

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

“Variantes genéticas en el gen *LPL* asociadas a dislipidemias en la población mexicana”

Alumna: Ximena Luna González
Matrícula: 2193027700

ASESORA INTERNA



Dra. Marisol López López
Prof. Titular “C” T.C.
Depto. de Sistemas Biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana

ASESORA EXTERNA



Dra. Angélica Graciela Martínez
Hernández
Laboratorio de Inmunogenómica
y Enfermedades Metabólicas
Instituto Nacional de Medicina Genómica

INTRODUCCIÓN

Las dislipidemias (Dlip) son un trastorno metabólico multifactorial caracterizado por alteraciones en la concentración de colesterol y triglicéridos en sangre. A diferencia de las dislipidemias secundarias, de carácter multifactorial, las dislipidemias primarias se desarrollan a partir de variantes en un solo gen (monogénicas) o en múltiples genes (poligénicas) (Pappan et al., 2024).

Las dislipidemias primarias se clasifican en hipercolesterolemia familiar, hipertrigliceridemia familiar combinada (FHCL) e hipertrigliceridemia (HTG) familiar, también conocida como síndrome de quilomicronemia familiar (FCS). FCHL es la dislipidemia primaria más frecuente; sin embargo, la forma más severa se presenta como síndrome de quilomicronemia familiar (FCS). FCS es una enfermedad autosómica recesiva rara (prevalencia 1:100,000 - 1:1,000,000) (Ueda, 2022) caracterizada por elevados niveles de triglicéridos en sangre y que predispone a dolor abdominal, hemorragias, ictericia, xantomas eruptivos, lipemia retinalis, hepatoesplenomegalia, complicaciones neurológicas y una elevada mortalidad en los pacientes por pancreatitis (Pavía-López et al., 2022). Diversos estudios han mostrado que alrededor del 90% de los pacientes con FCS presentan variantes patogénicas (VP) en el gen *LPL*, estando presente en el 23.5% de los pacientes la variante c.644G>A (Rodríguez-Gutiérrez et al., 2022).

Con el objetivo de conocer las VP que se encuentran en el gen *LPL* en población mexicana en este trabajo se realizó una búsqueda intencionada de las variantes en este gen en el exoma de los mexicanos con los que cuenta el laboratorio (LIEM: Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, en México, se ha reportado un aumento de mortalidad ocasionada por enfermedades cardiovasculares y sus principales factores de riesgo, que son la hipertensión y Dlip. Las Dlip se presentan en el 36.7% de los adultos mexicanos y se caracterizan por niveles anormales de triglicéridos y colesterol (Morales-Villegas et al., 2023). Las Dlip más frecuentes son las HTGs, entre ellas FCHL y FCS, que representan un problema de salud pública en nuestro país, afectando al 24.4% de los adultos de entre 20 y 69 años y cuya prevalencia es más alta que en Estados Unidos y Europa (Rivas-Gómez et al., 2018). A pesar de la elevada prevalencia de las Dlip en la población mexicana, la información sobre su aspecto genético es casi inexistente, únicamente se ha documentado un caso familiar de HTG severo que presenta la variante c.644G>A en *LPL* de c.644G>A y el de un niño con la variante c. 94_98del5 (Fausto et al., 2017; Kniery et al., 2017; Rodríguez-Gutiérrez, et al., 2022)

ANTECEDENTES

El gen *LPL* se encuentra en el cromosoma 8p21.3, contiene diez exones y 11 intrones (Figura 1). Se expresa en tejido adiposo, esquelético y muscular, en el corazón, hígado, pulmones y sistema nervioso central (Gu et al., 2020). Actualmente, la mayoría de las VP reportadas en *LPL* se localizan en los exones 4, 5 y 6 del gen y generan deficiencia de la proteína lipoproteína lipasa (LPL), conduciendo a condiciones como las Dlip. Las variantes más comunes que se han reportado en este gen son del tipo de un solo nucleótido (SNVs) y variantes en el número de copias (CNVs) (Dron y Hegele, 2020; Han et al., 2020). La variante c.644G>A (rs118204057) se localiza en el exón 5 del gen, y genera un cambio no sinónimo de p.Gly215Glu que provoca una pérdida casi completa o completa de la actividad enzimática de LPL (Perera et al., 2023; Tanaka et al. 2019; Zhang et al., 2023)

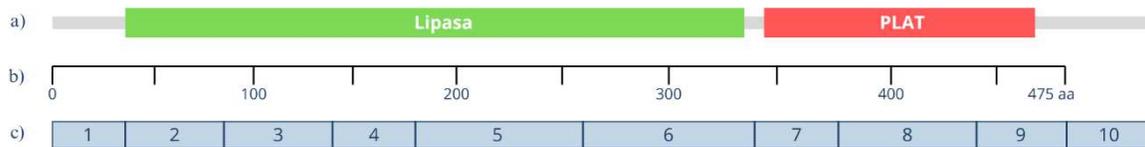


Figura 1. Gen *LPL*. a) Dominios de lipoproteína lipasa. b) Secuencia de aminoácidos (aa). c) Exones del gen.

LPL es una enzima clave en el metabolismo de triglicéridos presentes en quilomicrones circulantes y en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Al-Serri, et al., 2021; Kristensen et al., 2021) (Figura 2). Es una glucoproteína de 475 aminoácidos que consiste en un dominio N-terminal α/β hidrolasa en el que se encuentran múltiples sitios involucrados en su actividad (Figura 3a-g) (Wu S et al., 2020). Posee un dominio C-terminal policistina-1 lipoxigenasa alfa toxina (PLAT) involucrado en el reconocimiento de lipoproteínas ricas en triglicéridos y en la unión a la proteína 1 de unión a lipoproteínas de alta densidad anclada a glicosilfosfatidilinositol (GPIHBP1), con la que forma un complejo 1:1, brindándole estabilidad y transportándola a través del lumen endotelial (Arora et al., 2019; Gunn y Neher, 2023).

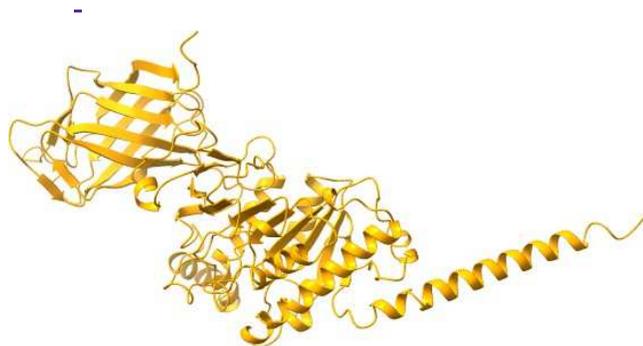


Figura 2. Lipoproteína lipasa (LPL). Estructura de AlphaFold.

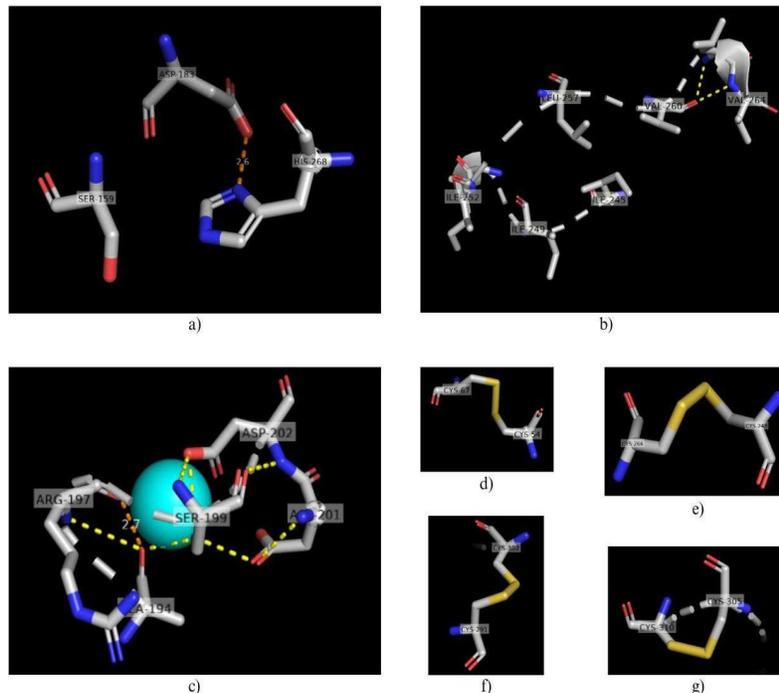


Figura 3. Dominio N-terminal de enzima LPL. a) Sitio activo. Triada catalítica similar a proteasa. b) Sitio que funge como “tapa”. c) Sitio de unión a Ca^{2+} . d-g) Puentes disulfuro (d: Cys54-Cys67, e: Cys248-Cys266, f: Cys291- Cys302, g: Cys305-Cys310).

METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda intencionada de las variantes en el gen *LPL* en las diferentes bases de datos públicas (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> y <https://gnomad.broadinstitute.org/>). Las variantes encontradas se clasificaron de acuerdo con los criterios de la ACMG en: patogénica, probablemente patogénica, de significado incierto (VUS), probablemente benigna y benigna (Richards et al., 2015).

Paralelamente se realizó la búsqueda todas de las variantes patogénicas en gnomAD y en el Exoma de 2,217 individuos mexicanos no relacionados (1,111 mestizos y 1,106 indígenas pertenecientes a 62 grupos étnicos) sin historia familiar de enfermedades mendelianas heredofamiliares con los que cuenta el laboratorio (LIEM: Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas).

En las VP se calcularon las frecuencias alélicas en la población mexicana y se comparó con la información de las poblaciones que participaron en el mestizaje (europea no finlandesa, africana/africana americana y americana mezclada) disponible en la base de datos de gnomAD utilizando la prueba exacta de Fisher.

Para los portadores de la variante de interés c.644G>A (p.G215E) se diseñó un par de oligonucleótidos con primerBLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) (*forward* 5' -AGGACCAATTCCAGAGGCCA-3' y *reverse* 5'-AGGACATTGGGTCAATAAGGGTTA-3')

La estructura de la proteína de esta variante se visualizó en UCSF ChimeraX (UCSF ChimeraX version: 1.7.1. Regentes de la Universidad de California. Todos los derechos reservados.) y PyMOL (PyMOL Sistema de Gráficos Moleculares, Version 3.0 Schrödinger, LLC.). La predicción *in silico* para determinar el impacto de las variantes fue realizada con Variant Effect Predictor (https://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Tools/VEP), M-CAP (<http://bejerano.stanford.edu/mcap/>), MutPred2 (<http://mutpred.mutdb.org/#qform>), Dynamut2 (<https://biosig.lab.uq.edu.au/dynamut2/>) tomando como modelo tridimensional la estructura reportada en AlphaFold DB (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>)

OBJETIVO GENERAL

Identificar las variantes en el gen *LPL* asociadas a dislipidemias en una muestra de la población mestiza- mexicana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir todas las variantes patogénicas en el gen *LPL* en exomas de población mexicana.
- Identificar a los portadores de la variante p.G215E del gen *LPL*
- Secuenciar la variante p.G215E del gen *LPL* asociada con quilomicronemia familiar en una familia mexicana.

RESULTADOS

A la fecha, de acuerdo con la base de datos de gnomAD, se han reportado 853 variantes en el gen *LPL*. De ellas, 28 son patogénicas e incluyen deleciones y SNVs, que provocan cambios en el marco de lectura, en sitios donadores y aceptores de *splicing*, mutaciones con cambio de sentido y ganancia de codón de paro (Figura 4). Por el contrario, en los exomas de los mexicanos, se identificaron 116 variantes del tipo de SNVs y deleciones. De estas, 5 son patogénicas y se localizan en los exones 5 y 6, incluyendo la SNV c.644G>A.

La comparación de las frecuencias alélicas de las 5 VP identificadas en los exomas de la población mexicana analizada mostró que las SNV c.590G>A y c.644G>A son las variantes más frecuentes y representan un 50 y 20% de los alelos afectados, respectivamente (Tabla 1). Se encontró un portador de la variante c.644G>A. El padre fue portador heterocigoto con un fenotipo clínico para FCS. Se logró obtener muestra de 2 hijas y una de ellas (paciente #1) también resultó portadora heterocigota de la variante, hasta la fecha sin datos clínicos aparentes. La otra hija no presentó la variante (paciente #2) (Figura 5).

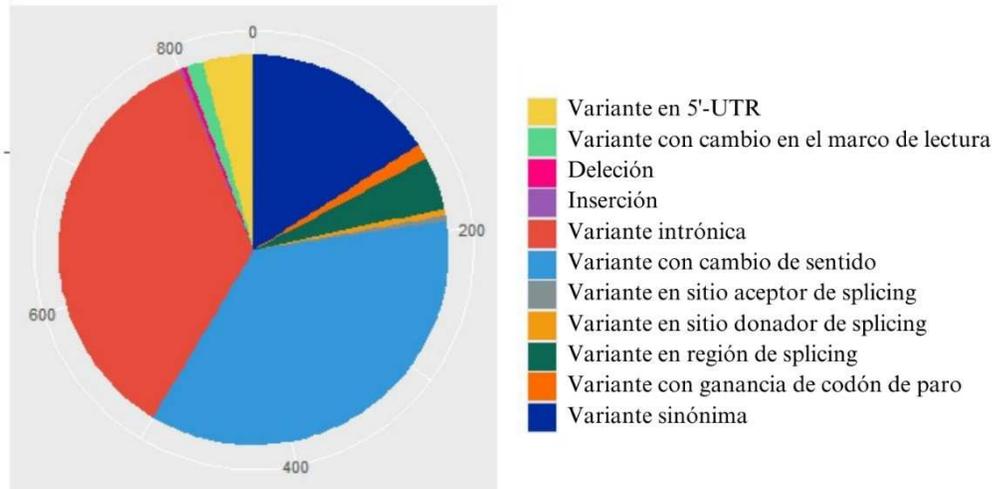


Figura 4. Clasificación de las variantes en el gen *LPL* de acuerdo con el Predictor de Efecto de Variante (VEP)

Tabla 1. Frecuencias alélicas de las 5 variantes patogénicas encontradas en los exomas de los mexicanos

Variante	En este estudio	Frecuencia alélica (%)		
		gnomAD		
		Mestiza americana (AM)	Europea no finlandesa (EU)	Africana (AF)
rs372668179 c.590G>A p.Arg197His	0.1128	0.03951 ^a	0.001549 ^a	0.004005 ^a
rs118204057 c.644G>A p.Gly215Glu	0.04511	0.01693	0.03019	0.00801
rs773407951 c.818A>G His273Arg	0.02255	0.005785	0.0008801 ^a	0
rs118204068 c.829G>A p.Asp277Asn	0.02255	0.002823	0.00310 ^a	0
rs1409123950 c.929G>A p.Cys310Tyr	0.02255	0.002891	0	0

^aDiferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$)

El análisis predictivo *in silico* realizado con distintos métodos confirma la patogenicidad de todas las variantes, las cuales provocan una mutación con cambio de sentido y cambios en la estructura de la proteína, afectando su función (Tabla 2).

Tabla 2. Predicción *in silico* de patogenicidad de variantes en el gen *LPL* encontradas en los exomas de la población mexicana

Variante	SIFT	Polyphen	AlphaMissense	CADD	MutPred2	Mutation Taster	$\Delta\Delta G$
c.590G>A	0	0.987	0.3048	25.2	0.552	0.891071	-1.23
c.644G>A	0.43	0.999	0.6111	23.1	0.573	0.999998	-0.56
c.818A>G	0	0.994	0.7661	26.0	0.758	1	-0.91
c.829G>A	0	0.435	0.9186	24.4	0.656	1	-1.26
c.929G>A	0	0.977	0.9978	27.1	0.970	1	-0.86

Interesantemente se identificaron 13 SNVs sin reporte previo para la población mexicana (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencias alélicas de nuevas variantes identificadas en los exomas LIEM

DNA	Posición (GRCh37)	Frecuencia alélica (%)
c.89-94A>C	19805597	0.02255
c.249+60C>A	19805911	0.02255
c.430-121T>C	19810700	0.02278
c.430-110A>G	19810711	0.02268
c.775+115T>C	19811979	0.02271
c.776-126G>T	19813226	0.02255
c.776-110T>C	19813242	0.02255
c.1018+173C>T	19813767	0.02291
c.1019-62T>A	19816709	0.02255
c.1140-115T>C	19818297	0.02257
c.1323-169A>G	19819457	0.02272
c.*128T>C	19822949	0.04511
c.*128C>G	19822950	0.02256

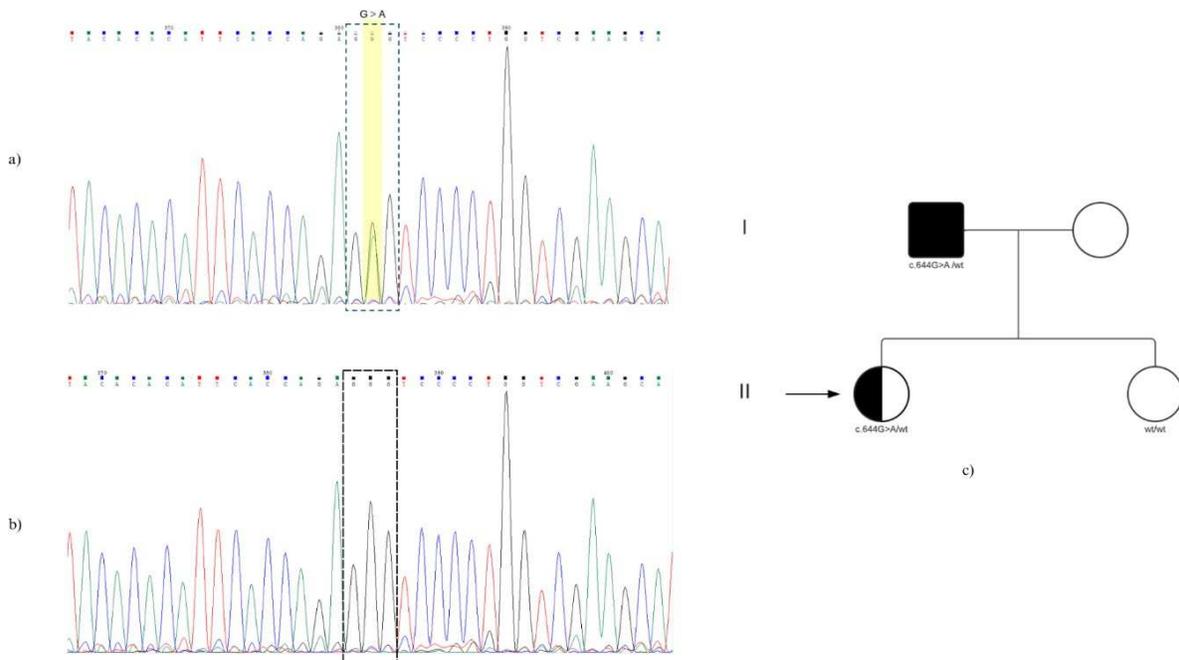


Figura 5. Familia portadora de la variante c.644G>A del gen *LPL*. a) Paciente 1. b) Paciente 2. c) Árbol genealógico

DISCUSIÓN

Las Dlip son un trastorno metabólico en el que se presentan alteraciones en la concentración de colesterol y triglicéridos en sangre. A la fecha, su prevalencia en México y el conocimiento genómico se desconoce. En este estudio se encontraron 5 VP en el gen *LPL*, siendo la variante c.590G>A la de mayor frecuencia, seguida de la variante c.644G>A. Ambas variantes se han asociado con HTG severa (Surendran et al., 2012), presentes en los individuos con FCS y FCHL, que respectivamente representan la Dlip más grave y la más frecuente en todas las poblaciones. En nuestro trabajo, la prevalencia de la variante c.590G>A fue mayor en comparación con otras poblaciones (EU, AF, AM) resaltando la importancia que tienen las Dlip en nuestra población no solo porque afectan al 36.7% de los adultos mexicanos, sino también, porque representan uno de los principales factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares, la principal causa de muerte a nivel nacional (INEGI, 2023)

Como se mencionó anteriormente, las VP reportadas en el gen *LPL* provocan un cambio de sentido no sinónimo afectando las interacciones del aminoácido y generando un efecto deletéreo en *LPL*, ya que se encuentran en zonas cercanas al sitio activo y catalítico de la proteína, así como cercanas a puentes disulfuro, provocando la pérdida de dichos sitios y de esta manera generando mayor desestabilización.

En relación a la SNV c.644G>A (p.Gly215Glu), que genera un cambio no sinónimo, se ha determinado experimentalmente que provoca una pérdida funcional casi completa de *LPL* (Zhang et al., 2023; Pandey et al., 2023).

Se han identificado más de 100 variantes en *LPL*, la mayoría relacionadas a pérdida de función, en pacientes con HTG (Kristensen et al., 2021). Interesantemente, en este estudio, se encontraron 13 nuevas SNV, una de ellas con una frecuencia alélica similar a la variante c.644G>A, por lo que es de vital importancia realizar un análisis más profundo para evaluar su significado clínico y descartar su patogenicidad o benignidad.

Se encontró un portador de la variante c.644G>A con fenotipo sugerente de FCS. Al ser un padecimiento que se hereda de forma autosómica recesiva y se manifiesta en presencia de variantes bialélicas en *LPL* (homocigoto o heterocigoto compuesto) (Zhang et al., 2023) es importante buscar intencionadamente otras variantes para corroborar el posible estado heterocigoto compuesto responsable del fenotipo del padre. Estos resultados son apoyados por un reporte previo en población mexicana en donde mencionan a un paciente heterocigoto compuesto para las variantes c.644G>A y c.829G>A con HTG severa (Rabacchi et al., 2015) Finalmente, es necesario considerar que este padecimiento también está estrechamente relacionado con hipertensión, ya que alteraciones en la concentración de lípidos en sangre conducen a una reducción de elasticidad arterial, generando actividad vasomotora anormal, que se ve reflejada en un aumento de presión sanguínea (Wyszyńska, J. et al., 2023). Más aún, se ha encontrado una relación inversa de la variante Ser447Ter, localizada en el exón 9 del gen *LPL* con hipertensión (Wang et al., 2017).

CONCLUSIONES

A pesar de que se tiene conocimiento de múltiples variantes que afectan al gen *LPL* y su relación con dislipidemias e hipertensión, a la fecha no existen reportes genómicos en población mexicana, por lo que los resultados de este trabajo son muy relevantes, aunque es necesario profundizar en el conocimiento genómico de ambas patologías solas y en combinación.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Serri, A., Al-Bustan, S. A., Al-Sabah, S., Annice, B. G., Alnaqeeb, M. A. y Mojiminiyi, O. A. (2021). Association between the lipoprotein lipase RS1534649 gene polymorphism in Intron one with body mass index and high density Lipoprotein-Cholesterol. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4717-4722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.085>
- Arora, R., Nimonkar, A. V., Baird, D., Wang, C., Chiu, C., Horton, P. A., Hanrahan, S., Cubbon, R. M., Weldon, S. C., Tschantz, W. R., Mueller, S., Brunner, R., Lehr, P., Meier, P. J., Ottl, J., Voznesensky, A., Pandey, P., Smith, T. M., Stojanović, A., Flyer, A., Benson, T.E., Romanowski, M.J. y Trauger, J. W. (2019). Structure of lipoprotein lipase in complex with GPIHBP1. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 116(21), 10360-10365.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1820171116>

- Dron, J. S., y Hegele, R. A. (2020). Genetics of hypertriglyceridemia. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00455>
- Fausto, A. G. C., García, J. R. G., De Jesús Hernández Flores, T., Cárdenas, N. A. V., Perales, N. E. S., y Torres, M. T. M. (2017). Homozygous LPL p.Gly188Glu Mutation in a Mexican Girl With Lipoprotein Lipase Deficiency. *Annals Of Laboratory Medicine*, 37(4), 355-358. <https://doi.org/10.3343/alm.2017.37.4.355>
- Gunn, K. H. y Neher, S. B. (2023). Structure of dimeric lipoprotein lipase reveals a pore adjacent to the active site. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38243-9>
- Han, P., Wei, G., Cai, K., Xiang, X., Deng, W. P., Li, Y. B., Kuang, S., Dong, Z., Zheng, T., Luo, Y., Liu, J., Guan, Y., Li, C., Dey, S. K., Li, Z. y Banerjee, S. (2020). Identification and functional characterization of mutations in LPL gene causing severe hypertriglyceridaemia and acute pancreatitis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(2), 1286-1299. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14768>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. (2023). *Sala de prensa*. <https://www.inegi.org.mx/app/saladeprensa/noticia.html?id=8911#:~:text=Entre%20enero%20y%20septiembre%20de,en%20el%20periodo%20de%20referencia>.
- Rabacchi, C., Pisciotto, L., Cefalù, A. B., Noto, D., Fresa, R., Tarugi, P., Averna, M., Bertolini, S. y Calandra, S. (2015). Spectrum of mutations of the LPL gene identified in Italy in patients with severe hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*, 241(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.815>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., & Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics In Medicine*, 17(5), 405-424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Rivas-Gómez, B., Almeda-Valdés, P., Tussié-Luna, M. T. y Aguilar-Salinas, C. A. (2018c). Dyslipidemia in Mexico, a Call for Action *Revista de Investigación Clínica* *Revista de Investigación Clínica*, 70(5). <https://doi.org/10.24875/ric.18002573>
- Rodríguez-Gutiérrez, P. G., Colima-Fausto, A. G., Zepeda-Olmos, P. M., De Jesús Hernández-Flores, T., González-García, J. R. y Magaña-Torres, M. T. (2022). Biochemical, Clinical, and Genetic Characteristics of Mexican Patients with Primary Hypertriglyceridemia, Including the First Case of Hyperchylomicronemia Syndrome Due to GPIHBP1 Deficiency. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(1), 465. <https://doi.org/10.3390/ijms24010465>
- Surendran, R. P., Visser, M. E., Heemelaar, S., Wang, J., Peter, J., Defesche, J. C., Kuivenhoven, J. A., Hosseini, M., Péterfy, M., Kastelein, J. J. P., Johansen, C. T., Hegele, R. A., Stroes, E. S. G. y Dallinga-Thie, G. M. (2012). Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia.

Journal Of Internal Medicine, 272(2), 185-196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2012.02516.x>

- Tanaka, S., Ueno, T., Tsunemi, A., Nakamura, Y., Kobayashi, H., Hatanaka, Y., Haketa, A., Fukuda, N., Soma, M. y Abe, M. (2019). Lipoprotein lipase deficiency arising in type V dyslipidemia. *Internal Medicine*, 58(2), 251-257. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.0952-1>
- Ueda, M. (2022). Familial chylomicronemia syndrome: importance of diagnostic vigilance. *Translational Pediatrics*, 11(10), 1588-1594. <https://doi.org/10.21037/tp-22-488>.
- Wang, J., Du, S., Wang, J., Zhu, M., Wen, X., & Yang, W. (2017). Association of the lipoprotein lipase gene Ser447Ter polymorphism with hypertension and blood pressure variation: evidence from an updated meta-analysis. *Clinical And Experimental Hypertension*, 39(7), 655-664. <https://doi.org/10.1080/10641963.2017.1313848>.
- Wu, S., Kersten, S., & Qi, L. (2021). Lipoprotein Lipase and Its Regulators: An Unfolding Story. *Trends In Endocrinology And Metabolism*, 32(1), 48-61. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.11.005>
- Wyszynska, J., Łuszczki, E., Sobek, G., Mazur, A., & Dereń, K. (2023). Association and Risk Factors for Hypertension and Dyslipidemia in Young Adults from Poland. *International Journal Of Environmental Research And Public Health/International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 20(2), 982. <https://doi.org/10.3390/ijerph20020982>
- Zhang, G., Hu, Y., Yang, Q., Pu, N., Li, G., Zhang, J., Tong, Z., Masson, E., Cooper, D. N., Chen, J., & Li, W. (2023). Frameshift coding sequence variants in the LPL gene: identification of two novel events and exploration of the genotype–phenotype relationship for variants reported to date. *Lipids In Health And Disease*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-023-01898->