



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Participación del gen LRPPRC en la hipertrigliceridemia severa: estudio de los mecanismos fisiopatológicos subyacentes

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:
IVETTE CRUZ BAUTISTA

TUTOR
DR. CARLOS ALBERTO AGUILAR SALINAS
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. MARÍA TERESA TUSIÉ LUNA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN

DRA. HORTENCIA MORENO MACÍAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE LA UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO DEL 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Tutor de Tesis



Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Representante de la Sede



Ivette Cruz Bautista
Candidata a Doctora en Ciencias Médicas

A mi madre por su ejemplo y su amor incondicional

A mis hijas por ser mis mejores maestras

A mi esposo por su amor y compañía

A mis amigas(os) por su compañía paso a paso

A mis maestros por compartir su conocimiento

A mis pasantes por su valioso tiempo

A mis pacientes por su nobleza y apoyo

A Dios por ser mi luz, en mis peores momentos.

ÍNDICE

I. Introducción.	5
A) Definición , clasificación y epidemiología de la hipertrigliceridemia e hipertrigliceridemia familiar	
B) Presentación clínica de la hipertrigliceridemia familiar	
C) Etiopatogenia de la hipertrigliceridemia familiar	
D) Aterogenesis de la hipertrigliceridemia familiar	
E) Arquitectura genetica de la hipertrigliceridemia e hipertrigliceridemia familiar.	
F) Descubrimiento del gen <i>LRPPRC</i>	
G) Estructura del gen <i>LRPPRC</i>	
H) Proteina , efecto y funcion de <i>lrpprc</i>	
II. Planteamiento del problema	13
III. Justificación	14
IV. Pregunta de Investigación	15
V. Antecedentes	15
VI. Hipótesis	21
VII. Objetivo General	22
VIII. Objetivos Específicos	22
IX. Diseño del estudio	23
X. Material y métodos	24
XI. Análisis estadístico	34
XII. Tamaño Muestral	34
XIII. Resultados	37
XIV. Discusión	48
XV. Conclusiones	55
XVI. Referencias bibliograficas	56

I. Introducción

A) Definición, clasificación y epidemiología de la hipertrigliceridemia

(HTG) e hipertrigliceridemia familiar (HTGF). La HTG se define como la concentración de triglicéridos en ayunas por arriba de 150 mg/dL ⁽¹⁾. La prevalencia de la HTG aislada en poblaciones caucásicas es alrededor del 16%⁽¹⁾ y la reportada en México es del 47% ⁽²⁾, la cual ha ido en incremento a través del tiempo, a la par del aumento de otras comorbilidades como obesidad, sobrepeso y diabetes. El fenotipo extremo definido como una concentración de triglicéridos por arriba de 1000mg/dL se encuentra en el 3.1% de la población mexicana y es una causa frecuente de pancreatitis ⁽²⁾. La clasificación etiológica de la HTG se divide en primaria o de origen genético y secundaria a varias causas tales como: factores ambientales, fármacos, enfermedades diversas, etc⁽¹⁾. Sin embargo, hoy sabemos que existe siempre una susceptibilidad genética predominantemente poligénica aún en etiologías secundarias ⁽³⁾.

La etiología primaria a su vez se clasifica en 2 grandes grupos: hipertrigliceridemias monogénicas y oligo/poligénicas⁽⁴⁾. La HTG monogénica es infrecuente a nivel mundial (<1%) o 1: 1,000,000 y se caracteriza por niveles persistentemente elevados de triglicéridos por arriba de 1000mg/dL, tiene un patrón de herencia autosómico recesivo, clínicamente se presenta desde la infancia, pancreatitis de repetición, pobre respuesta a tratamientos convencionales (<20%) y su etiología obedece a la presencia de mutaciones homocigas bialélicas o heterocigas compuestas genes involucrados en la lipólisis, en más del 90% las mutaciones se ubican en el gen de la lipoprotein lipasa (LPL) y el resto en genes como APOA5, APOC2, GPIHBP1, LMF1, ANGPTL3, 4 ⁽⁴⁾, se le conoce con el nombre de síndrome de quilomicronemia familiar (SCF). Las hipertrigliceridemias poligénicas son las más comunes, su presentación clínica es en la etapa adulta con concentraciones de triglicéridos de forma moderada a severa (200-1000mg/dL), pueden coexistir con causas secundarias⁽⁵⁾. Dentro de este último grupo se encuentra la HTGF que es la forma más común de HTG oligo/poligénica, sin embargo, se desconoce con exactitud su prevalencia en nuestro país. En la población general, en caucásicos, se ha estimado una prevalencia alrededor del 0.5-1% ⁽⁵⁾.

B) Presentación clínica de la hipertrigliceridemia familiar. Es una dislipidemia primaria caracterizada por concentraciones de triglicéridos (TG) arriba del percentil 90 poblacional por edad y género. Se puede presentar como HTG moderada con un rango variable de triglicéridos (200-700 mg/dL) donde abundan partículas VLDL anormalmente ricas en triglicéridos, denominada fenotipo IV. Cuando se asocia con causas secundarias como (dieta alta en grasa, consumo de alcohol , síndrome metabólico (SM) o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) ⁽⁶⁾ , la relación triglicéridos/colesterol generalmente es 5:1 y los niveles de triglicéridos alcanzan concentraciones iguales o superiores a 1,000 mg/dL, ocasionando quilomicronemia secundaria, con presencia de partículas de VLDL y quilomicrones (fenotipo V). En ambos fenotipos los niveles de colesterol-HDL (HDL-c) están disminuidos y los niveles de apoproteína B (apoB) están por debajo del percentil 90 poblacional por edad y género, esta última característica la distingue de otros tipos de HTG como es el caso de la hiperlipidemia familiar combinada (HLFC)⁽⁷⁾. La mayoría de los individuos afectados no presentan ninguna sintomatología aparente, y muchas veces se detecta como un hallazgo aislado, una minoría de sujetos pueden presentar vértigo, cefalea y fatiga crónica. En los casos en que se asocian causas secundarias, cuando hay una elevación severa de triglicéridos, podrían aparecer las manifestaciones del síndrome de quilomicronemia y el riesgo más elevado de pancreatitis aguda, fenómeno que se observa con menos frecuencia que en el síndrome de quilomicronemia familiar de etiología monogénica.

C) Etiopatogenia de la hipertrigliceridemia familiar. Los estudios de Bruzell y cols. demostraron que los sujetos con HTGF no tienen aumento en la producción hepática de partículas VLDL , sino un déficit de su catabolismo ⁽⁸⁾. Tienen un aumento del contenido de triglicéridos por cada partícula, manteniéndose relativamente estable su número. Por este motivo, no existe una elevación concomitante de apo B-100 y el tamaño de las VLDL es grande con mayor capacidad de retención de triglicéridos, mayor susceptibilidad a la acción de la CETP y posterior aceptación de colesterol, mayor residencia en plasma y

posiblemente mayor aterogenicidad por acúmulo de remanentes ricos en colesterol. Debido a su tamaño, estas VLDL no parecen ser un sustrato óptimo para la LPL, lo que puede explicar que su hidrólisis sea más lenta. Con frecuencia se encuentra un descenso simultáneo de HDL-c.

D) Aterogénesis de la hipertrigliceridemia e hipertrigliceridemia familiar.

Su relación epidemiológica con la ateromatosis prematura ha sido objeto de gran controversia, debido a que su asociación con concentraciones bajas de HDL-c actúa como factor de confusión, sin embargo, con los estudios de aleatorización mendeliana se ha evidenciado el papel causal de los triglicéridos y principalmente de sus remanentes ricos en colesterol como potenciales causales de riesgo cardiovascular⁽⁹⁾ en este subgrupo de pacientes, mecanismos, como la inflamación y los fenómenos protrombóticos afectan la capacidad de los estudios genéticos para implicar un papel directo de los triglicéridos en el riesgo de ASCVD⁽⁹⁾. Las terapias de reducción de triglicéridos más recientes derivadas de la genética humana se dirigen a proteínas clave, como apo C-III y ANGPTL3⁽¹⁰⁻¹²⁾. Aunque estos tratamientos reducen claramente los niveles de triglicéridos, su eficacia en la reducción del riesgo aterosclerótico debe demostrarse en estudios futuros. No existen estudios de riesgo cardiovascular específicamente en población con HTGF.

E) Arquitectura genética de la hipertrigliceridemia e hipertrigliceridemia familiar.

Los estudios de GWAS representan uno de las mejores estrategias para identificar nuevas variantes genéticas en distintos loci asociados con enfermedades o rasgos (como por ej. DM2) a nivel poblacional. Gracias a esta estrategia basada en el principio de desequilibrio de ligamiento (LD), se ha permitido identificar cerca de 50 loci asociados con triglicéridos⁽¹³⁾. La mayor parte de la arquitectura genética de los lípidos proviene de cohortes europeas, siendo la población latinoamericana subrepresentada. En población mexicana con HTG moderada Weiglass y cols identificó un nuevo locus cerca del gen de la proteína C1 de Niemann-Pick (NPC1) ($p = 2,43 \times 10^{-08}$) asociada a la concentración de triglicéridos, así mismo se encontró el SNP rs964184 en el gen de APOA V explicaba una gran proporción de la concentración de triglicéridos⁽¹⁴⁾. Algunos de estos genes (a través de sus

productos proteicos) podrían estar asociados a la disminución del aclaramiento de las partículas ricas en TG o a su sobre producción y participar asimismo, en la inhibición parcial de la actividad de la principal enzima que hidroliza triglicéridos, denominada lipoproteína lipasa (LPL). Willer et al ha descrito un gran número de variantes alélicas comunes y raras en diversos genes que explican la concentración de triglicéridos y otros lípidos ⁽¹⁵⁾. Dron et al demostraron que a mayor gravedad de la HTG mayor frecuencia de variantes raras o mayor número de SNPs asociados y un gran número de HTG tanto moderadas como graves no tenían una explicación genética evidente (66 y 52% , respectivamente) ⁽¹⁶⁾.

Otra estrategia ampliamente utilizada además de los estudios de GWAS en enfermedades con prevalencias relativamente bajas, como es el caso de la HTGF, con fenotipos lipídicos extremos, es el análisis de exoma completo (Whole Exome Sequencing; WES) como el abordaje de estudio genético recomendado ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Este abordaje permite identificar variantes comunes (frecuencia alélica en la población > 1%) con efectos pequeños como variantes raras (frecuencia alélica en la población < 1%) con efectos grandes y ofrece más ventajas que los estudios de asociación con múltiples marcadores por la posibilidad de identificar variantes específicas (e.g. nuevas) de distintos grupos étnicos.

Se desconoce la etiología genética de la HTGF, se presume como una entidad oligogénica, en su mayoría representada por un exceso de variantes raras en genes conocidos asociados a triglicéridos. En un inicio se pensaba que su patrón de herencia era autosómica dominante con penetrancia muy variable, sin embargo, no sigue un patrón mendeliano clásico y no muestra transmisión vertical en todos los casos, jugando un rol esencial los factores ambientales y destacando su rol oligo/poligénico.

F) Descubrimiento del gen *LRPPRC*. Nuestro grupo identificó a través de secuenciación completa del exoma en muestras de DNA de 85 individuos no relacionados con diagnóstico de HTGF y en 249 controles normotrigliceridémicos

67582 variantes comunes y 882,201 variantes raras asociadas a HTGF . Los sujetos con más del 5% de los valores perdidos fueron excluidos. Solo se escogieron variantes bialélicas, no monomórficas, que estuvieran en HWE (Hardy-Weinberg-equilibrium) < 0.00001 . Alrededor de 20 mil variantes con más del 20% de valores perdidos se excluyeron, 14 mil variantes se excluyeron por el HWE , más de 881,000 de las 1,083,199 variantes (~80%) eran monomórficas. Se analizaron 484,067 SNPs de más de 15, 931 genes. Se realizó análisis de componentes principales para ajustar por ancestría utilizando variantes comunes. El análisis de asociación se realizó mediante el empleo del software PLINK y EPACTS utilizando modelos de regresión logística ajustados por sexo, edad, edad 2, IMC, DM2 y etnicidad/ancestría. Se hizo una corrección por comparaciones múltiples y análisis condicionales. Para las variantes raras, se empleó el software SKAT-O usando una agrupación por gen para las variantes raras. Se tomaron valores de p y de q . Se definieron variantes comunes aquellas con la MAF > 0.05 y variantes raras con MAF < 0.05 . Se encontraron variantes comunes en dos genes reportados previamente en otras poblaciones *BUD13/APOA5* que estaban en desequilibrio de ligamiento. Además de nuevas variantes en los genes *LRPPRC*, *ADRA2B*, *ZSWIM2* y *SLC1A4* en el cromosoma 2. Específicamente, en el gen *LRPPRC* se identificó un haplotipo fuertemente asociado ($P=9.8E-06$; q-value**=0.01; $r^2>0.91$) con MAF=0.07 con HTG. Estos SNPs que conforman el haplotipo se encuentran en variantes intrónicas (fig. 3) , están en alto desequilibrio de ligamiento rs7593842 vs rs72877186 $r^2= 0.983$; rs72877186 vs rs58811869 $r^2= 0.933$ (fig.1) y su efecto persistió significativo después de ajustar para otras variantes (fig. 2) No se encontró asociación con otros fenotipos lipídicos, solo con TG. La frecuencia de sujetos homocigos es mayor en europeos, africanos y después en el grupo de los latinos. Este hallazgo se repitió en una muestra de casos y controles distinta a la muestra original con una prevalencia de 14% en casos y 2% en controles , una p del haplotipo 0.003 (publicacion en proceso)

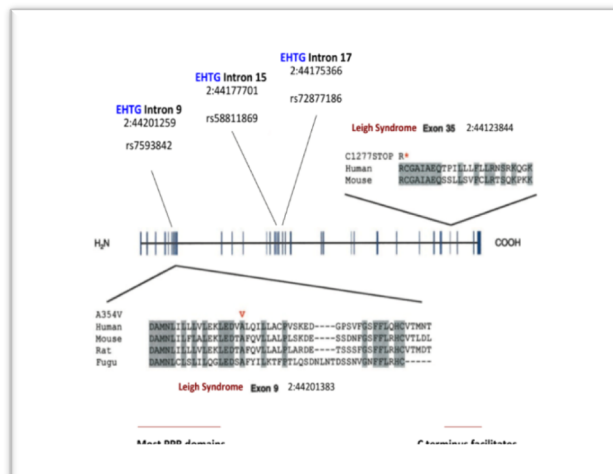
SNP	chr:pos (b37)	Alleles	Function	OR (CI 95%)	P val	Q val	fHTG Cont/cases	1000 Genomes			
								fAFR	fEUR	fSouth Asian	fEast Asian
rs7593842	2:44201259	T/C	intronic	6.26 (2.7-14.3)	1.04E-06	0.0010	0.052/0.145	0.3486	0.1721	0.0348	0.0003
rs72877186	2:44175366	A/C	intronic	6.17 (2.7-14.1)	1.31E-06	0.0011	0.052/0.140	0.3497	0.1794	0.0360	0.0001
rs58811869	2:44177701	G/A	intronic	5.62 (2.5-12.8)	5.95E-06	0.0040	0.049/0.128	0.3336	0.154	0.0322	0.0001

SNPs que conforman el haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC*

LRPPRC			
	p-values		
	Unconditional	BUD13	APOA5
rs7593842	6.85E-06	3.34E-04	1.20E-04
rs72877186	8.57E-06	3.35E-04	1.32E-04
rs58811869	5.95E-05	5.00E-04	1.66E-04

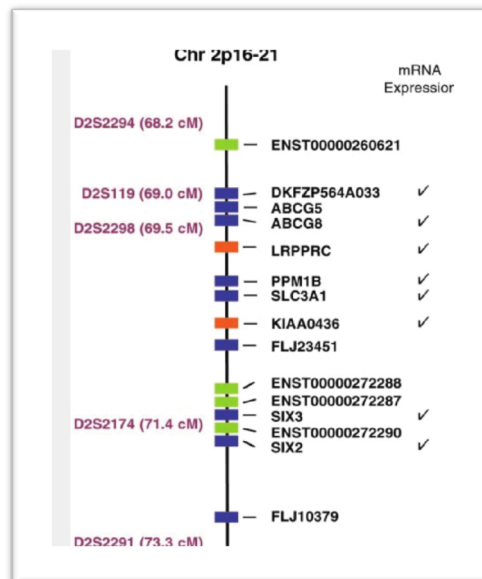
SNPs que conforman el haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC*. * Después de ajustar por variantes conocidas, los efectos persistieron.

En los sujetos con HTGF, se buscaron variantes conocidas de genes implicados en quilomiconemias monogénicas tales como *LMF1*, *APOCII*, *LPL*, *GPHIBP1*, *APOAV* y no se encontraron debido a que su prevalencia en nuestra población es baja comparada con la prevalencia en poblaciones europeas. Tampoco se encontraron los genes descubiertos en el GWAS de sujetos con HTG moderada en sujetos mexicanos (14).



Variantes del haplotipo del gen LRPPRC (intronicas)

G) Estructura del gen *LRPPRC*. Este gen codifica para una proteína multifuncional denominada *lrpprc* o *lrp130*⁽²⁰⁾, es una proteína rica en leucina que tiene múltiples repeticiones de pentatricopéptidos (PPR). El gen se ubica dentro del cromosoma 2 en la citobanda 21 y contiene 39 exones (2p21) y 109,497 pares de bases. Se le conocen 9 transcritos. Se desconoce el papel preciso de esta proteína, pero los estudios sugieren que puede desempeñar un papel en la organización del citoesqueleto, el transporte vesicular o la regulación transcripcional de genes tanto nucleares como mitocondriales. La proteína se localiza principalmente en las mitocondrias y se prevé que tenga una secuencia de orientación mitocondrial N-terminal. Las mutaciones en este gen están asociadas con el tipo franco-canadiense del síndrome de Leigh tipo francés-canadiense (LSFC) (mutaciones A354V, C1277R) que se caracteriza por acidosis metabólica crónica, hipotonía, dismorfismo facial, retraso en el crecimiento, incremento de lípidos intracelulares, esteatosis hepática, resistencia a insulina e HTG moderada.⁽²¹⁾ Fue descrito por primera vez en 2002 por Eric Lander⁽²²⁾



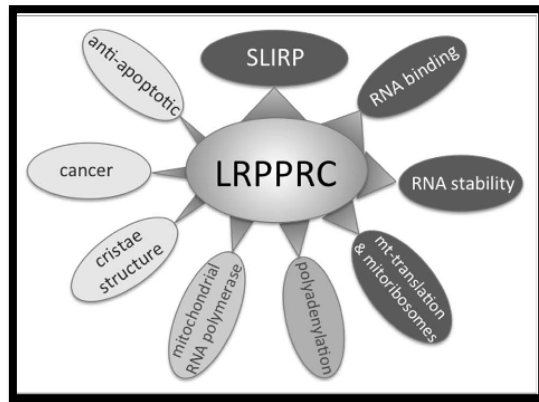
Ubicación del gen LRPPRC en del cromosoma 2.

Proteína, función y efecto de Lrpprc sobre metabolismo Esta proteína tiene una expresión ubicua en riñón, colon, y otros 25 tejidos más. Se une al RNA mitocondrial, el sitio de unión de Lrpprc está en la región carboxiterminal de la proteína y utiliza 2 dominios. Esta proteína ha atraído el interés tanto por su papel en la regulación post-transcripcional de la expresión del gen mitocondrial, progresión del ciclo celular como, más recientemente por su implicación en múltiples enfermedades oncológicas, infecciosas (replicación del VIH) y metabólicas. Lrpprc pertenece a la familia de proteínas que contienen repetición de pentatricopéptidos (PPR) ricos en leucina, con alta capacidad de unión a ARN mitocondrial, y formación de un complejo con la proteína SLIRP que alberga un dominio de motivo de reconocimiento de ARN (RRM)⁽²³⁾. Son proteínas helicoidales que albergan los 2–30 motivos PPR característicos, cada uno de ellos compuesto por unos 35 aminoácidos que se pliegan en dos alfa hélices paralelas y tiene un tamaño de 130KDaltons y 1394 aminoácidos, se encuentra en la mitocondria predominantemente, en menos frecuencia en la envoltura nuclear y retículo endoplásmico. Dentro de la mitocondria, no interviene en la formación de ADNmt sino que actúa como un regulador postranscripcional de la expresión del ADNmt en mamíferos/humanos. Es necesaria para la poliadenilación de mt-transcritos y su estabilidad, así como la biogénesis ribosomal y la traducción coordinada⁽²⁴⁾. Es necesaria en el mantenimiento de la expresión genética mitocondrial, también regula la expresión de genes que son importantes para el metabolismo de lípidos y carbohidratos. En un principio su descubrimiento fue en plantas, sin embargo se han detectado 7 tipos proteicos en humanos. La RNA polimerasa mitocondrial, la LRPPRC, MRPP3, MRPS27 y 3 proteínas que contienen dominios PPR, PTC1, 2,3)⁽²⁵⁾.

Esta proteína participa activamente en procesos de fosforilación oxidativa (OXPHOS) y beta oxidación de ácidos grasos, situaciones que pueden verse alteradas e inducir resistencia a insulina activando vías PKC y acumulación intra hepática de triglicéridos (esteatosis hepática no alcohólica) e inflamación⁽²⁶⁾. LRPPRC aumenta la expresión de genes codificados en la mitocondria relacionados con fosforilación oxidativa, esto lleva a mayor captación y oxidación de

AGL por hepatocitos, habiendo una reducción tanto en triglicéridos tanto en circulación como en hepatocitos⁽²⁷⁾.

El objetivo de este proyecto de investigación es saber cuáles son las diferencias fisiopatológicas en los pacientes portadores y no portadores de este haplotipo de riesgo en casos (sujetos con HTGF) y controles (sujetos normotrigliceridemicos).



Funciones de la proteína Lrpprc

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Se desconoce cuáles son los mecanismos fisiopatológicos por los que el haplotipo del gen *LRPPRC* se asocia con la presencia de HTGF. Se propone el estudio de la fisiopatología mediante el estudio de los siguientes parámetros funcionales entre sujetos con HTGF portadores y no portadores del haplotipo de riesgo y sujetos normotrigliceridémicos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo (controles).

1. Evaluación de tamaño de adipocitos en biopsia de tejido adiposo subcutáneo periumbilical
2. Evaluación de la cantidad de tejido adiposo visceral mediante absorciometría dual de rayos X (DXA)
3. Evaluación del AUCI (incremental area under the curve) de triglicéridos (lipemia postprandial)

4. Evaluación de la sensibilidad a insulina mediante la realización de una curva intravenosa de tolerancia a la glucosa con muestreo frecuente (FIVGTT) por sus siglas en inglés frequently sample intravenous glucose tolerance test

II. JUSTIFICACIÓN.

La asociación de la HTGF con otras comorbilidades como diabetes, esteatosis hepática y pancreatitis de repetición, hacen de su estudio una prioridad.

Se tiende a confundir el fenotipo de HTGF con otros fenotipos poligénicos tales como HLFC o con fenotipos monogénicos como el SCF y algunos autores pretenden agrupar a estos fenotipos lipídicos como “hipertrigliceridemias severas en general” sin distinción etiológica.

A pesar de que la dieta es el principal determinante de los niveles de triglicéridos séricos, el comportamiento clínico de la HTGF es muy variable y distinto al de pacientes con CHTG, por lo que sugerimos que genes candidatos potenciales, encontrados por análisis de exomas, como es el caso del gen *LRPPRC* podrían parcialmente explicar dicho comportamiento agresivo de la HTGF .

Los genes implicados en los fenotipos monogénicos *LMF1,GPIHBP1 ,APOC2, ANGTP3,4,8 LPL* no explican la concentración de TG en sujetos con HTGF en nuestra población de estudio. De igual manera los SNPs candidatos del estudio GWAS de HTG moderada (CHTG) en población mexicana no explican la concentración de triglicéridos en sujetos con HTGF en nuestra población de estudio.

El descubrimiento de la asociación del haplotipo *LRPPRC* con la concentración de triglicéridos en sujetos con HTGF abre una ventana de oportunidad para investigar las vías fisiopatológicas mediante una evaluación exhaustiva con distintos enfoques experimentales que expliquen dicha asociación.

Se requiere la caracterización clínica, bioquímica y genética de esta población, así como indagar su asociación con enfermedad cardiovascular como un terreno poco explorado.

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuáles son las diferencias fisiopatológicas entre portadores y no portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC* asociado a HTGF?

IV. ANTECEDENTES:

NECESIDAD DE DISTINGUIR FENOTIPOS DE HIPERTRIGLICERIDEMIA

La HTG es la segunda dislipidemia más frecuente en nuestro país. Existe aún escaso conocimiento así como controversia sobre la utilidad de distinguir fenotipos específicos de HTG, dentro del genotipo poligenico⁽²⁸⁾. Algunos grupos mencionan que no tiene utilidad alguna hacer esta diferencia y promueven clasificarlas en un mismo grupo recientemente denominada síndrome de quilomicronemia multifactorial (SCM) debido a que aún no se cuenta con una etiología genética específica u otros mecanismos fisiopatológicos que ayuden a dicha distinción. Sin embargo existe suficiente evidencia que el patrón aterogénico de otros fenotipos de HTG como por el caso de la HLFC, caracterizada por cambios tanto en el número de partículas (medida por la concentración de apo B), como en la composición de las partículas VLDL (medida por la concentración de triglicéridos en las VLDL)⁽²⁹⁾, no tiene el mismo mecanismo fisiopatológico, ni presentación clínica, bioquímica o riesgo cardiovascular que la hipertrigliceridemia de la HTGF, por lo tanto, es probable que los determinantes de ambas enfermedades sean distintos⁽³²⁾. En la HTGF no existe elevación de la concentración de apo B, solo cambios en la composición de las partículas, con defectos en el aclaramiento intestinal y/o hepático, dependiendo del defecto genético subyacente y su expresión heterociga u homociga, y es probable que todos estos mecanismos sean consecuencia de una disminución en la actividad enzimática de la LPL. También se sabe que su asociación con riesgo cardiovascular se da por mecanismos también distintos tales como la acumulación de remanentes de VLDL, IDL y quilomicrones altamente aterogénicos (lipemia postprandial) y finalmente esta asociación causal ya ha sido demostrada en estudios con estrategias de aleatorización mendeliana⁽³⁰⁻³³⁾.

FORMAS MONOGENICAS

Existen formas monogénicas de la HTG bien conocidas. Recientemente Moulin et al, ⁽³⁴⁾ clasifica a estas entidades como SCF. Existen pocos casos reportados a nivel mundial, la prevalencia es de 0.1%. Generalmente inician en la infancia temprana con cuadros recurrentes de pancreatitis, con un comportamiento clínico muy específico como hepato-esplenomegalia y dolor abdominal crónico y nulo o escaso riesgo cardiovascular. Generalmente a la revisión física presentan xantomas eruptivos localizados en el tronco y las extremidades, que afectan al 50% de los individuos, así como la presencia de lipemia retinalis, una apariencia lechosa, rosada, de los vasos retinianos que aparece generalmente cuando los TG rebasan los 2500mg/dl ⁽³⁵⁾ La hepato-esplenomegalia también puede ser consecuencia de la absorción de TG por los macrófagos. Los síntomas neurológicos, como irritabilidad, problemas de memoria, demencia y depresión, también se han documentado. Los pacientes con FCS tienden a tener un peso corporal más bajo debido a la restricción de su ingesta de alimentos por dolor abdominal crónico. El impacto de la enfermedad es tal que la calidad de vida y las actividades diarias, incluido el trabajo, pueden verse negativamente afectadas^(36,37).

Su etiología genética es precisa y bien conocida. Dentro de las variantes monogénicas, que se han evidenciado tanto en modelos murinos como en poblaciones humanas europeas, son variantes alélicas en los genes de *LPL*, *GPIHBP1*, *LMF1*, *APOC2*, *APOC3*, *ANGPTL3* y *ANGPTL 4*^(38,39).

Cuando nuestro grupo realizó el análisis completo del exoma, observamos que la contribución de estas variantes no fue relevante en los sujetos mestizos mexicanos con HTGF.

Cuadro con variantes monogénicas llamadas FCS

Gene	Approximate Homozygote Prevalence	Role of Gene Product in Lipolysis	Clinical Features	Molecular Features	Approximate Proportion of All Cases of Monogenic Chylomicronemia, %
<i>LPL</i>	1 per million	Hydrolysis of TG and peripheral uptake	Severe chylomicronemia in infancy or childhood	Severely reduced or absent LPL enzyme activity	95
ApoC-II (<i>APOC2</i>)	<20 families reported	Required cofactor of LPL	Severe chylomicronemia in childhood/adolescence	Absent or nonfunctional apoC-II	2.5
ApoA-V (<i>APOA5</i>)	<10 families reported	Enhancer of LPL activity	Chylomicronemia later in adulthood	Absent or defective apoA-V	1.5
<i>GPIHBP1</i>	<5 families reported	Stabilizes binding of chylomicron near LPL, supports lipolysis	Chylomicronemia later in adulthood	Absent or defective GPIHBP1	0.5
<i>LMF1</i>	<5 families reported	Chaperone molecule required for proper LPL folding/expression	Chylomicronemia later in adulthood	Absent or defective LMF1	0.5

Tomada de Lewis et al. Endocrine Reviews, February 2015, 36(1):131–147

FORMAS POLIGENICAS

También llamados por distintos autores como SCM por sus siglas en ingles MCS(multifactorial chylomicronemia syndrome) ⁽⁴⁰⁾. Este síndrome es el resultado de la combinación, en diversas proporciones, de variantes predisponentes que van desde la pérdida de la función de mutaciones heterocigotas a variantes patogénicas en genes candidatos en conjunto con la presencia de comorbilidades secundarias conocidas por elevar las TG séricos (diabetes no controlada, hipotiroidismo, embarazo) y factores ambientales (como el abuso de alcohol, una dieta no saludable) y ciertos medicamentos (como glucocorticoides, etinilestradiol, neurolépticos, betabloqueadores)^(41,42) El SCM también se caracteriza por un mayor riesgo de pancreatitis, pero en menor proporción que el SCF ⁽⁴³⁾. La quilomicronemia es a menudo transitoria y la baja actividad de LPL es inconstante, no hay un valor específico de apo B para distinguirla, ni la presencia de un familiar afectado con el mismo fenotipo que el probando. Estos pacientes se presentan con niveles de TG moderados, generalmente menores a 600mg/dl y solo cuando coexisten con causas secundarias pueden llegar a presentar valores de TG por arriba de 1000mg/dl. Este fenotipo se observa a menudo en mutaciones heterocigóticas de pérdida de función del gen *APOAV* combinadas con otras variantes tales como haplotipo *Apo AV* * 2 y *Apo AV* * . Cuando los niveles

plasmáticos de TG han disminuido parcialmente, la actividad de la LPL posterior a la heparina es normal 10 min después de la inyección, pero disminuye en muchos pacientes 60 minutos después de la inyección ⁽⁴⁴⁾. Este hallazgo respalda la hipótesis de que algunos pacientes con SCM pueden tener alteraciones sutiles de la biodisponibilidad de la LPL. Además, el alelo de la apolipoproteína E2 está sobrerrepresentado en pacientes con SCM; Es probable que el alelo E2 contribuya a la disminución del aclaramiento quilomicronómico remanente en pacientes con variantes patogénicas adicionales que alteran la actividad de la LPL. Sin embargo, la quilomicronemia grave es inusual incluso en pacientes con E2 / E2, y se debe considerar que sufren de SCM en lugar de SCF.

Estudios GWAS y otras metodologías en distintas poblaciones (y en población mexicana ⁽¹⁴⁾ han identificado genes ya conocidos, así como genes no antes asociados con la concentración de triglicéridos en sujetos con HTG moderada (CHTG), sin embargo, es limitada la contribución de estos genes en la génesis de la HTGF en la población mexicana.

Cuadro con variantes poligénicas llamadas SCM

Locus/Gene Name	CHR	SNP	Allelic Effect on Plasma TG Concentration			Allelic Effect on HTG Risk	
			Risk Allele	Effect Size, mmol/L (mg/dL)	P Value	Odds Ratio	P Value
<i>APOA5</i>	11	rs964184	G	0.19 (16.95)	7.0×10^{-240}	3.43	1.12×10^{-25}
<i>GCKR</i>	7	rs1760376	T	0.10 (8.76)	6.0×10^{-132}	1.64	1.97×10^{-7}
<i>LPL</i>	8	rs12678919	A	0.15 (13.64)	2.0×10^{-115}	2.21	3.5×10^{-5}
<i>MILXPL</i>	7	rs7811265	A	0.09 (7.91)	9.0×10^{-99}	1.63	3.3×10^{-4}
<i>TRIB1</i>	8	rs254629	A	0.06 (5.64)	3.0×10^{-55}	1.50	3.8×10^{-6}
<i>APOB</i>	2	rs1042034	T	0.07 (5.99)	1.0×10^{-45}	1.28	.032
<i>ANGPTL3</i>	1	rs2131925	T	0.06 (4.94)	9.0×10^{-43}	1.51	1.0×10^{-4}
<i>APOE*</i>	19	rs439401	C	0.06 (5.50)	1.0×10^{-20}	0.95	.68
<i>CILP2</i>	19	rs10401969	I	0.09 (7.83)	2.0×10^{-20}	1.72	6.8×10^{-3}
<i>FADS1-2-3</i>	11	rs174546	T	0.04 (3.82)	5.0×10^{-24}	1.20	.054
<i>FITP</i>	20	rs4819479	T	0.04 (3.32)	5.0×10^{-14}	1.06	.60
<i>HLA</i>	6	rs2247656	C	0.05 (2.99)	2.0×10^{-15}	1.21	.076
<i>NAT2</i>	8	rs1495743	G	0.03 (2.97)	4.0×10^{-14}	1.07	.52
<i>GALNT2</i>	1	rs1321257	G	0.03 (2.76)	2.0×10^{-14}	1.16	.12
<i>LIPC</i>	15	rs261342	G	0.03 (2.99)	2.0×10^{-13}	0.84	.13
<i>CFTP</i>	16	rs7705804	G	0.03 (2.88)	1.0×10^{-12}	1.20	.056
<i>JMJD1C</i>	10	rs10761731	A	0.03 (2.38)	3.0×10^{-12}	1.00	1.00
<i>TM6D4</i>	5	rs1553378	C	0.03 (2.63)	4.0×10^{-12}	1.21	.054
<i>KLHL8</i>	4	rs442117	I	0.03 (2.25)	9.0×10^{-12}	1.36	1.5×10^{-3}
<i>FRMD5</i>	15	rs2929282	T	0.06 (5.13)	2.0×10^{-11}	1.06	.79
<i>MAP3K1</i>	5	rs9886661	T	0.03 (2.57)	1.0×10^{-10}	1.19	.12
<i>COBLL1</i>	2	rs10195252	T	0.02 (2.01)	2.0×10^{-10}	1.13	.19
<i>LRP2</i>	12	rs11613352	C	0.03 (2.70)	4.0×10^{-10}	1.11	.35
<i>TWV1B</i>	7	rs13238203	C	0.09 (7.91)	1.0×10^{-9}	1.30	.47
<i>FRSX1</i>	8	rs11796767	C	0.02 (2.01)	1.0×10^{-9}	1.00	1.00
<i>ZNF664</i>	17	rs17310367	A	0.03 (2.42)	1.0×10^{-8}	0.97	.77
<i>CAPNS3</i>	15	rs2412710	A	0.08 (7.00)	2.0×10^{-8}	1.50	.14
<i>CYP26A1</i>	10	rs2068888	G	0.03 (2.28)	2.0×10^{-8}	1.29	5.9×10^{-2}
<i>IRS1</i>	2	rs2943645	T	0.02 (1.89)	2.0×10^{-8}	1.20	.061
<i>CTF1</i>	16	rs11649653	C	0.02 (2.13)	3.0×10^{-8}	1.05	.59
<i>MSL2L1</i>	3	rs645040	T	0.03 (2.22)	3.0×10^{-8}	1.06	.58
<i>PLA2G6</i>	22	rs5758931	T	0.02 (1.54)	4.0×10^{-8}	1.04	.70

Tomada de Lewis et al. Endocrine Reviews, February 2015, 36(1):131–147

PARTICIPACIÓN DE GEN LPL, GPIHBP1, LMF1, APOA5, APOC3, ANGPTL3,4 EN EN METABOLISMO DE TRIGLICERIDOS

La lipoprotein lipasa codificada por el gen *LPL* juega un papel fundamental en el mantenimiento de los niveles normales de triglicéridos. La LPL es sintetizada en las células parenquimatosas de varios tejidos ⁽⁴⁵⁾. Requiere de la presencia de ciertos factores que promueven su remodelación y maduración, tales como el factor madurador de lipasas en el retículo endoplásmico (*LMF1*) para ser funcional ^(46,47,48) y secretada, después es transportada a la superficie luminal de las células endoteliales vasculares donde se ancla en interacción con proteoglicanos del tipo heparán sulfato gracias a la acción de la proteína de unión a HDL glicosidil fosfatidilinositol tipo 1 codificada por el gen *GPIHBP1* ^(49,50,51). Se ha documentado recientemente que pacientes con quilomicronemia presentan deficiencia de *GPIHBP1* debido a la presencia de anticuerpos contra *GPIHBP1* que inhiben su unión y anclaje a endotelio y por ende inhiben su función⁽⁵²⁾. Los pacientes portadores de esta característica tienen menos masa de LPL alterando su actividad enzimática. También, la LPL es modificada por otras lipoproteínas como proteínas tipo angiopoyetinas (*ANGPTLs*) ^(53,54), codificadas por los genes *ANGPTL3* Y *ANGPTL4* al inhibir estas proteínas su función. La apoproteína apo CII que es un activador de la actividad enzimática de LPL, cuando hay mutaciones inactivantes en el gen de *APOC 2* alteran la actividad enzimática de la LPL contribuyendo a la HTG.⁽⁵⁵⁾ La apo CIII ⁽⁵⁶⁾ es otra apoproteína que actúa como un inhibidor de la LPL. La apo AV que es un cofactor que acelera el aclaramiento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos mediante su interacción *angptl3,8*, facilitando la acción de LPL ^(57,58). Por lo tanto, variantes genéticas en todos estos genes pueden ser causales de elevación de los niveles plasmáticos de triglicéridos⁽⁵⁹⁾.

NUEVOS GENES CANDIDATOS

Nuestro grupo contribuyó al estudio de la HTGF e identificó nuevas variantes alélicas comunes y raras mediante el análisis de exomas en sujetos mexicanos con HTGF. Uno de los genes asociado en nuestra población de estudio es el gen *LRPPRC*, no reportado antes en otras poblaciones Esto motiva a realizar como

siguiente paso la identificación de los mecanismos en estudios funcionales por los cuales estas este gen están asociado con la concentración de triglicéridos en población con HTGF. Este es un gen que codifica la proteína LRP130 necesario para la estabilización de los RNA mensajeros mitocondriales y la oxidación de ácidos grasos (beta oxidación y fosforilación oxidativa) . Su presencia fue descubierta por Lander en 2002 ⁽²²⁾, al descubrir dos mutaciones causales del Síndrome de Leigh, que se caracteriza cursar con disfunción de la cadena respiratoria a nivel mitocondrial predominantemente en el sistema de fosforilación oxidativa, y presentar alteraciones neurológicas y metabólicas tales como HTG , hiperinsulinemia e hipoadiponectinemia comparado con controles normotrigliceridemicos ($p < 0.03$) ^(61,62,63,64) También el gen *LRPPRC* incrementa la expresión de OXPHOS (sistema mitocondrial de fosforilación) ante la presencia de factores disparadores como la HTG, induciendo la expresión de NAD⁺ y promoviendo la oxidación de ácidos grasos mediante el ciclo del ácido tricarbóxico y aumenta el riesgo de esteatosis hepática no alcohólica en la población que lo padece ⁽⁶⁵⁾. En algunas cohortes de pacientes con alteraciones de la cadena respiratoria se han reportado alteraciones en el perfil de lípidos ^(66,67) donde se ha observado predominantemente niveles elevados de ácidos grasos marcadores de resistencia a insulina. En modelos murinos transgénicos con sobre expresión de *LRPPRC* se ha observado una reducción notable de triglicéridos, a diferencia de modelos murinos Knock out o Knock down para el gen *LRPPRC* con altos niveles de triglicéridos y esteatohepatitis⁽⁶⁸⁾.

ASOCIACION DE LA HTG CON RIESGO CARDIOVASCULAR: ENFASIS EN LIPEMIA POSTPRANDIAL.

El estudio de la HTG ha sido motivo de gran controversia a lo largo de los años en relación a su asociación con riesgo cardiovascular ⁽⁶⁹⁾. Hace mas de una decada ya se habia documentado la asociacion de riesgo cardiovascular elevado en pacientes con hipertrigliceridemia familiar⁽⁷⁰⁾, se desconocia su variabilidad fenotipica y se confundia facilmente con pacientes con SCF por lo que se pensaba que no tenian ningun riesgo. Sin embargo, estos pacientes oscilan del fenotipo IV (donde pueden

acumular remanentes de quilomicrones y VLDL) al fenotipo V (quilomicrones) de forma variable a lo largo de su vida , en el tiempo que pasan acumulando remanentes estan en mayor riesgo por lipemia postprandial asociada a aterosclerosis de presentar enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Aún en los sujetos tratados con estatinas como método para la reducción de colesterol LDL, existe un riesgo residual no cubierto que sigue provocando enfermedad cardiovascular⁽⁷¹⁾. Actualmente la evidencia ha demostrado, mediante un abordaje genético mendeliano, una asociación causal ⁽⁷²⁾. Existen estudios genéticos en los que ciertas variantes asociadas a pérdida de la función selectiva de reguladores clave en el metabolismo de triglicéridos como es el caso del gen *APOC3* protegen contra enfermedad cardiovascular^(73,74). Además, existe evidencia de que el periodo postprandial se asocia con aterogénesis derivada de la acumulación de partículas ricas en triglicéridos (TRP) y remanentes ricos en colesterol que por su menor tamaño son capaces de entrar al subendotelio y contribuir al igual que el colesterol LDL a la formación de la placa ateromatosa. ^(75,76,77,78). Estos estudios se han desarrollado en distintas poblaciones con HTG, incluyendo pacientes diabéticos con resistencia a insulina⁽⁷⁹⁾. La disfunción endotelial es la entrada para iniciar el proceso de aterogénesis. La hiperlipidemia postprandial está involucrada en la producción de citocinas proinflamatorias , reclutamiento de neutrófilos, macrófagos y generación de estrés oxidativo ocasionando disfunción endotelial ⁽⁸⁰⁾. Se ha reportado un nivel de triglicéridos postprandiales distinto para cada población, capaz de incrementar el riesgo cardiovascular.

V. HIPÓTESIS:

Los sujetos portadores del haplotipo de riesgo en el gen *LRPPRC* tendrán menor sensibilidad a la insulina, así como aumento en los marcadores de lipotoxicidad (mayor tamaño de adipocitos, niveles mayores de lipemia postprandial y mayor contenido de grasa visceral por DXA) comparados con los sujetos no portadores, casos y controles .

VI. OBJETIVO GENERAL

Comparar la sensibilidad a la insulina, así como los marcadores de lipotoxicidad en individuos con el haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC* con los sujetos no portadores de dicho haplotipo, casos y controles.

VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A) PRIMARIOS

- Comparar en los 4 grupos:
 - 1) casos con HTGF portadores,
 - 2) casos con HTGF no portadores,
 - 3) controles portadores,
 - 4) controles no portadores
- Comparar el AUCT y AUCI de triglicéridos después de una comida mixta estandarizada
- Comparar la grasa visceral medida por DXA
- Comparar el tamaño, área, infiltración de macrófagos de adipocitos en biopsia de tejido adiposo subcutáneo periumbilical
- Comparar sensibilidad a insulina mediante la curva de tolerancia intravenosa a la glucosa con muestreo frecuente por sus siglas en inglés (FSIVTG)

B) SECUNDARIOS

- Comparar la velocidad de onda de pulso y el grosor IMC en los 4 grupos
- Comparar el grado de esteatosis y fibrosis hepática en los 4 grupos
- Evaluar el papel del haplotipo de riesgo en el gen *LRPPRC* sobre la función mitocondrial determinando el consumo de oxígeno de células PMCB
- Evaluar el papel del haplotipo de riesgo en el gen *LRPPRC* sobre los parámetros glucolíticos determinando la secreción de protones por células PMCB.
- Evaluar el papel del haplotipo de riesgo en el gen *LRPPRC* sobre el índice bioenergético de células PMCB
- Determinar la composición, número y tamaño de lipoproteínas en los 4 grupos.

VIII. DISEÑO DEL ESTUDIO

A) **Diseño:** Estudio comparativo, de procedimiento, transversal, prolectivo.

B) **Población de estudio:**

Casos no relacionados, con HTGF portadores y no portadores del haplotipo de riesgo.

Controles no relacionados, normotriglicéridémicos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo, pareados por edad (± 5 años), género e IMC (± 3 kg/m²) y en casos con DM2 con HbA1c ($\pm 1\%$)

C) **Criterios de Selección:**

Criterios de Inclusión:

- Hombres y mujeres > 18 años no relacionados, portadores y no portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPRRC*, con HTGF fenotipo IV o V (TG > 1000mg/dl al menos una vez (TG:CT 5:1) , con TG > P90, con niveles de apo B < P90 poblacional y con estudio familiar confirmatorio).
- Controles: Hombres y mujeres > 18 años no relacionados , portadores y no portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPRRC*, normolipidémicos (TG <150mg/dl , HDL-C >40 y < 60mg/dl, LDL-C < 190mg/dl) sin uso de fármacos hipolipemiantes.

Criterios de exclusión:

- A) Otras causas primarias de HTG
- B) Embarazo
- C) Falla renal y/o hepática graves
- D) Consumo de alcohol > 10 bebidas/semana
- E) Infección por VIH
- F) Cualquier enfermedad aguda 6 semanas previas a la toma de muestra
- G) Hipotiroidismo sin tratamiento

Criterios de eliminación:

- A) Deseo del paciente de salirse del estudio.
- B) Que no concluya todos los procedimientos del estudio.

IX. MATERIAL Y MÉTODOS

A) Procedimientos:

Consentimiento informado: Durante la visita inicial, los pacientes proporcionarán el consentimiento informado para participar en el estudio. Los investigadores se apegarán a los preceptos de la Declaración de Helsinki.

Dieta isocalórica: Los participantes serán instruidos para seguir una dieta isocalórica que consta de 40% de carbohidratos, 40% de grasa (10% poliinsaturadas, 13% grasas monoinsaturadas y 7% saturadas), 20% de proteína, < 200 mg de colesterol y 20 g de fibra soluble) durante el estudio. Además, serán instruidos para mantener su actividad física habitual. Cuatro semanas después de la visita inicial, se medirá la adherencia a la terapia utilizando registros de dieta y un cuestionario que mide la actividad física (de la Universidad de Laval). Los casos cuyo peso corporal se haya mantenido estable (<5% de variación) durante el período de cuatro semanas de estabilización se incluirán en el estudio.

Cuestionario estandarizado. Se recabará información clínica (antecedentes familiares y personales de pancreatitis secundaria a HTG, diabetes, hipertensión, obesidad, enfermedad cardio-cerebrovascular toxicomanías, medicamentos, registro de alimentos de 3 días para analizarse mediante el software (Food Processor II®, ESHA Research, Salem,OR, USA),Se calculara el aporte de nutrientes de la dieta que utiliza una base datos de composición química de alimentos mexicanos y norteamericanos. Se evaluara y cuantificara la ingesta calórica, la cantidad y calidad de las grasas de la dieta, ácidos grasos saturados (AGS), trans (AGT), mono insaturados (AGMI) poliinsaturados (AGPI), omega 3 (ω 3), omega 6 (ω 6) y colesterol dietario, carbohidratos, azúcares simples. Además, para estimar la suficiencia de la alimentación se consignaron los siguientes

Indicadores dietéticos:

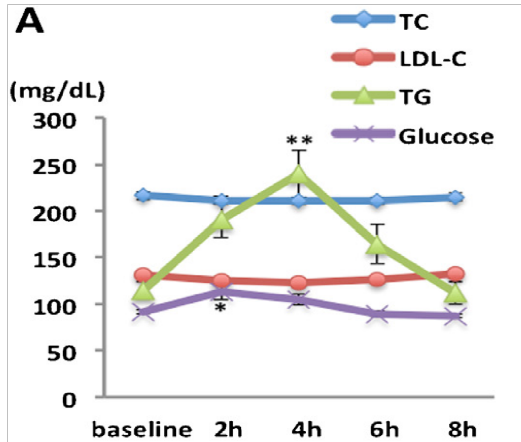
- Porcentaje de calorías grasas (G%)
- Relación de ácidos grasos de la dieta AGS: AGMI:AGPI

– Relación de ácidos grasos poliinsaturados ω 3: ω 6

Se incluirán variables antropométricas tales como cintura, peso, talla, IMC, índices cintura- cadera, cintura -estatura.

Muestras basales: Con ayuno previo de 12 hrs, se tomarán variables bioquímicas (glucosa, creatinina, HbA1c, perfil de lípidos completos, apo B, apo B48, insulina, pruebas hepáticas). Se guardara plasma para medición ulterior mediante Kits comerciales (ELISA) de niveles de la apolipoproteínas . La medición de masa de LPL se realizó en un subgrupo como subrogado de su actividad enzimática, mediante técnica ELISA utilizando anti-bovine milk LPL MoAb. (realizada por el grupo del Dr. Nakajima en Japon) . Las mediciones cuantitativas de la actividad catalítica de LPL en plasma postheparina es el método más utilizado, sin embargo, se complica por la liberación también de HL. Otro factor de confusión es la presencia de cantidades variables de triglicéridos en plasma, que pueden competir con los sustratos marcados utilizados en las determinaciones de la lipasa de TG. Los métodos para la medición de las actividades de LPL se basan en la purificación parcial y separación de estas enzimas en pequeñas columnas de heparina o en el uso de anticuerpos específicos que inhiben la actividad catalítica de LPL. Ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) de LPL en plasma humano se han descrito y son mucho más sensibles que las mediciones basadas en la actividad catalítica. Por lo que se utilizó un ELISA en sándwich para LPL humano. Se basa en el uso de dos anticuerpos monoclonales contra el LPL humano. Es sensible y reproducible, y puede detectar LPL incluso en plasma preheparinizado.

Curva de tolerancia a una comida mixta : Se solicitará que acudan con ayuno de 12 h y se les pedirá que ingieran una comida estandarizada. Se tomarán muestras en los tiempos 0, 3, 4, 6 y 8 h posterior a la ingestión de la comida mixta. La comida consistirá en una hamburguesa con queso, con 5 g de mayonesa, 71 g de papas fritas, 250 ml de leche entera. El contenido calórico total es de 919 kcal y la composición es de 50% de (51 g) de grasa, 32.7% (75 g) hidratos de carbono y 17.3% (40 g) de proteína.: la ingesta del alimento tiene que ser en 30 minutos.



Curva de lipemia postprandial en sujetos normales . Los valores se incrementan en la hora 3 y regresan a lo basal en la hora 8.

- Prueba de tolerancia a la glucosa por vía intravenosa con toma de muestras frecuentes(FSIVGTT= Frequently sampled intravenous glucose tolerance test):** El modelo mínimo nos permite obtener los parámetros metabólicos siguientes: índice de sensibilidad tisular a la insulina (Si), índice de metabolización de la glucosa independiente de la insulina (Sg) y función de la célula beta pancreática. El modelo mínimo fue desarrollado por Bergman et al. en 1979(5), y proporciona una medida indirecta de la relación Sensibilidad periférica a la insulina/Resistencia a la insulina (SPI/RI). Se basa en una representación matemática del compartimiento de la glucosa en el tiempo y utiliza un programa informático para calcular la SPI a partir de la dinámica entre la glucosa y la insulina observada durante un FSIVGTT permite la evaluación de la fase temprana y tardía de la secreción de insulina para evaluar la función de las células beta (3). Se cita al paciente en ayuno de 10-12 horas. Se pide al paciente que vacíe la vejiga. Se toma el peso corporal con bata o ropa ligera y sin calzado. Se canalizan dos venas (una en cada antebrazo). Una vía se utiliza para la toma de muestras de sangre venosa y la otra para la infusión de la carga de glucosa por vía intravenosa. Después del muestreo de sangre de referencia (minutos -15, -10, -5, 0), se inyecta en el lapso de 60 segundos en la vena antecubital un bolo de glucosa (0.3 g/kg de peso corporal) en una solución de 50%; SOLUCION DX-50 PISA, MÉXICO) utilizando bomba de infusión y se

obtienen muestras de sangre al minuto 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 14, 16, 19, 22, 24 y 25 para realizar medición de glucosa e insulina en cada tiempo. En el minuto 20 se aplica insulina 0.03UI/kg de peso y continúa midiendo insulina y glucosa. Se retiran las vías intravenosas. Se proporciona refrigerio al participante. Se da por concluido el procedimiento. Los resultados se procesan según el análisis del modelo mínimo utilizando el programa MINMOD (instalado en una PC), generando los índices antes mencionados. Proporciona una medida indirecta de la sensibilidad/resistencia a la insulina :

- **Índice de sensibilidad tisular a la insulina (Si)**

$S_i = p_3 / p_2$, es decir, $S_i = (K_2 \times [K_4 + K_6]) / K_3$

Sus unidades designadas son: $\times 10^{-4} \text{ min}^{-1} / \mu\text{UI/mL}$. Representa el incremento en la desaparición neta de glucosa de su espacio de distribución ocasionado por un aumento unitario de la insulina.

- **Índice de metabolización de la glucosa independiente de la insulina (Sg)**

Corresponde al parámetro p_1 .

$S_g = p_1 = K_1 + K_5$

Sus unidades son min^{-1} . Corresponde a la capacidad de la glucosa para incrementar su aclaramiento plasmático al suprimir la PHG y aumentar su captación periférica independiente de los niveles de insulina en plasma. Representa el incremento en la desaparición fraccional neta de la glucemia ocasionado por un aumento de la misma.

- **Función de la célula beta pancreática**

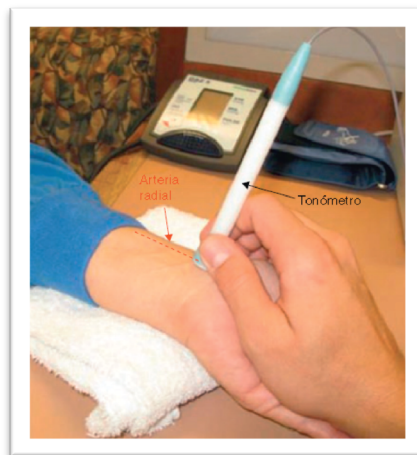
El AIRg (del inglés *acute insulin response to glucose*) es la respuesta aguda de la insulina como consecuencia del estímulo de la glucosa exógena durante los primeros 10 minutos del TTIVG.

(Ej: Tomografía), 7 días antes del estudio, no portar objetos metálicos (aretes, piercings, anillos, pulseras o collares), no haber ingerido alimentos 4 hrs. antes del estudio, pasar al baño antes de realizar el estudio. La medición de cada paciente se realizará con el mínimo de ropa (camiseta y pantalón corto) y sin objetos metálicos, sin zapatos. El sujeto se acostará de espalda o boca arriba en una cama acojinada en una posición cómoda por unos minutos, no debe moverse durante el estudio.

Biopsias de tejido adiposo subcutáneo: La biopsia se obtendrá del tejido adiposo periumbilical. Las biopsias serán utilizadas para evaluar la expresión del haplotipo LRPPCR y para su análisis histológico determinando el tamaño, forma, porcentaje de frecuencia acumulada, distribución, así como presencia de células inflamatorias proaterogénicas como macrófagos tipo 1 en los 4 grupos. Se utilizará anestesia local y será realizada por personal capacitado. Las biopsias se congelarán en nitrógeno líquido inmediatamente después de ser tomadas, ya que los análisis de interacción proteína-DNA que usa secuenciación por inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-seq), metilación genómica y experimentos de secuenciación de RNA (RNAseq) requieren que este procedimiento se haga con rapidez y eficiencia para evitar la degradación del material genético. El tejido para análisis histológico se mantendrá en solución de formol hasta su estudio.

Análisis de la velocidad de onda de pulsos (VOP) en la aorta: Todos los factores que reducen la distensibilidad del vaso sanguíneo (es decir, aumentan la «rigidez» de la pared) conducen a una VOP más alta. Los factores de riesgo ateroscleróticos causan un remodelado vascular que produce «rigidez» arterial en la aorta y otras grandes arterias(59). En diferentes estudios, la VOP se correlaciona con el número de factores de riesgo CV, el nivel de forma física, los episodios CV y la mortalidad (64). La VOP fue descrita por primera vez por la ecuación de Moens-Korteweg obtenida en los años veinte del pasado siglo, que relacionaba la VOP con la distensibilidad del vaso sanguíneo, $c_0 = \sqrt{Eh/2R\rho}$, donde c_0 es la velocidad de onda, E es el módulo de Young en la dirección circunferencial, h es el grosor de la pared, R es el radio del vaso y ρ es la densidad del líquido. Los valores normales varían

de un vaso a otro y se describen en la Tabla 1 46. La VOP aórtica suele medirse entre la arteria carótida y la femoral mediante la detección sincrónica de la llegada de la onda a ambas localizaciones y determinando la distancia entre ellas. Este método proporciona el valor de la velocidad media. El estándar de oro en la evaluación de la presión arterial no invasiva y de la velocidad de las ondas de pulso es la tecnología SphygmoCor. Destacado en cientos de estudios publicados, se utiliza en los principales centros de investigación. Este sistema registra la forma de onda del pulso radial del paciente a través de una medición tomada en la muñeca, derivan la forma de onda de la presión sanguínea en la aorta ascendente e informan los datos vitales de la presión arterial central. El sistema CPV de SphygmoCor también mide la velocidad de la onda de pulso entre dos localizaciones arteriales. El sistema CPV ofrece una evaluación no invasiva de la presión arterial central y la velocidad de la onda de pulso con un solo operador, lo que permite un análisis integrado de la rigidez de las arterias aórtica y arterial. Se ha demostrado que la presión arterial central es un predictor independiente superior de eventos cardiovasculares futuros y permite la evaluación de los efectos vitales de los fármacos que no pueden detectarse con mediciones de la presión braquial.



Medición del grosor intima media carotídea : se ha establecido como un método no invasivo para el estudio y detección de la aterosclerosis temprana y enfermedad cardiovascular . En el caso de enfermedad cardiovascular es un marcador etiológico de enfermedad de 12 grandes vasos y los factores de riesgo para ella, (diabetes, hipertensión, dislipidemia, tabaquismo). El GIMc es una doble línea visualizada en

un corte longitudinal mediante ecografía en las paredes anterior y posterior de la arteria carótida común (ACC). Estas líneas son los límites anatómicos de luz-íntima y de la capa media-adventicia de la arteria. Se define como placa aterosclerótica a las estructuras focales que invaden la luz del vaso al menos 0.5 mm ó 50% del valor GIMc circundante, o la demostración de un grosor > 1.5 mm de GIMc en cualquier sitio de la arteria.

Valores Normalidad GIMc en población mexicana

Mujeres (edad, años) Valor mm (IC 95%)

25-34 0.571 (0.564-0.578)

35-44 0.601 (0.589-0.613)

45-54 0.651 (0.635-0.667) 5

5-64 0.685 (0.659-0.712)

Hombres (edad, años)

25-34 0.571 (0.560-0.582)

35-44 0.614 (0.598-0.629)

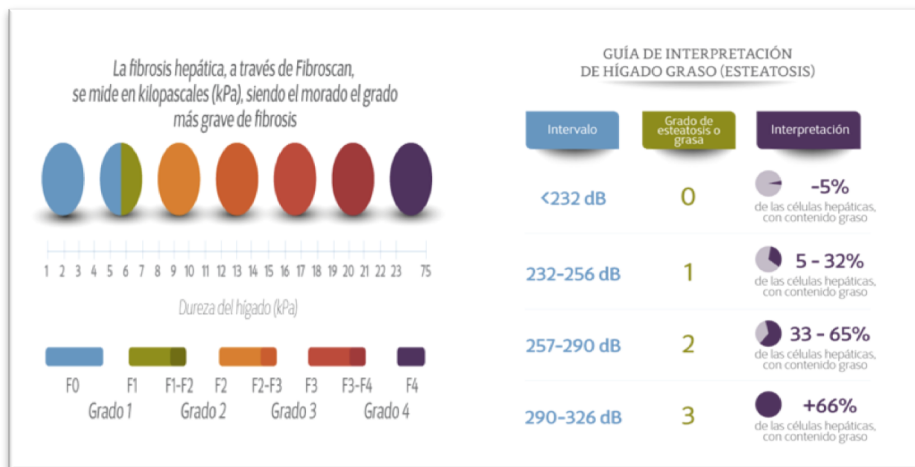
45-54 0.647 (0.630-0.663)

55-64 0.685 ((0.659-0.710)

Los estudios se completarán tres a cinco sesiones (de acuerdo a la conveniencia y disponibilidad del participante). Las evaluaciones se programarán en un período de 30 días.

Elastografía transitoria (Fibroscan) : La Elastografía Transitoria medida por el equipo FibroScan consisten en una sonda de transductor de ultrasonido de 5MHz montada en el eje de un vibrador. Las vibraciones de baja amplitud y baja frecuencia (50Hz) se transmiten al tejido hepático, induciendo una onda cortante que se propaga a través del tejido. La velocidad de la onda es directamente proporcional a la rigidez del tejido. La técnica mide la rigidez en un volumen cilíndrico de 1cm de diámetro por 4 cm de largo, alcanzando cerca de 1/500 parte del volumen hepático, lo que implica 100 veces un volumen más grande comparado con la muestra obtenida por biopsia hepática. El valor de la rigidez hepática (LSV) y los parámetros de atenuación controlada (CAP) serán evaluados usando Fibroscan 502

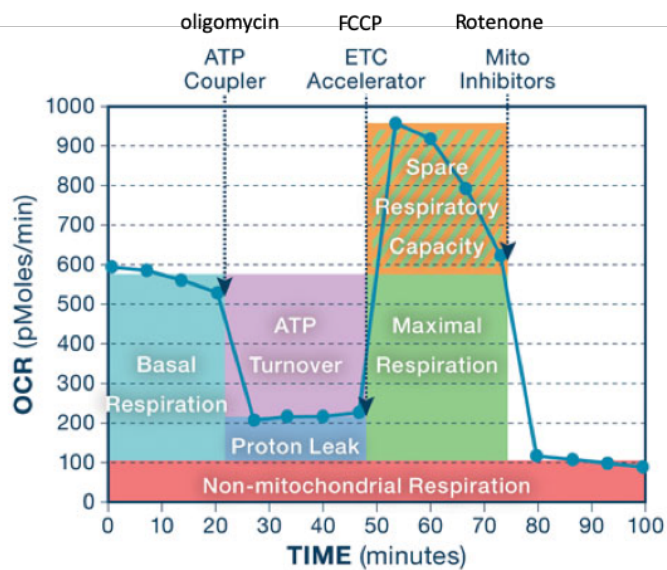
(Echosens TM) por profesionales capacitados. Por medio de la sonda M, el paciente, con cuatro horas de ayuno, se colocará en supino y el brazo derecho en máxima abducción para realizar las mediciones en el lóbulo derecho del hígado en los espacios intercostales. El LSV se expresará en kilopascales (kPa) y CAP por decibelios por metro (dB/m). Los LSV se considerarán confiables cuando se tengan al menos 10 mediciones válidas y una tasa de éxito >60% con un rango intercuartil a razón media <0.3. El CAP se medirá con los mismos criterios utilizados para LSV, asegurando que se obtuvo una atenuación ultrasónica del hígado simultáneamente en el mismo volumen hepático que el LSV. El valor final de CAP será la mediana de las mediciones del individuo.



Evaluación de la función mitocondrial, función glucolítica y índice bioenergético. En un subgrupo de pacientes mediante la extracción de sangre periférica en casos y controles se determinará la tasa de consumo de oxígeno (TCO) y la tasa de acidificación extracelular (TAE) en cultivos celulares de células mononucleares utilizando el analizador “Seahorse XFe 96” (Agilent Technologies). La TCO representa metabolismo aerobio es decir, es proporcional a la función mitocondrial mientras que la TAE con metabolismo anaerobio, es decir, la producción de piruvato y lactato derivados de la glucólisis.

Para determinar la tasa de actividad metabólica de las células mononucleares de sangre periférica de los pacientes, mediante la determinación de la TCO y la TAE

usando el equipo Seahorse XFe 96, se requiere obtener una muestra de 8 mL de sangre. Las células mononucleares de sangre periférica se obtienen por un gradiente de densidad utilizando Lymphoprep de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Las células mononucleares obtenidas se re suspenden en medio RPMI a pH 7.4 suplementado con glucosa 11mM, glutamina 2mM y piruvato 1mM y se sembraron en una placa recubierta con Cell-Tak a una densidad de 300,000 células por pozo. Posteriormente, se realizó un ensayo de estrés mitocondrial inyectando secuencialmente oligomicina (1.5uM), FCCP (1.5uM) y rotenona (0.9 uM).



Análisis de la composición, número y tamaño de lipoproteínas mediante Liposcale. En un subgrupo de pacientes se realizara la evaluación de la composición de las distintas lipoproteínas (VLDL-C, IDL-C, LDL-C, HDL-TG, VLDL-TG, IDL-TG, LDL-TG, HDL-TG), así como el tamaño de las partículas (pequeño, mediano y grande) y el número de partículas (totales, pequeño, medianos, grandes) mediante espectroscopia por resonancia magnética de la empresa española BiosferTeslab.

X. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Estadística descriptiva: Se aplicaran pruebas de normalidad a las variables continuas para verificar su distribución y realizar el correcto análisis estadístico. Se presentarán los datos como medias (\pm desviación estándar) o medianas e intervalo intercuartilar según su distribución y las variables categóricas se reportarán como porcentajes.

Estadística analítica: Se utilizará T pareada o Wilcoxon para la comparación de las variables continuas entre portadores y no portadores. Se utilizará la prueba de X^2 para evaluar la independencia entre las variables categóricas y el estatus de portador. Las correlaciones bivariadas se evaluarán utilizando coeficientes de Spearman y se realizarán correlaciones ajustadas. Se construirá un modelo de regresión lineal multivariable para buscar la asociación con el estado del haplotipo LRPPRC (portador o no portador) como variable independiente y las variables dependientes (masa grasa visceral, SI, Aig, AUCI triglicéridos, área de adipocitos) Para dicho análisis las variables no distribuidas normalmente se transformarán a logaritmo natural, se ajustarán por confusores. Se analizarán datos utilizando SPSS v21.0 (Chicago, IL) y STATA V 13.

XI. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA:

Se utilizó la fórmula para buscar diferencias de medias en estudios pareados utilizando diversas variables como desenlace y eligiendo el tamaño de muestra mayor con las variables principales del objetivo primario. Se utilizó el programa G Power. Y adicionalmente se calculó tamaño de muestra en programa stata.

$$n = \left[\frac{\sigma_d (Z_\alpha + Z_\beta)}{\Delta - 0} \right]^2$$

σ_d = Desviación estándar de la diferencia**

Z_α = 1,96 (si significancia es de 0.05), 2 colas

Z_β = 1.28 (si poder es de 90%)

$\Delta - 0$ = Diferencia entre la media de una muestra vs la otra muestra, menos 0.

$Z_{\alpha} = 0.05/5 = 0.01$. La Z_{α} se divide entre el número de observaciones (objetivos primarios) para hacer la p más estricta.

1. Utilizando la variable de desenlace **área bajo la curva incremental de triglicéridos (AUCI)** consideramos una diferencia de 10% en el área bajo la curva incremental (lipemia postprandial) ⁽³⁵⁾

t tests - Means: Difference between two dependent means (matched pairs)

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input: Tail(s) = One

Effect size $d_z = 0.4980280$

α err prob = 0.01

Power ($1-\beta$ err prob) = 0.90

Output: Noncentrality parameter $\delta = 3.7269003$

Critical t = 2.3960811

Df = 55

Total sample size = **50**

Actual power = 0.9045649

media 1 = 777 ± 890 mg/dl/hr

media 2 = 433 ± 240 mg/dl/hr

2. Considerando la **grasa visceral (DXA)** tomando en cuenta un incremento de 30% en individuos con el haplotipo de riesgo (51)

t tests - Means: Difference between two dependent means (matched pairs)

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input: Tail(s) = One

Effect size $d_z = 0.5436480$

α err prob = 0.01

Power ($1-\beta$ err prob) = 0.90

Output: Noncentrality parameter $\delta = 3.7270629$

Critical t = 2.4101881

Df = 46

Total sample size = **47**

Actual power = 0.9014541

media 1= 970±870 cm³

media 2= 560±468 cm³

3. Se utilizó la fórmula para buscar diferencias de medias. **(FSIVGTT)**

Consideramos un incremento de 30% en individuos con el haplotipo de riesgo.

t tests - Means: Difference between two dependent means (matched pairs)

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input: Tail(s) = One

Effect size dz= 0.5685432

α err prob = 0.01

Power (1-β err prob) = 0.90

Output: Noncentrality parameter δ = 3.7712889

Critical t = 2.4162501 Df = 43

Total sample size = **44**

Actual power = 0.9073884

4. Se utilizó la fórmula para buscar diferencias de medias. **(tamaño de**

adipocitos) Consideramos un incremento de 30% en individuos con el haplotipo de riesgo.

t tests - Means: Difference between two dependent means (matched pairs)

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input: Tail(s) = One

Effect size dz= 0.5685432

α err prob = 0.01

Power (1-β err prob) = 0.90

Output: Noncentrality parameter δ = 3.7712889

Critical t = 2.4162501 Df = 43

Total sample size = **44**

Actual power = 0.9073884

XII.RESULTADOS

Se presentaran resultados no pareados ya que no se ha completado la muestra total del estudio y se analizaron con pruebas para datos no pareados. Evaluación de normalidad de los datos con pruebas Shapiro Wilk, U-Mann Whitney test para variables dimensionales, X2 (Fisher) para variables categóricas

1. Características Generales

Se han realizado estudios en 120 sujetos: 52 casos con HTGF, 20 portadores y 32 sujetos portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC*. El 63% son hombres. En los casos portadores destaca una carga genética positiva para cardiopatía isquémica, no hay diferencias significativas en la presencia de pancreatitis o diabetes entre portadores y no portadores. Los valores de triglicéridos son más elevados en portadores comparados con no portadores. No se observan diferencias en el resto de los parámetros basales. Se han realizado estudios a 68 controles, 17 sujetos portadores y 51 portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC*. El 67.2% son mujeres. Los portadores tienen mayor concentración de triglicéridos comparados con los no portadores, no existen diferencias en el resto de las características basales. (tablas 1 y 2).

Tabla 1. Características generales de los sujetos de estudio

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
Edad (años)	44 (35-54)	48 (45-54)	0.08	49 (36-57)	47 (36-55)	0.52
Genero Mujer (%)	11, 37.5%	7, 35.0%	0.548	34, 68.6%	10,62.5%	0.77
AHF DM n(%)	29,93.5%	18, 80%	0.189	40, 80.4%	12,75.7%	0.72
AHF ECVA n(%)	1, 3.10%	3, 10.50%	0.003	11, 23.5%	1, 6.3%	0.16
AHF Pancreatitis n(%)	3, 9.3%	4, 20%	0.457	0	0	0
DM2 n (%)	13,42%	7,36%	0.774	2, 3.9%	2, 12.5%	0.23
Pancreatitis HTG n(%)	8, 25%	5,26.3%	1.0	0	0	0
ECVA n (%)	1, 3.2%	3, 15%	0.285	0	0	0
HAS n (%)	9, 29%	7, 36%	0.759	9.8%	0	0.32
IT	0.25 (0-5)	0.05 (0-1.9)	0.46	0 (0-0.07)	0 (0-0.15)	0.88
IMC (Kg/m2SC)	28.7(26.5-30.4)	28. (25.3-33)	0.82	26 (23-28)	25.8(23-27)	0.70
ICE	0.58 (0.52-0.61)	0.59(0.55-0.64)	0.39	0.54 (0.50- 0.60)	0.53 (0.49- 0.59)	0.80

Cintura (cm)	H:99 (90-105)	H:99 (92-109)	0.57	H:87 (83-102)	H:86 (83-101)	0.89
	M:93 (92-97)	M:96 (86-99)	0.91	M:85 (82-94)	M:84 (81-92)	0.86
TAS (mmHg)	122 (114-141)	117 (110-130)	0.29	117 (110-127)	118 (109-127)	0.90
TAD (mmHg)	77 (73-83)	75 (69-83)	0.56	76 (69-80)	75 (68-79)	0.91
Kcal	2115 (1611-2979)	2249 (1581-2740)	0.79	2309 (1736-3097)	2043 (1544-3216)	0.84
Azucares (%)	12 (7.9-13.6)	12.5 (7.9-15.2)	0.68	9.9 (6-19)	7.5 (2.1-18.5)	0.37
Grasas saturadas(%)	7.9 (5.4-10.9)	9.3 (5.7-10.3)	0.71	4.9 (3.3-8.4)	4 (2-9.4)	0.44

Tabla 2. Características bioquímicas de los sujetos de estudio

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
Glucosa, mg/dl	102 (87-128)	101 (89-115)	0.74	96 (90-104)	95 (88-98.5)	0.90
Creatinina , mg/dl	0.79(0.63-0.91)	0.86(0.66-1.01)	0.53	0.73(0.63-0.84)	0.66 (0.59-0.96)	0.45
HbA1c (%)	6 (5.3-7.5)	6 (5.5-7)	0.95	5.7(5.4-5.9)	5.5 (5.2-5.8)	0.20
ALT mg/dl	28(21-36)	26 (19-33)	0.59	22(17-30)	22 (14-23)	0.19
AST mg/dl	25(23-35)	24 (2-28)	0.29	23 (19-27)	23 (21-26)	0.63
GGT mg/dl	25 (21-37)	26 (18-33)	0.65	16 (12-22)	23 (12-15)	0.12
CT mg/dl	174(144-202)	197 (160-229)	0.27	173 (150-202)	174 (159-190)	0.69
Tg mg/dl	469 (218-737)	705 (317-1023)	0.04	100 (78-117)	117 (108-129)	0.06
HDL-C mg/dl	30 (24-33)	31 (25-40)	0.46	47 (41-54)	47 (39-54)	0.947
No HDL mg/dl	143 (115-171)	162 (130-193)	0.33	127 (103-151)	131 (109-146)	0.86
Apo B mg/dl	89(82-99)	90 (81-98)	0.96	90 (72-107)	85 (74-104)	0.94

Evaluación de lipotoxicidad (lipemia postprandial, AUCI de triglicéridos, adiposidad visceral, hepática, tamaño y área de adipocitos).

Los casos portadores del haplotipo de riesgo tienen un área incremental de triglicéridos significativamente mayor comparados con los no portadores ($p < 0.05$), así como concentraciones más elevadas de apo B48 a las 4 y 8 horas de la curva de lipemia post prandial a una comida mixta ($p = 0.05$ y $p = 0.045$). (Tabla 3). También tienen un valor más elevado de METS VF un subrogado de grasa visceral, aunque el nivel de grasa visceral no fue significativo, el valor absoluto de tejido adiposo visceral es mayor tanto en gramos como en cm^3 a pesar de no tener diferencias en IMC entre los grupos, también se observa una tendencia a mayores valores del grasa total y troncal sin observarse aun diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 4) En los estudios de elastografía los sujetos portadores presentaron mayor puntaje de decibelios por metro $p < 0.05$. El 35% grado 1 y el 10% grado 2, el 55%

en grado 3 ($p < 0.05$) no hubo diferencia en la presencia de fibrosis. (Tabla 5) . Respecto a la morfología de adipocitos hubo diferencia en el tamaño y área de adipocitos entre portadores y no portadores ($p < 0.05$) (Fig1-3) así como en la infiltración por macrófagos tipo 1 en los adipocitos de portadores y en menor grado de los no portadores (Fig. 4)

En los controles se observó una diferencia en el área bajo la curva total e incremental de triglicéridos en los portadores versus los no portadores ($p = 0.05$ y $p < 0.05$, respectivamente), así como una tendencia ($p = 0.07$) de una mayor concentración de apo B 48 a la hora 4 durante la curva . (Tabla 3) No se observaron diferencias en los estudios de composición corporal ni en el subrogado de METS VF. (Tabla 4) En los estudios de elastografía, los sujetos portadores tuvieron una tendencia a tener mayor frecuencia de esteatosis G3 comparado con los no portadores $p = 0.081$, (Tabla 5) . Referente al area y tamaño de adipocitos también se observó mayor tamaño y área en los portadores versus no portadores.($p < 0.05$) (Fig 1- 3) .

Tabla 3. Area bajo la curva total e incremental de triglicéridos posterior a una comida mixta y niveles de apo B 48 durante la curva.

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
AUIT trigliceridos	3825 (2820-6619)	4788 (2395-6784)	0.06	1274 (988-1700)	1925 (1235-2269)	0.05
AUCI trigliceridos	1042 (623-1291)	1290 (712-2370)	0.04	389 (256-615)	558 (352-608)	0.038
Apo B 48 mg/dl 0'	21.9 (3.9-71)	29 (4 .2-122)	0.120	2.5 (1.3-4.35)	3.2 (0.89-6.	0.101
Apo B 48 4 hr	16.5 (4.7-97)	40 (7-144)	0.051	2.6 (1.1-5.7)	4 (1.1-6.5)	0.078
Apo B 48 8hr	12.1 (3.8-65)	29 (5.4-141)	0.045	2.3(0.99- 4.1)	2.8 (1.1- 3.7)	0.431

Tabla 4. Composición corporal en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
Masa magra, g	46(42-54)	48 (42-53)	0.84	39 (35-43)	38 (34-45.6)	0.880
Masa grasa , g	23 (19.5-28)	25 (20-33)	0.88	23 (18--29.6)	27 (23-33)	0.144
Masa grasa, %	33 (29.8-36)	35 (29-40)	0.84	39 (32-44)	42 (39-44)	0.257
Masa grasa troncal, g	15(11-18)	22 (20-25)	0.74	12 (8.8-16)	15 (12.4-16.7)	0.137

Grasa troncal, %	38 (34-45)	40(35-46)	0.48	41 (31-45)	43 (39-47)	0.155
Masa magra troncal, g	24 (21-27)	22(20-25)	0.63	19.2 (18.1-24.7)	18.8 (17.7- 21)	0.560
VAT, cm3	1426 (1074-1792)	1736 (1290-1892)	0.33	882 (508-1226)	864 (320-637)	0.430
VAT, g	1346 (1013-1690)	1637 (1217-1785)	0.33	835 (479-1096)	820 (493-998)	0.320
METS-VF	7 (6.6-7.4)	7.9 (7.2-8.9)	0.04	6.6 (6.3-7.1)	7.0 (6.8-7.5)	0.06

Tabla 5. Elastografía hepática en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
Kilopascals (Kpa)	4 (3.6-5.6)	4.8 (3.9-5.9)	0.32	4.1 (3.4-4.6)	4.4 (3.5-4.9)	0.465
CAP dB/m	201 (198-221)	311 (247-339)	0.005	243 (235-283)	292 (221 -334)	0.263
Esteatosis Grado 0, (%)	23, 71.9%	7,35%	0.007	34,66.7%	6,37.5%	0.252
Esteatosis Grado 1, (%)	3, 9.4%	0	0.265	3, 5.9%	2,12.5%	0.586
Esteatosis Grado 2, (%)	1, 3.1%	2, 10%	0.556	2, 3.9%	3,18.3%	0.081
Esteatosis Grado 3, (%)	5,15.6%	11,55%	0.005	12,23.5%	5,31.3%	0.265
Fibrosis F0-F1 (%)	32,97%	18,90%	0.551	51, 100%	17, 100%	1
Fibrosis F2 (%)	1,3%	2, 27,5%	0.552	0	0	-
Fibrosis F3 (%)	0	0	-	0	0	-
Fibrosis F4 (%)	0	0	-	0	0	-

Figura 1. Área de los adipocitos clasificados como portadores y no portadores, n= 250 células por px, Mann-Whitney Rank Sum Test

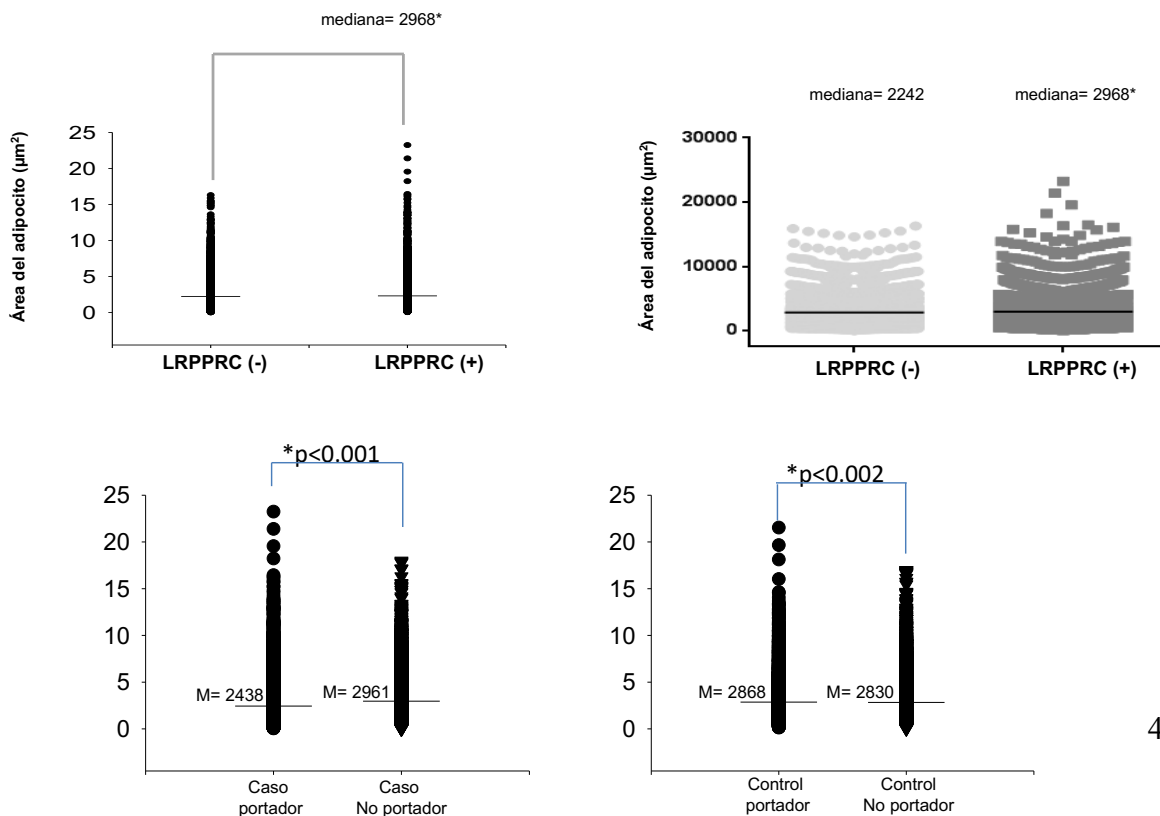


Figura 2. . A) Frecuencia relativa acumulada (%) del área de los adipocitos(μm^2), de portadores y no portadores B) Múltiples comparaciones caso y control portador y no portador $p=0.0001$,

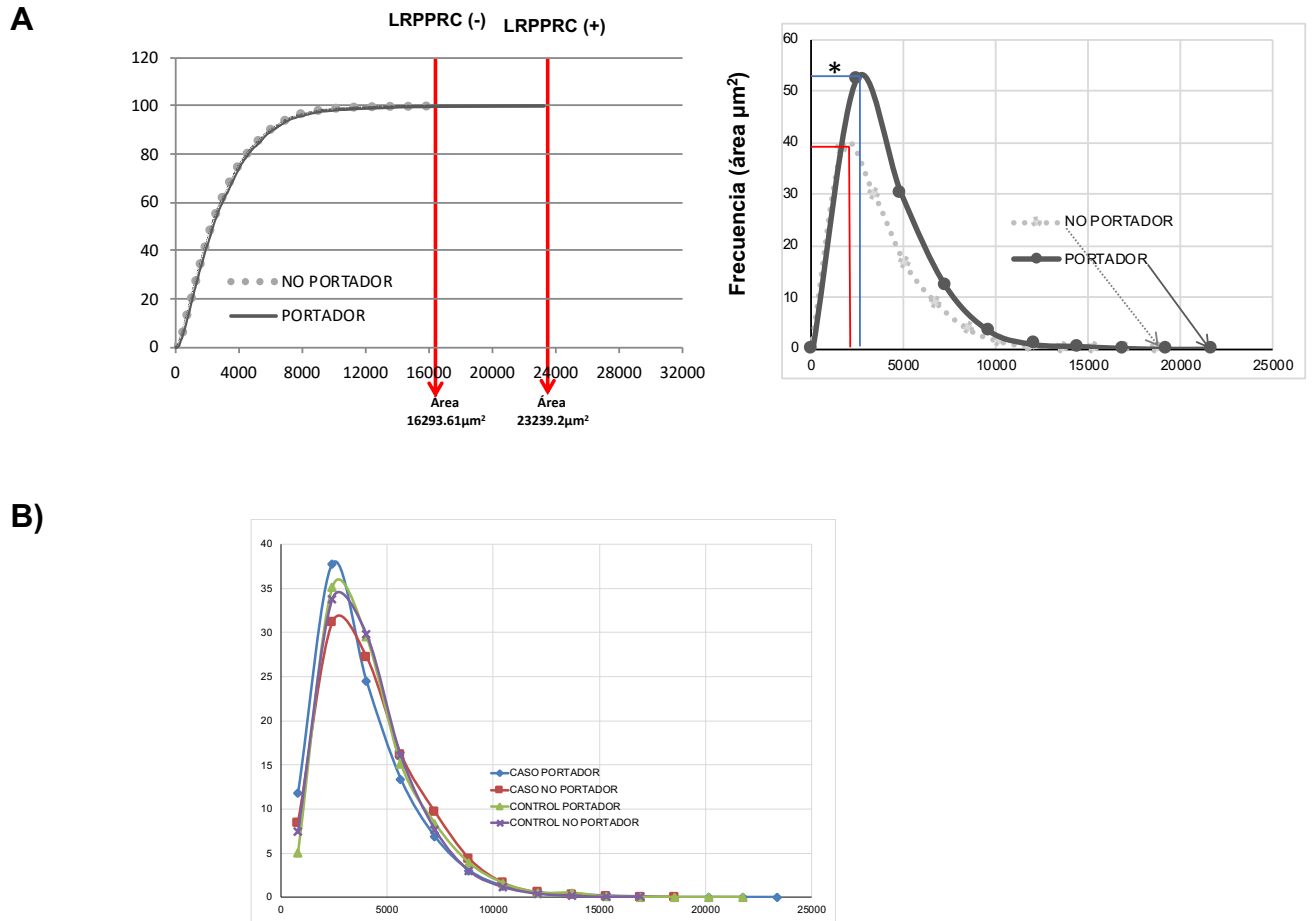
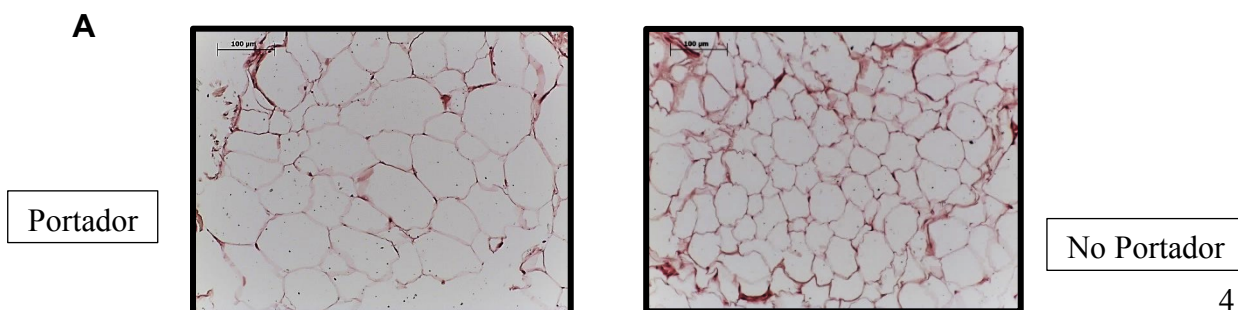


Figura 3. A) Foto representativa de adipocitos teñidos con H&E a un objetivo de 40X en portadores y no portadores. B) Microfotografía 20X adipocitos H&E. Grupos= Caso portador; $n=5000/20$, Caso no portador; $n=6750/27$, Control portador, $n= 3250/13$. and Control no portador; $n=11000/44$.



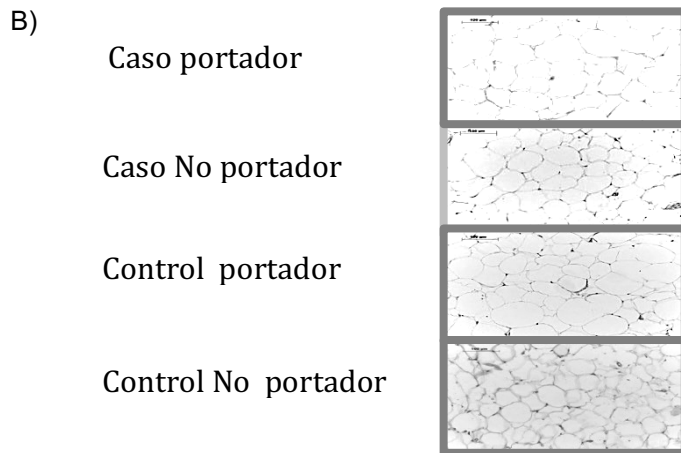
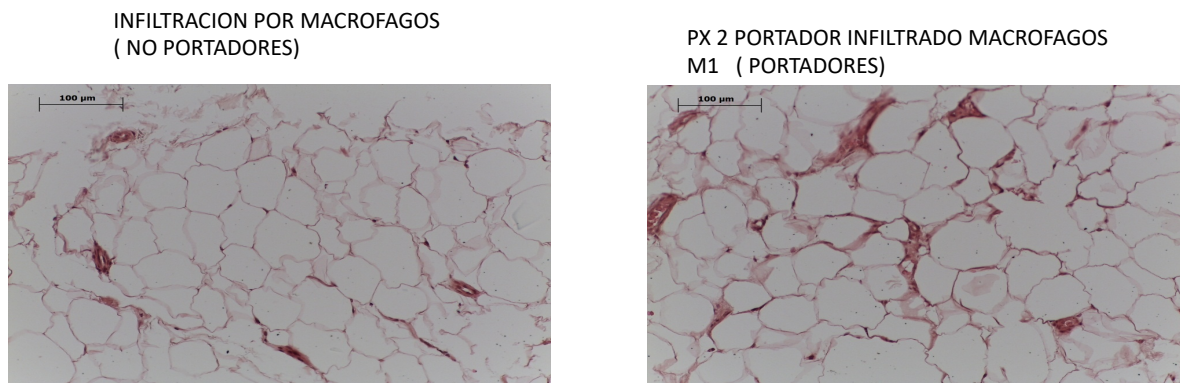


Figura 4. Foto representativa de infiltración por macrófagos M1 en portadores y no portadores.



Evaluación de resistencia a insulina (curva de tolerancia intravenosa a la glucosa con muestreo frecuente y otros índices de resistencia a insulina)

Los casos no presentaron diferencias en ningún parámetro de la curva de tolerancia intravenosa a la glucosa, ni en parámetros de sensibilidad a insulina, índice de disposición, índice de metabolización de glucosa o de función de la célula beta, así como en subrogados de resistencia a insulina como HOMA IR o METS IR , se observó una mayor área bajo la curva incremental de insulina en los casos portadores versus los no portadores ($p < 0.05$) . En los controles no se observaron diferencias (Tabla 6)

Tabla 6. Respuesta aguda a la insulina , función de la célula beta, índices de resistencia a insulina y área bajo la curva total e incremental de insulina en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo

Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
AI _{Rg} ([μ .l ⁻¹ .min]	249(23-709)	99 (19-576)	0.442	583 (236-771)	438 (132-765)	0.318
SI([$(\mu/l)^{-1}$.min ⁻¹])	2.5(1.3-4.7)	1.5 (0-99-11)	0.540	3.9 (2.3-6.6)	3.8 (2.9-4.7)	0.210
Sg ([min ⁻¹])	0.018 (0.011-0.026)	0.016 (0.011-0-026)	0.820	0.02 (0.01-0.03)	0.02 (0.01-0.04)	0.203
DI	839 (121-3825)	800 (100-1910)	0.510	2650 (2230-3720)	1900 (674-2810)	0.06
HOMA B [μ /mM]	93(76-159)	110 (63-201)	0.881	94(59-120)	98(73-111)	0.264
HOMA IR	3.5 (1.6-4.7)	3.7 (1.5-6.5)	0.360	1.6 (1.2-2.5)	1.8 (1.9-2.9)	0.245
METS IR	55 (51-60)	56 (51-68)	0.602	37.1 (34.6-42)	40.1(35-45)	0.321
INSULINA	15.4 (7.2-18.5)	19.6 (6.7-17)	0.462	7 (5.4-10)	8.2(4-9.5)	0.370
AUCT insulina	160 (118-234)	192 (101-292)	0.65	126 (86-169)	103(72-148)	0.305
AUCI insulina	62 (32-102)	108 (70-145)	0.010	35 (-4.6-75)	18 (-18-34)	0.333

Evaluación de riesgo cardiovascular (velocidad de onda de pulso, grosor íntima media carotídea y composición de lipoproteínas)

No se observaron diferencias entre la presencia de parámetros de aumentación de la aorta o velocidad de onda de pulso tanto en casos como en controles. Sin embargo, en casos portadores presentaron un GIM máxima mayor comparado con no portadores $p=0.05$, aunque la presencia de placa no fue significativa $p=0.10$ (Tabla 7). De igual forma no observamos diferencias estadísticamente significativas en el subgrupo de pacientes en cuanto a la composición de las lipoproteínas en cuanto a su contenido de colesterol o triglicéridos tanto en casos como en controles. (Tabla 8). Se observa una tendencia tanto en casos como en controles a diferencias en tamaño de las partículas siendo más abundantes las lipoproteínas VLDL -p grandes y HDL-p y LDL-p pequeñas. (Figura 5)

Tabla 7. Velocidad de onda de pulso y Grosor Intima media carotidea en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo

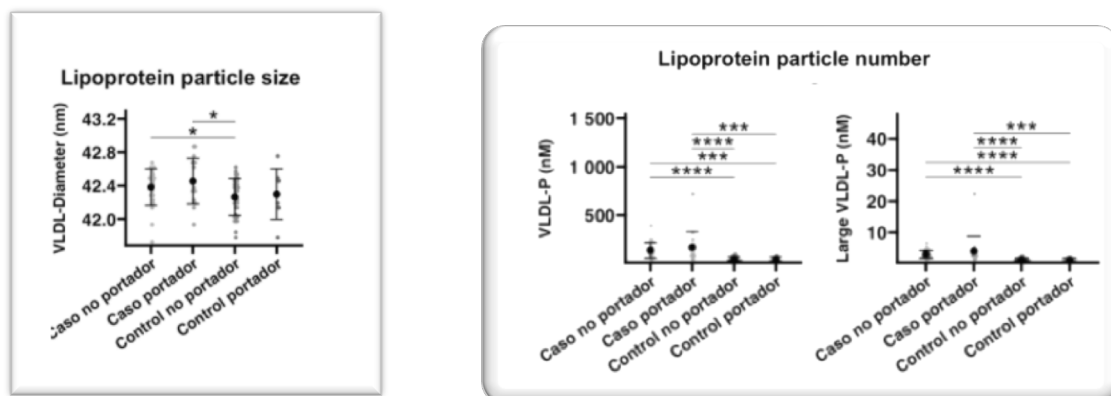
Variable	caso No portador n= 32	caso portador n=20	p	Control No portador n=51	Control Portador n=17	p
VOP	6.5 (5.6-7.9)	6.8 (5.7-8.6)	0.46	5.9 (5.5-6.5)	6.2(5.6-6.9)	0.309
Augmentación aórtica (mmHg)	12.5 (9-18)	13.5 (9-19)	0.45	12 (9-19)	16 (12.5-20)	0.824
IMC Global	0.63 (0.59-0.69)	0.64 (0.61-0.69)	0.81	0.56 (0.55-0.60)	0.64 (0.61-0.69)	0.178
IMC Maxima	0.64 (0.63-0.72)	0.74 (0.70-0.82)	0.053	0.75 (0.70-0.81)	0.75 (0.71-0.81)	0.850
Placa ACD	5, 20%	9, 45%	0.10	0	1, 6.3%	0.239

Tabla 8. Composicion de lipoproteinas en en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo

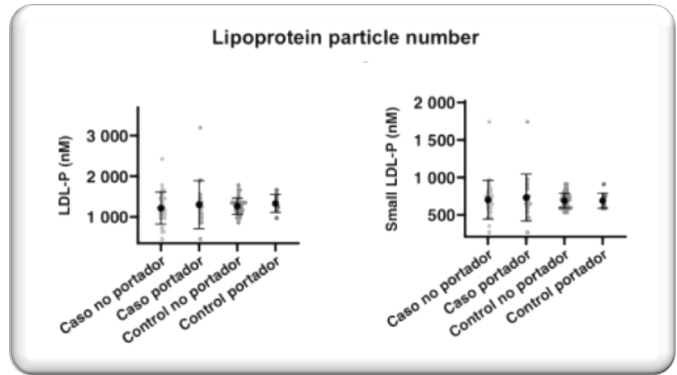
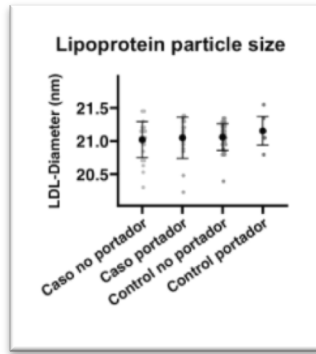
Variable	caso No portador n= 29	caso portador n=17	p	Control No portador n=35	Control Portador n=8	p
VLDL-C(mg/dL)	44.5 (32.7-64.5)	41.7(30.3-87.7)	0.91	16.6 (11.0-21.2)	18.0 (9.39-20.6)	0.93
IDL-C(mg/dL)	17.5 (13.0-24.0)	20.6 (13.9-22.2)	0.59	10.6 (8.31-13.5)	11.7 [9.86-15.3]	0.47
LDL-C(mg/dL)	106 (95.4-133)	108 (92.3-132)	0.99	126 (113-138)	131 [119-150]	0.45
HDL-C(mg/dL)	36.0 (19.9-43.3)	36.9 (22.7-45.4)	0.75	56.1 (52.9-59.3)	55.8 (52-63.59)	0.87
VLDL-Tg(mg/dL)	162 (110-228)	142 (109-294)	0.95	57.7 (43.6-87.5)	66.1 (42.5-79.4)	0.91
IDL-Tg(mg/dL)	18.6 (13.4-22.8)	19.0 (14.5-24.6)	0.69	10.9 (9.53-13.0)	11.6 (9.40-14.5)	0.59
LDL-Tg(mg/dL)	23.3 (17.6-29.9)	24.6 [18.0-34.3]	0.56	15.6 (12.8-17.7)	16.0 (15.2-17.7)	0.28
HDL-Tg(mg/dL)	34.6 (25.5-45.5)	32.4 [19.9-50.1]	0.97	13.5 (10.3-16.3)	13.4 (10.5-16.4)	0.97

Figura 5. Tamaño y número de lipoproteínas VLDL, LDL, HDL en sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo .

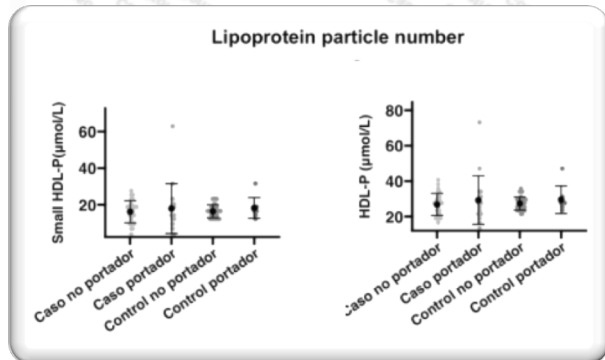
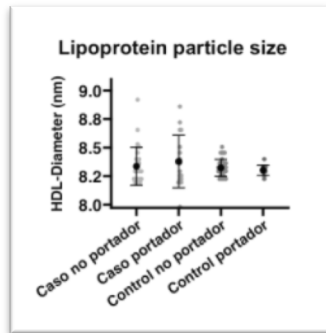
VLDL



LDL



HDL

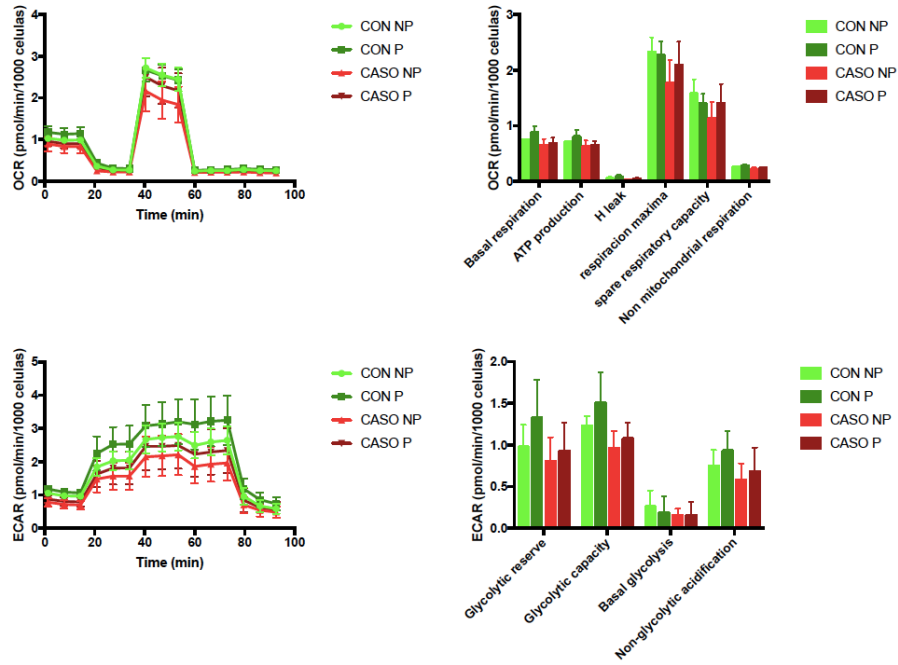


Evaluación de consumo de oxígeno y respiración mitocondrial.

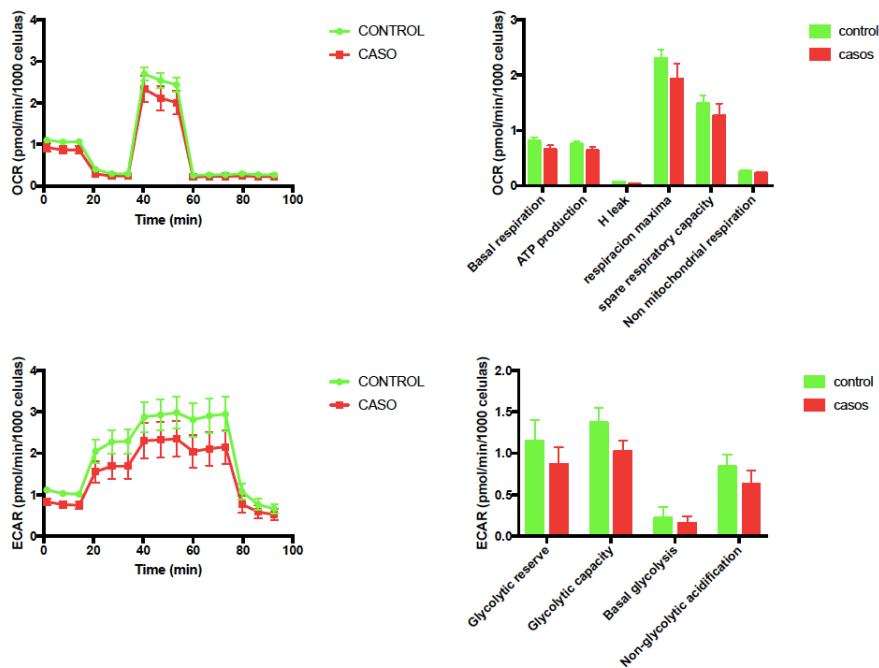
No se observaron diferencias entre portadores y no portadores tanto en casos como en controles en el consumo de oxígeno y en parámetros asociados a respiración mitocondrial, respiración máxima, capacidad respiratoria y respiración no mitocondrial, producción de ATP, índice bioenergético, capacidad glucolítica (Fig. 6)

Figura. 6 A) Consumo de oxígeno en PBMC y Parámetros asociados a la respiración mitocondrial en PBMC de los 4 grupos , B) de casos y controles y C) de portadores y no portadores

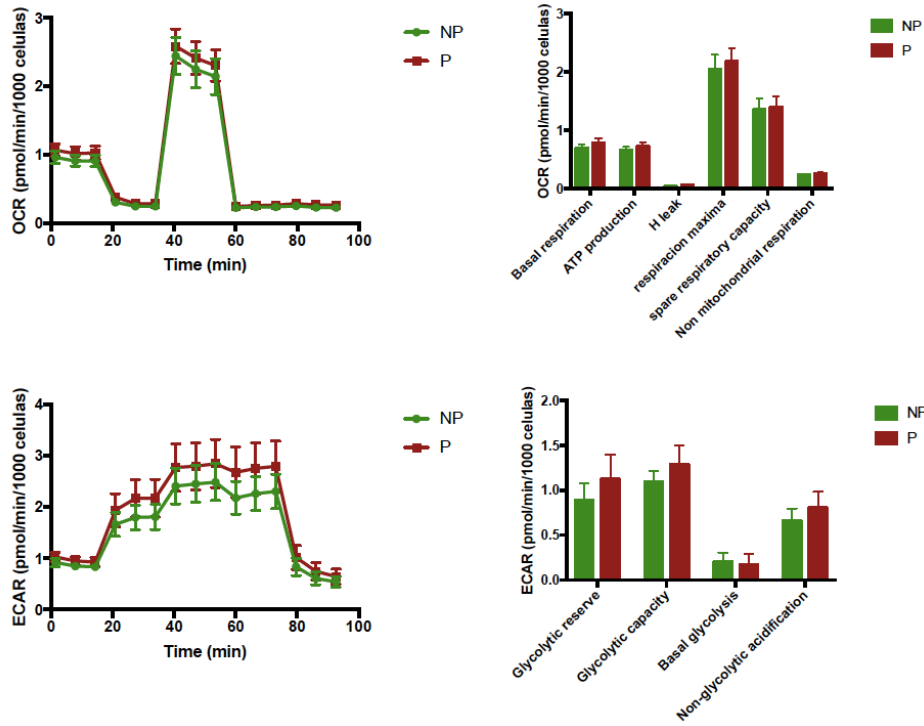
A.



B.



C



Evaluación de la masa de LPL y otros parámetros en un subgrupo de pacientes con HTGF

En un subgrupo de sujetos casos portadores y no portadores se determinó la masa de LPL como subrogado de la actividad de lipasa lipoproteica, la principal enzima que hidroliza triglicéridos en las lipoproteínas, así como se realizó medición de proteínas involucradas en el metabolismo tanto de triglicéridos como en la funcionalidad de la lipasa, (GPHIBP1 y APOAV) y se realizó la medición de anticuerpos anti GPHIBP1

Variable casos	Protector N=14	Riesgo n=14	P -value
LPL ng/ml	41 (38-50)	35 (31-39)	0.06
GPHIBP1 mass	860 (707-939)	644 (454-1070)	0.444
GPHIBP1 anticuerpos	12 (10-14)	27 (13-41)	0.145
Apo AV	1581 (746-3316)	696 (230-1181)	0.082

XIV.DISCUSIÓN

Dada la existencia de una asociación entre los SNPs (rs7593842,rs72877186 y rs58811869) del gen *LRPPRC* con el fenotipo de HTGF encontrado en un análisis de secuenciación completa del exoma en una cohorte de pacientes con HTGF y controles sin HTG , en el presente estudio se buscó evaluar diferencias en los 4 mecanismos propuestos entre sujetos portadores y no portadores del haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC* asociados a resistencia a insulina y lipotoxicidad.

Recientemente, la creciente evidencia ha señalado que la desregulación de *LRPPRC* está relacionada con varias enfermedades que van desde tumores hasta infecciones virales, se desconoce su papel específico hasta el momento en enfermedades metabólicas. Como proteína multifuncional, *LRPPRC* regula procesos biológicos, incluidos el metabolismo energético, la maduración y la exportación de ARNm nuclear. La sobreexpresión y regulación a la baja de *LRPPRC* inducen diferentes efectos. La investigación adicional de nuevas funciones de *LRPPRC* debería brindar nuevas oportunidades para una mejor comprensión de su

papel patológico en enfermedades y como un biomarcador potencial y un objetivo molecular para el tratamiento de nuevas enfermedades. En general, los SNPs en *LRPPRC* dependen de la localización de la variante en el gen y en consecuencia, pueden llevar a ganancia o pérdida de la función de la proteína y esto puede dar lugar a efectos protectores o nocivos para la salud dependiendo del órgano que afecte y el SNP del que se trate y de factores ambientales. Los efectos de los SNPs de *LRPPRC* detectados en nuestra cohorte sobre el metabolismo de lípidos se observaron principalmente en valores de triglicéridos con valores >500 mg/dl. La información relativa a la asociación entre *LRPPRC* y concentraciones de triglicéridos es limitada. La arquitectura genética de la HTG está determinada principalmente por variantes alélicas comunes con tamaño de efecto reducido a moderado y por variantes raras con efecto de mayor tamaño. , los SNPs detectados se localizan en intrones que pueden ejercer efectos deleteros si se unen a factores que alteren la expresión de la proteína, se sabe que *lrpprc* . La secuencia de 41 pb perteneciente al locus de *LRPPRC* que contiene al polimorfismo rs58811869 de riesgo para HTGF, tiene capacidad biológica de unión con los diferentes extractos de proteína nuclear de distintas líneas celulares (HepG2 y K562) y forma complejos con factores de transcripción como CTCF y NF-κB, disminuyendo su afinidad cuando se tienen el alelo de riesgo (A) para desarrollar HTGF versus el alelo protector (T). (resultados no publicados aun).

La cohorte analizada tienen ascendencia amerindia con un comportamiento distinto que otros grupos étnicos, variantes encontradas en este grupo pueden ser privativas de esta población. Gracias al abordaje de secuenciación de exomas, se es capaz de detectar variantes comunes (MAF>5%) y raras (MAF<1%), variantes intrónicas,

lo que permite realizar medicina personalizada y de precisión en dislipidemias genéticas, con una contribución mayúscula al fenotipo clínico^(81,82,83).

En el presente estudio se buscó evaluar las diferencias en los 4 mecanismos propuestos de acción del gen *LRPPRC* donde los portadores del haplotipo de riesgo tienen 6 veces más riesgo de presentar HTG severa (TG > 500mg/dl) y se hipotetiza que presentarían menor sensibilidad a la insulina y mayores efectos de lipotoxicidad determinados como acumulación de adiposidad visceral, aumento del tamaño/área de adipocitos subcutáneos periumbilicales y mayor lipemia postprandial posterior a una comida mixta. Estas hipótesis se plantearon con base a los antecedentes y estudios que demostraron alteraciones en el gen *LRPPRC* se asocian a efectos deletéreos incrementando la concentración sérica y hepática de triglicéridos, disminuyendo la expresión de OXPHOS y activando vías de señalización de resistencia tanto hepática como periférica a la acción de la insulina a través de PKC ϵ , disminuyendo beta oxidación hepática y acumulando lípidos dentro del hepatocito⁽²⁶⁾. También se han asociado a obesidad tanto en humanos como en modelos murinos⁽⁸⁴⁾.

En este estudio de los 4 objetivos principales no se observaron en sensibilidad a la insulina tanto en casos como en controles, sin embargo en los casos portadores se observa una mayor área incremental de insulina $p=0.010$, estos sujetos también cursan con mayor valor de HOMA-IR, mayor nivel de insulina sérica y mayor puntaje de METS IR aunque sin diferencias estadísticamente significativas. En los parámetros evaluados durante el modelo mínimo de la prueba de tolerancia intravenosa a la glucosa, que evalúa sensibilidad tisular y secreción de insulina,

se observa en ellos una menor AIRg (respuesta aguda a la insulina que habla de la función de la célula beta) , menor Sg (metabolización de la glucosa independiente de la insulina, es decir efectividad de la glucosa) , menor Si (sensibilidad a la insulina) y un menor Di (índice de disposición) sin significancia estadística. En los controles se puede observar la misma tendencia sin mostrar diferencias significativas estadísticas. Aunque de forma directa no hay un efecto mecanicista conocido provocado por Irpprc sobre resistencia a insulina periférica a nivel de musculo o tejido adiposo si se conoce se presume que de forma indirecta , a través de resistencia hepática a la insulina en modelos murinos y humanos , variantes que disminuyen la expresión de Irpprc , disminuyen OXPHOS (fosforilación oxidativa mitocondrial)a nivel hepatico. Por el contrario se ha observado que si hay mayor expresion de OXPHOS en higado, se mejoran los procesos de betaoxidacion , se aumenta la sensibilidad hepatica a la insulina , incluso la periferica de forma indirecta⁽²⁶⁾

Respecto a los parámetros de lipotoxicidad se observa que los sujetos casos portadores tienen una mayor lipemia postprandial : AUCI de triglicéridos (p=0.04) , asi como una mayor concentración de apo B 48 durante la 4ª y 8ª hora de la curva postprandial a una comida mixta, (p=0.05 y p=0.04) . El haplotipo de riesgo les confiere basalmente una mayor concentración de triglicéridos rs58811869, OR5.7 (IC 95% 2.5-12.5) p= 0.0000166,rs72877186, OR6.17 (IC95%2.7-14.1) p= 0.0000123, rs7593842 OR (IC95%2.7-14.3) p=9.86^{E-06}, que se traduce también en mayor lipemia postprandial. En los controles tambien se observa una mayor lipemia postprandial (p=0.038) y un incremento de apo B 48 solo en la 4ª hora con tendencia a significancia p=0.07 . Los estudios del Dr Nakajima demuestran que en pacientes

con HTG severa la disminución de la masa de proteína LPL podría causar un aumento en los niveles séricos de apo B-48 y por ende remanentes de lipoproteínas.⁽⁸⁵⁾ , se presume que los pacientes con HTGF cursan con disminución parcial de masa de LPL como principal mecanismo fisiopatológico de la HTG determinada por Brunzell y cols. . En estudios en modelos murinos se ha observado que ratones knock down para LRPPRC en distintos grados tienen concentraciones elevadas de triglicéridos séricos⁽²⁷⁾, de igual manera, los pacientes con síndrome de Leigh tienen mayor concentración de triglicéridos comparado con pacientes controles, en grado moderado.⁽⁶¹⁾ , estos hallazgos van de la mano con lo que detectamos en los pacientes.

En los estudios de composición corporal el índice METS VF⁽⁸⁶⁾ que es un subrogado de adipocidad visceral y estima la grasa visceral con un rendimiento diagnóstico mayor que otros índices, fue significativamente mayor en casos portadores comparado con los no portadores ($p=0.04$). En los controles no se observan diferencias estadísticas. El índice METS VF se calcula con componentes que incluyen edad, sexo, índice cintura/estatura y el índice METS IR⁽⁸⁷⁾ . No se observaron diferencias estadísticas significativas en grasa visceral y en grasa troncal entre portadores y no portadores, mediante absorciometría (DXA) que es el método estándar de oro, sin embargo, se observa un mayor porcentaje de grasa entre los que portan el haplotipo de riesgo. Se desconoce una asociación directa del gen LRPPRC con el tejido adiposo blanco visceral, se sabe que la disminución de la expresión de LRPPRC en tejido adiposo pardo promueve un patrón antitermogénico, originando un fenotipo de almacenamiento, este es el único acercamiento sobre el efecto de lrpprc sobre su efecto en tejido adiposo que se

conoce hasta el momento y pudiera tener el mismo efecto en tejido adiposo visceral⁽⁸⁸⁾, aunque su expresión predominantemente es en tejido pardo, acoplado con los coactivadores PGC-1 donde ambos son importantes reguladores del metabolismo oxidativo, necesarios para la gluconeogénesis hepática y para el desarrollo de los adipocitos pardos funcionales.⁽⁸⁹⁾

Se evidenció también una mayor cuantificación de grasa intrahepática mediante elastografía transitoria que es método sensible para detectar y cuantificar la cantidad de grasa intrahepática, si bien el gold estandar es la biopsia hepática, se decidió utilizar este método por ser no invasivo, rápido, de fácil acceso, evidenciando a un número mayor de portadores con niveles elevados de esteatosis hepática $p < 0.001$. Se sabe que Irppc a través de disfunción mitocondrial, alteración de beta oxidación mitocondrial, en peroxisomas y hepática a través de acumulación de acilcarnitinas de cadena muy larga, larga y media, cambios en la composición de lípidos de las membranas mitocondriales, mecanismos a través de los cuales ocasiona acumulación de triglicéridos en hepatocitos y esteatosis hepática microvesicular observada con mucha frecuencia en pacientes con alteraciones en LRPPRC⁽⁹⁰⁾.

En las biopsias de tejido adiposo subcutáneo se observa un área y tamaño mayor de adipocitos en portadores casos y controles comparados con no portadores y que adicionalmente también presentan un mayor infiltrado inflamatorio con macrófagos tipo 1 (Fig 4). Aún en el análisis histológico realizado en sujetos con un IMC < 25 kg/m²SC se observa esta diferencia en el tamaño. La proporción del total de adipocitos representados por células grasas de mayor tamaño ($>$ percentil 95) fue cinco veces mayor en portadores comparado con no portadores. Como se

menciono anteriormente el efecto de LRPPRC sobre tejido adiposo blanco se desconoce , los reportes son sobre tejido adiposo pardo , donde su subexpresion hace virar el fenotipo termogenico por un fenotipo de almacenamiento ocasionando mayor predisposicion a sindrome metabolico⁽⁸⁸⁾

Los portadores entonces en general tienen un perfil más deletéreo con mayor lipotoxicidad, mayor lipemia postprandial que se sabe esta íntimamente relacionada con aterosclerosis, determinada por aumento en las concentraciones de apo B 48 , que es un marcador de acumulo de remanentes de quilomicrones y de VLDL tanto hepáticas como intestinales que contribuyen a la carga aterogénica .

En los parámetros de objetivos secundarios estudiados :

Respecto a los estudios que evalúan riesgo cardiovascular : No se encontraron diferencias en la velocidad de onda de pulso ni en el valor de augmentación aórtica, ni en el valor de la íntima media carotídea global. Únicamente en los casos portadores se observó un valor mayor de IMC máxima $p=0.053$, este mismo grupo con un mayor porcentaje de placas de ateroma pero sin significancia estadística. En los controles se observa la misma tendencia sin encontrar diferencias estadísticas. No se observaron diferencias en el consumo de oxígeno y parámetros relacionados con respiración mitocondrial tanto en casos como en controles. Existe evidencia fenomenos de resistencia a insulina se asocian a lipotoxicidad y uno de los mecanismo propuestos es la disfunción mitocondrial ⁽⁹⁴⁾quisimos observar si los portadores de esta variante que interviene directamente en procesos de fosforilación oxidativa y homeostasis mitocondrial pudiera estar afectada, sin embargo se evaluaron pocos pacientes ($n=20$) y no detectamos alteraciones significativas . En cuanto a composición de lipoproteínas evaluadas mediante

Liposcale^(95,96) no esperamos diferencias sustanciales dadas por el haplotipo hasta el momento se desconoce su implicación directa sobre el metabolismo de la LPL o lipasa endotelial (EL).

Finalmente, de forma interesante se observa menor masa de LPL^(97,98) en los 14 casos portadores con menor masa de gphib1 y apoa5 como es esperable en sujetos con HTG severa con una concentración de anticuerpos elevada sin embargo sin significancia probablemente también por la falta de poder secundaria al número pequeño de muestra.

XV. CONCLUSIONES

- 1) Se identifico por primera vez mediante análisis de exomas variantes alélicas localizadas en el gen *LRPPRC* asociadas con el metabolismo de triglicéridos con tamaño de efecto variable. En sujetos con HTG familiar las variantes rs7593842, rs72877186 y rs58811869 confieren un OR 6.2 (2.7-14.3) p de 9.86×10^{-6} de tener HTG severa (TG > 500mg/dL).
- 2) Los sujetos casos portadores tienen un valor mayor de METS VF que es un subrogado de grasa visceral.
- 3) Tanto con casos como los controles portadores tienen un área y tamaño mayor de adipocitos.
- 4) Los sujetos portadores del haplotipo de riesgo presentan una concentración mayor de apolipoproteína B 48 y una mayor lipemia posprandial con que conlleva a mayor lipotoxicidad y riesgo cardiovascular

- 5) Los sujetos portadores del haplotipo de riesgo de igual acumulan mayor grasa intrahepática
- 6) No se observan diferencias aun en sensibilidad a insulina, está pendiente finalizar el reclutamiento del total de los sujetos de estudio.
- 7) Los sujetos portadores del haplotipo de riesgo tienden a tener menor masa de lipasa lipoproteica (LPL) sin embargo está pendiente confirmar con el resto de los sujetos ya que se analizó solo un número muy pequeño de sujetos
- 8) No hay diferencias en la composición ni número de partículas entre portadores y no portadores sin embargo los casos y controles portadores tienen a tener mayor cantidad de partículas VLDL de mayor tamaño.

XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Simha V. Management of hypertriglyceridemia. *BMJ*. 2020 Oct 12;371:m3109. doi: 10.1136/bmj.m3109. PMID: 33046451.
2. Aguilar Salinas C, Gómez Pérez FJ, Rull Juan. Et Al. Prevalence of dyslipidemia in the Mexican National Health and nutrition survey 2006. *Salud Pública Mex* 2010, Vol. 52 (sup1) 44-53
3. Wang J, Ban MR, Zou GY, Cao H, Lin T, Kennedy BA, Anand S, Yusuf S, Huff MW, Pollex RL, Hegele RA. Polygenic determinants of severe hypertriglyceridemia. *Hum Mol Genet*. 2008 Sep 15;17(18):2894-9.
4. Johansen CT, Hegele RA. Genetic bases of hypertriglyceridemic phenotypes. *Curr Opin Lipidol*. 2011 ; 22(4):247-53
5. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, European Atherosclerosis Society ConsensusPanel. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implicatios for definition, diagnosis, and management *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Aug;2(8):655-66.

6. Lahoz C, Mostaza JM. Familial hypertriglyceridemia/polygenic hypertriglyceridemia. *Clin Investig Arterioscler*. 2021 May;33 Suppl 2:37-42.
7. Bello-Chavolla OY, Kuri-García A, Ríos-Ríos M, Vargas-Vázquez A, Cortés-Arroyo JE, Tapia-González G, Cruz-Bautista I, Aguilar-Salinas CA. FAMILIAL COMBINED HYPERLIPIDEMIA: CURRENT KNOWLEDGE, PERSPECTIVES, AND CONTROVERSIES. *Rev Invest Clin*. 2018;70(5):224-236.
8. Brunzell JD. Familial Lipoprotein Lipase Deficiency and other causes of Chylomicronemia Syndrome. In: Scriver ABA, Sly W, Valle D, editors. *The Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw Hill; 1995. pp. 1913–32
9. Peng J, Luo F, Ruan G, Peng R, Li X. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis. *Lipids Health Dis*. 2017 Dec 6;16(1):233.
10. Reiner Ž. Triglyceride-Rich Lipoproteins and Novel Targets for Anti-atherosclerotic Therapy. *Korean Circ J*. 2018 Dec;48(12):1097-1119.
11. Kersten S. ANGPTL3 as therapeutic target. *Curr Opin Lipidol*. 2021 Dec 1;32(6):335-341.
12. Akoumianakis I, Zvintzou E, Kypreos K, Filippatos TD. ANGPTL3 and Apolipoprotein C-III as Novel Lipid-Lowering Targets. *Curr Atheroscler Rep*. 2021 Mar 10;23(5):20.
13. Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna T, Pajukanta P. Genetic and environmental determinants of the susceptibility of Amerindian derived populations for having hypertriglyceridemia. *Metabolism*. 2014; 63(7):887-94
14. Weissglas-Volkov D, Aguilar-Salinas CA, Nikkola E, Deere KA, Cruz-Bautista I, Arellano-Campos O, Muñoz-Hernandez LL, Gomez-Munguia L, Ordoñez-Sánchez ML, Reddy PM, Lusis AJ, Matikainen N, Taskinen MR, Riba L, Cantor RM, Sinsheimer JS, Tusie-Luna T, Pajukanta P. Genomic study in Mexicans identifies a new locus for triglycerides and refines European lipid loci. *J Med Genet*. 2013 May;50(5):298-308.
15. Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Peloso GM, Gustafsson S, Kanoni S, et al. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet*. 2013;45(11):1274–83

16. Dron JS, Wang J, Cao H, McIntyre AD, Iacocca MA, Menard JR, Movsesyan I, Malloy MJ, Pullinger CR, Kane JP, Hegele RA. Severe hypertriglyceridemia is primarily polygenic. *J Clin Lipidol*. 2019 Jan-Feb;13(1):80-88.
17. Perkel J. Life science technologies: Exome sequencing: Toward an Interpretable Genome. *Science* 2013; Vol 342: 262-264
18. Hehir-Kwa JY, Pfundt R, Veltman JA. Exome sequencing and whole genome sequencing for the detection of copy number variation. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15(8):1023-32.
19. Wessel J, Chu AY, Willems SM, Wang S, Yaghootkar H, Brody JA, Dauriz M, Hivert MF, Raghavan S, Lipovich L, Hidalgo B, Fox K, Huffman JE, An P, Lu Y, Rasmussen-Torvik LJ, Grarup N, Ehm MG, Li L, Baldridge AS, Stančáková A, Abrol R, Besse C, Boland A, Bork-Jensen J, Fornage M, Freitag DF, Garcia ME, Guo X, Hara K, Isaacs A, Jakobsdottir J, Lange LA, Layton JC, Li M, Hua Zhao J, Meidtner K, Morrison AC, Nalls MA, Peters MJ, Sabater-Lleal M, Schurmann C, Silveira A, Smith AV, Southam L, Stoiber MH, Strawbridge RJ, Taylor KD, Varga TV, Allin KH, Amin N, Aponte JL, Aung T, Barbieri C, Bihlmeyer NA, Boehnke M, Bombieri C, Bowden DW, Burns SM, Chen Y, Chen YD, Cheng CY, Correa A, Czajkowski J, Dehghan A, Ehret GB, Eiriksdottir G, Escher SA, Farmaki AE, Frånberg M, Gambaro G, Giulianini F, Goddard WA 3rd, Goel A, Gottesman O, Grove ML, Gustafsson S, Hai Y, Hallmans G, Heo J, Hoffmann P, Ikram MK, Jensen RA, Jørgensen ME, Jørgensen T, Karaleftheri M, Khor CC, Kirkpatrick A, Kraja AT, Kuusisto J, Lange EM, Lee IT, Lee WJ, Leong A, Liao J, Liu C, Liu Y, Lindgren CM, Linneberg A, Malerba G, Mamakou V, Marouli E, Maruthur NM, Matchan A, McKean-Cowdin R, McLeod O, Metcalf GA, Mohlke KL, Muzny DM, Ntalla I, Palmer ND, Pasko D, Peter A, Rayner NW, Renström F, Rice K, Sala CF, Sennblad B, Serafetinidis I, Smith JA, Soranzo N, Speliotes EK, Stahl EA, Stirrups K, Tentolouris N, Thanopoulou A, Torres M, Traglia M, Tsafantakis E, Javad S, Yanek LR, Zengini E, Becker DM, Bis JC, Brown JB, Cupples LA, Hansen T, Ingelsson E, Karter AJ, Lorenzo C, Mathias RA, Norris JM, Peloso GM, Sheu WH, Toniolo D, Vaidya D, Varma R, Wagenknecht LE, Boeing H, Bottinger EP, Dedoussis G, Deloukas P, Ferrannini E, Franco OH, Franks PW, Gibbs RA, Gudnason V, Hamsten A, Harris TB, Hattersley AT, Hayward

C, Hofman A, Jansson JH, Langenberg C, Launer LJ, Levy D, Oostra BA, O'Donnell CJ, O'Rahilly S, Padmanabhan S, Pankow JS, Polasek O, Province MA, Rich SS, Ridker PM, Rudan I, Schulze MB, Smith BH, Uitterlinden AG, Walker M, Watkins H, Wong TY, Zeggini E; EPIC-InterAct Consortium, Laakso M, Borecki IB, Chasman DI, Pedersen O, Psaty BM, Tai ES, van Duijn CM, Wareham NJ, Waterworth DM, Boerwinkle E, Kao WH, Florez JC, Loos RJ, Wilson JG, Frayling TM, Siscovick DS, Dupuis J, Rotter JI, Meigs JB, Scott RA, Goodarzi MO. Low-frequency and rare exome chip variants associate with fasting glucose and type 2 diabetes susceptibility. *Nat Commun.* 2015 Jan 29;6:5897.

20. Mili S, Piñol-Roma S. LRP130, a pentatricopeptide motif protein with a noncanonical RNA-binding domain, is bound in vivo to mitochondrial and nuclear RNAs. *Mol Cell Biol.* 2003 Jul;23(14):4972-82.

21. Debray FG, Morin C, Janvier A, Villeneuve J, Maranda B, Laframboise R, Lacroix J, Decarie JC, Robitaille Y, Lambert M, Robinson BH, Mitchell GA. LRPPRC mutations cause a phenotypically distinct form of Leigh syndrome with cytochrome c oxidase deficiency. *J Med Genet.* 2011 Mar;48(3):183-9.

22. Mootha VK, Lepage P, Miller K, Bunkenborg J, Reich M, Hjerrild M, Delmonte T, Villeneuve A, Sladek R, Xu F, Mitchell GA, Morin C, Mann M, Hudson TJ, Robinson B, Rioux JD, Lander ES. Identification of a gene causing human cytochrome c oxidase deficiency by integrative genomics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Jan 21;100(2):605-10.

23. Spåhr H, Rozanska A, Li X, Atanassov I, Lightowlers RN, Chrzanowska-Lightowlers ZM, Rackham O, Larsson NG. SLIRP stabilizes LRPPRC via an RRM-PPR protein interface. *Nucleic Acids Res.* 2016 Aug 19;44(14):6868-82.

24. Ruzzenente B, Metodiev MD, Wredenberg A, Bratic A, Park CB, Cámara Y, Milenkovic D, Zickermann V, Wibom R, Hultenby K, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Brandt U, Stewart JB, Gustafsson CM, Larsson NG. LRPPRC is necessary for polyadenylation and coordination of translation of mitochondrial mRNAs. *EMBO J.* 2012 Jan 18;31(2):443-56.

25. Bykov YS, Rapaport D, Herrmann JM, Schuldiner M. Cytosolic Events in the Biogenesis of Mitochondrial Proteins. *Trends Biochem Sci.* 2020 Aug;45(8):650-667.

26. Akie TE, Liu L, Nam M, Lei S, Cooper MP. OXPHOS-Mediated Induction of NAD⁺ Promotes Complete Oxidation of Fatty Acids and Interdicts Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS One*. 2015 May 1;10(5):e0125617.
27. Lei S, Sun RZ, Wang D, Gong MZ, Su XP, Yi F, Peng ZW. Increased Hepatic Fatty Acids Uptake and Oxidation by LRPPRC-Driven Oxidative Phosphorylation Reduces Blood Lipid Levels. *Front Physiol*. 2016 Jul 12;7:270.
28. Gary F. Lewis, Changting Xiao, and Robert A. Hegele. Hypertriglyceridemia in the Genomic Era: A New Paradigm. *Endocrine Reviews*, 2015, 36(1):131–14
29. Cruz-Bautista I, Mehta R, Cabiedes J, García-Ulloa C, Guillen-Pineda LE, Almeda-Valdés P, Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Determinants of VLDL composition and apo B-containing particles in familial combined hyperlipidemia. *Clin Chim Acta*. 2015 Jan 1;438:160-5.
30. Børge G Nordestgaard, Anette Varbo. Lipids and cardiovascular disease. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet* 2014; 384: 626–635.
31. Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, West AS, Grande P, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Genetically elevated non-fasting triglycerides and calculated remnant cholesterol as causal risk factors for myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2013 Jun;34(24):1826-33.
32. Thomsen M, Varbo A, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Low nonfasting triglycerides and reduced all-cause mortality: a mendelian randomization study. *Clin Chem*. 2014 May;60(5):737-46.
33. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province MA, Pankow JS, Eckfeldt JH, Hunt SC. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation*. 2003 Aug 5;108(5):519-23
34. Moulin P, Dufour R, Averna M, Arca M4, Cefalù AB, Noto D, D'Erasmus L, Di Costanzo A, Marais C, Alvarez-Sala Walther LA5, Banach M6, Borón J, Cramb R8, Gouni-Berthold I9, Hughes E, Johnson C, Pintado X, Reiner \approx Ω, van Lennep JR14, Soran H, Stefanutti C, Stroes E, Bruckert Identification and diagnosis of patients

with familial chylomicronaemia syndrome (FCS): Expert panel recommendations and proposal of an "FCS score". *Atherosclerosis*. 2018 Aug; 275: 265-272.

35. Falko JM. Familial Chylomicronemia Syndrome: A Clinical Guide For Endocrinologists. *Endocr Pract*. 2018 Aug;24(8):756-763

36. Gallo A, Béliard S, D'Erasmo L, Bruckert E. Familial Chylomicronemia Syndrome (FCS): Recent Data on Diagnosis and Treatment. *Curr Atheroscler Rep*. 2020 Aug 27;22(11):63.

37. Santos RD, Lorenzatti A, Corral P, Nogueira JP, Cafferata AM, Aimone D, Lourenço CM, Izar MC, Lima JG, Lottenberg AM, Alonso R, Garay K, Morales AR, Vargas-Uricoechea H, Peña CAC, Roman-González A. Challenges in familial chylomicronemia syndrome diagnosis and management across Latin American countries: An expert panel discussion. *J Clin Lipidol*. 2021 Sep-Oct;15(5):620-624

38. Carrasquilla GD, Christiansen MR, Kilpeläinen TO. The Genetic Basis of Hypertriglyceridemia. *Curr Atheroscler Rep*. 2021 Jun 19;23(8):39.

39. Surendaran R, Visser M, Heemelaar S y col. Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia. *Journal of internal Medicine*. 2012; 272: 185-196.

40. Chait A, Eckel RH. The Chylomicronemia Syndrome Is Most Often Multifactorial: A Narrative Review of Causes and Treatment. *Ann Intern Med*. 2019 May 7;170(9):626-634.

41. Paquette M, Bernard S, Hegele RA, Baass A. Chylomicronemia: Differences between familial chylomicronemia syndrome and multifactorial chylomicronemia. *Atherosclerosis*. 2019 Apr;283:137-142.

42. O'Dea LSL, MacDougall J, Alexander VJ, Digenio A, Hubbard B, Arca M, Moriarty PM, Kastelein JJP, Bruckert E, Soran H, Witztum JL, Hegele RA, Gaudet D. Differentiating Familial Chylomicronemia Syndrome From Multifactorial Severe Hypertriglyceridemia by Clinical Profiles. *J Endocr Soc*. 2019 Oct 11;3(12):2397-2410.

43. Paquette M, Amyot J, Fantino M, Baass A, Bernard S. Rare Variants in Triglycerides-Related Genes Increase Pancreatitis Risk in Multifactorial

Chylomicronemia Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 Aug 18;106(9):e3473-e3482.

44. D'Erasmo L, Di Costanzo A, Cassandra F, Minicocci I, Polito L, Montali A, Ceci F, Arca M. Spectrum of Mutations and Long-Term Clinical Outcomes in Genetic Chylomicronemia Syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Dec;39(12):2531-2541.

45. Kassner U, Salewsky B, Wühle-Demuth M, Szijarto IA, Grenkowitz T, Binner P, März W, Steinhagen-Thiessen E, Demuth I. Severe hypertriglyceridemia in a patient heterozygous for a lipoprotein lipase gene allele with two novel missense variants. *Eur J Hum Genet.* 2015 Sep;23(9):1259-61

46. Mao HZ, Ehrhardt N, Bedoya C, Gomez JA, DeZwaan-McCabe D, Mungrue IN, Kaufman RJ, Rutkowski DT, Péterfy M. Lipase maturation factor 1 (Imf1) is induced by endoplasmic reticulum stress through activating transcription factor 6 α (Atf6 α) signaling. *J Biol Chem.* 2014 Aug 29;289(35):24417-27

47. NLM Catalog: Journals referenced in the NCBI Databases de PubMed. LMF1 lipase maturation factor 1 [Homo sapiens (human)] Gene ID: 64788, updated on 9-May-2014. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/64788>

48. Péterfy M. Lipase maturation factor 1: a lipase chaperone involved in lipid metabolism. *Biochim Biophys Acta.* 2012 May;1821(5):790-4.

49. NLM Catalog: Journals referenced in the NCBI Databases de PubMed. GPIHBP1 glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1 [Homo sapiens (human)] Gene ID: 338328, updated on 2-May-2014. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/338328>

50. Vallerie SN, Bornfeldt KE. GPIHBP1: two get tangled. *Circ Res.* 2015 Feb 13;116(4):560-2.

51. Beigneux AP, Fong LG, Bensadoun A, Davies BS, Oberer M, Gårdsvoll H, Ploug M, Young SG. GPIHBP1 missense mutations often cause multimerization of GPIHBP1 and thereby prevent lipoprotein lipase binding. *Circ Res.* 2015 Feb 13;116(4):624-32

52. Beigneux AP, Miyashita K, Ploug M, Blom DJ, Ai M, Linton MF, Khovidhunkit W, Dufour R, Garg A, McMahon MA, Pullinger CR, Sandoval NP, Hu X, Allan CM,

- Larsson M, Machida T, Murakami M, Reue K, Tontonoz P, Goldberg IJ, Moulin P, Charrière S, Fong LG, Nakajima K, Young SG. Autoantibodies against GPIHBP1 as a Cause of Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2017 Apr 27;376(17):1647-1658.
53. Musunuru K, Pirruccello JP, Do R, Peloso GM, Guiducci C, Sougnez C, Garimella KV, Fisher S, Abreu J, Barry AJ, Fennell T, Banks E, Ambrogio L, Cibulskis K, Kernytsky A, Gonzalez E, Rudzicz N, Engert JC, DePristo MA, Daly MJ, Cohen JC, Hobbs HH, Altshuler D, Schonfeld G, Gabriel SB, Yue P, Kathiresan S. Exome sequencing, ANGPTL3 mutations, and familial combined hypolipidemia. *N Engl J Med*. 2010 Dec 2;363(23):2220-7.
54. Dewey FE, Gusarova V, O'Dushlaine C, Gottesman O, Trejos J, Hunt C, Van Hout CV, Habegger L, Buckler D, Lai KM, Leader JB, Murray MF, Ritchie MD, Kirchner HL, Ledbetter DH, Penn J, Lopez A, Borecki IB, Overton JD, Reid JG, Carey DJ, Murphy AJ, Yancopoulos GD, Baras A, Gromada J, Shuldiner AR. Inactivating Variants in ANGPTL4 and Risk of Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 2016 Mar 24;374(12):1123-33
55. Jiang J, Wang Y, Ling Y, Kayoumu A, Liu G, Gao X. A novel APOC2 gene mutation identified in a Chinese patient with severe hypertriglyceridemia and recurrent pancreatitis. *Lipids Health Dis*. 2016 Jan 16;15:12. doi: 10.1186/s12944-015-0171-6. Erratum in: *Lipids Health Dis*. 2016;15:42.
56. Kohan AB. Apolipoprotein C-III: a potent modulator of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2015 Apr;22(2):119-25.
57. Nilsson SK, Heeren J, Olivecrona G, Merkel M. Apolipoprotein A-V; a potent triglyceride reducer. *Atherosclerosis*. 2011 Nov;219(1):15-21.
58. Olano ME et al. Influence of apoA-V gene variants on postprandial triglyceride metabolism: impact of gender *J. Lipid Res*. 2008. 49: 945–953
59. Lamiquiz-Moneo I, Blanco-Torrecilla C, Bea AM, Mateo-Gallego R, Pérez-Calahorra S, Baila-Rueda L, Cenarro A, Civeira F, de Castro-Orós I. Frequency of rare mutations and common genetic variations in severe hypertriglyceridemia in the general population of Spain. *Lipids Health Dis*. 2016 Apr 23;15:82.

60. Liu L, Sanosaka M, Lei S, et al. LRP130 protein remodels mitochondria and stimulates fatty acid oxidation. *J Biol Chem*. 2011. 286(48):41256-64
61. Julie Thompson Legault, Laura Strittmatter, Jessica Tardif A Metabolic Signature of Mitochondrial Dysfunction Revealed through a Monogenic Form of Leigh Syndrome *Cell Rep*. 2015 November 3; 13(5): 981–989.
62. Florin Sasarman, Tamiko Nishimura, Hana Antonicka, et al. Tissue-specific responses to the LRPPRC founder mutation in French Canadian Leigh Syndrome *Human Molecular Genetics*, 2015, Vol. 24, No. 2 480–491
63. Thompson Legault J, Strittmatter L, Tardif J, Sharma R, Tremblay-Vaillancourt V, Aubut C, Boucher G, Clish CB, Cyr D, Daneault C, Waters PJ; LSFC Consortium, Vachon L, Morin C, Laprise C, Rioux JD, Mootha VK, Des Rosiers C. A Metabolic Signature of Mitochondrial Dysfunction Revealed through a Monogenic Form of Leigh Syndrome. *Cell Rep*. 2015 Nov 3;13(5):981-9
64. Liu L, Nam M, Fan W, Akie TE, Hoaglin DC, Gao G, Keane JF Jr, Cooper MP. Nutrient sensing by the mitochondrial transcription machinery dictates oxidative phosphorylation. *J Clin Invest*. 2014 Feb;124(2):768-84
65. Akie TE, Liu L, Nam M, et al. 2015. OXPHOS-Mediated Induction of NAD⁺ Promotes complete oxidation of Fatty Acids and Interdicts Non-alcoholic Fatty liver disease. *PLoS One*. 10(5):e01256617.
66. Clarke, C., Xiao, R., Place, E., Zhang, Z., Sondheimer, N., Bennett, M., Yudkoff, M., and Falk, M.J. (2013). Mitochondrial respiratory chain disease discrimination by retrospective cohort analysis of blood metabolites. *Mol. Genet. Metab*. 110, 145–152.
67. Finsterer, J., Jarius, C., and Eichberger, H. (2001). Phenotype variability in 130 adult patients with respiratory chain disorders. *J. Inherit. Metab. Dis*. 24, 560–576.
68. Lei S, Sun RZ, Wang D, Gong MZ, Su XP, Yi F, Peng ZW. Increased Hepatic Fatty Acids Uptake and Oxidation by LRPPRC-Driven Oxidative Phosphorylation Reduces Blood Lipid Levels. *Front Physiol*. 2016 Jul 12;7:270.
69. Budoff M. Triglycerides and Triglyceride-Rich Lipoproteins in the Causal Pathway of Cardiovascular Disease. *Am J Cardiol*. 2016 Jul 1;118(1):138-45.

70. Austin MA, McKnight B, Edwards KL, Bradley CM, McNeely MJ, Psaty BM, Brunzell JD, Motulsky AG. Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: A 20-year prospective study. *Circulation*. 2000; 101(24):2777.
71. Liu L, Nam M, Fan W, Akie TE, Hoaglin DC, Gao G, Keaney JF Jr, Cooper MP. Nutrient sensing by the mitochondrial transcription machinery dictates oxidative phosphorylation. *J Clin Invest*. 2014 Feb;124(2):768-84
72. Jan Borén , Niina Matikainen , Martin Adiels , Marja-Riitta Taskinen Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor *Clin Chim Acta*. 2014 Apr 20;431:131-42.
73. Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, Geary RS, Hughes SG, Viney NJ, Graham MJ, Crooke RM, Witztum JL, Brunzell JD, Kastelein JJ. Antisense Inhibition of Apolipoprotein C III in Patients with Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2015 Jul 30;373(5):438-47
74. Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med*. 2014 Dec 4;371(23):2200-6.
75. Victoria Higgins, Khosrow Adeli. Postprandial dyslipidemia: pathophysiology and cardiovascular disease risk assessment . *EJIFCC*. 2017 Oct 10;28(3):168-184
76. Farnier M, Zeller M, Masson D, Cottin Y. Triglycerides and risk of atherosclerotic cardiovascular disease: An update. *Arch Cardiovasc Dis*. 2021 Feb;114(2):132-139.
77. Duran EK, Pradhan AD. Triglyceride-Rich Lipoprotein Remnants and Cardiovascular Disease. *Clin Chem*. 2021 Jan 8;67(1):183-196.
78. Sandesara PB, Virani SS, Fazio S, Shapiro MD. The Forgotten Lipids: Triglycerides, Remnant Cholesterol, and Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk. *Endocr Rev*. 2019 Apr 1;40(2):537-557
79. Chait A, Ginsberg HN, Vaisar T, Heinecke JW, Goldberg IJ, Bornfeldt KE. Remnants of the Triglyceride-Rich Lipoproteins, Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Diabetes*. 2020 Apr;69(4):508-516.
80. Hoogeveen RC, Ballantyne CM. Residual Cardiovascular Risk at Low LDL: Remnants, Lipoprotein(a), and Inflammation. *Clin Chem*. 2021 Jan 8;67(1):143-153.

81. Su X, Cheng Y, Chang D. Lipid-lowering therapy: Guidelines to precision medicine. *Clin Chim Acta*. 2021 Mar;514:66-73.
82. Hou YC, Yu HC, Martin R, Cirulli ET, Schenker-Ahmed NM, Hicks M, Cohen IV, Jönsson TJ, Heister R, Napier L, Swisher CL, Dominguez S, Tang H, Li W, Perkins BA, Barea J, Rybak C, Smith E, Duchicela K, Doney M, Brar P, Hernandez N, Kirkness EF, Kahn AM, Venter JC, Karow DS, Caskey CT. Precision medicine integrating whole-genome sequencing, comprehensive metabolomics, and advanced imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Feb 11;117(6):3053-3062.
83. Nawawi HM, Chua YA, Watts GF. The brave new world of genetic testing in the management of the dyslipidaemias. *Curr Opin Cardiol*. 2020 May;35(3):226-233.
84. Fox CS, Heard-Costa N, Cupples LA, Dupuis J, Vasan RS, Atwood LD. Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project. *BMC Med Genet*. 2007 Sep 19;8 Suppl 1(Suppl 1):S18.
85. Kobayashi J, Nakajima K, Nohara A, Kawashiri M, Yagi K, Inazu A, Koizumi J, Yamagishi M, Mabuchi H. The relationship of serum lipoprotein lipase mass with fasting serum apolipoprotein B-48 and remnant-like particle triglycerides in type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res*. 2007 Aug;39(8):612-6.
86. Bello-Chavolla OY, Antonio-Villa NE, Vargas-Vázquez A, Viveros-Ruiz TL, Almeda-Valdes P, Gomez-Velasco D, Mehta R, Elias-López D, Cruz-Bautista I, Roldán-Valadez E, Martagón AJ, Aguilar-Salinas CA. Metabolic Score for Visceral Fat (METS-VF), a novel estimator of intra-abdominal fat content and cardio-metabolic health. *Clin Nutr*. 2020 May;39(5):1613-1621.
87. Bello-Chavolla OY, Almeda-Valdes P, Gomez-Velasco D, Viveros-Ruiz T, Cruz-Bautista I, Romo-Romo A, Sánchez-Lázaro D, Meza-Oviedo D, Vargas-Vázquez A, Campos OA, Sevilla-González MDR, Martagón AJ, Hernández LM, Mehta R, Caballeros-Barragán CR, Aguilar-Salinas CA. METS-IR, a novel score to evaluate insulin sensitivity, is predictive of visceral adiposity and incident type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol*. 2018 May;178(5):533-544

88. Cooper MP, Uldry M, Kajimura S, Arany Z, Spiegelman BM. Modulation of PGC-1 coactivator pathways in brown fat differentiation through LRP130. *J Biol Chem*. 2008 Nov 14;283(46):31960-7.
89. Nam M, Akie TE, Sanosaka M, Craige SM, Kant S, Keaney JF Jr, Cooper MP. Mitochondrial retrograde signaling connects respiratory capacity to thermogenic gene expression. *Sci Rep*. 2017 May 17;7(1):2013.
90. Ruiz M, Cuillerier A, Daneault C, Deschênes S, Frayne IR, Bouchard B, Forest A, Legault JT; LSFC Consortium, Vaz FM, Rioux JD, Burelle Y, Des Rosiers C. Lipidomics unveils lipid dyshomeostasis and low circulating plasmalogens as biomarkers in a monogenic mitochondrial disorder. *JCI Insight*. 2019 Jul 25;4(14):e12323
91. Cuillerier A, Honarmand S, Cadete VJJ, Ruiz M, Forest A, Deschênes S, Beauchamp C; LSFC Consortium, Charron G, Rioux JD, Des Rosiers C, Shoubridge EA, Burelle Y. Loss of hepatic LRPPRC alters mitochondrial bioenergetics, regulation of permeability transition and trans-membrane ROS diffusion. *Hum Mol Genet*. 2017 Aug 15;26(16):3186-3201.
92. Mallol R, Amigó N, Rodríguez MA, Heras M, Vinaixa M, Plana N, Rock E, Ribalta J, Yanes O, Masana L, Correig X. Liposcale: a novel advanced lipoprotein test based on 2D diffusion-ordered 1H NMR spectroscopy. *J Lipid Res*. 2015 Mar;56(3):737-746.
93. Pintó X, Masana L, Civeira F, Real J, Ibarretxe D, Candas B, Puzo J, Díaz JL, Amigó N, Esteban M, Valdivielso P. Consensus document of an expert group from the Spanish Society of Arteriosclerosis (SEA) on the clinical use of nuclear magnetic resonance to assess lipoprotein metabolism (Liposcale®). *Clin Investig Arterioscler*. 2020 Sep-Oct;32(5):219-229.
94. Hirano T, Nishioka F, Murakami T. Measurement of the serum lipoprotein lipase concentration is useful for studying triglyceride metabolism: Comparison with postheparin plasma. *Metabolism*. 2004 Apr;53(4):526-31.
95. Imamura S, Kobayashi J, Nakajima K, Sakasegawa S, Nohara A, Noguchi T, Kawashiri MA, Inazu A, Deeb SS, Mabuchi H, Brunzell JD. A novel method for

measuring human lipoprotein lipase and hepatic lipase activities in postheparin plasma. *J Lipid Res.* 2008 Jul;49(7):1431

ANEXOS

1.Consentimiento informado



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:
PARTICIPACIÓN DEL GEN LRPPRC EN LA HIPERTRIGLICERIDEMIA SEVERA:
ESTUDIO DE LOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS SUBYACENTES
MARZO 2018, VERSIÓN 3**

Investigador principal: Dra. Ivette Cruz Bautista
Dirección del investigador: Vasco de Quiroga 15 col. Sección XVI Tlalpan CP 14080.
Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas): móvil: 5539550154; oficina 54870900 ext. 6322
Investigadores participantes: Dr. Carlos A. Aguilar Salinas, Dra. Teresa Tusié Luna, Dra. Hortensia Moreno, Dra. Alicia Chagoya, Dra. Claudia J Bautista C., Dra. Paloma Almeda Valdés, Dra. Roopa Mehta, Dr. Alexandro Martagón Rosado.
Nombre del patrocinador del estudio: Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas.
Departamento de Biología Molecular.
Dirección del patrocinador: MISMO
Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: VERSION 3, marzo de 2018.

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar.** Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- I. La justificación y los objetivos de la investigación.
- II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.
- III. Los riesgos o molestias previstos.
- IV. Los beneficios que se pueden observar.
- V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted
- VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.
- VII. La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.
- VIII. La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la

- confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
- IX. El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.
 - X. La disponibilidad del tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.

INVITACION A PARTICIPAR COMO SUJETO DE INVESTIGACION Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado(a) Sr(a). _____

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), a través del grupo de investigación, le invitan a participar como sujeto de investigación en este estudio que tiene como objetivo: conocer los mecanismos mediante los cuales el gen *LRPPRC* se asocia a hipertrigliceridemia severa (niveles de triglicéridos en sangre arriba de 1000 mg/dl), a través de diversos estudios. La duración total del estudio es de 6 visitas en el lapso de un mes (se agendarán las fechas de las visitas según su conveniencia y disponibilidad).

Su participación en el estudio tendrá una duración variable por visita, dependerá del tipo de estudio para el cual usted acuda. El estudio más largo será el de la evaluación de la producción de lipoproteínas (grasas) por el hígado con duración de 12 horas seguido del estudio de lipemia postprandial (nivel de triglicéridos después de comer una comida) con duración de 8 horas.

El número aproximado de participantes será: 25. Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características:

1. Se le han detectado niveles de triglicéridos en sangre de más de 1000 mg/dl al menos en una ocasión.
2. Tiene triglicéridos debajo de 150 mg/dl
3. Puede ser portador o no portador del haplotipo de riesgo del gen *LRPPRC*

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En este estudio no será aplicado ningún tratamiento experimental por lo que usted no será asignado al azar a algún grupo de estudio.

Los procedimientos del estudio incluyen la realización de:

- 1) Aplicación de un cuestionario estandarizado con duración de 15 min. En él se le solicitarán datos como edad, sexo, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, pancreatitis, diabetes, elevación de colesterol y/o triglicéridos, enfermedades que padezca, medicamentos que esté tomando y dosis de los mismos
- 2) Medición de peso, talla, cintura, cadera y presión arterial
- 3) Se le pedirá seguir su dieta habitual antes de iniciar los estudios.
- 4) Se le pedirá que mantenga su actividad física habitual.
- 5) Se le pedirá que llene un registro de su dieta y cuestionario que mide actividad física cuatro semanas después.
- 6) Visita 1. Se le citará con un ayuno de 12 h, deberá acudir al sanitario antes de iniciar el estudio, Se tomarán muestras de sangre: química sanguínea (para evaluar sus niveles de azúcar en sangre y función renal), perfil de lípidos (para evaluar la cantidad de grasas presentes en la sangre como el colesterol y triglicéridos), hemoglobina glucosilada (para saber en caso de que usted padezca diabetes como está su control de la enfermedad), nivel de insulina (que valora el funcionamiento de su páncreas). Se guardará suero de la toma inicial de sangre para medir niveles de otras proteínas en sangre que participan en el metabolismo de las grasas en el cuerpo (colesterol, triglicéridos). En esta misma visita se realizará una prueba de tolerancia a la

2

su páncreas). Se guardara suero de la toma inicial de sangre para medir niveles de otras proteínas en sangre que participan en el metabolismo de las grasas en el cuerpo (colesterol, triglicéridos). En esta misma visita se realizara una prueba de tolerancia a la glucosa por vía intravenosa para saber el grado de funcionamiento de su páncreas (órgano que produce la insulina). Se le colocaran 2 catéteres (uno en cada antebrazo). En un brazo tomaremos muestras de sangre y en el otro se le administrará glucosa, se le tomaran muestras en el minuto -10, -5, 0, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 14, 16, 19, 20 (en el minuto 20 se aplicara una dosis baja de insulina rápida calculada de acuerdo a su peso) 22, 24, 25, 27, 30, 40, 50, 60, 70, 90, 100, 120, 140, 160,180 para medir sus niveles de glucosa (azúcar) e insulina en algunos. La cantidad de sangre total será de 219 ml (22 cucharadas soperas).

- D) En esta misma visita, se realizara un estudio llamado absorciometria dual de rayos X (DXA). Con este estudio conoceremos la cantidad de grasa de su cuerpo en total y la que está en el abdomen (visceral). Se le pedirá llegar con ropa ligera y cómoda (por ejemplo pants), que no se marquen los resortes, no deberá haberse realizado ningún estudio con medio de contraste 7 días antes, no estar embarazada, no portar aretes, o piercings, anillos, pulseras o collares (nada de metal), tener ayuno de 4hrs, deberá pasar al baño antes del estudio. El estudio durara aproximadamente 40 minutos. Se retirará los zapatos, se acostará de espalda o boca arriba en una cama acojinada en una posición cómoda por unos minutos, mientras que el brazo del aparato le va tomando fotografías a todo lo largo de su cuerpo. **NO** se deberá mover durante el estudio. La radiación que recibirá su cuerpo es mínima, es mucho menor que una radiografía, es igual a un día de sol estando en el exterior.
- E) En esta misma visita se realizara un ultrasonido doppler (que mide el flujo de sangre en sus arterias y si hay algún contenido de grasa depositado) en el cuello
- F) En esta misma visita se le realizara la medición de grasa en su hígado , este estudio se identificará la cantidad de grasa y fibrosis en el hígado.La fibrosis hepática es la acumulación de tejido cicatrizal, resultado de la inflamación del hígado. Se produce en la mayoría de las enfermedades crónicas del hígado. Para la detección de la grasa hepática y fibrosis se le realizará un estudio que evalúa la elasticidad o rigidez del hígado llamado elastografía transitoria (Fibroscan). El Fibroscan funciona de manera similar a un aparato de ultrasonido. Esta prueba se realiza en la consulta externa. Usted deberá acudir con ayuno de cuatro horas. Las mediciones se realizan en el lado derecho del hígado; se apoyará la sonda sobre la piel entre las costillas y se realizarán 10 mediciones en el mismo punto sin que esto produzca molestias.
- 4) En la visita 2 acudirá a realizarse un estudio llamado curva de lipemia postprandial (después de alimentos). Mediremos su nivel de triglicéridos (grasas en sangre) después de darle una comida proporcionada por nosotros que deberá ingerir en 20 minutos. La comida consistirá en una hamburguesa con queso, con mayonesa, papas fritas y leche entera. La duración de este estudio será de 8 horas, permanecerá en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas (UIEM). Se le tomarán muestras en los tiempos 0, 3, 4, 6 y 8 horas posteriores a la ingesta de la comida mixta. La cantidad de sangre tomada será de 30 ml, es decir, el equivalente a 3 cucharadas soperas)
- 5) En la visita 3 se realizarán una biopsia de grasa subcutánea alrededor del ombligo y/o de músculo (del muslo derecho o izquierdo). Deberá presentarse con ayuno de 4 horas en la UIEM. El procedimiento tendrá duración de 15 minutos. Un cirujano endocrinólogo será el encargado de realizar las biopsias. Se recostará en la mesa quirúrgica, se le aplicará anestesia local alrededor de su ombligo y se realizará una pequeña incisión de 1-2 cm de largo para extraer aproximadamente 2 gramos de tejido graso. La herida será cerrada usando pocos puntos de sutura. El mismo procedimiento se realizará en la parte anterior del muslo para obtener un fragmento de musculo. La cantidad de tejido que se obtendrá no representa riesgos para su salud, permanecerá la herida del muslo vendada por 48 h. Las muestras serán usadas para extraer RNA (material genético). Las biopsias se congelarán para analizarlas posteriormente, serán identificadas con un código con el fin de mantener su identidad confidencial. Se le

solicitará que acuda para revisar su herida y retirar los puntos de sutura 8 días después. Se le proporcionarán los números celulares de los investigadores para cualquier problema relacionado con este u otro estudio y se le proporcionará un analgésico para tomarlo en caso necesario.

- 6) En la visita 4 (subgrupo seleccionado) . Se le podrá solicitar (no a todos los pacientes) que acuda para toma de muestra adicional con la finalidad de realizar un estudio para evaluar la función respiratoria de sus células encargadas de producir energía (llamadas mitocondrias) ya que el gen que se esta estudiando (LRPPRC) puede afectar su correcto funcionamiento. Esto no tiene una repercusión directa en su salud ya que usted cuenta con mecanismos compensatorios, los estudios se realizan exclusivamente para fines de investigación.
- 7) Visita 5 (subgrupo seleccionados) . En un subgrupo de pacientes, usted puede ser elegido y se le podría citar una noche antes para darle una cena estandarizada y al día siguiente se iniciara el estudio de infusión de trazadores (sustancias como aminoácidos que son componentes de proteínas y grasas marcadas) para conocer como su hígado produce y elimina las grasas. Se tomarán 8 muestras de sangre en el transcurso de 12 horas. La cantidad de sangre que se obtendrá es de aproximadamente 150 ml (15 cucharadas soperas). Al final del estudio se le proporcionará un refrigerio.
- 8) Entrega de resultados.

Los estudios se completarán 5 sesiones (de acuerdo a la conveniencia y disponibilidad del participante). Las evaluaciones se programarán en un período de 30 días. La dosis total de sangre obtenida en todos los procedimientos es de 273 ml (equivalente a la mitad de lo que se obtiene cuando usted dona sangre, 27 cucharadas soperas).

Las intervenciones incluidas en el estudio que son parte de su tratamiento habitual (estándar) requerido para su condición son: la medición de sus niveles de glucosa, perfil de lípidos.

Las responsabilidades de los participantes incluyen: Reportar cambios de domicilio y se si agrego algún medicamento no consignado en su historia clínica inicial, avisar si se hospitaliza por cualquier causa y si será intervenido quirúrgicamente por cualquier causa

Se podrá pagar su pasaje ida y vuelta (solo de usted como paciente, no de acompañantes) en caso de que usted viva en (Edo de México, Cuernavaca, Toluca), y decida venir en transporte público.

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones. Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

1. Muestras sanguíneas: Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

2. Las biopsias de grasa subcutánea y de musculo: pueden causar dolor, sangrado e infección. El dolor se minimizará indicándole la toma de una dosis baja de analgésico. Los de infección y sangrado son minimizados utilizando técnica quirúrgica estéril por personal calificado. Puede quedar una pequeña cicatriz en los sitios de la biopsia de 1-2cm aproximadamente.

3. Los estudios radiológicos (DXA y fibroscan) no tienen riesgos inherentes.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, la búsqueda de mecanismos fisiopatológicos sobre la participación de este gen en la hipertrigliceridemia severa podría permitir desarrollar nuevos blancos terapéuticos y con esto hacer un tratamiento más personalizado de esta enfermedad. Además, gracias a su participación altruista, su comunidad se puede beneficiar significativamente al encontrar nuevas formas de atender esta complicación médica. A todos los participantes se les instruirá sobre la adopción de un estilo de vida saludable. A los pacientes con hipertrigliceridemia se ajustará el tratamiento farmacológico con el fin de alcanzar el mejor control posible y se dará orientación nutricional por una nutrióloga capacitada.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno.

COMPENSACION

Si llegara a presentarse alguna complicación como resultado directo de su participación en este estudio, por parte del protocolo le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, si lo amerita, al especialista médico que requiera.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Por lo que usted puede elegir no participar en el estudio. En caso de decidir no participar, usted como derechohabiente del Instituto, seguirá recibiendo el tratamiento o manejo habitual (estándar) para su enfermedad, el cual consiste en tratamiento farmacológico hipolipemiante (fibratos), tratamiento nutricional.

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:

Los resultados o materiales obtenidos en el estudio serán propiedad del INCMNSZ. Si un producto comercial es desarrollado como resultado del estudio, tal insumo será propiedad del Instituto o quienes ellos designen. En tal caso, usted no recibirá un beneficio financiero por el mismo.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos a la Dra. Ivette Cruz Bautista (54870900 ext 6321, 6322). Cabe mencionar que la investigación es un proceso largo y complejo, por tanto, el obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho en caso de que usted tenga expediente en el Instituto. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se le informará a tiempo si nueva información es obtenida que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

El investigador o el patrocinador del estudio puede excluirlo del estudio si presenta otras alteraciones como son: nivel alto de apolipoproteína B, tiene pancreatitis aguda.

El estudio puede ser terminado en forma prematura si se presentan dificultades económicas para mantener operando el estudio.

Los procedimientos que serán necesarios si usted termina su participación en el estudio son: ninguno.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los reporte públicos del estudio. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y serán codificadas con un número de serie

Los resultados de estudios genéticos podrían ser causa de discriminación para las personas que tengan alguna anomalía que los predisponga a una enfermedad. Tomaremos las precauciones y acciones necesarias para evitar que su información sea conocida por terceros que pudieran tomar acciones discriminatorias contra usted.

Los resultados de los estudios genéticos no serán incluidos en su expediente del Instituto, a menos que tengan implicaciones para su tratamiento.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio, por favor póngase en contacto con la Dra. Ivette Cruz Bautista, Investigadora C, adscrita al Departamento de Endocrinología y Metabolismo en el INCMNSZ al teléfono: 54870900 ext. 6322. Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo. Teléfono: 54870900 ext. 6101).

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas (sangre total, suero, plasma, tejido adiposo periumbilical) para ser utilizadas en éste estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
a. ¿Ha leído y entendido el formato de consentimiento informado, en su lengua materna?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
h. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. ¿Ha discutido usted otras opciones de tratamiento con el médico participante en el estudio y entiende usted que otras opciones de tratamiento están a su disposición?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
k. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que usted no siguió los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicamente su retiro es en su mejor interés?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
l. ¿Entiende que el estudio puede ser suspendido por el patrocinador del estudio en cualquier momento?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
m. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Declaración del paciente: Yo, _____ declaro que es mi decisión participar como sujeto de investigación clínica en el estudio. Mi participación es voluntaria. Se me ha informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica ni en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en este estudio. También puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si así los solicito.

Si tengo preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto la Dra. Ivette Cruz Bautista, responsable del proyecto en el Departamento de Endocrinología del INCMNSZ teléfono: 54870900 ext. 6322. Si usted tiene preguntas sobre sus derechos como participante en el estudio, problemas, preocupaciones o preguntas, obtener información, y ofrecer información que puede hablar con el Presidente del Comité de Ética de Investigación de INCMNSZ Dr. Arturo Galindo. Teléfono: 54870900 ext. 6101).

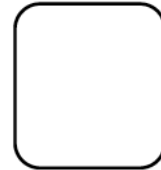
Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible.

He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado. Tengo claro que en caso de tener preguntas sobre mis derechos como sujeto de investigación clínica en este estudio, problemas, preocupaciones o dudas, y deseo obtener información adicional, o bien, hacer comentarios sobre el desarrollo del estudio, tengo la libertad de hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ Dr. Arturo Galindo Fraga, teléfono: 54870900. Ext. 6101).

Nombre del / de la Participante

Firma del / de la Participante

Fecha



Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

Nombre del representante legal (si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

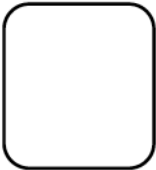
Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Nombre del / de la Participante	Firma del / de la Participante
Fecha	
Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir	
Nombre del representante legal (si aplica)	Firma del representante legal
Fecha	
Nombre del Investigador que explicó el documento	Firma del Investigador
Fecha	
Nombre del Testigo 1	Firma del Testigo 1
Fecha	Relación con el participante:
Dirección: _____	

Nombre del Testigo 2	Firma del Testigo 2

2. Carta de aprobacion anual comité de etica ultimo año 2021



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

Ciudad de México, a 27 de noviembre de 2020
Oficio No. Mcontrol-1536/2020
REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627

DRA. IVETTE CRUZ BAUTISTA
INVESTIGADORA PRINCIPAL
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES METABÓLICAS
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN
AV. VASCO DE QUIROGA No. 15
COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI
DEL TLALPAN, CIUDAD DE MÉXICO, C.P. 14080
PRESENTE

En respuesta a su atenta del pasado 03 de noviembre, en relación al Protocolo de Investigación Clínica, titulado:

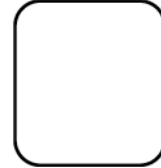
"PARTICIPACIÓN DEL GEN LRPPRC EN LA HIPERTRIGLICERIDEMIA SEVERA: ESTUDIO DE LOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS SUBYACENTES"

REF. 2050

Nombre del / de la Participante

Firma del / de la Participante

Fecha



Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

Nombre del representante legal (si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2