



**Universidad**  
Zaragoza



Instituto de Investigación  
Sanitaria Aragón

# Trabajo Fin de Grado

Frecuencia y características clínicas de la mutación  
p.(Leu167del) en *APOE*

Frequency and clinical characteristics of the  
p.(Leu167del) mutation in *APOE*

Autora:  
Sara Farrer Lázaro

Director:  
Fernando Civeira Murillo

Grado en Medicina

Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología.

Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

2024-2025



## RESUMEN

### Introducción

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una dislipemia genética autosómica dominante, asociada clásicamente a variantes patogénicas en *LDLR*, *APOB* o *PCSK9*. Sin embargo, variantes poco frecuentes en *APOE* como la p.(Leu167del) también pueden producir fenotipos compatibles. Esta ha sido escasamente descrita, por lo que el presente trabajo busca establecer su frecuencia en la población general y en sujetos con hipercolesterolemia primaria, así como caracterizar su perfil clínico y bioquímico, y compararlo con otras formas genéticas de HF.

### Material y métodos

Se analizaron variables clínicas y analíticas en pacientes con hipercolesterolemia primaria de las cohortes del HUMS y AWHs. La frecuencia poblacional se estimó mediante datos de cohortes internacionales extraídos de Franklin Genoox. Se incluyeron casos publicados en la literatura científica hasta marzo de 2025 y portadores del registro nacional de dislipemias de la SEA. Se compararon sujetos portadores de p.(Leu167del) con no portadores, y con portadores de variantes en genes clásicos.

### Resultados

La frecuencia estimada de esta variante en la población general es de aproximadamente 1/12.000 sujetos. En la cohorte del HUMS se identificó en el 5% de los sujetos con HF. Portadores presentaron niveles elevados de c-LDL, aunque menores que los observados en variantes clásicas. Mostraron cifras elevadas de c-HDL y triglicéridos en algunos casos, niveles más bajos de Lp(a), presión arterial y glucosa. La presencia de xantomas fue muy baja y no se observaron diferencias significativas en antecedentes cardiovasculares.

### Discusión

Los resultados sugieren que p.(Leu167del) es una forma rara de HF asociada a un fenotipo más benigno, con menor c-LDL y presencia de xantomas. En algunos casos se observa un perfil compatible con dislipemia mixta. Los niveles bajos de Lp(a), glucosa y presión

arterial sugieren menor riesgo cardiovascular y la falta de manifestaciones clínicas en jóvenes apoya una posible penetrancia incompleta. La elevada frecuencia en la población española plantea un posible efecto fundador.

### **Conclusiones**

Los hallazgos apoyan el papel patogénico de la variante p.(Leu167del) en *APOE* y su asociación con formas atípicas o leves de HF, reforzando la necesidad de incluir este gen en los paneles de diagnóstico genético para mejorar la detección y el manejo personalizado.

### **Palabras clave**

Hipercolesterolemia Familiar, *APOE*, variante patogénica p.(Leu167del), efecto fundador, diagnóstico genético, penetrancia incompleta, xantomas.

# ABSTRACT

## Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant genetic dyslipidemia typically associated with pathogenic variants in the LDLR, APOB, or PCSK9 genes. However, rare APOE variants may also produce compatible phenotypes. The p.(Leu167del) variant has been scarcely described. This study aims to determine its frequency in the general population and in individuals with primary hypercholesterolemia, to characterize its clinical and biochemical profile, and to compare it with other genetic forms of FH.

## Methods

Clinical and analytical variables were evaluated in patients with primary hypercholesterolemia from the HUMS and AWHs cohorts. Population frequency was estimated using data from international databases (gnomAD, TOPMed) accessed through Franklin Genoox. Published cases up to March 2025 and carriers from the Spanish Atherosclerosis Society (SEA) registry were also included. Carriers of p.(Leu167del) were compared with non-carriers and with carriers of classical FH genes.

## Results

The estimated frequency of this variant in the general population is approximately 1 in 25,000. In the HUMS cohort, it was identified in 5% of individuals with FH. Carriers showed elevated LDL-C levels, though lower than those with LDLR or APOB variants. HDL-C and triglyceride levels were elevated in some cases, and levels of lipoprotein(a), blood pressure, and glucose were lower. Xanthomas were rare, and no significant differences were found in cardiovascular history.

## Discussion

The results suggest that p.(Leu167del) is a rare form of FH associated with a milder phenotype, with lower LDL-C and reduced xanthoma prevalence. In some cases, the lipid profile resembles mixed dyslipidemia. The lower levels of lipoprotein(a), glucose, and blood pressure may reflect a less aggressive cardiovascular risk profile. The absence of

clinical signs in younger individuals supports the possibility of incomplete penetrance. The higher frequency observed in the Spanish population suggests a potential founder effect.

### **Conclusions**

The findings support the pathogenic role of the p.(Leu167del) variant in APOE and its association with atypical or mild forms of FH, reinforcing the importance of including this gene in genetic diagnostic panels to improve detection and personalized clinical management.

### **Key words:**

Familial hypercholesterolemia, *APOE*, p.(Leu167del) variant, founder effect, incomplete penetrance, genetic diagnosis, xanthomas.

## ABREVIATURAS

ABCA1: Transportador de ATP tipo cassette 1  
APOB: Apolipoproteína B  
APOE: Apolipoproteína E  
AWHS: Estudio de Salud de los Trabajadores de Aragón  
CI: Cardiopatía isquémica  
c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad  
c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad  
DLCN: Red de Clínicas de Lípidos Holandesa  
ECV: Enfermedad cardiovascular  
HDL: Lipoproteína de alta densidad  
HF: Hipercolesterolemia Familiar  
HFHe: Hipercolesterolemia Familiar Heterocigota  
HFHo: Hipercolesterolemia Familiar Homocigótica  
IMC: Índice de masa corporal  
LDL: Lipoproteína de baja densidad  
LDLR: Receptor de lipoproteínas de baja densidad  
LDLRAP1: Proteína adaptadora del receptor de LDL tipo 1  
Lp(a): Lipoproteína (a)  
PAS: Presión arterial sistólica  
PAD: Presión arterial diastólica  
PCSK9: Proconvertasa subtilisina/kexina tipo 9  
SEA: Sociedad Española de Arteriosclerosis  
VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 La hipercolesterolemia familiar: Un problema global de salud. ....	1
1.2 Bases genéticas de la hipercolesterolemia familiar .....	3
1.3 La apolipoproteína E (apoE) y su implicación en el metabolismo lipídico.....	4
1.3.1 Función y estructura de la apolipoproteína E (apoE) .....	4
1.3.2 La mutación p.(Leu167del) en el gen APOE: origen y características estructurales .....	5
1.3.3 Evidencia clínica y variabilidad fenotípica asociada a la mutación p.(Leu167del) del gen APOE en la hipercolesterolemia familiar .....	5
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	<b>8</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>10</b>
4.1 Sujetos .....	10
4.2 Variables clínicas.....	10
4.3 Determinaciones analíticas .....	10
4.4 Estudio de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE .....	11
4.5 Cálculo de la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE .....	11
4.6 Fenotipo lipídico de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE.....	12
4.7 Análisis estadístico .....	12
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>13</b>
5.1. Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS).....	13
5.2. Aragon Workers Health Study (AWHS) .....	17
5.3. Cálculo de la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE .....	18
5.4. Fenotipo lipídico de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE.....	20
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	<b>22</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>27</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>28</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Comparativa de determinaciones analíticas entre sujetos con hipercolesterolemia primaria portadores de variante en APOE frente a no portadores en APOE.....	<b>14</b>
<b>Tabla 2.</b> Comparativa de variables clínicas entre sujetos con hipercolesterolemia primaria portadores de variante en APOE frente a no portadores en APOE.....	<b>15</b>
<b>Tabla 3.</b> Comparativa de determinaciones analíticas entre pacientes con HF, portadores de variante en APOE y portadores de variantes patogénicas en LDLR o APOB .....	<b>16</b>
<b>Tabla 4.</b> Comparativa de variables clínicas entre pacientes con HF, portadores de variante en APOE y portadores de variantes patogénicas en LDLR o APOB. ....	<b>17</b>
<b>Tabla 5.</b> Perfil clínico y bioquímico en la cohorte AWHs .....	<b>18</b>
<b>Tabla 6.</b> Frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE en distintas cohortes internacionales. ....	<b>19</b>
<b>Tabla 7.</b> Frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE en subpoblaciones. ....	<b>19</b>
<b>Tabla 8.</b> Perfil lipídico de pacientes con la variante APOE p.(Leu167del) .....	<b>21</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Signos de hipercolesterolemia familiar. <b>A y B.</b> Xantomas en el tendón de Aquiles y extensores de la mano; <b>C.</b> Arco corneal completo en un varón <45 años; <b>D.</b> Xantomas eruptivos y planos en manos y rodillas.....	<b>2</b>
<b>Figura 2.</b> Estructura de la apolipoproteína E (apoE) y sus regiones funcionales. ....	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b> Impacto estructural de la mutación p.(Leu167del) en <i>APOE</i> . ....	<b>5</b>
<b>Figura 4.</b> c-LDL en portadores (grupo 0) vs no portadores (grupo 1).....	<b>16</b>
<b>Figura 5.</b> c-HDL en portadores (grupo 0) vs no portadores (grupo 1).....	<b>16</b>
<b>Figura 6.</b> Presencia de xantomas en portadores vs no portadores .....	<b>17</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 La hipercolesterolemia familiar: Un problema global de salud.

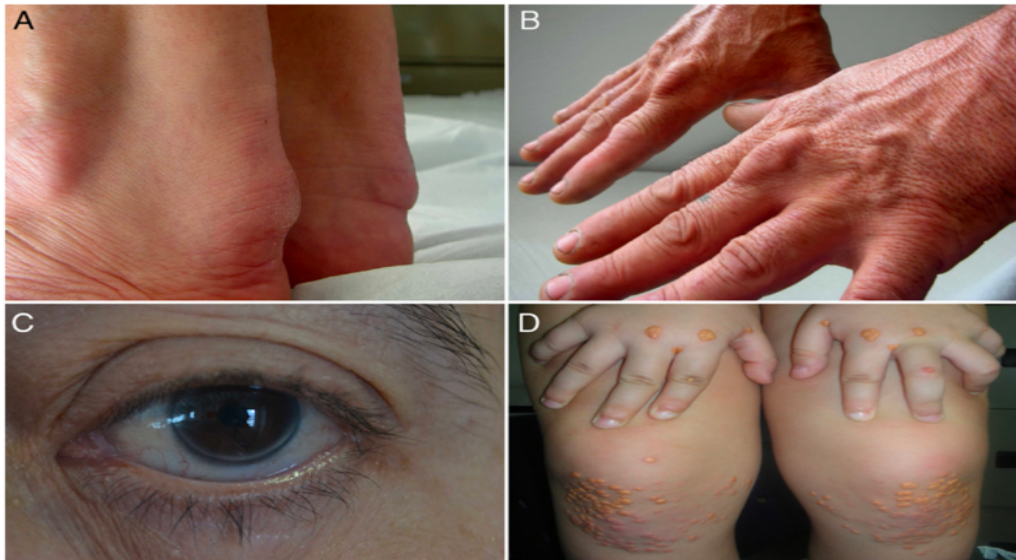
La hipercolesterolemia familiar (HF) es una alteración de origen genético que se caracteriza por concentraciones elevadas de colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) en la sangre, lo que puede derivar en problemas graves y constituye una causa de enfermedad cardíaca coronaria prematura.<sup>1,2</sup>

El exceso de colesterol tiende a acumularse en las paredes de las arterias formando células espumosas en la íntima de éstas, pudiendo convertirse en placas estenóticas de arteriosclerosis. Con el tiempo, estas placas pueden causar angina de pecho debido al flujo sanguíneo restringido, o romperse provocando eventos graves como síndrome coronario agudo.<sup>1</sup>

Se presenta de dos formas clínicas: Hipercolesterolemia Familiar Heterocigota (HFHe) e Hipercolesterolemia Familia Homocigota (HFHo). Se cree que la prevalencia es de 1/300 para los heterocigotos y 1/400.000 para los homocigotos, pero probablemente los números reales sean superiores porque todavía no se conoce con exactitud dado el grado de infra-diagnóstico existente.<sup>1,3</sup>

El Estudio de Población General de la Universidad de Copenhague estima que la HF es 10 veces más frecuente en personas con cardiopatía isquémica (CI), 20 veces en CI prematura y 23 veces en sujetos con hipercolesterolemia grave con c-LDL > 190 mg/dL, con una prevalencia en población general de 1 por cada 313 personas. Además, el 90% de los países carece de datos sobre su prevalencia, evidenciando una brecha global en el conocimiento de esta condición.<sup>1,3</sup>

En cuanto a las características clínicas, la HFHo cursa con concentraciones de c-LDL entre 800-1000 mg/dL. Es frecuente la aparición de xantomas, arterioesclerosis y arco corneal durante los primeros diez años de vida. Existe un riesgo significativamente alto de muerte por patología coronaria antes de alcanzar los 30 años.<sup>2,5</sup>



**Figura 1.** Signos de hipercolesterolemia familiar. **A y B.** Xantomas en el tendón de Aquiles y extensores de la mano; **C.** Arco corneal completo en un varón <45 años; **D.** Xantomas eruptivos y planos en manos y rodillas.<sup>6</sup>

En la HFHe, el incremento de c-LDL, que cursa desde el nacimiento, es algo menos pronunciado que en la versión homocigota de la enfermedad, con valores entre 190-400 mg/dl. La enfermedad cardiovascular precoz es una complicación muy común, con alto riesgo de eventos cardiovasculares antes de los 50 años en hombres y de los 60 años en mujeres si no se trata.<sup>7</sup>

La detección de la HF se basa en el cribado en cascada familiar, utilizando niveles de colesterol y análisis genético, que es clave para un diagnóstico definitivo. En adultos, se recomienda investigar casos con colesterol total >300 mg/dL, enfermedad cardiovascular prematura o xantomas, aplicando criterios clínicos como los de la Red de Clínicas de Lípidos Holandesas (DLCN). La combinación de c-LDL y pruebas genéticas mejora la detección, especialmente en familias con mutaciones conocidas. La detección temprana, idealmente desde los 2 años en la HFHo, es esencial para prevenir complicaciones cardiovasculares.<sup>2,6</sup>

En el examen físico, se busca la presencia de depósitos superficiales de colesterol, especialmente en áreas como las manos, rodillas, codos y alrededor de los ojos. También se evalúa el engrosamiento de los tendones, como los del talón y las manos, y la aparición de un anillo grisáceo o blanquecino alrededor del iris del ojo.<sup>2,5,6</sup>

## 1.2 Bases genéticas de la hipercolesterolemia familiar

La HF presenta un patrón de herencia autosómica dominante y es causada por la presencia de variantes patogénicas en genes que se involucran en la regulación y función del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL).<sup>8</sup>

El c-LDL es transportado mediante lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) desde el hígado hacia los tejidos periféricos en condiciones normales. Los receptores LDL se encargan de la endocitosis de estas partículas. Este proceso puede verse alterado si la PCSK9 interfiere en su reciclaje intracelular lo que supone que disminuya la disponibilidad de estos receptores y posterior incremento de la concentración de c-LDL en plasma favoreciendo la formación de depósitos lipídicos en las arterias. Todo esto contribuye a la arterosclerosis pudiendo derivar en complicaciones cardiovasculares.<sup>1</sup>

La causa genética más frecuente de la hipercolesterolemia familiar autosómica dominante es mutaciones en el gen *LDLR* encargado de codificar el receptor LDL, que da lugar al fenotipo de HF. También existen otros genes que pueden causar un fenotipo similar al de la HF: los genes *APOB* y *PCSK9*, cuyas mutaciones originan HF autosómica dominante, aunque con menor frecuencia que las mutaciones en el gen *LDLR*.<sup>1,7,8</sup>

Por otro lado, las variantes patogénicas en el gen *LDLRAP1* causan la hipercolesterolemia autosómica recesiva para ello se requiere que ambas copias del gen estén defectuosas.<sup>7</sup>

Se ha observado que entre el 10% y el 40% de personas diagnosticadas en base a criterios clínicos como niveles muy elevados de c-LDL, antecedentes familiares o características físicas como los xantomas tendinosos no presentan una mutación detectable en estos genes sugiriendo una posible base poligénica o la involucración de genes no caracterizados.<sup>1</sup> Esto sugiere que la etiología de la HF es heterogénea.<sup>8</sup>

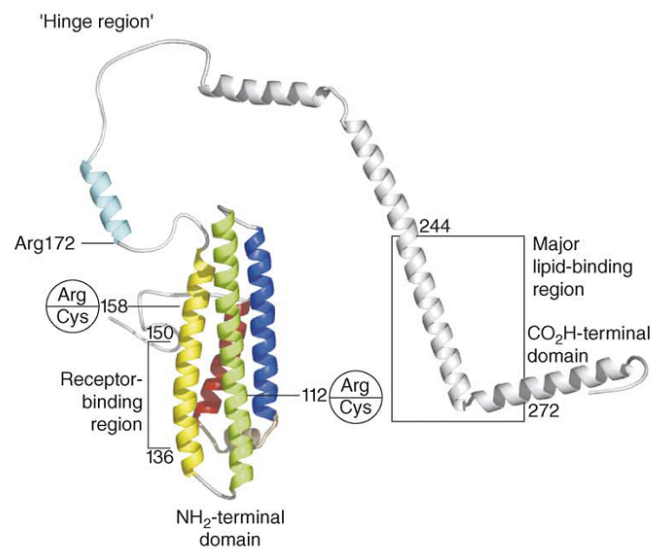
El análisis genético en familias afectadas revela que los portadores de mutaciones genéticas tienen en promedio el doble de c-LDL que los que no presentan mutación. De todas formas, algunos portadores tienen niveles inferiores a los diagnósticos clínicos, esto se puede deber a factores genéticos o de estilo de vida que mitigan el efecto de la mutación. No obstante, estos individuos requieren tratamiento debido al elevado riesgo cardiovascular que supone presentar valores elevados de colesterol por un tiempo

prolongado por todo esto es muy importante una intervención terapéutica adaptada a las características clínicas y genéticas de cada paciente.<sup>1,9</sup>

### 1.3 La apolipoproteína E (apoE) y su implicación en el metabolismo lipídico

#### 1.3.1 Función y estructura de la apolipoproteína E (apoE)

La apolipoproteína E (apoE) es una glicoproteína madura compuesta por 299 aminoácidos, sintetizada en tejidos como el hígado, el cerebro y los macrófagos tisulares, y desempeña un papel crucial en el metabolismo de los lípidos.<sup>10</sup>



**Figura 2.** Estructura de la apolipoproteína E (apoE) y sus regiones funcionales.<sup>10</sup>

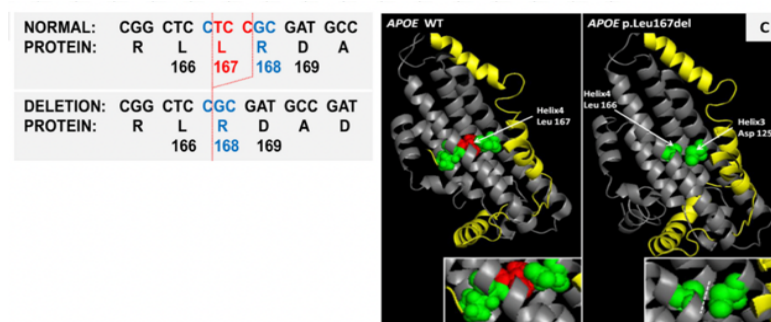
Es indispensable para la eliminación de remanentes lipoproteicos y actúa mediante su interacción con receptores de la familia LDLR, que incluye más de diez tipos diferentes.<sup>6</sup> Estos receptores participan tanto en la endocitosis mediada por receptores como en la señalización celular.<sup>9</sup>

La apoE forma parte de los quilomicrones, las VLDL y las HDL.<sup>9</sup>

A través de su interacción con receptores específicos y con proteoglicanos de heparán sulfato, la apoE promueve la eliminación de los remanentes de quilomicrones y VLDL por parte del hígado. Además, facilita el transporte de colesterol desde los macrófagos hacia las partículas HDL, un proceso mediado por el transportador ABCA1, que ayuda a liberar colesterol libre y fosfolípidos acumulados en estas células. Por último, la apoE

puede contribuir a la formación de tejido adiposo a partir de lipoproteínas ricas en triglicéridos, lo que resalta su papel multifuncional en el metabolismo lipídico<sup>9</sup>.

### 1.3.2 La mutación p.(Leu167del) en el gen APOE: origen y características estructurales



**Figura 3.** Impacto estructural de la mutación p.(Leu167del) en APOE.<sup>11</sup>

La mutación p.(Leu167del) en el gen *APOE* consiste en la eliminación de la leucina en posición 167 en el marco de lectura del gen. Esta deleción genera cambios significativos en la estructura de la proteína apoE<sup>11</sup>, como se observa en la Figura 3.

La leucina 167 se encuentra cerca de la región de unión al receptor LDL (residuos 136-150), una zona clave para la función de la proteína. Su ausencia desestabiliza el motivo de cremallera de leucina en la cuarta hélice alfa de la región N-terminal (mostrada en gris), lo que afecta la integridad estructural de la proteína. Sin embargo, la región C-terminal (indicada en amarillo) permanece sin alteraciones.<sup>11</sup>

Estos cambios estructurales pueden interferir con la función normal de la apoE en el metabolismo lipídico y están relacionados con la alteración de la que trata el presente estudio, la Hipercolesterolemia Familiar.<sup>5</sup>

### 1.3.3 Evidencia clínica y variabilidad fenotípica asociada a la mutación p.(Leu167del) del gen APOE en la hipercolesterolemia familiar

La mutación p.(Leu167del) del gen *APOE* fue reportada inicialmente en 1994 por Livak y Hainer en un ensayo clínico que incluyó a un joven de 22 años portador en heterocigosis. En este caso, los niveles de colesterol del individuo eran normales y no se investigó la relación potencial entre esta variante genética y enfermedades metabólicas. Sin embargo,

años después, esta mutación fue asociada con alteraciones significativas del metabolismo lipídico en diversos contextos clínicos.<sup>9</sup>

En el año 2000, Nguyen y colaboradores identificaron la mutación p.(Leu167del) en dos pacientes de ascendencia francocanadiense con hiperlipidemia severa posterior a esplenectomía realizadas por hepatoesplenomegalia. Ambos pacientes presentaban esteatosis hepática, acumulación de histiocitos espumosos en el bazo y una notable elevación de ésteres de colesterol en macrófagos. Estos hallazgos proporcionaron una base para entender cómo la mutación contribuye a complicaciones metabólicas específicas tras eventos como la esplenectomía. Posteriormente, se describió un caso adicional en un individuo francés que también era portador de esta mutación junto con un alelo APOE2. Este paciente presentó esplenomegalia, hipertrigliceridemia y trombocitopenia, lo que permitió observar un fenotipo clínico variado entre los portadores de la mutación. Los estudios familiares realizados demostraron que otros miembros portadores presentaban desde hipercolesterolemia aislada hasta hipertrigliceridemia, sugiriendo la influencia de factores genéticos adicionales, como la coexistencia de alelos específicos y antecedentes de dislipidemia familiar.<sup>9</sup>

Rahalkar documentó otro caso relevante en un hombre de 49 años que desarrolló hiperlipidemia combinada y niveles elevados de triglicéridos tras una esplenectomía por ruptura espontánea del bazo infiltrado por histiocitos espumosos. Este informe reforzó la asociación entre la mutación, esplenomegalia y dislipidemia, destacando la marcada variabilidad clínica que parece depender de factores adicionales aún no identificados.<sup>9, 12</sup>

La variante patogénica p.(Leu167del) en el gen *APOE* se ha identificado como una causa de hipercolesterolemia autosómica dominante, con un fenotipo clínico y lipídico muy similar al observado en sujetos con HF debida a mutaciones en *LDLR*, *APOB* o *PCSK9*. El análisis conjunto de diversos estudios demuestra que, al menos en poblaciones europeas, la delección p.(Leu167del) está presente en el 0,1–1% de los individuos con sospecha clínica de HF, y este porcentaje puede ascender hasta un 3–7% en aquellos casos en los que se han descartado mutaciones patogénicas en *LDLR*, *APOB* y *PCSK9*. Por este motivo, se recomienda la inclusión sistemática del gen *APOE* en los paneles de estudio genético de la hipercolesterolemia familiar.<sup>9, 13</sup>

En términos funcionales, la mutación p.(Leu167del) afecta la región de unión al receptor de la apolipoproteína E (apo E), lo que altera la captación de lipoproteínas VLDL y regula negativamente la expresión del receptor LDL en hepatocitos. Esto genera un aumento de partículas LDL circulantes y, por ende, de los niveles plasmáticos de c-LDL. Además, los estudios sugieren que los portadores responden mejor al tratamiento hipolipemiente con estatinas, lo que subraya su relevancia en la práctica clínica y en el manejo terapéutico de estos pacientes.<sup>7,9,13</sup>

## **2. HIPÓTESIS**

La variante p.(Leu167del) en el gen de *APOE* es una forma rara de HF que produce un fenotipo lipídico y clínico más benigno que las formas clásicas.

### 3. OBJETIVOS

1. Establecer la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en la población general y en la población de sujetos con hipercolesterolemia primaria.
2. Establecer las características clínicas de los sujetos portadores de esta variante.
3. Conocer el riesgo cardiovascular de los portadores de p.(Leu167del).
4. Comparar el fenotipo y riesgo cardiovascular de los sujetos portadores con aquellos sujetos portadores de variantes patogénicas en el *LDLR*.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Sujetos

#### 1. Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS)

Se analizaron todos los sujetos sin restricción de edad con c-LDL  $\geq 190$  mg/dL o no-HDLc  $\geq 220$  mg/dL atendidos desde enero de 2000 hasta diciembre de 2024. Se excluyeron a todos los sujetos con hipercolesterolemia secundaria considerada por cualquiera de las siguientes condiciones: síndrome nefrótico, hipotiroidismo no controlado, colestasis, consumo elevado de alcohol ( $>30$  g/día), embarazo, anorexia nerviosa o uso de fármacos que promocionan trastornos del metabolismo lipídico incluidos antirretrovirales, dosis altas de corticoides e inmunosupresores.<sup>14</sup>

#### 2. Aragon Workers Health Study (AWHS)

Se seleccionaron de forma aleatoria a 1000 sujetos del estudio AWHS. El estudio AWHS, es un estudio longitudinal de cohortes basado en factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica realizado a un grupo de 5678 trabajadores de la fábrica de Opel España en Zaragoza, España. La cohorte final del AWHS proporcionó 4981 voluntarios, el 93.4% de la cohorte inicial.<sup>15</sup>

### 4.2 Variables clínicas

Para cada sujeto de ambos estudios se estudiaron: edad, sexo, historia de enfermedad cardiovascular y tabaco, prevalencia de HTA y diabetes, y presencia de xantomas y arco corneal. La exploración incluyó también el cálculo del índice de masa corporal (IMC), presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD).

Además, todos los participantes firmaron un consentimiento informado que fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón para el HUMS y el AWHS.<sup>14,15</sup>

### 4.3 Determinaciones analíticas

Se determinaron o calcularon en ambos grupos las concentraciones de colesterol, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, no-HDLc, lipoproteína (a) [Lp(a)], apolipoproteína B (apo B), glucosa y creatinina. Las muestras del HUMS y del AWHS las proporcionó el Biobanco del Sistema de Salud de Aragón, integrado en la Red Nacional de Biobancos Española, y se procesaron siguiendo procedimientos operativos estándar. Las muestras fueron obtenidas tras al menos cinco semanas sin tratamiento hipolipemiante, salvo en pacientes con enfermedad cardiovascular previa o muy alto riesgo cardiovascular y en

ese caso se utilizaron datos históricos de los participantes sin tratamiento hipolipemiente.<sup>14, 15</sup>

#### 4.4 Estudio de la variante p.(Leu167del) en el gen de *APOE*

Se aisló ADN genómico de sangre completa mediante métodos estándar. El exón 4 del gen *APOE* (NM\_000041.4) se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y se purificó mediante ExoSap-IT (USB). Los fragmentos amplificados se secuenciaron mediante el método de Sanger con el kit de secuenciación BigDye 3.1 (Applied Biosystems) en un secuenciador automatizado ABI 3500xL (Applied Biosystems). Las secuencias de ADN se analizaron con el software VariantReporter (Applied Biosystems).<sup>16</sup>

#### 4.5 Cálculo de la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de *APOE*

Para este cálculo se utilizaron las cohortes del HUMS, AWHS y así como todas las cohortes internacionales donde se ha analizado la variante y la información de éstas últimas fue extraída de la página web del consorcio Franklin Genoox (<https://franklin.genoox.com/clinical-db/home>) que incluye las siguientes cohortes:

1. Cohorte del UK BIOBANK, una cohorte prospectiva de base poblacional que incluye a más de 500.000 sujetos del Reino Unido, de los cuales 387.649 son de ascendencia europea con edades comprendidas entre 40 y 79 años residentes en el Reino Unido entre 2006 y 2010. Esta cohorte proporciona una fuente exhaustiva de datos integrados que abarcan información genómica de gran resolución mediante genotipado extensivo, parámetros bioquímicos obtenidos en condiciones estandarizadas y un seguimiento clínico longitudinal sistemático, esto permite un análisis detallado de la interacción entre factores genéticos, biomarcadores y determinantes del estilo de vida. De manera que tiene como objetivo investigar cómo se relacionan estos factores con el desarrollo de enfermedades crónicas, incluyendo patologías cardiovasculares, metabólicas, neurológicas y oncológicas, entre otras.<sup>17</sup>
2. GnomAD, una base de datos de agregación genómica que integra datos de dos plataformas de secuenciación: datos de secuenciación de exomas de 123.136 individuos y secuencias de genomas completos de 15.496 individuos. La base de datos incluye información de diversas poblaciones, en total 138.632 individuos

que se dividen en: africanos (12.020), americanos (17,210), judíos askenazíes (5.076), asiáticos del este (9435), europeos finlandeses (12.897), europeos no finlandeses (63.369), asiáticos del este (15.391) y otros (3.224). Esta heterogeneidad poblacional contribuye a una representación más completa y precisa de la variabilidad genética entre los distintos grupos étnicos. La versión 4 del gnomAD incorpora datos de 416.555 individuos del UK Biobank, esto representa una parte significativa del total de 730.947 exomas que se incluyen en esta actualización.<sup>18</sup>

3. Programa TOPMed del Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (NHLBI) tiene como objetivo generar recursos científicos que mejoren la comprensión de los trastornos cardíacos, pulmonares, sanguíneos y del sueño y que hagan avanzar más la medicina de precisión. TOPMed ha secuenciado más de 180.000 participantes de más de 85 estudios diferentes, abarcando diversas enfermedades y condiciones. Aproximadamente el 60% de los participantes son de ascendencia no europea, incluyendo individuos de ascendencia africana, asiática e hispana/latina.<sup>19</sup>

#### 4.6 Fenotipo lipídico de la variante p.(Leu167del) en el gen de *APOE*

Se analizaron todos los casos publicados en revistas indexadas en PubMed, Web of Science and Google Scholar hasta marzo 2025 de la variante en los que se reflejaba de forma individual o agrupada los datos de al menos: c-LDL, c-HDL y triglicéridos. Además, se incluyeron a todos los portadores de la variante incluidos en el registro de dislipemias de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA).

#### 4.7 Análisis estadístico

Los análisis se realizaron con el programa informático estadístico RStudio (v. 2024.04.1). Las variables con distribución asimétrica se expresan como mediana y rangos intercuartílicos.

Para las variables categóricas cuantitativas se testeó la hipótesis de normalidad aplicando el test de Shapiro-Wilk, tras rechazar la hipótesis nula de normalidad, se empleó el test de Mann-Whitney-Wilcoxon para evaluar las diferencias entre los grupos. Las variables categóricas cualitativas se expresan como n (%) y las diferencias estadísticas se evaluaron mediante la prueba de Chi-cuadrado. El nivel de significación se estableció en  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS)

En la Tabla 1 y en la Tabla 2, se comparó a todos los sujetos con hipercolesterolemia primaria portadores de la variante patogénica p.(Leu167del) con los probandos con hipercolesterolemia primaria que no presentaban dicha variante. En este último grupo, se incluyeron únicamente los casos índice, es decir, pacientes diagnosticados inicialmente, sin derivación por antecedentes familiares. Los sujetos portadores de la mutación no fueron filtrados de la misma manera debido a su escaso número en la muestra. Se evaluaron las diferencias entre ambos grupos obteniendo los siguientes resultados: del total de pacientes analizados con esos criterios de inclusión, el 1.22% presentaban la variante p.(Leu167del) frente al 98.8% restante que no la presentaban. Tras realizar los cálculos hemos observado las siguientes diferencias significativas.

Los pacientes portadores de la variante tenían una edad significativamente menor con respecto a los no portadores, con una mediana de 36 frente a 51.5 años respectivamente. También encontramos diferencias significativas en el IMC, con una mediana de 25.5 kg/m<sup>2</sup> en portadores frente a 26.9 kg/m<sup>2</sup> en no portadores. En cuanto a las cifras de colesterol, encontramos diferencias significativas en el c-HDL, c-LDL y no-HDLc. Los pacientes portadores de la variante presentaron cifras de c-LDL significativamente mayores que los no portadores, con una mediana de 255 frente a 216 mg/dL. Las cifras de c-HDL también fueron significativamente mayores en portadores que en no portadores, con una mediana de 61 frente a 55 mg/dL respectivamente. Y las cifras de no-HDLc también fueron mayores en los portadores de la variante, con una mediana de 289 frente a 259 mg/dL en portadores y no portadores, respectivamente. Las cifras de creatinina, Lp(a), glucosa, presión arterial sistólica y diastólica fueron significativamente menores en el grupo portador de la variante en *APOE* que en los no portadores.

Si comparamos las medianas, en cuanto a los niveles de creatinina observamos una mediana de 0.756 en portadores frente a 0.830 mg/dL en no portadores. En las cifras de Lp(a) observamos una mediana de 11.3 en portadores frente a 45.8 mg/dL en no portadores. La glucosa fue de 86.5 en portadores frente a 92.5 mg/dL en no portadores y por último las cifras de presión arterial fueron, presión arterial diastólica 78 en portadores

frente 82.5 mmHg en no portadores y presión arterial sistólica 124 en portadores frente 132 mmHg en no portadores.

No encontramos diferencias significativas en ninguna de las variables clínicas analizadas como el sexo, la presencia de arco corneal y de xantomas tendinosos, los antecedentes de hipertensión arterial, diabetes o enfermedad cardiovascular así como en el consumo de tabaco (Tabla 2).

Variable	p.(Leu167del) n=29	No p.(Leu167del) n=2358	p
Edad primera visita, años	36.0 (24, 48)	51.5 (43, 60)	<0.01
IMC, kg/m <sup>2</sup>	25.5 (23.1, 27.9)	26.9 (24.2, 29.6)	0.040
Colesterol HDL, mg/dL	61 (48, 74)	55 (44, 66)	0.033
Colesterol LDL, mg/dL	255 (217, 292)	216 (190, 242)	<0.01
Triglicéridos, mg/dL	167 (109, 224)	181 (102, 261)	0.426
Creatinina, mg/dL	0.756 (0.656, 0.855)	0.830 (0.700, 0.960)	0.022
Lipoproteína (a), mg /dL	11.3 (2, 20.5)	45.8 (11.1, 80.6)	<0.01
Glucosa, mg/dL	86.5 (80, 93)	92.5 (84, 101)	<0.01
No-HDLc, mg/dL	289 (252, 325)	259 (232, 286)	<0.01
PAD, mmHg	78 (70, 86)	82.5 (76, 89)	0.029
PAS, mmHg	124 (108, 140)	132 (120, 143)	0.043
ApoB, mg/dL	171 (157, 184)	164 (143, 185)	0.470

Tabla 1. Comparativa de determinaciones analíticas entre sujetos con hipercolesterolemia primaria portadores de variante en *APOE* frente a no portadores en *APOE*.

Variable	p.(Leu167del) n=29	No p.(Leu167del) n=2358	P
Mujer, n (%)	17 (58.6)	1193 (50.6)	0.501
Arco corneal, n (%)	9 (31.0)	590 (25.0)	0.598
Diabetes, n (%)	2 (6.9)	171 (7.3)	1
Hipertensión arterial, n (%)	3 (10.3)	565 (24.0)	0.136
ECV, n (%)	2 (6.9)	239 (10.1)	0.791
Xantomas tendinosos, n (%)	1 (3.5)	138 (5.9)	0.880
Tabaco (no fumador) n (%)	18 (62.1)	1005 (42.6)	0.091
Tabaco (exfumador) n (%)	7 (24.1)	709 (30.1)	0.091
Tabaco (fumador) n (%)	4 (13.8)	644 (27.3)	0.091

Tabla 2. Comparativa de variables clínicas entre sujetos con hipercolesterolemia primaria portadores de variante en *APOE* frente a no portadores en *APOE*.

En la Tabla 3 y en la Tabla 4, se comparó a todos los sujetos con HF portadores de la variante patogénica p.(Leu167del) con los probandos con HFHe producidas por variantes en otros genes canónicos de HF, y se evaluaron la diferencias entre los dos grupos de las distintas determinaciones analíticas y variables clínicas obteniéndose los siguientes resultados: del total de pacientes analizados con esos criterios de inclusión, el 5% presentaban la variante p.(Leu167del) frente al 95% restante que no la presentaban. Tras realizar los cálculos hemos observado las siguientes diferencias significativas. Al considerar únicamente a los probandos la prevalencia fue del 4% del total de los diagnósticos genéticos positivos.

En la tabla 3, en cuanto a las cifras de c-LDL observamos que el grupo con la variante patogénica en *APOE* presentaba cifras significativamente más bajas que los no portadores de la variante con una mediana de 255 frente a 277 mg/dL en portadores y no portadores, respectivamente. También observamos diferencias significativas en las cifras de c-HDL, las cuales eran más elevadas en el grupo portador de la variante en *APOE* con una mediana de 61 frente a 55 mg/dL respectivamente. El grupo portador de la variante en *APOE* también mostro niveles de triglicéridos significativamente más elevados que los no portadores con una mediana de 167 frente a 104 mg/dL. También encontramos diferencias

significativas en los niveles de Lp(a), los portadores de la variante en *APOE* presentaron niveles más bajos frente a los que no presentaban la variante con una mediana de 11.3 frente a 40 mg/dL. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas en la edad, IMC, creatinina, glucosa, no-HDLc, presión arterial, y apoB.

Con respecto a las variables clínicas, tan solo encontramos diferencias significativas en la presencia de xantomas tendinosos, que fue significativamente menor en los portadores de la variante en *APOE* (3.45%) frente a los no portadores (25.6%). (Tabla 4)

No encontramos diferencias significativas en el resto de las variables analizadas como el sexo, la presencia de arco corneal, los antecedentes de hipertensión arterial, diabetes o enfermedad cardiovascular así como en el consumo de tabaco.

Variable	p.(Leu167del) n=29	No p.(Leu167del) n=548	p
Edad primera visita, años	36.0 (24.0, 48.0)	40.5 (29.0, 52.0)	0.375
IMC, kg/m2	25.5 (23.1, 27.9)	24.7 (21.7, 27.7)	0.498
Colesterol HDL, mg/dL	61.0 (48.0, 74.0)	55.0 (44.0, 66.0)	0.025
Colesterol LDL, mg/dL	255 (217, 292)	277 (230.75, 323)	0.018
Triglicéridos, mg/dL	167 (109, 223)	104 (71,137)	<0,01
Creatinina, mg/dL	0.756 (0.658, 0.855)	0.795 (0.68, 0.91)	0.161
Lipoproteína (a), mg/dL	11.3 (2.00, 20.5)	40 (11.5, 68.5)	<0.01
Glucosa, mg/dL	86.5 (80.0, 93.0)	87 (80, 94)	0.541
No-HDLc, mg/dL	289 (252, 325)	300 (251, 349)	0.564
PAD, mmHg	78.0 (70.0, 86.0)	77 (70, 84)	0.940
PAS, mmHg	124 (108, 140)	123 (110, 136)	0.785
ApoB, mg/dL	171 (157, 184)	181 (153, 208)	0.137

Tabla 3. Comparativa de determinaciones analíticas entre pacientes con HF, portadores de variante en *APOE* y portadores de variantes patogénicas en *LDLR* o *APOB*.

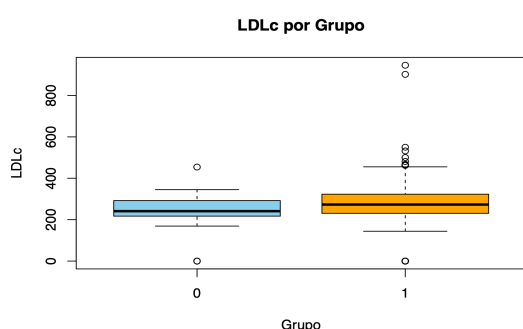


Figura 4. c-LDL en portadores (grupo 0) vs no portadores (grupo 1).

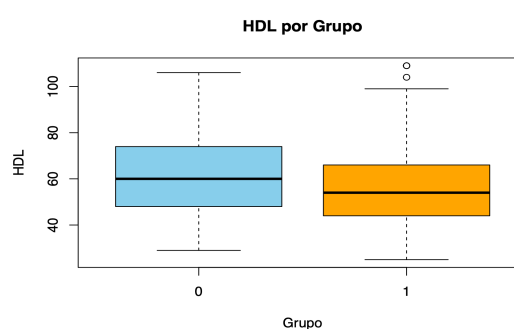


Figura 5. c-HDL en portadores (grupo 0) vs no portadores (grupo 1).

Variable	p.(Leu167del) n=29	No p.(Leu167del) n=548	p
Mujer, n (%)	12 (41.4)	257 (46.9)	0.697
Arco corneal, n (%)	9 (31.0)	172 (31.4)	1.00
Diabetes, n (%)	2 (6.90)	12 (2.19)	0.324
Hipertensión arterial, n (%)	3 (10.3)	52 (9.49)	1.00
ECV, n (%)	2 (6.90)	43 (7.85)	1.00
Xantomas tendinosos, n (%)	1 (3.45)	140 (25.6)	0.013
Tabaco (no fumador) n (%)	18 (62.1)	284 (51.8)	0.265
Tabaco (exfumador) n (%)	7 (24.2)	113 (20.6)	0.265
Tabaco (fumador) n (%)	4 (13.8)	151 (27.6)	0.265

Tabla 4. Comparativa de variables clínicas entre pacientes con HF, portadores de variante en *APOE* y portadores de variantes patogénicas en *LDLR* o *APOB*.

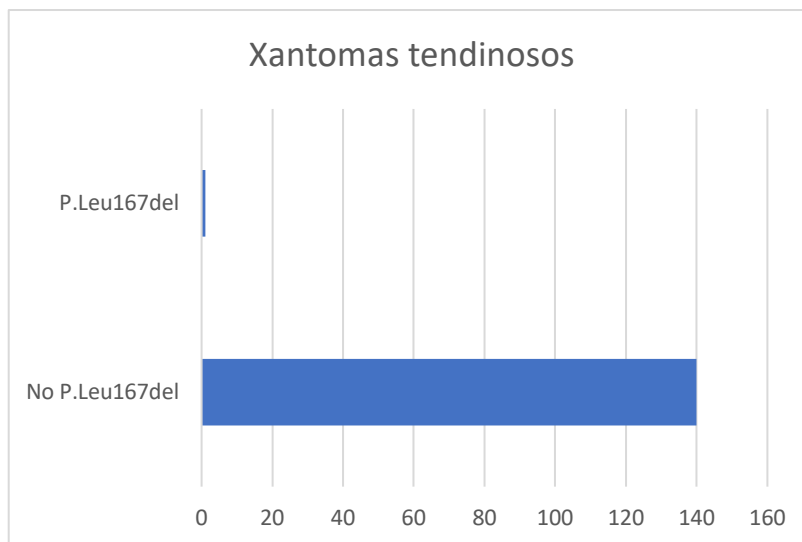


Figura 6. Presencia de xantomas en portadores vs no portadores.

## 5.2. Aragon Workers Health Study (AWHS)

En la Tabla 5, se observan los resultados del perfil clínico y bioquímico de los 1000 sujetos seleccionados aleatoriamente del estudio AWHS. Podemos confirmar que ninguno de ellos presentó la variante patogénica pLeu167del del gen *APOE*.

Los sujetos estudiados tenían una mediana de 48 años y se estudiaron un 36% de mujeres frente a un 64% de hombres.

Variable	Muestreo aleatorio AWHS
Mujer, n(%)	303 (36)
Edad, años	48 (36, 53)
Peso, kg	75 (64, 84)
PAS, mmHg	120 (110, 131)
PAD, mmHg	80 (73, 88)
Glucosa, mg/dL	93 (87, 101)
Triglicéridos, mg/dL	98 (67, 143)
Colesterol total, mg/dL	205 (180, 231)
Colesterol HDL, mg/dL	55 (48, 66)
Colesterol LDL, mg/dL	124 (103, 147)

Tabla 5. Perfil clínico y bioquímico en la cohorte AWHS.

### 5.3. Cálculo de la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE

En la Tabla 6, con el objetivo de conocer la frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen *APOE* analizamos todas las cohortes internacionales donde se ha analizado la variante y extrajimos la información de estas de la página web del consorcio Franklin Genoox. Se analizaron las cohortes gnomAD (en sus versiones Exome, Genome, Max y Aggregated) y TOPMed Bravo. En las distintas cohortes analizadas, la variante patogénica p.(Leu167del) se ha clasificado como muy infrecuente, con frecuencias alélicas extremadamente bajas. En la cohorte gnomAD (Aggregated), la variante se identificó en 64 alelos de un total de 1.553.850, con una frecuencia del 0.0041%. En la cohorte gnomAD (Exome) se identificaron 60 alelos, mientras que en Genome solamente 4. La máxima frecuencia se alcanzó en la cohorte gnomAD (Max), 5 alelos de un total de 52.124 reportándose una frecuencia del 0.0096%. En la base de datos TOPMed Bravo también se identificó la variante en 7 alelos de 264.690 con una frecuencia también muy baja del 0.0026%. Todo ello hace que la variante se encuentre aproximadamente en 1 de cada 12.000 sujetos en la población general.

Cohorte	Alelos con variante	Total de alelos	Frecuencia alélica(%)	Homocigotos
gnomAD (Max)	5	52.124	0.0096%	0
gnomAD (Aggregated)	64	1.553.850	0.0041%	0
gnomAD (Exome)	60	1.401.718	0.0043%	0
gnomAD (Genome)	4	152.132	0.0026%	0
TOPMed Bravo	7	264.690	0.0026%	0
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>1.870.664</b>	<b>0.0041%</b>	<b>0</b>

Tabla 6. Frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE en distintas cohortes internacionales.

En la Tabla 7 se han analizado las subpoblaciones en las que se identificó la variante dentro de la cohorte gnomAD (Aggregated), resultando el análisis muy desigual. Principalmente detectamos la variante en americanos con una frecuencia del 0.0096% y en europeos no finlandeses con una frecuencia del 0.0049%. También se identificó pero en menor medida en la categoría “Otros”, con una frecuencia del 0.0017% y en los asiáticos del sur con una frecuencia del 0.0012%. Sin embargo no identificamos la variante en el resto de las subpoblaciones (Europeos finlandeses, Medio Oriente, Amish, Judíos askenazíes, Africanos y Asiáticos del este).

Subpoblación (gnomAD)	(Aggregated)-Freq (%)
Europeos no finlandeses	0.0049
Europeos finlandeses	0.0
Medio Oriente	0.0
Otros	0.0017
Amish	0.0
Judíos askenazíes	0.0
Africanos	0.0
Asiáticos del este	0.0
Asiáticos del sur	0.0012
Americanos	0.0096
<b>Media</b>	<b>0.00174</b>

Tabla 7. Frecuencia de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE en subpoblaciones.

#### 5.4. Fenotipo lipídico de la variante p.(Leu167del) en el gen de APOE

Recogimos información de un total de 19 sujetos de diferentes regiones geográficas (europeos, asiáticos, americanos) y de edades comprendidas entre los 8 y los 76 años, recopilados de 7 artículos científicos, cumpliendo los criterios de inclusión establecidos en el apartado de Material y Métodos. Se incluyeron también 8 pacientes adicionales portadores de la variante incluidos en el registro de dislipemias de la SEA, con edades comprendidas entre los 23 y los 71 años.

Los valores de c-LDL muestran una elevación consistente con valores que oscilaron entre 88 y 456 mg/dL, sin tener en cuenta a los pacientes 7 y 8 que presentaron valores más bajos debido a estar sometidos a tratamiento hipolipemiente. 6 pacientes presentaron valores de c-LDL muy elevados, por encima de 300 mg/dL.

Por otro lado, los niveles de c-HDL fueron variables y oscilaron entre 20 y 93 mg/dL, aun así, la mayoría de los pacientes se encontraban dentro del rango de referencia. Por último, los triglicéridos presentaron valores entre 43 y 292 mg/dL. La mayoría de los sujetos presentaban valores normales o ligeramente elevados, exceptuando el paciente 7 y el 14 los cuales tenían una hipertrigliceridemia significativa, con valores de 292 y 230 mg/dL respectivamente.

Además de la determinación del perfil lipídico, los artículos revisados proveen información relevante acerca de manifestaciones clínicas asociadas. En algunos casos, por ejemplo el paciente 7, presentaba esplenomegalia, trombocitopenia leve e incluso esteatosis hepática. Otros como el paciente 2 presentaban las manifestaciones clínicas asociadas a la HF de forma habitual como xantomas tendinosos, xantelasmas y síndrome coronario agudo. Así como el paciente 20 que presentaba xantomas y arco corneal, el 22 que solo presentaba arco corneal y el 23 solo xantomas. Pero en la mayoría de los pacientes estudiados no se detectaron manifestaciones sistémicas relevantes.

Artículo/Hospital	Paciente	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	TG mg/dL
<b>Noorian et al., 2021<sup>20</sup></b>	1	247	52	66
<b>Awan et al., 2013<sup>21</sup></b>	2	374	63	100
	3	204	62	53
<b>Tada et al., 2024<sup>22</sup></b>	4	256	42	102
	5	190	56	98
<b>Liu et al., 2016<sup>23</sup></b>	6	340	93	106
<b>Okorodudu et al., 2016<sup>24</sup></b>	7*	54.0	20	292
	8*	51.0	27	68
	9	112	52	58
<b>Brown et al., 2024<sup>25</sup></b>	10	445	88	91
<b>Marduel et al., 2012<sup>26</sup></b>	11	275	58.0	115
	12	364	92.8	79.7
	13	456	69.6	88.6
	14	240	65.7	230
	15	220	69.6	79.7
	16	217	58.0	106.3
	17	251	54.1	62.0
	18	299	61.9	53.1
	19	154.7	73.5	70.9
<b>Clinic-HSJD</b>	20	414.0	83	95
	21	194.4	55	183
	22	157.6	55	62
<b>Sant Joan Reus</b>	23	263.4	54	53
	24	99.6	65	43
	25	88.0	78	50
	26	142.8	60	66
<b>Abente y Lago</b>	27	171.0	38	69

Tabla 8. Perfil lipídico de pacientes con la variante APOE p.(Leu167del).

\*paciente en tratamiento hipolipemiante

## 6. DISCUSIÓN

El estudio en el cual se centra este Trabajo de Fin de Grado constituye el primero en hacer un análisis exhaustivo de la frecuencia y las características clínicas de la variante patogénica p.(Leu167del) del gen de *APOE*. Hasta el momento, la información publicada se limitaba a descripciones individuales o series de casos, sin una evaluación conjunta ni una contextualización poblacional. En este trabajo se ha realizado un estudio exhaustivo para estudiar la frecuencia de la variante, para el cual se han utilizado todos los casos registrados en las cohortes del HUMS, AWHs y todas las cohortes internacionales donde se ha analizado la variante entre las que se incluyen gnomAD y TOPMed, así como todos los casos descritos en la literatura y publicados hasta marzo de 2025 y aquellos registrados en el registro de dislipemias de la SEA. Todo ello ha permitido por primera vez establecer un perfil clínico y bioquímico más definido de la variante en el gen de *APOE*.

Tras el análisis de su frecuencia en diferentes poblaciones internacionales, se puede establecer que la variante p.(Leu167del) del gen de *APOE* es extremadamente rara en la población general, identificada en aproximadamente 1 de cada 12.000 individuos caucásicos. Esta estimación se basa en el análisis de más de 1.8 millones de alelos recogidos en bases de datos internacionales. La ausencia de individuos homocigotos para la variante en todas las cohortes analizadas confirma su rareza y su baja frecuencia, además de poder implicar un efecto severo de la variante en homocigosis.

El análisis realizado en las distintas subpoblaciones resultó muy desigual, la frecuencia de la variante se concentra sobre todo en individuos de origen americano y europeos no finlandeses. Por el contrario, está completamente ausente en poblaciones de origen africano, asiático o judío, lo que indica una distribución geográfica limitada y posiblemente asociada a un efecto fundador de la variante.

Tras realizar la comparación de los sujetos con hipercolesterolemia primaria en la cohorte del HUMS, se vio claramente una asociación entre hipercolesterolemia primaria y los sujetos portadores de la variante, viendo como produce una hipercolesterolemia mayor que en aquellos sujetos no portadores.

El perfil lipídico que se observa en estos sujetos es de cifras de c-LDL significativamente mayores (255 frente a 216 mg/dL) lo que refuerza el papel patogénico de la variante. También se observan cifras significativamente mayores de triglicéridos, esto último es inusual en las dislipemias monogénicas clásicas, lo que podría sugerir un perfil lipídico característico de una dislipemia mixta en algunos pacientes portadores de la variante.

Siguiendo con el resto de las variables analizadas, los portadores de la variante mostraron niveles significativamente menores de Lp(a), creatinina, glucosa, presión arterial sistólica y diastólica, esto podría indicar un menor riesgo cardiovascular global a pesar de los niveles de c-LDL elevados, haciendo necesario tener en cuenta el conjunto de factores en estos individuos a la hora de analizar el riesgo cardiovascular.

Diferentes estudios epidemiológicos sugieren que niveles elevados de Lp(a) pueden asociarse a un riesgo cardiovascular elevado en sujetos con hipercolesterolemia, esto es muy relevante en el presente estudio ya que los niveles de Lp(a) fueron significativamente menores en portadores (11.3 vs 45.8 mg/dL), lo que podría sugerir un menor riesgo cardiovascular en aquellos sujetos con hipercolesterolemia primaria y portadores de la variante en el gen de *APOE*.

En el resto de las variables estudiadas como el sexo, la presencia de arco corneal y xantomas, o los antecedentes de diabetes, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular, así como en el consumo de tabaco no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Esto sugiere una penetrancia incompleta de la variante, es decir, no todos los portadores desarrollan manifestaciones, lo que observamos sobre todo en sujetos jóvenes.

Si comparamos la variante en *APOE* en sujetos con HF con el resto de los pacientes con HF portadores de variantes en alguno de los genes comunes como *LDLR* o *APOB*, observamos que las cifras de c-LDL son significativamente menores en los portadores de la variante (255 frente a 277 mg/dL), lo que indica un fenotipo más leve dentro de las dislipemias genéticas. En cuanto al resto del perfil lipídico también encontramos diferencias significativas en las cifras de c-HDL que fueron significativamente mayores en los sujetos portadores de la variante en *APOE*, lo que sigue siendo inusual en las dislipemias monogénicas donde esta cifra suele estar disminuida, por lo que podría

corresponderse con un patrón de dislipemia mixta. Este patrón lo refuerza la presencia de triglicéridos elevados, que también fue significativa en los portadores de la variante en *APOE*.

En cuanto a las manifestaciones clínicas estudiadas se observaron diferencias significativas solo en la presencia de xantomas, que fue significativamente menor en los sujetos portadores de la variante en *APOE* (3.45% frente a 25.6%). El mecanismo de producción de los xantomas tendinosos no está bien establecido, pero se relaciona con la concentración de c-LDL. Según los resultados obtenidos el fenotipo de HF con la variante p.(Leu167del) en *APOE*, es más leve ya que se asocia a cifras de c-LDL menores, unos 40-50 mg/dL menos que las cifras reportadas en nuestra población para la HF heterocigota, que podría ser un factor responsable de esta menor prevalencia de xantomas.

En cuanto al perfil lipídico de los 27 pacientes portadores de la variante y recopilados de la literatura científica y del registro de dislipemias de la SEA se pueden confirmar las características clínicas y bioquímicas variables. Los valores de c-LDL son consistentemente altos con cifras oscilando entre 88 y 456 mg/dL lo que refuerza la asociación de esta variante con hipercolesterolemia. Sin embargo, también observamos niveles de triglicéridos moderadamente altos y en algunos casos hipertrigliceridemia significativas así como niveles de c-HDL elevados también, lo que vuelve a reforzar en algunos casos la existencia de un perfil compatible con dislipemia mixta, en lugar de una HF monogénica clásica.

Por otro lado, en algunos pacientes jóvenes se observa un perfil lipídico sin manifestaciones clínicas significativas, lo que podría deberse a una penetrancia incompleta en edades tempranas. Esto resalta la importancia de incluir la variante p.(Leu167del) en el diagnóstico genético de HF para evitar el infra diagnóstico sobre todo en poblaciones jóvenes y asintomáticas.

En la población del HUMS, la frecuencia de la variante es elevada como causa de HF, el 4% aproximadamente eran portadores, una proporción considerablemente alta dada su rareza a nivel internacional donde se reportaba una frecuencia total del 0.0041%. Debido a la elevada prevalencia de la variante, no podemos descartar un efecto fundador de la variante en la población española.

Aunque en pocos centros se ha secuenciado con profundidad el gen *APOE* como en el HUMS, lo que podría justificar la elevada prevalencia de la variante en esta población, el efecto fundador se fundamentaría también en que no solo hemos encontrado la variante en el HUMS sino también en otros hospitales españoles como son el Hospital Sant Joan de Reus, el Complejo Hospitalario Universitario A Coruña y el Clinic-HSJD. Todo esto sugiere que la variante está ampliamente distribuida en nuestra población, lo que haría necesario incorporar la secuenciación del gen *APOE* en el diagnóstico genético de dislipemias en España, para evitar el infra diagnóstico de HF.

El mecanismo fisiopatológico por el cual esta variante se asocia con HF autosómica dominante se basa en una regulación negativa del receptor de LDL por parte de las VLDL portadoras de la variante en *APOE*, lo que implica un aumento de las concentraciones plasmáticas de c-LDL.<sup>7,9</sup>

En individuos portadores de la variante p.(Leu167del) se observó que el contenido de apoE está reducido en la fracción de VLDL, pero con un número normal de VLDL determinado por el contenido de apoB, por lo que la relación apo E-VLDL/apo B-VLDL fue significativamente menor en individuos portadores.<sup>7,9,13</sup>

Esto se explica porque las VLDL presentan numerosas copias de apoE, esto les permite unirse a los receptores de LDL con una afinidad que se considera hasta 20 veces superior que las LDL, las cuales solo tienen una copia de apoB-100. Estudios que han sido realizados en cultivos celulares *in vitro* han demostrado que las VLDL que contienen la variante p.(Leu167del) del gen de *APOE* así como la apoE silvestre, aisladas de individuos heterocigotos las captan en mayor medida las células HepG2 y THP-1 lo que reduce la expresión del receptor LDL en la membrana superficial de los hepatocitos, como consecuencia de esto disminuye la entrada de c-LDL al interior celular aumentando las concentraciones plasmáticas de este. Otra demostración mediante técnicas proteómicas cuantitativas en las VLDL aisladas ha sido que en sujetos heterocigotos con la variante la apo E3 salvaje es unas cinco veces mayor que la mutante, esto refuerza la mayor captación de las lipoproteínas que tienen la apo E mutante por las células HepG2, y también con el menor contenido total de apoE observado en las LDL y VLDL de los portadores.

Todo esto sugiere que la variante p.(Leu167del) es una variante de ganancia de función ya que incrementa la afinidad de las VLDL por el receptor de LDL u otros miembros de

la familia favoreciendo su captación celular, pero esto provoca una relación negativa de la expresión del receptor de LDL que contribuye al aumento de las concentraciones plasmáticas de c-LDL.<sup>7</sup>

Como conclusión, los resultados del presente estudio han permitido describir con mayor precisión la frecuencia, así como el perfil clínico y bioquímico de la variante p.(Leu167del) del gen de *APOE*. Se confirma su asociación con hipercolesterolemia primaria, y también se pone de manifiesto un patrón clínico más leve que otras formas monogénicas de HF asociadas a variantes en genes como *APOB* o *LDLR*, debido a que se asocia a niveles más bajos de c-LDL y menor presencia de xantomas. Todo esto añadido a los niveles bajos de Lp(a) configuran un fenotipo clínico más leve, sobre todo en individuos jóvenes, en quienes podría existir una penetrancia incompleta. A pesar de su baja frecuencia a nivel global, se ha observado una frecuencia bastante elevada en la población española lo que sugiere un posible efecto fundador y plantea la necesidad de incluir esta variante en los protocolos diagnósticos de dislipemias, con el fin de evitar el infra diagnóstico de una entidad que podría tener implicaciones importantes a largo plazo si no se trata adecuadamente.

## 7. CONCLUSIONES

1. La variante patogénica p.(Leu167del) del gen de *APOE* es una causa poco frecuente de HF pero clínicamente relevante, sobre todo en la población española.
2. La frecuencia de esta variante en población caucásica se sitúa en torno a 1 de cada 12.000 sujetos de la población general.
3. La variante p.(Leu167del) se asocia a un fenotipo de HF atípico, en comparación con la HF clásica con variantes en genes como *APOB* o *LDLR*, asociado a cifras más bajas de c-LDL y menor presencia de xantomas.
4. La expresión clínica de esta variante puede ser variable, y mostrar penetrancia incompleta, lo que se observa sobre todo en sujetos jóvenes.
5. El gen de *APOE* debería considerarse candidato en los paneles de diagnóstico genético de la HF junto con los genes clásicos implicados como *LDLR*, *APOB* y *PCSK9*.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Nordestgaard, B. G., Chapman, M. J., Humphries, S. E., Ginsberg, H. N., Masana, L., Descamps, O. S., Wiklund, O., Hegele, R. A., Raal, F. J., Defesche, J. C., Wiegman, A., Santos, R. D., Watts, G. F., Parhofer, K. G., Hovingh, G. K., Kovanen, P. T., Boileau, C., Aversa, M., Boren, J., . . . Tybjaerg-Hansen, A. (2013). Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *European Heart Journal*, 34(45), 3478-3490. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh273>
- 2- Mata, P., Alonso, R., Ruiz, A., Gonzalez-Juanatey, J. R., Badimón, L., Díaz-Díaz, J. L., Muñoz, M. T., Muñiz, O., Galve, E., Irigoyen, L., Fuentes-Jiménez, F., Dalmau, J., & Pérez-Jiménez, F. (2014). Diagnóstico y tratamiento de la hipercolesterolemia familiar en España: documento de consenso. *Atención Primaria*, 47(1), 56-65. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2013.12.015>
- 3- Benn, M., Watts, G. F., Tybjaerg-Hansen, A., & Nordestgaard, B. G. (2012). Familial Hypercholesterolemia in the Danish General Population: Prevalence, Coronary Artery Disease, and Cholesterol-Lowering Medication. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(11), 3956–3964. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1563>
- 4- Blom DJ, Marais AD, Raal FJ. Homozygous Familial Hypercholesterolemia Treatment: New Developments. *Curr Atheroscler Rep*. 2025 Jan 3;27(1):22. doi: 10.1007/s11883-024-01269-5. PMID: 39751968; PMCID: PMC11698773.
- 5- Ascaso, J. F., Mata, P., Arbona, C., Civeira, F., Valdivielso, P., & Masana, L. (2015). Hipercolesterolemia familiar homocigota: adaptación a España del documento de posición del grupo de consenso sobre hipercolesterolemia familiar de la Sociedad Europea de Arteriosclerosis. Documento de Consenso de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA) y la Fundación Hipercolesterolemia Familiar (FHF). *Clínica E Investigación En Arteriosclerosis*, 27(2), 80-96. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2015.01.002> 5
- 6- Sánchez-Hernández RM, Civeira F. Familial dyslipidemias: Genotype-phenotype relationship. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)*. 2023 Oct;70(8):523-525. doi: 10.1016/j.endien.2023.05.015. Epub 2023 Oct 17. PMID: 37858414.

- 7- Cenarro, A., Etxebarria, A., de Castro-Orós, I., Stef, M., Bea, A. M., Palacios, L., Mateo-Gallego, R., Benito-Vicente, A., Ostolaza, H., Tejedor, T., Martín, C., & Civeira, F. (2016). The p. Leu167del Mutation in APOE Gene Causes Autosomal Dominant Hypercholesterolemia by Down-regulation of LDL Receptor Expression in Hepatocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(5), 2113–2121. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3874>
- 8- Zhang, Y., de Ferranti, S. D., & Moran, A. E. (2024). Genetic testing for familial hypercholesterolemia. *Current Opinion in Lipidology*. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000925>
- 9- Civeira, F., Martín, C., & Cenarro, A. (2024). APOE and familial hypercholesterolemia. *Current Opinion In Lipidology*, 35(4), 195-199. <https://doi.org/10.1097/mol.0000000000000937>
- 10- Hatters, D. M., Peters-Libeu, C. A., & Weisgraber, K. H. (2006). Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends in Biochemical Sciences*, 31(8), 445–454. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.008>
- 11- Awan, Z., Choi, H. Y., Stitzel, N., Ruel, I., Bamimore, M. A., Husa, R., Gagnon, M., Wang, R. L., Peloso, G. M., Hegele, R. A., Seidah, N. G., Kathiresan, S., & Genest, J. (2013). APOE p. Leu167del mutation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 231(2), 218-222. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.09.007>
- 12- Nguyen, T. T., Kruckeberg, K. E., O'Brien, J. F., Ji, Z.-S., Karnes, P. S., Crotty, T. B., Hay, I. D., Mahley, R. W., & O'Brien, T. (2000). Familial Splenomegaly: Macrophage Hypercatabolism of Lipoproteins Associated with Apolipoprotein E Mutation [Apolipoprotein E ( $\Delta$ 149 Leu)]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(11), 4354–4358. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.11.6981>
- 13- Bea, A. M., Larrea-Sebal, A., Marco-Benedí, V., Uribe, K. B., Galicia-Garcia, U., Lamiquiz-Moneo, I., Laclaustra, M., Moreno-Franco, B., Fernandez-Corredoira, P., Olmos, S., Civeira, F., Martin, C., & Cenarro, A. (2023). Contribution of APOE Genetic Variants to Dyslipidemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 43(6), 1066–1077. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.318977>
- 14- Bea AM, González-Guerrero A, Cenarro A, Lamiquiz-Moneo I, Climent E, Jarauta E, Gracia-Rubio I, Benaiges D, Laclaustra M, Tejedor T, Pedro-Botet J, Civeira F, Marco-Benedí V. Association of HDL cholesterol with all-cause and

- cardiovascular mortality in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2025 Jan;400:118617. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2024.118617. Epub 2024 Sep 26. PMID: 39368903.
- 15- Rodriguez-Hernandez Z, Bel-Aguilar J, Moreno-Franco B, Grau-Perez M, Redon J, Gomez-Ariza JL, Garcia-Barrera T, Olmedo P, Gil F, Cenarro A, Civeira F, Puzo J, Casasnovas JA, Banegas JR, Sotos-Prieto M, Ortola R, Laclaustra M, Rodriguez-Artalejo F, Garcia-Esquinas E, Tellez-Plaza M, Pastor-Barriuso R. Differential association of selenium exposure with insulin resistance and  $\beta$ -cell function in middle age and older adults. *Nutr Diabetes*. 2025 Feb 13;15(1):5. doi: 10.1038/s41387-025-00361-2. PMID: 39948355; PMCID: PMC11825691.
- 16- Bea AM, Cenarro A, Marco-Benedi V, Laclaustra M, Martin C, Ibarretxe D, Pinto X, Arrobas T, Viñals C, Civeira F, Olmos S. Diagnosis of Familial Dysbetalipoproteinemia Based on the Lipid Abnormalities Driven by APOE2/E2 Genotype. *Clin Chem*. 2023 Feb 1;69(2):140-148. doi: 10.1093/clinchem/hvac213. PMID: 36644927.
- 17- Wang Z, Chen L, Kang R, Li Z, Fan J, Peng Y, He Y, Zhao X. Mendelian Randomization Analysis Identifies Causal Effects of Multi-Site Chronic Pain on Obstructive Sleep Apnea. *Nat Sci Sleep*. 2025 Mar 18;17:463-473. doi: 10.2147/NSS.S487056. PMID: 40124580; PMCID: PMC11929529.
- 18- GnomAD. (s. f.). @Gnomad/Browser. <https://gnomad.broadinstitute.org/>
- 19- Home | NHLBI Trans-Omics for Precision Medicine. (2025). <https://topmed.nhlbi.nih.gov/>
- 20- Noorian, S., Razmandeh, R., & Jazayeri, R. (2022). Familial hypercholesterolemia in an Iranian family due to a mutation in the APOE gene (first case report). *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 21(1), 1201-1205.
- 21- Awan, Z., Choi, H. Y., Stitzziel, N., Ruel, I., Bamimore, M. A., Husa, R., ... & Genest, J. (2013). APOE p. Leu167del mutation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 231(2), 218-222.
- 22- Tada, H., Nomura, A., Kawashiri, M. A., & Takamura, M. (2024). The First Japanese Case of Familial Hypercholesterolemia Caused by an APOE p. Leu167del Mutation: A Case Report. *Internal Medicine*, 4545-24.

- 23- Liu, Y., Siahmansur, T., Hama, S., Schofield, J. D., Yadav, R., France, M., ... & Soran, H. (2016). Effect of bariatric surgery on HDL quantity and quality. *Atherosclerosis*, 245, e245.
- 24- Okorodudu, D. E., Crowley, M. J., Sebastian, S., Rowell, J. V., & Guyton, J. R. (2013). Inherited lipemic splenomegaly and the spectrum of apolipoprotein E p. Leu167del mutation phenotypic variation. *Journal of Clinical Lipidology*, 7(6), 566-572
- 25- Brown, E. E., Byrne, K., Michos, E. D., Leucker, T. M., Marvel, F., Jones, S. R., ... & Arvanitis, M. (2024). Expanded genetic testing in familial hypercholesterolemia—A single center's experience. *American Journal of Preventive Cardiology*, 18, 100683.
- 26- Marduel, M., Ouguerram, K., Serre, V., Bonnefont-Rousselot, D., Marques-Pinheiro, A., Erik Berge, K., ... & Varret, M. (2013). Description of a Large Family with Autosomal Dominant Hypercholesterolemia Associated with the APOE p. L eu167del Mutation. *Human mutation*, 34(1), 83-87.