

¿Diagnóstico de hipobetalipoproteinemia en un niño de 8 años?

Diagnosis of hypobetalipoproteinemia in an 8-year-old child?

Diagnóstico hipobetalipoproteinemia numa criança de 8 anos?

- Teresa Arrobas Velilla^{1a,b}, Manuel García Martín^{2c}, Carmen Rivera de la Rosa^{3c}, Isabel Orive de Diego^{4b}, Carmen Cruz Mengibar^{5b}, Fernando Fabiani Romero^{6b}

¹ Doctora en Farmacia.

² Doctor en Medicina.

³ Doctora en Medicina.

⁴ Diplomada en Enfermería.

⁵ Técnico de Laboratorio.

⁶ Doctor en Química.

^a Facultad de Medicina, Kinesiología y Obstetricia de la Universidad Autónoma de Chile. Chile.

^b Laboratorio de Nutrición y Riesgo Vascular. U.G.C. Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Sevilla, España.

^c U.G.C. de Pediatría. Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Sevilla, España.

Los autores no han recibido financiación para este estudio y niegan cualquier conflicto de intereses.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Resumen

La hipobetalipoproteinemia familiar es un trastorno hereditario autosómico dominante que afecta a las lipoproteínas que contienen Apo B, una proteína indispensable para el transporte de los quilomicrones en el intestino y que además participa en la síntesis y transporte de las VLDL en el hígado. La concentración de Apo B se usa junto con otras pruebas lipídicas para establecer el riesgo individual de un paciente de desarrollar enfermedad cardiovascular. Presentación del caso: Paciente de 8 años, varón, que acude a la consulta de Pediatría del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla con síntomas de dolor abdominal, deposiciones blandas y diarreicas, sobrepeso y uñas quebradizas. El paciente fue derivado al laboratorio para su estudio con sospecha de hipobetalipoproteinemia. Se le solicitó un hemograma, frotis sanguíneo, pruebas de coagulación, bioquímica general y estudio de riesgo vascular. Los datos del estudio bioquímico descartaron la celiaquía (IgA 174 mg/dL [100-400 mg/dL] y antitransglutaminasa 5 U/mL [<20]). Las determinaciones incluidas en el perfil de riesgo cardiovascular (RCV) fueron: colesterol total 83 mg/dL (<200 mg/dL), c-HDL 48 mg/dL (>45 mg/dL), c-LDL 32 mg/dL (<160 mg/dL), colesterol no HDL 35 mg/dL, c-VLDL 3 mg/dL (<40 mg/dL), triglicéridos 28 mg/dL, Apo-A1 112 mg/dL (119-240 mg/dL), Apo B-100 25 mg/dL (40-125 mg/dL), us-PCR 1,47 mg/dL (<3 mg/dL), Lp (a) 2 mg/dL (<30 mg/dL), homocisteína 5,8 µmol/L (<15 µmol/L), vitamina A 42 µg/dL (50-200 µg/dL), vitamina E 1051 µg/dL (50-180 µg/dL) y 25-(OH) D 48,9 ng/mL (30-54 ng/mL) en intervalos de normalidad. El HLA-27 fue negativo. Tras encontrar hallazgos bioquímicos de bajas concentraciones de lipoproteínas con Apo B, se le solicitó al paciente una prueba de saliva para realización de estudio genético de Lipochip® para mutaciones en el gen de Apo B y PCSK9. Se concluye que el paciente presentó una disminución de la concentración de las lipoproteínas que contienen Apo B y triglicéridos. La sintomatología de dolor abdominal y heces pastosas apoyaron el diagnóstico clínico. La inexistencia de déficit vitamínico, retraso mental, acantocitosis y demás sintomatología asociada, hizo pensar en una herencia heterocigota, que con las herramientas disponibles no se pudo describir genéticamente ya que Lipochip® no detecta positividad para este paciente para una mutación de cambio de aminoácidos en el gen y exon de Apo 26, PCSK9-7, PCSK9-4, PCSK9-10.

Palabras clave: hipobetalipoproteinemia * apolipoproteína B * colesterol * dislipemia * malabsorción intestinal * estudio genético

Summary

Familial hypobetalipoproteinemia is a dominant autosomal inherited disorder that affects lipoproteins containing Apo B. It is an essential protein for the transport of chylomicrons in the intestine and it is involved in the synthesis and transport of VLDL in the liver. This concentration is used along with other lipid tests to establish a patient's individual risk of developing cardiovascular disease. This is the case of an 8 year-old male patient who presented at the University Hospital Virgen Macarena in Seville with symptoms of abdominal pain, loose stools and diarrhea, overweight and broken nails. The patient was referred to the laboratory for examination with suspected hypobetalipoproteinemia. He was requested a complete blood count, blood smear, coagulation, biochemistry and vascular risk study. Biochemical data discarded celiac disease (IgA 174 mg/dL [100-400 mg/dL] y antitransglutaminase antibody 5 U/mL [<20]). Determinations were RCV's profile: Total cholesterol 83 mg/dL (<200 mg/dL), c-HDL 48 mg/dL (>45 mg/dL), c-LDL 32 mg/dL (<160 mg/dL), non-HDL cholesterol 35 mg/dL, c-VLDL 3 mg/dL (<40 mg/dL), triglycerides 28 mg/dL, Apo-A1 112 mg/dL (119-240 mg/dL), Apo B-100 25 mg/dL (40-125 mg/dL), us-PCR 1,47 mg/dL (<3 mg/dL), Lp (a) 2 mg/dL (<30 mg/dL), Homocysteine 5,8 $\mu\text{mol/L}$ (<15 $\mu\text{mol/L}$), Vitamin A 42 $\mu\text{g/dL}$ (50-200 $\mu\text{g/dL}$), Vitamine E 1051 $\mu\text{g/dL}$ (50-180 $\mu\text{g/dL}$) and 25-(OH) D 48,9 ng/mL (30-54 ng/mL) in normal ranges. HLA-27 Negative. After biochemical findings of low concentrations of lipoproteins with Apo B100, the patient was requested a saliva test for genetic study conducting Lipochip® for mutations of Apo B and PCSK9. It can be concluded that the patient had a decreased concentration of lipoproteins containing Apo-B and triglycerides. The symptoms of abdominal pain and tarry stools supported the clinical diagnosis. The lack of vitamin deficiency, mental retardation, acanthocytosis and other associated sintomatology, made it possible to consider it an heterozygous inheritance. which could not be genetically described with the tools available since Lipochip® does not detect in this patient positivity for a mutation to the amino acid change in the gene and exon 26 of Apo, Apo 26, PCSK9-7, PCSK9-4, PCSK9-10.

Keywords: *hypobetalipoproteinemia * apolipoprotein B * cholesterol * dyslipidemia * intestinal malabsorption * genetic study*

Resumo

Hypobetalipoproteinemia familiar é um distúrbio autossômico hereditário dominante que afeta as lipoproteínas contendo Apo-B, uma proteína essencial para o transporte de quilomicrons no intestino e está envolvido na síntese e transporte de VLDL no fígado. A concentração de Apo-B é utilizada, juntamente com outros testes lipídicos, para estabelecer o risco individual de um paciente de desenvolver doenças cardiovasculares. O caso é o de um paciente de 8 anos, do sexo masculino, que se apresenta para consulta de Pediatria do Hospital Universitário Virgen Macarena, em Sevilha, com sintomas de dor abdominal, fezes brandas e diarreia, sobrepeso e unhas quebradiças. O paciente foi derivado ao laboratório para exame com suspeita de hypobetalipoproteinemia. Foi pedido um hemograma completo, esfregaço de sangue, coagulação, bioquímica geral e estudo de risco vascular. Os dados do estudo bioquímico descartaram a doença celíaca (IgA 174 mg/dL [100-400 mg/dL] e Antitrasglutaminase 5 U/mL [<20]). As determinações incluídas no perfil de risco cardiovascular (RCV) foram colesterol total 83 mg/dL (<200 mg/dL), HDL-C 48 mg/dL (>45 mg/dL), LDL-C 32 mg/dL (<160 mg/dL), colesterol não-HDL de 35 mg/dL, VLDL-C 3 mg/dL (<40 mg/dL), triglicérides de 28 mg/dL, Apo-A1 112 mg/dL (119-240 mg/dL), Apo B-100-25 mg/dL (40-125 mg/dL), us-PCR 1,47 mg/dL (<3 mg/dL) de Lp (a) 2 mg/dL (<30 mg/dL), homocisteína de 5,8 $\mu\text{mol/L}$ (<15 $\mu\text{mol/L}$), a vitamina A 42 $\mu\text{g/dL}$ (50-200 $\mu\text{g/dL}$), vitamina E 1051 $\mu\text{g/dL}$ (50-180 $\mu\text{g/dL}$) e 25-(OH) D 48,9 ng/mL (30-54 ng/mL) em intervalos de normalidade. O HLA-27 foi negativo. Depois de encontrar achados bioquímicos de baixas concentrações de lipoproteínas com apo-B, foi solicitado ao paciente um teste de saliva para estudo genético de Lipochip® para mutações no gene de Apo-B e PCSK9. Conclui-se que o paciente apresentou uma diminuição na concentração das lipoproteínas contendo Apo-B e triglicérides. Os sintomas de dor abdominal e fezes pastosas apoiaram o diagnóstico clínico. A inexistência de déficit vitamínico, retardo mental, acantocitose e outros sintomas associados fez pensar numa herança heterozigótica, que com as ferramentas disponíveis não se pôde descrever geneticamente já que Lipochip® não detecta positividade para este paciente para uma mutação de mudança de aminoácidos no gene e éxon de Apo 26, PCSK9-7, PCSK9-4, PCSK9-10.

Palavras-chave: *hipobetalipoproteinemia * apolipoproteína B * dislipidemia * colesterol * má absorção intestinal * estudo genético*

ABREVIATURAS

HBF: Hipobetalipoproteinemia familiar
Apo B: Apolipoproteína B
IgA: Inmunoglobulina A
SMAI: Síndrome de malabsorción intestinal

PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
LDLR: Receptor de LDL
MTP: Proteína de transferencia de triglicéridos microsomiales

Introducción

La hipobetalipoproteinemia familiar (HBF) es un trastorno hereditario autosómico dominante que afecta a las lipoproteínas que contienen Apo B (apolipoproteína -B), una proteína indispensable en el transporte

de los quilomicrones en el intestino que participa en la síntesis y transporte de la VLDL en el hígado. Además, la concentración de Apo B se utiliza junto con otras pruebas lipídicas para establecer el riesgo individual de un paciente de desarrollar enfermedad cardiovascular. La HBF fue descrita por primera vez en 1960 por Salt *et al.*

(1) siendo su incidencia mayor en las mujeres y en la raza judía (2). Hasta la fecha se ha comunicado un escaso número de familias españolas afectadas de HBF (3-9).

La característica principal que describe a esta patología es la presencia de concentraciones de colesterol total, colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL, c-VLDL) y Apo B inferiores al percentil 5 de la distribución en la población general (10-12). Este decremento puede deberse a múltiples factores, como dietas vegetarianas estrictas (13), malabsorción intestinal, hipertiroidismo, enfermedad hepática grave, pancreatitis crónica, malnutrición (14) o a un defecto genético en el gen de la Apo B que se localiza en el cromosoma 2. Esta mutación da lugar a la formación de codones de parada o al cambio de pauta de lectura que producen formas truncadas de Apo B y son causa de HBF. Recientemente se ha descubierto un gen situado en el cromosoma 1, denominado PSCK9 que también podría ser causa genética de HBF (15).

Para establecer el diagnóstico de hipobetalipoproteinemia deben excluirse formas secundarias que pueden acompañar a otras enfermedades y debe detectarse la anomalía en un familiar en primer grado (16). La hipobetalipoproteinemia es una dislipemia autosómica dominante, los heterocigotos sólo poseen una copia del alelo mutante, son asintomáticos y presentan concentraciones de colesterol LDL (c-LDL) y Apo B entre un cuarto y un medio de los observados en sujetos normales con aumento leve de transaminasas. Debido a estos niveles bajos, los heterocigotos pueden estar protegidos frente al desarrollo de aterosclerosis (17).

Sin embargo, los homocigotos poseen dos alelos mutantes de Apo B, tienen cifras extremadamente bajas de c-LDL, y presentan una gran variedad de manifestaciones clínicas, ya que el colesterol juega un papel importante durante la neurogénesis y la conducción nerviosa; de ahí se explica el origen del retraso psicomotor de algunos niños con hipobetalipoproteinemia.

El objetivo del estudio fue investigar, junto con la clínica que presentó el paciente, el origen bioquímico de esta patología mediante un *test* genético disponible en el mercado con una muestra biológica (saliva) cómoda y que no implicara una vía invasiva para el paciente (muestra de sangre).

Presentación del caso

Paciente varón de 8 años que acudió a la consulta de Pediatría del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla con síntomas de dolor abdominal, deposiciones blandas y diarreas, sobrepeso y uñas quebradizas. Los síntomas surgieron en el año 2005 en el que se derivó al paciente a su médico gastroenterólogo para realizarle una endoscopia en la que no se evidenciaron criptas ni infiltrados linfocitarios que sugirieran un estado

pre-clínico de enfermedad celíaca (anticuerpos anti-gliadina IgA negativo). La altura de las vellosidades fue normal, mucosa duodenal sin alteraciones y colonoscopia sin evidencias de intolerancia a la lactosa. La elastasa pancreática fue elevada (500 mg/dL) y calprotectina elevada (181 mg/dL). El juicio clínico fue insuficiencia pancreática exocrina con tratamiento de Pankreoflat. Los síntomas y deposiciones desaparecieron en los controles sucesivos por lo que se retiró la medicación. En el año 2012 el paciente acudió al hospital con los síntomas anteriormente mencionados y se derivó al Laboratorio de Riesgo Vascular de la Unidad de Gestión Clínica de Bioquímica Clínica para su estudio por sospecha de hipobetalipoproteinemia. Se le solicitó un hemograma, frotis sanguíneo, pruebas de coagulación, bioquímica general y estudio de riesgo vascular.

Materiales y Métodos

El Lipochip es un sistema diagnóstico derivado de tecnología de matrices multigénicas (*biochips*, *microarrays* o *chips* de ADN) que se basa en la capacidad de las cadenas complementarias de ADN de unirse entre sí (hibridación). Consiste en placas de cristal sobre cuya superficie se colocan fragmentos de ADN con secuencias previamente conocidas (dianas) y a las que se aplica la muestra del paciente marcada con una molécula fluorescente (sondas), que se unirá a alguna de las dianas si los fragmentos de ADN son complementarios. Posteriormente se ilumina esta placa con un láser, permitiendo la identificación de la diana a la que se ha unido con más intensidad la muestra y se realiza una digitalización de la imagen. Luego se realiza una lectura mediante un soporte informático (18). La secuencia global del análisis es la siguiente: la muestra de sangre se sometió a un proceso de extracción del ADN; después, el ADN fue amplificado por el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y marcado con una molécula fluorescente. La placa se bañó en la muestra y se produjo la hibridación del ADN con los fragmentos reconocidos; se escanearon y analizaron los resultados. El proceso de análisis de la imagen se realizó con diferentes programas informáticos, siendo importante que proporcione diferentes medidas de calidad. La especificidad y sensibilidad de Lipochip se probó con diez muestras de ADN control por cada mutación (más de 2.000 muestras). Los coeficientes globales de especificidad y sensibilidad obtenidos para todas las mutaciones fueron del 99,7% y del 99,9%, respectivamente.

Las técnicas analíticas empleadas en el perfil vascular fueron: electroquimioluminiscencia y colorimetría Cobas Integra (Roche 6000, Mannheim, Alemania) e inmunofelometría (BnII Prospec Siemens, Milán, Italia.) y para la separación de lipoproteínas con fines diagnóstico ultracentrífuga (Beckman optima TM L-90 k Krefeld, Alemania).

Resultados

Los resultados del estudio de coagulación fueron normales, así como el hematocrito. Se apreció un ligero ascenso en el recuento de leucocitos $12,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ con predominio de neutrófilos. Los datos del estudio bioquímico descartaron la celiacía, (IgA 174 mg/dL [100-400 mg/dL] y antitransglutaminasa 5 U/mL [<20]). Las determinaciones incluidas en el perfil de riesgo cardiovascular (RCV) fueron: colesterol total 83 mg/dL (<200 mg/dL), c-HDL 48 mg/dL (>45 mg/dL), c-LDL 32 mg/dL (<160 mg/dL), colesterol no HDL 35 mg/dL, c-VLDL 3 mg/dL (<40 mg/dL), triglicéridos 28 mg/dL, Apo-A1 112 mg/dL (119-240 mg/dL), Apo B-100 25 mg/dL (40-125 mg/dL), us-PCR 1,47 mg/dL (<3 mg/dL), Lp (a) 2 mg/dL (<30 mg/dL), homocisteína 5,8 $\mu\text{mol/L}$ (<15 $\mu\text{mol/L}$), vitamina A 42 $\mu\text{g/dL}$ (50-200 $\mu\text{g/dL}$), vitamina E 1051 $\mu\text{g/dL}$ (50-180 $\mu\text{g/dL}$) y 25-(OH) D 48,9 ng/mL (30-54 ng/mL) en intervalos de normalidad. El HLA-27 fue negativo.

Tras encontrarse hallazgos bioquímicos de bajas concentraciones de lipoproteínas con Apo B, se solicitó al paciente una prueba de saliva para realización de estudio genético de Lipochip® para mutaciones en el gen de *APO B* y *PCSK9*. También se realizó un estudio familiar al padre, madre y hermana de la paciente. Padre: Apo B=114 mg/dL y c-LDL=187 mg/dL, c-VLDL=44 mg/dL, TG=223 mg/dL, CT=291 mg/dL. Madre: Apo B=50 mg/dL y c-LDL=79 mg/dL, c-VLDL=19 mg/dL, TG=62 mg/dL, CT= 157 mg/dL. Hermana: Apo B=49 mg/dL y c-LDL=187 mg/dL, c-VLDL=7 mg/dL, TG=46 mg/dL, CT=149 mg/dL.

Discusión

En los pacientes con sospecha de hipobetalipoproteinemia es importante realizar un estudio familiar para descartar hipocolesterolemias primarias (Tabla I), así como abetalipoproteinemia. En este caso, el padre del niño presentaba un perfil lipídico con valores ligeramente superiores a la normalidad, y la madre e hija con

cifras por debajo de los límites, por lo que se sospechó una herencia heterocigota de rama materna.

El cuadro de heces pastosas y diarreas (esteatorrea) se debía a la imposibilidad del organismo de fabricar quilomicrones. Este defecto da lugar a la acumulación de triglicéridos en el enterocito. Como la entrada en el lumen intestinal es un proceso de gradiente, la acumulación de grasa lo impide y conlleva el desarrollo de un síndrome de malabsorción intestinal (SMAI). Este síndrome se caracteriza por la incapacidad para transportar ácidos grasos de cadena larga, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y muy baja densidad (VLDL), así como la mayoría de las vitaminas liposolubles (K, A, E), desde la luz intestinal. Igualmente, se produce incapacidad para transportar los triglicéridos de síntesis hepática, manifestándose esteatosis hepática.

Es importante detectar la deficiencia de vitaminas liposolubles para evitar cuadros asociados de hipovitaminosis. El paciente presentó uñas quebradizas que se podrían justificar con un déficit vitamínico, pero la concentración de las proteínas liposolubles fueron normales.

La HBF al nacimiento no presenta anomalías, pero ya en la primera infancia (19) puede aparecer distensión abdominal, esteatorrea y se confunden a veces con la enfermedad celíaca, pero a diferencia de ésta, no mejora con la dieta exenta de gluten. Alrededor de los 5 años suelen presentar signos de neuropatía desmielinizante (ataxia, cansancio muscular y síntomas neurológicos), retinitis pigmentosa por falta de tocoferol, dando lugar al síndrome de Bassewn-Kornzweig que en la adolescencia puede complicarse con degeneración retiniana, y en los casos graves pueden conducir a la ceguera. El déficit importante de vitamina E, cuyo metabolismo está seriamente alterado, al requerir Apo B para su transporte plasmático, protagoniza casi todos los síntomas clínicos importantes, especialmente los del sistema nervioso. El paciente no presentó hasta el momento, con 8 años de edad, ninguno de estos síntomas.

Igualmente es característica la presencia de acantocitosis (eritrocitos deformados) como consecuencia

Tabla I. Condiciones asociadas a hipocolesterolemia secundaria.

Malnutrición	Alteraciones de las inmunoglobulinas
Dieta vegetariana estricta (pobre en grasas)	Alteraciones mielo proliferativas Infecciones severas: Sepsis
Malabsorción intestinal 1. Enfermedad celíaca 2. Fibrosis quística del páncreas 3. Acrodermatitis enteropática 4. Linfangiectasia intestinal 5. Diarrea intratable 6. Otras causas de esteatorrea	Proliferación del sistema retículo endotelial 1. Enfermedad de Gaucher 2. Enfermedad de Niemann Pick 3. Kala-azar 4. Anemia crónica asociada con esplenomegalia
Enfermedades hepáticas 1. Necrosis hepática fulminante. 2. Síndrome de Reye y otros estados hiperamoniémicos 3. Enfermedades del parénquima hepático	Enfermedades endocrinas 1. Diabetes con c-HDL bajo 2. Hipertiroidismo 3. Hipotiroidismo

Adaptado de Granot F, Deckelbaum R.J.

de la enzima LCAT (lecitin-colesterol-acil-transferasa). En la abetalipoproteinemia, la falta de lipoproteínas sobre las que actúa la LCAT hace que se utilicen los eritrocitos como donadores de fosfolípidos y colesterol. La pérdida de estos elementos superficiales origina las alteraciones de la membrana típicas de los acantocitos (20). No se dispone de los datos del frotis sanguíneo de este paciente debido al escaso volumen de la muestra.

Las formas truncadas de *Apo B* pueden detectarse en las VLDL, las LDL e incluso en algunos casos pasan a formar parte de las lipoproteínas de alta densidad. En el caso de este paciente es de destacar las bajas concentraciones de todas las lipoproteínas que contienen Apo B (c-LDL, c-VLDL, Lp (a) y que la cuantificación de la misma es de 25 mg/dL muy por debajo de los límites de la normalidad. El estudio familiar mostró un posible origen materno de hipobetalipoproteinemia. La hermana del paciente también presenta valores inferiores a los límites de normalidad.

El defecto genético en pacientes que presentan hipobetalipoproteinemia en un buen número de casos se encuentra en el gen de la *Apo B*, y en otros casos es desconocido. Por ejemplo las mutaciones en el gen *PCSK9* pueden cursar con hiper o hipocolésterolemia. En otros casos existen pacientes con fenotipo idéntico a la hipobetalipoproteinemia consecuencia de un defecto combinado situado en el gen de la MTP (proteína de transferencia de triglicéridos microsomales) y de una homocigosidad (e2/e2) para la apo E (21). La prueba de saliva que se le solicitó al paciente (Lipochip®) permite detectar 250 mutaciones en los genes de *LDLR*, *Apo B* y *PCSK9*, así como la identificación de los cambios en el número de copia (10% de las mutaciones). En la Tabla II se muestran las clases de mutaciones analizadas, el gen y el exon en el que se estudian. No se encontró ninguna mutación en la muestra analizada. Aunque un diagnóstico genético positivo sería inequívoco, es posible (e incluso relativamente frecuente) no identificar una mutación

debido a las limitaciones técnicas de la prueba, como ocurre en este caso al aplicar esta tecnología en entornos donde sean muchas las mutaciones responsables.

Para esclarecer la mayoría de los diagnósticos de HBF se utilizan pruebas genéticas; Iglesias *et al.* (22) estudió un caso de hipobetalipoproteinemias con mutaciones en el gen *Apo B* (apolipoproteína B-69.27) en una mujer de 29 años con manifestaciones clínicas acompañadas de hipocolésterolemia, hipertransaminasemia y esteatosis hepática. El estudio molecular se realizó mediante la secuenciación del gen *Apo B* en el probando (iv-1) y en 2 familiares (ii-2 y iii-1) afectados fenotípicamente. Pocovi *et al.* (23) utilizaron técnicas más laboriosas obteniendo plasma con inhibidores de proteasas, separando las lipoproteínas por ultracentrifugación y analizando las especies de Apo B mediante electroforesis desnaturante en gradiente de poliacrilamida. Esta técnica permite conocer el peso molecular de la especie truncada e identificar el sitio específico de la mutación mediante la secuenciación del ácido desoxirribonucleico correspondiente. Sin embargo, dado lo laborioso y lo complejo de esta técnica así como el hecho de que algunas de las formas truncadas de la proteína no se detecten en el plasma, en la actualidad es preferible la búsqueda de mutaciones por secuenciación de los genes candidatos, en la que el prioritario es el *Apo B*. Otros autores han utilizado para el estudio genético de la mutación X-/X- del gen de la *Apo B* con la enzima de restricción Xba-I. En este caso, la paciente presenta una homocigosidad para la mutación: 2.2, el padre era heterocigoto:1.2 y la madre era heterocigota:1.2. El autor concluye el trabajo centrándose en el diagnóstico de hipobetalipoproteinemia homocigota, aunque para llegar al diagnóstico genético definitivo se necesitaría hacer una secuenciación del gen completo, no siendo posible por el alto costo (5).

John R Burnett (24) presenta en un artículo muy reciente, la utilidad clínica de una nueva tarjeta para el diagnóstico de las hipobetalipoproteinemias. El método analítico consiste en secuenciar exones con al menos 20

Tabla II. Mutaciones analizadas en Lipochip®

Número de mutación	Clase de mutación	Nombre genético	Nombre de la mutación en la proteína final	Nomenclatura HGVS	Gen	Exón
M1000	Cambio de aminoácido	C.10580C>T	p.Arg3500Gin	p.Arg3527	<i>Apo B</i>	26
M1002	Cambio de aminoácido	C.10579G>A	p.Arg3500Trp	p.Arg3527TrpGin	<i>Apo B</i>	26
M1003	Cambio de aminoácido	C.10700C>T	p.Thr3540Met	p.Thr3567Met	<i>Apo B</i>	26
M 2001	Cambio de aminoácido	C.1120G>T	p.Asp374Tyr	p.Asp374Tyr	<i>PCSK9</i>	7
M 2003	Cambio de aminoácido	C.654A>T	p.Arg218ser	p.Arg218Ser	<i>PCSK9</i>	4
M 2005	Cambio de aminoácido	C.1545T>G	p.Phe515Leu	p.Phe515Leu	<i>PCSK9</i>	10
M 2006	Cambio de aminoácido	C.386A>G	p.Asp129Gly	p.Asp129Gly	<i>PCSK9</i>	2
Pex 15	Rs5927	C.2232A/G	NA	NA	<i>LDLR</i>	15
Pex13	Rs5925	C.1959C/T	NA	NA	<i>LDLR</i>	13
Pex12.2	Rs688	C.1773C/T	NA	NA	<i>LDLR</i>	12
Pex12.1	Rs1799898	C.1725C/T	NA	NA	<i>LDLR</i>	12
Pex10	Rs5930	C.1413A/G	NA	NA	<i>LDLR</i>	10

pares de bases próximas a secuencias intrónicas. Se utiliza *western blotting* para detectar formas truncadas de *Apo B* que corresponde a más del 30% del tamaño total de la proteína para confirmar que la mutación se da en el gen de la *Apo B*. Si el *western blotting* es negativo, es recomendable secuenciar el 5-30% del gen (del exón 1 al 25). En caso de familias homocigóticas en la que no se encuentra la mutación de *Apo B*, recomienda secuenciar el gen *MTTP* (proteína de transferencia de triglicéridos microsomales).

Conclusiones

El paciente presentó una disminución de la concentración de las lipoproteínas que contienen Apo B y triglicéridos. La sintomatología de dolor abdominal y heces pastosas apoya el diagnóstico clínico. La inexistencia de déficit vitamínico, retraso mental, acantocitosis y demás sintomatología asociada, hace pensar en una herencia heterocigota que con las herramientas disponibles no se puede describir genéticamente ya que Lipochip® no detecta positividad de mutaciones de cambio de aminoácidos para los genes que se han estudiado: gen y exón *de Apo B-26*, *PCSK9-7*, *PCSK9-9*, *PCSK9-10*, *PCSK9-2*. Para encontrar la causa genética exacta tendría que secuenciarse al completar el gen de la *Apo B* y gen *MTTP*, técnica de alto costo y no disponible para la mayoría de los laboratorios del sistema sanitario público español.

CORRESPONDENCIA

DRA. TERESA ARROBAS VELILLA

Laboratorio de Lípidos. U.G.C. Bioquímica Clínica.
Hospital Universitario Virgen Macarena. SEVILLA, España
E-mail: teresaarrobavelilla@hotmail.com

Referencias bibliográficas

1. Salt H, Wolff O, Lloyd J, Fosbrooke A, Cameron A, Hubbe V. On having no betalipoprotein: A syndrome comprising abetalipoproteinemia, acanthocytosis, and steatorrhea. *Lancet* 1960; 2: 325.
2. Fredrickson D, Goto A, Levy R. Familial lipoprotein (abetalipoproteinemia, hypobetalipoproteinemia and Tangier disease). En: Stanbury JB, Wyngarden JB, Fredrickson DS, editors. *Metabolic basis of inherited disease*. 3rd. ed. New York: Mc Graw-Hill, 1972.
3. Blanco M, Munoz MT, Martos GA, Abad E, Argente J. Hipobetalipoproteinemia familiar secundaria a una mutación en el gen de la apolipoproteína B. *An Pediatr (Barc)* 2007; 66: 535-7.
4. Alapont B, Prosper M, Ricart E, Navarro M. Esteatosis hepática asociada con hipobetalipoproteína familiar heterocigota. *Gastroenterol Hepatol* 2004; 27: 256-9.
5. Gasso M, Espín B, Gómez J, Rodríguez R, Camacho MV, Gámez F, *et al.* Hipobetalipoproteinemia familiar. *An Pediatr (Barc)* 2003; 58: 608-11.
6. Muñoz TM, Cano RA, Domínguez S, Cano P, Lobon JA, Escobar JF. Familial hypobetalipoproteinemia: Description of a heterozygous form with important biochemical alterations. *Rev Clin Esp* 1991; 188: 81-2.
7. Sierra C, Tormo R, Infante D, Trías X. Un caso de hipobetalipoproteinemia. *Rev Esp Pediatr* 1980; 151-6.
8. García M, Vázquez I, Infantes MA, Sierra J, Conde J, Prados D. Hipobetalipoproteinemia familiar. *An Esp Pediatr* 1994; 1: 63-6.
9. Fouchier SW, Sankatsing RR, Peter J, Castillo S, Pocovi M, Alonso R, *et al.* High frequency of APOB gene mutations causing familial hypobetalipoproteinemia in patients of Dutchand Spanish descent. *J Med Genet* 2005; 42: e23.
10. Schonfeld G. Familial hypobetalipoproteinemia: A review. *J Lipid Res* 2003; 44: 878-83.
11. Schonfeld G, Lin X, Yue P. Familial hypobetalipoproteinemia: Genetics and metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 1372-8.
12. Schonfeld G. The hypobetalipoproteinemias. *Annu Rev Nutr* 1995; 15: 23-34.
13. Burr ML, Bates CJ, Fehily M, St Leger AS. Plasma cholesterol and blood pressure in vegetarians. *J Hum Nutr* 1981; 35: 437-41.
14. Kane JP, Havel RJ. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B-apolipoproteins. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular base of inherited disease*. 8° ed. New York, NY: McGrawHill; 2001. p. 2717-52.
15. Cohen J, Persemlidis A, Kotowskii K, Graham R, García CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent mutations in PCSK9. *Nature Genet* 2005; 37: 161-5.
16. Herber PN, Gotto AM, Fredrickson DS. Familial lipoprotein deficiency. *The Metabolic Basis of Inherited disease*. New York: Mc Graw-Hill, 1978.
17. Glueck CJ, Gartside P, Fallat RW, Sielski J, Steiner PM. Longevity syndromes: Familial hypobeta and familial hyperalphalipoproteinemia. *J Lab Clin Med* 1976; 88: 941-57.
18. Gemignani F, Perra C, Landi S, Canzian F, Kurg A, Tonisson N, *et al.* Reliable detection of beta-thalassemia and G6PD mutations by a DNA microarray. *Clin Chem* 2002; 48 (11): 2051-4.
19. Roma E, Klontza D, Kairis M, Pangalis A, Karpouzas J, Matsaniotis N. Familial hypobetalipoproteinemia. *Helv Paediatr Acta* 1984; 39: 145-51.
20. Bassen FA, Kornzweig AL. Malformations erythrocytes in a case of atypical retinitis pigmentosa. *Blood* 1950; 5: 381-7.
21. Di Leo E, Lancellotti S, Penacchionia JY, Cefalu AB, Averna M, Pisciotto L, *et al.* Mutations in MTP gene in a beta- and hypobeta-lipoproteinemia. *Atherosclerosis* 2005; 180: 311-8.
22. Iglesias P, Diez, Tarugi P. Hipobetalipoproteinemia familiar: Caracterización clínica de una nueva mutación en el gen de la APO B. *Med Clin (Barc)* 2009; 133(2): 57-60.
23. Pocovoi M, Civeria F. Heterogeneidad clínica y genética de la hipobetalipoproteinemia. *Med Clin (Barc)* 2009; 133; 2: 61-2.
24. Burnett J, Bell D, Hooper A, Hegele, Robert A. Clinical utility gene card for: Familial Hypobetalipoproteinemia (APOB). *Eur J Hum Genet* 2012; 20 (8). Epub

Aceptado para su publicación el 12 de junio de 2013