P25	P50	P75	P90	P95
Colesterol total (mg/dL)							
<i>Mujeres</i>							
5-12 años	122	136	150	171	190	209	218
13-19 años	122	128	143	161	181	204	228
20-29 años	127	137	154	174	201	226	248
30-39 años	139	151	169	186	211	234	249
40-49 años	146	161	181	202	231	259	271
50-59 años	168	181	204	230	259	284	304
<i>Varones</i>							
5-12 años	126	134	153	172	188	209	222
13-19 años	116	124	136	152	170	185	197
20-29 años	131	140	158	181	209	237	250
30-39 años	144	157	178	211	239	264	293
40-49 años	159	172	192	217	243	268	283
50-59 años	158	171	190	221	248	274	286
Colesterol de LDL (mg/dL)							
<i>Mujeres</i>							
5-12 años	55	66	80	96	112	129	140
13-19 años	54	62	72	85	101	116	128
20-29 años	62	71	89	110	135	160	171
30-39 años	69	83	104	129	159	182	198
40-49 años	76	91	112	137	162	183	200
50-59 años	78	92	116	142	165	188	201
<i>Varones</i>							
5-12 años	51	65	81	97	115	133	145
13-19 años	52	60	74	90	106	127	143
20-29 años	59	68	82	100	122	146	163
30-39 años	68	80	95	112	133	154	166
40-49 años	74	85	103	124	151	176	191
50-59 años	91	101	127	146	172	200	211

Fuente: Gómez-Gerique JA et al.⁷.

existe dificultad a la hora de salivación, se le explica al paciente técnicas para facilitar la salivación (masajeo de mejillas o enjuague bucal con agua). Posteriormente se conserva la muestra a temperatura ambiente (entre 15-30 °C),

hasta que se envía al laboratorio de referencia (Progénika, Bilbao, España).

Se confirma la HFH por Lipochip^{®14}, una mutación de clase alelo nulo con una delección del exón 9 al exón 12. Este tipo de mutaciones de alelo nulo suelen estar asociadas a fenotipos más graves que cursan con aterosclerosis más avanzada¹⁵⁻¹⁷. Asimismo, se han determinado asociaciones con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, concentraciones de colesterol más elevadas y necesidad de un tratamiento más intensivo para conseguir los mismos objetivos terapéuticos a nivel de c-LDL. Se trata de una mutación de clase A directamente asociada con la HF¹⁵⁻¹⁷. Al continuar el estudio familiar, se demuestra la misma mutación en el padre.

Bibliografía

1. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. Hum Mutat. 1992;1:445-66.
2. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. p. 2863-913.

Tabla 3 Resultados de parámetros incluidos en el perfil de RCV

Colesterol total	313 mg/dL
c-HDL	52 mg/dL
c-LDL	232 mg/dL
Colesterol no-HDL	261 mg/dL
c-VLDL	23 mg/dL
Triglicéridos	117 mg/dL
Apolipoproteína A-I	136 mg/dL
Apolipoproteína B-100	131 mg/dL
Índice CT/c-HDL	6,02 mg/dL
Índice c-VLDL/TG	0,20 mg/dL
Índice c-LDL/Apo B-100	1,77 mg/dL
Fibrinógeno	311 mg/dL
PCR-ultrasensible	0,15 mg/dL
Lp(a)	17 mg/dL
Homocisteína	6,8 μmol/L

3. Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, et al. Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the research committee of the ministry of health, labour and welfare of Japan. *J Atheroscler Thromb*. 2004;11:146-51.
4. Shafiq N, Singh M, Kaur S, Khosla P, Malhotra S. Dietary treatment for familial hypercholesterolaemia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;CD001918.
5. American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program: report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents. *Pediatrics*. 1992;89(3 pt 2):525-84.
6. Sociedad Española de Bioquímica Clínica, Patología Molecular; Comité Científico; Comisión de Lípidos y Lipoproteínas. Recomendaciones para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar. Documento J. Fase 3. Versión 5. Preparado por J. C. Vella Ramírez. *Química Clínica*. 2006;25:90-3.
7. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, et al. Perfil lipídico de la población española: estudio DRECE (Dieta y Riesgo de Enfermedad Cardiovascular en España). *Med Clin (Barc)*. 1999;113:730-5.
8. Daniels SR, Greer FR. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 2008;122:198-208.
9. Plasma lipid distributions in selected North American populations: the Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. The Lipid Research Clinics Program Epidemiology Committee. *Circulation* 1979;60:427-39.
10. Emerging Biomarkers for Primary prevention of Cardiovascular Disease and Stroke 2009. *Laboratory Medicine Practice Guidelines*, National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) [consultado 1 Feb 2012]. Disponible en: <http://www.tideca.net/content/emerging-biomarkers-primary-prevention-cardiovascular-disease-and-stroke>
11. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER: WB Saunders Co.; 1999.
12. Especificaciones técnicas de la plataforma de progenika para el diagnóstico genético de la hipercolesterolemia familiar (hf) usando lipochip® v9.0 en modelo servicio [consultado 1 Feb 2012]. Disponible en: http://www.progenika.com/eu/index.php?option=com_content&task=view&id=139&Itemid=179
13. Aguillo E. Hipercolesterolemia familiar. Criterios diagnósticos y tratamientos actuales. *Endocrinol Nutr*. 2005;52:202-8.
14. Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, et al. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clinical Chemistry*. 2005;51:1137-44.
15. Alonso R, Defesche JC, Tejedor D, Castillo S, Stef M, Mata N, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia using a DNA-array based platform. *Clinical Biochemistry*. 2009;42:899-903.
16. Junyent M, Gilabert R, Zambón D, Pocoví M, Mallén M, Cofán M, et al. Femoral atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia: influence of the genetic defect. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:580-6.
17. Alonso R, Mata N, Castillo S, Fuentes F, Saenz P, Muñiz O, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis*. 2008;200:315-21.