



Artículo de revisión

Aspectos genéticos de la hiperlipidemia familiar combinada

Adriana Huertas-Vázquez*

* Department of Human Genetics, David Geffen School of Medicine at UCLA, University of California Los Angeles, USA.

Correspondencia:

Adriana Huertas-Vázquez PhD
Department of Human Genetics
David Geffen School of Medicine at UCLA
Gonda Center, Room 6335B
695 Charles E. Young Drive South
Los Angeles, California 90095-7088, USA
Teléfono: 1-310-254-7429, Fax: 1-310-794-5446.

Fecha de recepción: 16-Febrero-2007
Fecha de aceptación: 14-Enero-2008

Resumen

La hiperlipidemia familiar combinada, es la forma más común de las dislipidemias familiares de origen genético, que constituye un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria prematura. La hiperlipidemia familiar combinada se caracteriza por la expresión variable de hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia. Estudios genéticos realizados en diferentes poblaciones han identificado regiones cromosómicas y variantes genéticas que confieren susceptibilidad para el desarrollo de este padecimiento. La presente revisión está enfocada al estudio de las bases genéticas de esta dislipidemia común y destaca el progreso en la identificación de genes de susceptibilidad para la hiperlipidemia familiar combinada en familias mexicanas.

Palabras clave: Hiperlipidemia familiar combinada, estudios genéticos, población mexicana. Revista de Endocrinología y Nutrición 2008; 16(1): 16-23.

Abstract

Familial combined hyperlipidemia is a common genetic disorder that increases the risk of premature coronary heart disease. Familial combined hyperlipidemia is characterized by a variable expression of hypercholesterolemia and/or hypertriglyceridemia. Genetic studies have been conducted in different populations to identify chromosomal regions and genetic variants that confer susceptibility for the familial combined hyperlipidemia phenotype. This review focuses of the genetic bases of this common dyslipidemia and addresses the progress in the identification of susceptibility genes involved in familial combined hyperlipidemia in Mexican families.

Key words: Familial combined hyperlipidemia, genetic studies, Mexican population. Revista de Endocrinología y Nutrición 2008; 16(1): 16-23.

INTRODUCCIÓN

La hiperlipidemia familiar combinada (HLFC), es la forma más común de las dislipidemias familiares de origen genético, que constituye un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria prematura.¹ La HLFC se define como un síndrome ocasionado por un defecto en el metabolismo de las lipoproteínas, que se caracteriza porque los pacientes presentan niveles elevados de colesterol total, triglicéridos o ambos.¹⁻⁴ Frecuentemente se observa un incremento en la concentración de la apolipoproteína B (apo-B) y una disminución en la concentración de colesterol de alta densidad

(C-HDL). Adicionalmente, se ha observado un aumento en la producción hepática de apo-B, asociado con lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). La secreción hepática de las partículas VLDL contribuye a un aumento en los niveles plasmáticos de triglicéridos, apo-B y colesterol total.⁴⁻¹⁰ Sin embargo, no en todos los pacientes con HLFC se observa un aumento en la producción hepática de apo-B. Existen familias en las que se ha observado una disminución en el catabolismo de las partículas VLDL y las partículas de densidad intermedia (IDL).^{11,12} Estos datos sugieren la existencia de defectos adicionales en la composición de las lipoproteínas, que contribuyen en la expresión fenotípica de la enfermedad y pro-

veen evidencia de la heterogeneidad bioquímica, clínica y genética de este padecimiento.

Adicionalmente, características fenotípicas comunes se han observado en pacientes con HLFC, el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2 (DT2). Se sugiere que estos padecimientos pueden ser ocasionados por defectos genéticos comunes. En la actualidad, las bases moleculares y genéticas que contribuyen a la patogénesis de la HLFC no han sido plenamente dilucidadas, aunque existen esfuerzos importantes para determinar los genes responsables de esta entidad. Recientemente, variantes en el gen "*Upstream Stimulatory Transcription Factor 1*" (USF1, por sus siglas en inglés), fueron asociadas con la HLFC.¹³ Se sugiere que USF1 es un gen importante que contribuye al desarrollo de la HLFC. Adicionalmente se ha demostrado que variantes en distintos genes pueden conferir susceptibilidad para la manifestación de la HLFC. La prevalencia de la HLFC en México se desconoce, sin embargo, estudios epidemiológicos realizados en la población mexicana¹⁴ estiman que existe una alta prevalencia de dislipidemias mixtas en México. El propósito de este artículo es revisar el estado actual en el estudio genético de la HLFC, haciendo énfasis en los estudios realizados para la identificación de genes de susceptibilidad en familias mexicanas con HLFC.

LOCI ASOCIADOS CON LA HLFC EN DIFERENTES POBLACIONES

Aunque en los primeros reportes¹⁻³ se describió a la HLFC como un rasgo monogénico, estudios posteriores apoyaron el concepto de que la HLFC es una enfermedad heterogénea y poligénica, que se manifiesta por la interacción de múltiples factores genéticos y ambientales. Escrutinios completos del genoma se han realizado en diferentes poblaciones para identificar genes asociados con la HLFC.¹⁵⁻¹⁷ En el primer escrutinio del genoma realizado en familias de población finlandesa,¹⁵ se identificaron múltiples loci de susceptibilidad para la HLFC (*Cuadro 1*). En este estudio, se confirmó la participación de la región 1q21-q23, previamente ligada a la HLFC en familias finlandesas.¹⁸

Evidencia de ligamiento en esta región ha sido replicada en múltiples estudios,^{19,20} incluyendo familias mexicanas con HLFC.²¹ Adicionalmente, esta región ha sido ligada con la DT2²²⁻²⁶ y el síndrome metabólico en diferentes poblaciones.^{27,28} En el segundo escrutinio del genoma realizado en familias holandesas¹⁶ varios loci de susceptibilidad fueron identificados (*Cuadro 1*). El locus en la región 11p fue el más significativo. En el más reciente escrutinio del genoma en familias inglesas,¹⁷ se identificaron dos nuevas regiones de susceptibilidad para la HLFC en las regiones 6q16 y 8p23 (*Cuadro 1*) y se observó evidencia de ligamiento para la región en cromosoma 11p, previamente identificada en las familias holandesas. Aunque esta región ha sido ligada a la HLFC en diferentes estudios^{16,17} el gen responsable del fenotipo de la HLFC en la región 11p no ha sido identificado. Otra región cromosómica que ha sido ligada con la HLFC en diferentes poblaciones^{15,17,29} es la región 16q24. Esta región ha sido también asociada con bajos niveles de C-HDL en México-Americanos.³⁰ Se sugiere que esta región contiene genes que participan en la regulación de colesterol total y C-HDL.^{15,17,29-30}

En la actualidad no se ha realizado ningún escrutinio completo del genoma en familias mexicanas con HLFC; sin embargo, diferentes regiones cromosómicas previamente asociadas con la HLFC en otras poblaciones (2p25.1, 9p23, 10q11.23, 11q13, 16q24.1, 19q13 y 21q21) han sido analizadas.²⁹ El análisis de estas regiones en familias mexicanas, mostró evidencia de ligamiento en el cromosoma 16, para el rasgo de colesterol total y en el cromosoma 10 para el rasgo de niveles elevados de triglicéridos. Actualmente múltiples loci de susceptibilidad para la HLFC han sido identificados, sin embargo la heterogeneidad genética de este padecimiento, la definición de los criterios de diagnóstico, el tamaño de la muestra estudiada entre otros aspectos, han dificultado la identificación de los genes responsables de la HLFC.

ESTUDIOS EN GENES CANDIDATOS

El análisis de genes candidatos es una estrategia utilizada para el estudio de genes cuya función bioquímica su-

Cuadro 1. Loci identificados para la HLFC en diferentes poblaciones

Población	Loci	Fenotipo	Referencias
Finlandesa	1q, 2q, 10p, 20q21q10q11	TGApo-BCT	15,81
Holandesa	2p, 11p, 16q, 19q	HLFC	16
Inglesa	6q168p2311p	TGCT, TGHLCF, TG, CT	17
Mexicana	1q2110q16q	HLFC, TGTGCT	21,29

TG: Niveles elevados de triglicéridos; APO-B: Niveles elevados de apolipoproteína B; CT: Niveles elevados de colesterol total; HLFC: Niveles elevados de triglicéridos y/o colesterol total.

giera alguna relación con el fenotipo de interés o bien, genes ubicados en el mapa físico de regiones previamente ligadas a un fenotipo. Diversos estudios han demostrado la participación de diferentes genes de susceptibilidad en el desarrollo de la HLFC (Cuadro II). Los genes candidatos más estudiados son los genes involucrados en el metabolismo de lípidos como el cluster de los genes de las apolipoproteínas A-I/C-III/A-IV,³¹⁻³⁶ el gen de la lipasa lipoproteica (LPL),³⁷⁻⁴¹ el gen de la lipasa hepática (LH),^{42,43} el gen de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP)⁴⁴ el gen de la lecitin colesterol acil transferasa (LCAT),^{44,45} y el gen del receptor 1B del factor de necrosis tumoral (TNFRSF1B).⁴⁶ Se ha observado que va-

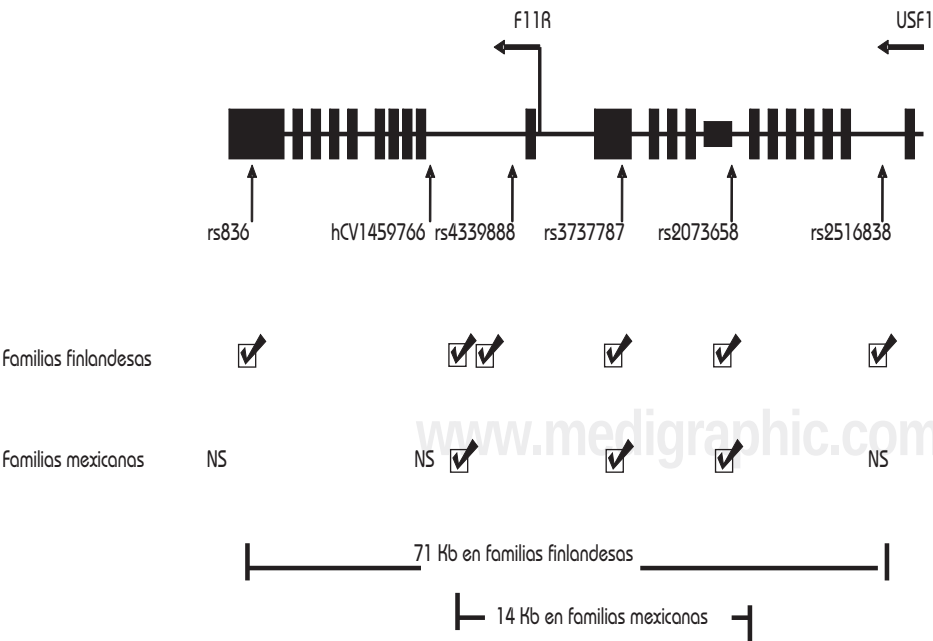
riantes genéticas en estos genes contribuyen a la susceptibilidad para desarrollar HLFC. Sin embargo, ninguno de estos genes tiene un papel predominante en el desarrollo del fenotipo. Se sugiere que mutaciones en estos genes pueden aportar un riesgo genético, sin embargo no son suficientes para producir la enfermedad. En un estudio realizado en siete familias mexicanas con HLFC,²⁹ se analizaron cinco genes involucrados en el metabolismo de lípidos con un papel potencial en la fisiopatología de la HLFC (LH, LPL, APOAI/CIII/AIV, LCAT y CETP). No se observó evidencia de ligamiento para los genes estudiados en las familias mexicanas. Sin embargo, debido al limitado número de familias incluidas en el estudio, no fue posible descartar la participación de estos genes como genes de susceptibilidad en la HLFC en la población mexicana.

Cuadro 2. Genes candidatos asociados con la HLFC

Gen	Región	Referencias
APOA1C3A4A5	11q13	31-36
LPL	8p22	37-41
LH	15q21	42-43
CETP	16q21	44
LCAT	16q22	44-45
TNFRSF1B	1p36	46
USF1	1q21	13,21,29
HNF4A	20q	82

Variantes en el gen USF1 contribuyen al desarrollo de la HLFC

En un reciente estudio de asociación realizado en familias finlandesas,¹³ se identificaron variantes en el gen USF1 asociadas con la HLFC. El gen USF1, se encuentra localizado en la región 1q21-q23 previamente ligada con la HLFC en diferentes poblaciones.¹⁹⁻²¹ USF1, es un miembro de la familia de factores de transcripción que regula la expresión de varios genes involucrados en el metabolismo de lípidos y glucosa.⁴⁷⁻⁶² Se sugiere que variacio-



NS: No significativo; evidencia de asociación significativa
Modificado de Suviolahti et al. 2006

Figura 1. Representación esquemática de los SNPs asociados con la HLFC en los genes USF1 y F11R en familias finlandesas y familias mexicanas.

nes que ocurren de manera natural en el gen USF1 pueden afectar la homeostasis de lípidos por influencia de varios genes. El primer estudio que mostró réplica de asociación entre variantes en el gen USF1 y la HLFC se realizó en familias de la población mexicana.⁶⁹ Los SNPs que mostraron evidencia significativa de asociación en mexicanos fueron los SNPs hCV1459766, rs3737787 y rs2073658. De manera interesante, el análisis de haplotipos para los SNPs hCV1459766-rs3737787 mostró evidencia de asociación para niveles elevados de triglicéridos ($P = 0.0009$). De manera interesante, la asociación que se observó en las familias mexicanas se restringió a una región de 14 Kb entre el intrón 7 del gen USF1 (rs2073658) y el intrón 1 del gen F11R (hCV1459766), en contraste con la región de 46 Kb observada en la población finlandesa (figura 1), esto pudiera explicarse por posibles diferencias en el desequilibrio de ligamiento entre ambas poblaciones. Estos datos sugieren la participación del gen USF1 en la expresión de la HLFC en las familias con HLFC de la población mexicana. Una segunda réplica de asociación entre variantes en el gen USF1 fue reportada recientemente en familias holandesas con HLFC.⁶³ En este estudio evidencia de asociación fue observada con los SNPs rs3737787 y rs2073658, a diferencia de lo reportado en la población finlandesa y mexicana, los SNPs fueron asociados con niveles elevados de colesterol total y apo-B. En estudios recientes se evaluó la participación de las variantes en el gen USF1 asociadas con la HLFC en la DT2 y el síndrome metabólico.⁶⁴⁻⁶⁶ Ng y col. demostraron en familias con DT2 de la población china que SNPs y haplotipos en el gen USF1 confieren riesgo para la DT2 y el síndrome metabólico.⁶⁶ Sin embargo, también se ha reportado evidencia de asociación negativa para las variantes en el gen USF1 con la DT2 y el síndrome metabólico en familias previamente ligadas a la región 1q21-q23,⁶⁷⁻⁶⁸ por lo que se sugiere la posible participación de otros genes ubicados en esta región en el desarrollo de la DT2 y el síndrome metabólico.

En un estudio epidemiológico realizado en 14,000 individuos de la población finlandesa,⁶⁹ se evaluó la participación de variantes en el gen USF1 con el riesgo cardiovascular. Los resultados indicaron que mujeres portadoras de los alelos de riesgo en este gen, tienen un incremento significativo para padecer enfermedad coronaria respecto a los individuos no portadores.

Hoffstedt y col., demostraron que existe asociación entre polimorfismos en el gen USF1 y el incremento en la lipólisis de adipocitos,⁷⁰ adicionalmente, evidencia funcional de la participación de variantes genéticas en USF1 en la HLFC, ha sido reportada.¹³⁻⁷¹ En conjunto, estos datos sugieren que USF1 es un gen clave en el desarrollo de la HLFC, DT2 y el síndrome metabólico.

VARIANTES EN EL GEN HNF4A SE ASOCIAN CON NIVELES DE LÍPIDOS EN LA HLFC

El gen "Hepatic Nuclear Factor 4" (HNF4A, por sus siglas en inglés) es un factor de transcripción que participa en la regulación de distintos genes involucrados en el metabolismo de lípidos y glucosa. HNF4 fue descrito como un gen responsable de la diabetes autosómica dominante de inicio temprano (MODY).⁷² Adicionalmente, diferentes estudios han demostrado que HNF4 participa en el fenotipo de la DT2.⁷³⁻⁷⁷ HNF4A reside en la región 20q12-13, previamente ligada con la DT2,⁷³⁻⁷⁷ obesidad,⁷⁸⁻⁸⁰ con niveles elevados de triglicéridos y bajos niveles de colesterol HDL en familias con HLFC.^{18,81} En un estudio realizado en familias multigeneracionales con HLFC de la población mexicana y familias finlandesas,⁸² se observó por primera vez que variantes en el gen HNF4A, son asociadas con la HLFC. Partiendo de la premisa de que la HLFC y la DT2 comparten características fenotípicas comunes, variantes genéticas en el gen HNF4A previamente asociadas con DT2 en otros estudios, fueron evaluadas. El SNP rs2144908, previamente asociado con la DT2 en diferentes poblaciones, mostró evidencia significati-

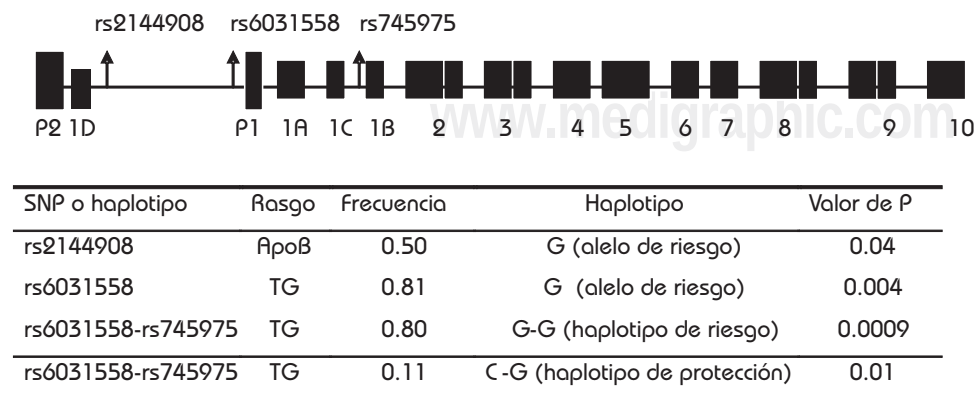


Figura 2. SNPs o haplotipos en el gen HNF4A asociados con niveles elevados de lípidos en familias mexicanas con HLFC

va de asociación para niveles elevados de triglicéridos y apo-B en las familias finlandesas y evidencia de asociación para niveles elevados de apo-B en las familias mexicanas. El análisis de haplotipos con nueve SNPs adicionales en el gen HNF4A, distribuidos en una región de 77 Kb mostró evidencia de asociación para niveles elevados de colesterol, triglicéridos, síndrome metabólico y niveles elevados de glucosa en la población finlandesa. En las familias mexicanas, diferentes haplotipos fueron asociados con niveles elevados de triglicéridos (figura 2). De manera interesante, ambas poblaciones estudiadas, compartieron dos haplotipos de riesgo para niveles elevados de colesterol y triglicéridos.

Evidencia reciente, indica que USF1 puede interactuar con HNF4A en la regulación de la transcripción de genes involucrados en el metabolismo de lípidos y glucosa.⁸³ Estudios funcionales adicionales se requieren para determinar el papel de estos genes y su posible interacción en el desarrollo de la HLFC y otras enfermedades metabólicas.

COMENTARIO FINAL

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que en México existe una alta predisposición genética para padecer diferentes enfermedades metabólicas como la diabetes, el síndrome metabólico y distintas formas de dislipidemias primarias, como la HLFC. Se ha estimado que en México aproximadamente un 13% de la población padece algún tipo de dislipidemia mixta, por lo que la necesidad de identificar variantes genéticas y eventualmente nuevas vías metabólicas que confieren susceptibilidad para desarrollar este tipo de enfermedades es de gran importancia. Finalmente, el escrutinio completo del genoma y el análisis de expresión genética en familias con HLFC, proveerá información adicional para la identificación de nuevos genes involucrados en la HLFC, así como su posible participación en otro tipo de dislipidemias comunes.

BIBLIOGRAFÍA

- Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II: Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973; 52: 1544-68.
- Nikkila EA, Aro A. Family study of serum lipids and lipoproteins in coronary heart-disease. *Lancet* 1973; 1: 954-59.
- Rose HG, Kranz P, Weinstock M, Juliano J, Haft J. Inheritance of combined hyperlipoproteinemia: evidence for a new lipoprotein phenotype. *Am J Med* 1973; 54: 148-60.
- De Graaf J, Stalenhoef AF. Defects of lipoprotein metabolism in familial combined hyperlipidaemia. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 189-96.
- Sniderman A, Brown G, Stewart F, Cianflone K. From familial combined hyperlipidaemia to hyperapo B: unravelling of overproduction of hepatic apolipoprotein B. *Curr Opin Lipidol* 1992; 3: 137-42.
- Venkatesan S, Cullen P, Pacý P, Halliday D, Scott J. Stable isotopes show a direct relation between VLDL apoB overproduction and serum triglyceride levels and indicate a metabolically and biochemically coherent basis for familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1110-18.
- Brunzell JD, Albers JJ, Chait A, Grundy SM, Groszek E, McDonald GB. Plasma lipoproteins in familial combined hyperlipidemia and monogenic familial hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 1983; 24: 147-55.
- Bredie SJ, Demacker PN, Stalenhoef AF. Metabolic and genetic aspects of familial combined hyperlipidaemia with emphasis on low-density lipoprotein heterogeneity. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 802-11.
- Porkka KV, Nuotio I, Pajukanta P, Ehnholm C, Suurinkeroinen L, Syvanne M, Lehtimäki T, Lahdenkari AT, Lahdenpera S, Ylitalo K, Antikainen M, Perola M, Raitakari OT, Kovanen P, Viikari JS, Peltonen L, Taskinen MR. Phenotype expression in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1997; 133: 245-53.
- Cortner JA, Coates PM, Bennett MJ, Cryer DR, Le NA. Familial combined hyperlipidaemia: use of stable isotopes to demonstrate overproduction of very low-density lipoprotein apolipoprotein B by the liver. *J Inher Metab Dis* 1991; 14: 915-22.
- Aguilar-Salinas CA, Hugh P, Barret R, Pulsi J, Zhu XL, Schonfeld G. A familial combined hyperlipidemic kindred with impaired apolipoprotein B catabolism: kinetics of apolipoprotein B during placebo and pravastatin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 72-82.
- De Graaf J, Stalenhoef AF. Defects of lipoprotein metabolism in familial combined hyperlipidaemia. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 189-96.
- Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusa AJ, Gentile M, Duan XJ, Soro-Paavonen A, Naukkarinen J, Saarela J, Laakso M, Ehnholm C, Taskinen MR, Peltonen L. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet* 2004; 36: 371-76.
- Aguilar-Salinas CA, Olaz G, Valles V, Torres JM, Gomez Perez FJ, Rull JA, Rojas R, Franco A, Sepulveda J. High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nationwide survey. *J Lipid Res* 2001; 42: 1298-1307.
- Pajukanta P, Terwilliger JD, Perola M, Hiekkalinna T, Nuotio I, Ellonen P, Parkkonen M, Hartiala J, Ylitalo K, Pihlajamäki J, Porkka K, Laakso M, Viikari J, Ehnholm C, Taskinen MJ, Peltonen L. Genomewide scan for familial combined hyperlipidemia genes in Finnish families, suggesting multiple susceptibility loci influencing triglyceride, cholesterol, and apolipoprotein B levels. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1453-63.
- Aouizerat BE, Allayee H, Cantor RM, Davis RD, Lanning C, Wen P, Dallinga-Thie G, De Bruin T, Rotter JI, Lusa AJ. A genome scan for familial combined hyperlipidemia reveals evidence of linkage with a locus on chromosome 11. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 397-412.

17. Naoumova AP, Bonney SA, Eichenbaum-Voline S, Patel HN, Jones B, Jones EL, Amey J, Colilla S, Neuwirth CK, Allotey R, Seed M, Betteridge DJ, Galton DJ, Cox NJ, Bell GI, Scott J, Shoulders CC. Confirmed locus on chromosome 11p and candidate loci on 6q and 8p for the triglyceride and cholesterol traits of combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 2070-77.
18. Pajukanta P, Nuotio I, Terwilliger JD, Porkka KV, Ylitalo K, Pihlajamäki J, Suomalainen AJ, Syvänen AC, Lehtimäki T, Viikari JS, Laakso M, Taskinen MR, Ehnholm C, Peltonen L. Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23. *Nat Genet* 1998; 18: 369-73.
19. Pei W, Baron H, Muller-Miyshok B, Knoblauch H, Al-Yahyaee SA, Hui R, Wu X, Liu L, Busjahn A, Luft FC, Schuster H. Support for linkage of familial combined hyperlipidemia to chromosome 1q21-q23 in Chinese and German families. *Clin Genet* 2000; 57: 29-34.
20. Coon H, Myers RH, Borecki IB, Arnett DK, Hunt SC, Province MA, Djoussé L, Leppert MF. Replication of linkage of familial combined hyperlipidemia to chromosome 1q with additional heterogeneous effect of apolipoprotein A-I/C-III/A-IV locus: the NHLBI Family Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2275-80.
21. Huertas-Vázquez A, del Rincón JP, Canizales-Quinteros S, Riba L, Vega-Hernández G, Ramírez-Jiménez S, Auron-Gómez M, Gómez-Pérez FJ, Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna MT. Contribution of chromosome 1q21-q23 to familial combined hyperlipidemia in Mexican families. *Ann Hum Genet* 2004; 68: 419-27.
22. Hanson RL, Ehm MG, Pettitt DJ, Prochazka M, Thompson DB, Timberlake D, Foroud T, Kobes S, Baier L, Burns DK, Almasý L, Blangero J, Garvey WT, Bennett PH, Knowler WC. An autosomal genomic scan for loci linked to type II diabetes mellitus and body mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1130-38.
23. Elbein SC, Hoffman MD, Teng K, Leppert MF, Hasstedt SJ. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes* 1999; 48: 1175-82.
24. Vionnet N, Hani El-H, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Lepretre F, Lecoœur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P. Genomewide Search for Type 2 Diabetes susceptibility genes in French whites: Evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and Independent Replication of a Type 2 Diabetes Locus on Chromosome 1q21q24. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 1470-80.
25. Wiltshire S, Hattersley AT, Hitman GA, Walker M, Levy JC, Sampson M, O'Rahilly S, Frayling TM, Bell JI, Lathrop GM, Bennett A, Ranjit Dhillon, Fletcher C, Groves JC, Jones E, Prestwich P, Simecek N, Pamidighantam V, Subba Rao, Wishart M, Foxon R, Howell S, Smedley D, Cardon LR, Menzel S, McCarthy ML: A Genomewide Scan for Loci Predisposing to Type 2 Diabetes in a U.K. Population (The Diabetes UK Warren 2 Repository): Analysis of 573 Pedigrees Provides Independent Replication of a Susceptibility Locus on Chromosome 1q. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 553-69.
26. Wen-Chi H, St. Jean PL, Mitchell BD, Pollin TI, Knowler WC, Ehm MG, Bell CJ, Sakul H, Wagner MJ, Burns DK, Shuldiner AR. Genome-wide and fine-mapping linkage studies of type 2 diabetes and glucose traits in the old order amish evidence for a new diabetes locus on chromosome 14q11 and confirmation of a locus on chromosome 1q21-q24. *Diabetes* 2003; 52: 550-7.
27. Maggie CYNg, Wing-Yee So, Lam VKL, Cockram CS, Bell GI, Cox NJ, Chan JCN. Genome-wide scan for metabolic syndrome and related quantitative traits in Hong Kong Chinese and confirmation of a susceptibility locus on chromosome 1q21-q25. *Diabetes* 2004; 53: 2676-683.
28. Langefeld CD, Wagenknecht LE, Rotter JI, Williams AH, Hokanson JE, Saad MF, Bowden DW, Haffner S, Norris JM, Rich SS, Mitchell BD. Linkage of the Metabolic Syndrome to 1q23-q31 in Hispanic Families. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study Family Study. *Diabetes* 2004; 53: 1170-4.
29. Huertas-Vázquez A, Aguilar-Salinas C, Lusi AJ, Cantor RM, Canizales-Quinteros S, Lee JC, Mariana-Núñez L, Riba-Ramírez RM, Jokiaho A, Tusie-Luna T, Pajukanta P. Familial Combined Hyperlipidemia in Mexicans Association with Upstream Transcription Factor 1 and Linkage on Chromosome 16q24.1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1985-91.
30. Mahaney M, Almasý L, Rainwater, VandeBerg J, Cole S, Hixson J, Blangero J, MacCluer JW. A quantitative trait locus on chromosome 16q influences variation in plasma HDL-C levels in Mexican-Americans. *Arterioscler Thromb and Vasc Biol* 2003; 23: 339-45.
31. Wojciechowski AP, Farrall M, Cullen P, Wilson TM, Bayliss JD, Farren B, Griffin BA, Caslake MJ, Packard CJ, Shepherd J. Familial combined hyperlipidaemia linked to the apolipoprotein AII-CIII-AIV gene cluster on chromosome 11q23-q24. *Nature* 1991; 349: 161-64.
32. Xu CF, Talmud P, Schuster H, Houlston R, Miller G, Humphries S. Association between genetic variation at the APO AII-CIII-AIV gene cluster and familial combined hyperlipidaemia. *Clin Genet* 1994; 46: 385-97.
33. Deeb SS, Nevin DN, Iwasaki L, Brunzell JD. Two novel apolipoprotein A-IV variants in individuals with familial combined hyperlipidemia and diminished levels of lipoprotein lipase activity. *Hum Mutat* 1996; 8: 319-25.
34. Dallinga-Thie GM, van Linde-Sibenius, TM, Rotter JI, Cantor RM, Bu XD, Lusi AJ, de Bruin TWA. Complex genetic contribution of the apoAII-CIII-AIV gene cluster to familial combined hyperlipidemia. Identification of different susceptibility haplotypes. *J Clin Invest* 1997; 99: 953-61.
35. Mar R, Pajukanta P, Allayee H, Groenendijk M, Dallinga-Thie G, Krauss RM, Sinsheimer JS, Cantor RM, de Bruin TW, Lusi AJ. Association of the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. *Circ Res* 2004; 94: 993-99.
36. Eichenbaum-Voline S, Olivier M, Jones EL, Naoumova AP, Jones B, Gau B, Patel HN, Seed M, Betteridge DJ, Galton DJ, Rubin EM, Scott J, Shoulders CC, Pennacchio LA. Linkage and association between distinct variants of the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 167-74.

37. Gagne E, Genest J Jr, Zhang H, Clarke LA, Hayden MR. Analysis of DNA changes in the LPL gene in patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1250-57.
38. Reymer PW, Groenemeyer BE, Gagne E, Miao L, Appelman EE, Seidel JC, Kromhout D, Bijvoet SM, van de Oever K, de Bruin TW. A frequently occurring mutation in the lipoprotein lipase gene (Asn291Ser) contributes to the expression of familial combined hyperlipidemia. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1543-49.
39. De Bruin TW, Mailluy F, van Barlingen HH, Fisher R, Castro CM, Talmud P, Dallinga-Thie GM, Humphries SE. Lipoprotein lipase gene mutations D9N and N291S in four pedigrees with familial combined hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 631-39.
40. Hoffer MJ, Bredie SJ, Snieder H, Reymer PW, Demacker PN, Havekes LM, Boomsma DI, Stalenhoef AF, Frants RR, Kastelein JJ. Gender-related association between the -93T→G/D9N haplotype of the lipoprotein lipase gene and elevated lipid levels in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1998; 138: 91-9.
41. Campagna AM, Baroni M, Maria A, Ricci G, Antonini A, Verna A, Arca M. Common variants in the lipoprotein lipase gene, but not those in the insulin receptor substrate [ndash]1, the [beta]-adrenergic receptor, and the intestinal fatty acid binding protein-2 genes, influence the lipid phenotypic expression in familial combined hyperlipidemia. *Metabolism* 2002; 51: 1298-1305.
42. Gehrisch S, Kostka H, Tiebel M, Patzak A, Paetzold A, Julius U, Schroeder HE, Hanefeld M, Jaross W. Mutations of the human hepatic lipase gene in patients with combined hypertriglyceridemia/hyperalphalipoproteinemia and in patients with familial combined hyperlipidemia. *J Mol Med* 1999; 77: 728-34.
43. Allayee H, Dominguez KM, Rouizerat BE, Krauss RM, Rotter JI, Lu J, Cantor RM, de Bruin TW, Lusk AJ. Contribution of the hepatic lipase gene to the atherogenic lipoprotein phenotype in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2000; 41: 245-52.
44. Allayee H, Rouizerat BE, Cantor RM, Dallinga-Thie GM, Krauss RM, Lanning CD, Rotter JI, Lusk AJ, de Bruin TW. Families with familial combined hyperlipidemia and families enriched for coronary artery disease share genetic determinants for the atherogenic lipoprotein phenotype. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 577-85.
45. Rouizerat BE, Allayee H, Bodnar J, Krass KL, Peltonen L, de Bruin TW, Rotter JI, Lusk AJ. Novel genes for familial combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10: 113-122.
46. Geurts JM, Janssen AG, van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, Cantor RM, Bu X, Rouizerat BE, Allayee H, Rotter JI, de Bruin TW. Identification of TNFRSF1B as a novel modifier gene in familial combined hyperlipidemia. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2067-74.
47. Vallet VS, Casado M, Henrion AA, Bucchini D, Raymondjean M, Kahn A, Vaulont S. Differential roles of upstream stimulatory factors 1 and 2 in the transcriptional response of liver genes to glucose. *J Biol Chem* 1998; 273: 20175-79.
48. Casado M, Vallet VS, Kahn A, Vaulont S. Essential role *in vivo* of upstream stimulatory factors for a normal dietary response of the fatty acid synthase gene in the liver. *J Biol Chem* 1999; 274: 2009-13.
49. Ribeiro A, Pastier D, Kardassis D, Chambaz J, Cardot P. Cooperative binding of upstream stimulatory factor and hepatic nuclear factor 4 drives the transcription of the human apolipoprotein A-II gene. *J Biol Chem* 1995; 274: 1216-25.
50. Pastier D, Lacorte JM, Chambaz J, Cardot P, Ribeiro A. Two initiator like elements are required for the combined activation of the human apolipoprotein C-III promoter by upstream stimulatory factor and hepatic nuclear factor-4. *J Biol Chem* 2002; 277: 15199-206.
51. Ilyndjian PB. Identification of upstream stimulatory factor as transcriptional activator of the liver promoter of the glucokinase gene. *Biochem J* 1998; 333: 705-12.
52. Kutz SM, Higgins CE, Samarakoon R, Higgins SP, Allen RR, Qi L, Higgins P. TGF-beta-induced PAI-1 expression is E box/USF-dependent and requires EGFR signaling. *Exp Cell Res* 2006; 312: 1093-1105.
53. Yang XP, Freeman LA, Knapper CL, Amar MJ, Remaley A, Brewer HB Jr, Santamarina-Fojo S. The E-box motif in the proximal ABCA1 promoter mediates transcriptional repression of the ABCA1 gene. *J Lipid Res* 2002; 43: 297-306.
54. Wang D, Sul HS. Upstream stimulatory factor binding to the E-box at -65 is required for insulin regulation of the fatty acid synthase promoter. *J Biol Chem* 1997; 272: 26367-374.
55. Botma GJ, Verhoeven AJ, Jansen H. Hepatic lipase promoter activity is reduced by the C-480T and G-216A substitutions present in the common LIPC gene variant and is increased by Upstream Stimulatory Factor. *Atherosclerosis* 2001; 154: 625-32.
56. Salero E, Gimenez C, Zafra F. Identification of a non-canonical E-box motif as a regulatory element in the proximal promoter region of the apolipoprotein E gene. *Biochem J* 2003; 370: 979-86.
57. Nowak M, Helleboid-Chapman A, Jakel H, Martin G, Duran-Sandoval D, Staels B, Rubin EM, Pennacchio LA, Taskinen MR, Fruchart-Najib J, Fruchart JC. Insulin-mediated down-regulation of apolipoprotein A5 gene expression through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway: role of upstream stimulatory factor. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 1537-48.
58. Portois L, Tastenoay M, Viollet B, Svoboda M. Functional analysis of the glucose response element of the rat glucagon receptor gene in insulin-producing INS-1 cells. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1574: 175-86.
59. Read ML, Clark AR, Docherty K. The helix-loop-helix transcription factor USF (upstream stimulating factor) binds to a regulatory sequence of the human insulin gene enhancer. *Biochem J* 1993; 295: 233-37.
60. Martin CC, Svitek CA, Oeser JK, Henderson E, Stein R, O'Brien RM. Upstream stimulatory factor (USF) and neurogenic differentiation/beta-cell E box transactivator 2 (NeuroD/BETA2) contribute to islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic-subunit-related protein (IGRP) gene expression. *Biochem J* 2003; 371: 6752-786.
61. Travers MT, Vallance AJ, Gourlay HT, Gill CA, Klein I, Bottema C, Barber MC. Promoter I of the ovine acetyl-CoA carboxylase-alpha gene: an E-box motif at -114 in the proximal pro-

- motor binds upstream stimulatory factor (USF)-1 and USF-2 and acts as an insulin-response sequence in differentiating adipocytes. *Biochem J* 2001; 359: 273-84.
62. Smih F, Rouet P, Lucas S, Mairal A, Sengenès C, Sengenès LM, Vaulont S, Casado M, Langin D. Transcriptional regulation of adipocyte hormone-sensitive lipase by glucose. *Diabetes* 2002; 51: 293-300.
 63. Van der VGM, Hijmans AIA, van Duijn CM, Stalenhoef AF, de Graaf J. The involvement of upstream stimulatory factor 1 in Dutch patients with familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2007;48:193-200.
 64. Putt W, Palmen J, Nicaud V, Tregouet DA, Tahri-Daizadeh NF, Humphries SE, Talmud PJ, EARSII group. Variation in USF1 shows haplotype effects, gene:gene and gene:environment associations with glucose and lipid parameters in the European Atherosclerosis Research Study II. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 1587-97.
 65. Coon H, Xin Y, Hopkins PN, Cawthon RM, Hasstedt SJ, Hunt SC. Upstream stimulatory factor 1 associated with familial combined hyperlipidemia, LDL cholesterol and triglycerides. *Hum Genet* 2005; 117: 444-51.
 66. Ng MC, Miyake K, So WY, Poon EW, Lam VK, Li JK, Ng MC, Cox NJ, Bell GI, Chan JC. The linkage and association of the gene encoding upstream stimulatory factor 1 with type 2 diabetes and metabolic syndrome in the Chinese population. *Diabetologia* 2005; 48: 2018-24.
 67. Gibson F, Hercberg S, Froguel P. Common polymorphisms in the USF1 gene are not associated with type 2 diabetes in French Caucasians. *Diabetes* 2005; 54: 3040-42.
 68. Zeggini E, Damcott CM, Hanson RL, Karim MA, Rayner NW, Groves CJ, Baier LJ, Hale TC, Hattersley AT, Hitman GA, Hunt SE, Knowler WC, Mitchell BD, Ng MC, O'Connell JR, Pollin TI, Vaxillaire M, Walker M, Wang X, Whittaker P, Xiang K, Jia W, Chan JC, Froguel P, Deloukas P, Shuldiner AR, Elbein SC, McCarthy MI. International Type 2 Diabetes 1q Consortium: Variation within the gene encoding the upstream stimulatory factor 1 does not influence susceptibility to type 2 diabetes in samples from populations with replicated evidence of linkage to chromosome 1q. *Diabetes* 2006; 55: 2541-48.
 69. Komulainen K, Alanne M, Auro K, Kilpikari R, Pajukanta P, Saarela J, Ellonen P, Salminen K, Kulathinal S, Kuulasmaa K, Silander K, Salomaa V, Perola M, Peltonen L. Risk Alleles of USF1-gene predict cardiovascular disease of women in two prospective studies. *PLoS Genet* 2006; 2: 672-81.
 70. Hoffstedt J, Ryden M, Wahrenberg H, van Harmelen V, Arner P. Upstream transcription factor-1 gene polymorphism is associated with increased adipocyte lipolysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5356-60.
 71. Naukkarinen J, Gentile M, Soro-Paavonen A, Saarela J, Koistinen HA, Pajukanta P, Taskinen MR, Peltonen L. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variants. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 2595-2605.
 72. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, Fajans SS, Signorini S, Stoffel M, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* 1996; 384: 458-60.
 73. Love-Gregory LD, Wasson J, Ma J, Jin CH, Glaser B, Suarez BK, Permutt MA. A common polymorphism in the upstream promoter region of the hepatocyte nuclear factor 4 alpha gene on chromosome 20q is associated with type 2 diabetes and appears to contribute to the evidence for linkage in an Ashkenazi Jewish population. *Diabetes* 2004; 53: 1134-40.
 74. Damcott CM, Hoppman N, Ott SH, Reinhart LJ, Wang J, Pollin TI, O'Connell JR, Mitchell BD, Shuldiner AR. Polymorphisms in both promoters of hepatocyte nuclear factor-4alpha are associated with type 2 diabetes in the Amish. *Diabetes* 2004; 53: 3337-41.
 75. Hansen SK, Rose CS, Glumer C, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Jorgensen T, Pedersen O, Hansen T. Variation near the hepatocyte nuclear factor (HNF)-4alpha gene associates with type 2 diabetes in the Danish population. *Diabetologia* 2005; 48: 452-58.
 76. Silander K, Mohlke KL, Scott LJ, Peck EC, Hollstein P, Skol AD, Jackson AU, Deloukas P, Hunt S, Stavrides G, Chines PS, Erdos MR, Narisu N, Conneely KN, Li C, Fingerlin TE, Dhanjal SK, Valle TT, Bergman RN, Tuomilehto J, Watanabe RM, Boehnke M, Collins FS. Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 1141-49.
 77. Winckler W, Graham RR, de Bakker PI, Sun M, Almgren P, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Ardlie KG, Daly MJ, Hirschhorn JN, Groop L, Altshuler D. Association testing of variants in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene with risk of type 2 diabetes in 7,883 people. *Diabetes* 2005; 54: 886-92.
 78. Perusse L, Chagnon YC, Dionne FT, Bouchard C. The human obesity gene map: the 1996 update. *Obes Res* 1997; 5: 49-61.
 79. Lee JH, Reed DR, Li WD, Xu W, Joo EJ, Kilker RL, Nanthakumar E, North M, Sakul H, Bell C, Price RA. Genome scan for human obesity and linkage to markers in 20q13. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 196-209.
 80. Dong C, Wang S, Li WD, Li D, Zhao H, Price RA. Interacting genetic loci on chromosomes 20 and 10 influence extreme human obesity. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 115-124.
 81. Soro A, Pajukanta P, Lilja HE, Ylitalo K, Hiekkalinna T, Perola M, Cantor RM, Viikari JS, Taskinen MR, Peltonen L. Genome scans provide evidence for low-HDL-C loci on chromosomes 8q23, 16q24.1-24.2, and 20q13.11 in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1333-40.
 82. Weissglas-Volkov D, Huertas-Vázquez A, Suviolahti E, Lee J, Plaisier C, Canizales-Quinteros S, Tusie-Luna T, Aguilar-Salinas C, Taskinen MR, Pajukanta P. Common hepatic nuclear factor 4 alpha variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes* 2006; 55: 1970-77.
 83. Rada-Iglesias A, Wallerman O, Koch C, Ameur A, Enroth S, Clelland G, Wester K, Wilcox S, Dovey OM, Ellis PD, Wraight VL, James K, Andrews R, Langford C, Dhami P, Carter N, Vetrie D, Ponten F, Komorowski J, Dunham I, Wadelius C. Binding sites for metabolic disease related transcription factors inferred at base pair resolution by chromatin immunoprecipitation and genomic microarrays. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3435-47.