



Artículo de revisión

Genes implicados en las formas monogénicas de la hipercolesterolemia familiar

Laura Riba*

* Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Correspondencia:

M IBB Laura Riba

Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Vasco de Quiroga Núm. 15, Colonia Sección XVI. Tlalpan
14000 México, D.F., México.

Fecha de recepción: 16-Febrero-2007

Fecha de aceptación: 14-Enero-2008

Resumen

A raíz del desarrollo del Proyecto del Genoma Humano, los descubrimientos resultantes sobre la caracterización molecular y fisiológica del funcionamiento celular han revolucionado los conceptos de la etiología y tratamiento de la enfermedad humana, no sólo para padecimientos mendelianos sino para la posibilidad de evaluar la susceptibilidad a las formas complejas (poligénicas y multifactoriales) más comunes de estas enfermedades. Las complicaciones de la aterosclerosis son la causa principal de mortalidad en todos los grupos étnicos y se encuentran entre las principales causas de incapacidad prematura y definitiva. En la presente revisión se discutirá el componente genético de la aterosclerosis, y se cubrirán de manera concisa las formas monogénicas de la hipercolesterolemia familiar en sus formas autosómicas dominantes y recesivas, así como los genes implicados. La prevalencia de mutaciones o polimorfismos en distintos genes responsables de condiciones monogénicas o de genes de susceptibilidad, así como las posibles combinaciones de estos últimos, pueden ser muy variables en diferentes grupos étnicos. Debido a esto, la caracterización genética y molecular de nuevas formas de dislipidemias monogénicas por mapeo y clonación posicional se ha perfilado como una estrategia importante para el mejor entendimiento de vías metabólicas conocidas así como la identificación de nuevas vías en el metabolismo de lípidos. A su vez, este conocimiento tendrá un impacto en el desarrollo de nuevos blancos terapéuticos y en la aplicación de terapias individualizadas para el tratamiento de la hipercolesterolemia y otras dislipidemias para la prevención de la enfermedad coronaria.

Palabras clave: Hipercolesterolemia familiar, padecimientos monogénicos, mutaciones.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2008; 16(1): 24-31

Abstract

The Human Genome Project and the resulting discoveries on the molecular and physiological characterization of the cell function have revolutionized the concepts on the etiology and treatment of human disease not only for mendelian traits, but for the possibility to evaluate the susceptibility to the more common polygenic and multifactorial complex forms of these conditions. The complications of atherosclerosis are the main mortality cause in most ethnic groups and are among the first causes of premature or total impairment. This review will discuss the genetic component of atherosclerosis and will give a concise overview of the both the autosomic dominant and recessive monogenic forms of familial hypercholesterolemia and the implicated genes therein. The prevalence of mutations or polymorphisms in the various genes responsible for monogenic disease or in susceptibility genes, as well as the possible combinations thereof can vary widely in different populations. Therefore, the genetic and molecular characterization of novel forms of monogenic lipid disorders through mapping and positional cloning has emerged as an important strategy for the better understanding of both known metabolic pathways and for the identification of novel pathways in lipid metabolism. This knowledge will be decisive for the development of new therapeutic targets and of individualized therapies in the treatment of hypercholesterolemia among other lipid disorders to prevent heart disease.

Key words: Familial hypercholesterolemia, mendelian disorders, mutations.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2008; 16(1): 24-31

INTRODUCCIÓN

Generalidades

A raíz del desarrollo del Proyecto del Genoma Humano, los descubrimientos resultantes sobre la caracterización molecular y fisiológica del funcionamiento celular han revolucionado los conceptos de la etiología y tratamiento de la enfermedad humana. Todas las áreas de la medicina incluyendo la cardiología se han beneficiado del conocimiento generado para la detección del origen y tratamiento de afecciones cardíacas mendelianas, así como de la posibilidad de evaluar la susceptibilidad a padecer las formas complejas (poligénicas y multifactoriales) de las formas más comunes de estas enfermedades.

Las complicaciones de la aterosclerosis son la causa principal de mortalidad en todos los grupos étnicos; en el 2001 la cardiopatía isquémica y las enfermedades cerebrovasculares fueron la segunda y la tercera causa de muerte en nuestro país.¹

La relevancia de estas patologías no se limita a la mortalidad causada. Ambas patologías se encuentran entre las principales causas de incapacidad prematura y definitiva. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud para el año 2020 la cardiopatía isquémica y la insuficiencia vascular cerebral serán la primera y la cuarta causa de incapacidad en la población mundial.²

Componente genético de la aterosclerosis

Diversas hiperlipidemias primarias se manifiestan como aterosclerosis prematura. Entre los ejemplos más característicos se encuentra la hipercolesterolemia.³ En este padecimiento, la aterosclerosis es prematura y severa. Si bien el componente genético juega un papel importante en su etiología, el desarrollo y la severidad del proceso pueden ser modulados por diversos factores ambientales como la acción de los estrógenos o el estilo de vida, o bien, por factores genéticos adicionales, tales como genes moduladores o de susceptibilidad.

Dentro del amplio espectro de este padecimiento existen formas monogénicas en las cuales un defecto en un gen determinado es la causa principal del proceso que se manifiesta como aterosclerosis prematura. Por ello, estas formas constituyen un modelo muy valioso para el estudio de los determinantes genéticos de la aterosclerosis. De hecho, el estudio de dislipidemias monogénicas ha resultado en la identificación de mecanismos metabólicos clave. La hipercolesterolemia familiar heterocigota es el ejemplo clásico. Su caracterización resultó en el descubrimiento de la endocitosis mediada por receptores vía el receptor de la lipoproteína de baja densidad (RLDL),⁴ lo cual a su vez llevó al desarrollo de las estatinas, que han

resultado muy efectivas en la reducción de niveles de colesterol LDL y la mortalidad por enfermedad coronaria.⁵ Subsecuentemente a la identificación del RLDL como causa de esta forma monogénica de la hipercolesterolemia, Innerarity et al.⁶ demostró la heterogeneidad de este padecimiento al reportar pacientes con actividad normal del LDLR y un defecto en la apolipoproteína B-100 que causaba una afinidad disminuida por el receptor. Esta forma nueva del padecimiento se designó hipercolesterolemia familiar tipo B (FDB).

Hasta hace unos diez años, la mayor parte de las mutaciones responsables de padecimientos monogénicos del metabolismo de lípidos se identificaron a través del análisis de candidatos funcionales. Sin embargo, a partir de 1999, la identificación de genes nuevos implicados en este tipo de enfermedades se ha logrado por medio de clonación posicional.⁷ Tal es el caso de los genes para una tercera forma autosómica dominante de hipercolesterolemia familiar (*locus* FH3) y formas de hipercolesterolemia autosómica recesiva como ARH,⁸⁻¹⁰ la sitosterolemia^{11,12} y la deficiencia de la hidroxilasa del colesterol 7 α .¹³ En el cuadro I se enlistan las principales enfermedades monogénicas que causan hipercolesterolemia severa. Existe sin embargo, evidencia de una amplia heterogeneidad genética presente en determinantes de fenotipos dislipidémicos incluyendo a la hipercolesterolemia familiar,⁷ lo cual indica la existencia de genes y vías metabólicas comunes, alternativas, o nuevas por identificar.

Hipercolesterolemia familiar

La hipercolesterolemia familiar heterocigota (HF), es la principal hiperlipidemia aterogénica primaria. Es un desorden genético con un patrón de herencia autosómico dominante, con una alta prevalencia en la población general (1 en 500 son portadores heterocigotos y 1 en 1 millón son homocigotos)¹⁴ aunque esta prevalencia puede variar en diferentes poblaciones. Se caracteriza clínicamente por niveles séricos elevados de colesterol (> 240 mg/dL) y elevación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) (> 190 mg/dL); en México la prevalencia del colesterol elevado por arriba de este valor de corte es del 7.8%, además de que el 10.2% de la población entre 20 y 69 años presenta niveles de colesterol LDL > 160 mg/dL. Estos elevados niveles de colesterol, condicionan el desarrollo de aterosclerosis y la predisposición al infarto al miocardio en individuos menores de 60 años.¹⁴⁻¹⁶

Clínicamente, la HF se presenta en dos formas. De éstas, la heterocigota es la más común y se caracteriza por presentar niveles de colesterol de 300-400 mg/dL y niveles de triglicéridos ligeramente elevados. Puede ser detectable desde el nacimiento, sin embargo, la mayoría de los casos se diagnostican hasta la presentación del pri-

Cuadro I. Principales formas monogénicas causantes de hipercolesterolemia severa (Modificado de Radner et al., 2003)

Enfermedad		Gen implicado	Prevalencia	Niveles de LDL-C en plasma	Defecto metabólico
Autosómica dominante					↓ Depuración de LDL (1º) ↑ Producción de LDL (2º)
FH		LDLR			
	FH heteróciga		1 en 500	+++	
	FH homóciga		1 en 1 x 10 ⁶	+++++	
FDB		APOB			↓ Depuración de LDL
	FDB heteróciga		1 en 1,000	++	
	FDB homóciga		1 en 4 x 10 ⁶	+++	
FH3		PCSK9			Desconocida
	FH3 heteróciga		< 1 en 2,500	+++	
Autosómica recesiva					↓ Depuración de LDL
ARH	Autosómica recesiva	LDLRAP1	< 1 en 5 x 10 ⁶	++++	↓ Excreción de colesterol (1º)
	Sitosterolemia	ABCG5 o ABCG8	< 1 en 5 x 10 ⁶	de - a ++++++	↓ Depuración de LDL (2º)

+ Indica los niveles relativos de niveles plasmáticos de LDL-C; 1º mecanismo primario; 2º mecanismo secundario. FH hipercolesterolemia familiar; FDB apon-100 defectiva familiar; LDLR, Receptor de LDL; ARH, autosómica recesiva

mer evento vascular. En contraste, la forma homocigota es muy rara y se caracteriza por niveles de colesterol por arriba de 500 mg/dL (600-1,200 mg/dL), xantomas tuberosos además de los tendinosos y la presencia de cardiopatía isquémica en la primera década de vida.

Aunque la principal causa de esta patología es un defecto en la interacción del receptor de LDL y la Apo-B que resulta en un decremento en la eliminación de éstas del plasma y por consiguiente en niveles elevados de colesterol-LDL, posteriormente se demostró que adicionalmente hay un aumento en la producción de las LDL debido a un aumento de la producción hepática de lipoproteínas y una menor depuración de los precursores de las LDL.^{17,18}

Genética de la hipercolesterolemia familiar

La hipercolesterolemia familiar heterocigota o autosómica dominante (HF) es genéticamente heterogénea.¹⁹⁻²² Hasta hace unos tres años se habían descrito mutaciones en 2 genes: el receptor de LDL (RLDL)⁴ (OMIM 606945) y en el gen que codifica para la apolipoproteína B-100 (Apo B-100), constituyente de las LDL²³ (OMIM 144010). Estas mutaciones reducen la capacidad de captación y utilización hepática de colesterol, traducándose en un aumento de los niveles plasmáticos, favoreciendo la formación de xantomas tendinosos, xantelasma y arcos corneales.

Mutación en el gen receptor de LDL. El gen del receptor de LDL (19p13.1-13.3) consta de 18 exones que cubren 45 kilobases (kb) del brazo corto del cromosoma 19. Su tamaño es de 5.3 kb y codifica una proteína de 860 aminoácidos. A la fecha se han descrito más de 900 mutaciones de diversos tipos incluyendo mutaciones puntuales tanto en el promotor como en la región codificadora y las

uniones intrón-exón, así como micro y macro deleciones e inserciones.²⁴

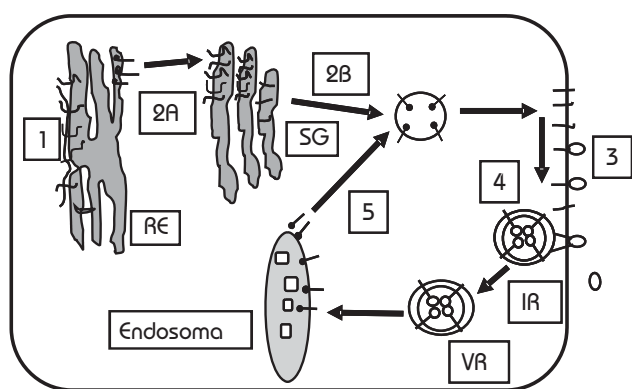
La figura 1 muestra un esquema del ciclo del receptor LDL. Las mutaciones en el gen RLDL se han clasificado en cinco categorías de acuerdo a su efecto en la función del receptor en las distintas etapas de este ciclo:²⁵

Tipo 1. Alelos nulos que tienen como consecuencia la ausencia total inmunodetectable de producción de receptor y por ende se asocian a los cuadros clínicos más severos.

Tipo 2. Alelos que afectan el transporte del receptor del retículo endoplásmico y el aparato de Golgi donde se efectúa la glicosilación. Es el tipo de mutación más comúnmente encontrado, y en la mayoría de los casos, la mutación se encuentra en los exones que codifican el dominio de unión al ligando o el dominio homólogo al factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Figura 2).

Tipo 3. Alelos que afectan la unión del receptor a la constituyente apo-B de la LDL. Se encuentran en los exones que codifican los dominios de unión o en las regiones repetidas del dominio homólogo al EGF. Estos alelos producen receptores que son normalmente transportados a la superficie de la célula pero unen principalmente lipoproteínas ricas en apo-E como las VLDL. La unión a las LDL se ve disminuida en mayor o menor grado de acuerdo a la mutación.

Tipo 4. Alelos que afectan la internalización del receptor unido a las LDL. Estas mutaciones son de 2 tipos: Las 4A suelen encontrarse en el dominio citoplásmico del receptor, en particular afectando las secuencias involucradas en la migración del complejo receptor-lipoproteína hacia las vesículas cubiertas de clatrina; las 4B alteran el dominio del receptor que facilita la unión a la membrana celular.



Tipo de Síntesis Transporte Unión Internalización Reciclado
mutación

1	--				
2 (A y B)	+	--			
3	+	+	--		
4	+	+	+	--	
5	+	+	+	+	--

Figura 1. Ciclo del receptor de LDL y clasificación de sus mutaciones. RE: retículo endoplásmico; SG: sistema de Golgi; VR: vesículas de endocitosis; IR: proceso de internalización (Modificado de Real JT y Carmena R, 1999).

Tipo 5. Alelos que afectan la disociación pH-dependiente del complejo receptor-ligando en el endosoma impidiendo el procesamiento de las LDL y el subsiguiente reciclaje del receptor.

Apo B100. El gen que codifica para la apolipoproteína B-100 (Apo B-100) se encuentra en el brazo corto del cromosoma 2 (2p23). El gen es considerablemente grande (42.6 kb) con un mRNA de más de 16 kb. El precursor de

la proteína es de 4,563 aminoácidos y la proteína madura de 4,536. Mutaciones en este gen son las causantes de la segunda forma monogénica descrita de la HF (Tipo B o FDB). Los pacientes con mutaciones en este *locus* presentan cuadros clínicos menos severos con una aterogenicidad menor que los observados en pacientes con mutaciones en RLDL. La prevalencia de la FDB es bastante más baja que la debida a defectos en RLDL, aunque varía mucho (2-12%) de acuerdo a la población estudiada. La prevalencia más alta se encuentra en Europa Central y Suiza (1:200 adultos), mientras que en otros países como Finlandia, no ha sido detectada.¹⁴ En el 2006, Robles-Orsorio et al.²⁶ identificaron en población Mexicana sólo un paciente de 46 con una mutación en este *locus*. Sin embargo, debido a su fenotipo más discreto y a efectos metodológicos, los estimados suelen estar sesgados en la mayoría de los estudios.¹⁸

A la fecha, solamente se han descrito 4 mutaciones en este gen: R3500Q²⁷ que es la más frecuentemente observada, R3500W,²⁸ R3531C,²⁹ y N3516K.³⁰

FH3 (PCSK9). En diferentes estudios en los que se evaluó la prevalencia de mutaciones en los genes del RLDL y de Apo B100 se identificaron familias con HF donde ninguno de estos genes estaba afectado, indicando heterogeneidad genética en el desarrollo de esta patología. En el 2001, en un análisis de secuenciación de 60 sujetos con HF, Wang et al.³¹ encontraron que ~ 40% de ellos no presentaban mutaciones en el receptor de LDL o las reportadas para Apo B100. En el 2000, Saint-Jore et al.²¹ reportaron que en un 35% de las familias con HF estudiadas en Francia hay otros genes implicados, además de estos dos genes. Este grupo y otros identificaron a través de ligamiento genético el tercer *locus* para HF (FH3; OMIM

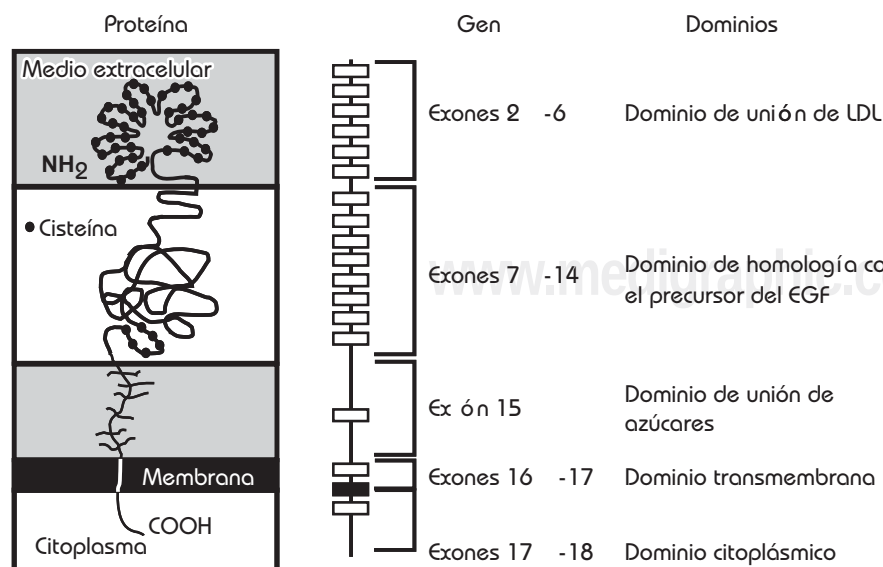


Figura 2. Estructura del receptor de LDL (Modificado de Real JT y Carmena R, 1999).

603776), en la región 1p34.1-p32.^{8,32,33} En el 2003, Abifadel *et al.*⁹ identificaron al gen PCSK9 (OMIM 607786). PCSK9 codifica la convertasa neural regulada por apoptosis-1 (NARC-1)³⁴ que es una pro-proteína convertasa, tipo subtilisina/kexina como el responsable del fenotipo en esta región.

Los pacientes con mutaciones en este gen presentan un cuadro clínico indistinguible de aquéllos con FH. A la fecha, es poco lo que se sabe del papel de esta proteína. Los estudios funcionales a la fecha no presentan un cuadro consistente. Sin embargo, se han identificado al menos 3 mutaciones sin sentido y varios cambios raros no conservados con pérdida de función en individuos de origen africano y en caucásicos con niveles bajos de C-LDL.³⁵⁻³⁷

El gen tiene 12 exones distribuidos en 25.3 kb y un mensajero de 3.63 kb que codifica para una proteína con 692 aminoácidos. A la fecha se han reportado 4 mutaciones causantes de hipercolesterolemia en diversas poblaciones: Ser124Arg,⁹ Asn157Lys,³⁸ Phe216Leu,⁹ Asp374Tyr.³⁹

Hipercolesterolemia familiar recesiva (ARH). Desde la década de los 70, se describieron familias con un padecimiento que parecía ser hipercolesterolemia familiar homocigota, pero que presentaban un patrón de herencia poco usual (autosómico recesivo). Asimismo la función de los fibroblastos de individuos afectados era casi normal^{40,41} y el fenotipo no cosegregaba con los *loci* del LDLR ni de Apo B-100. Este nuevo padecimiento se designó hipercolesterolemia autosómica recesiva (ARH por sus siglas en inglés) (ARH, Autosomal Recessive Hypercholesterolemia; OMIM 603813).⁴²

La ARH se presenta con un fenotipo clínico similar al de la hipercolesterolemia familiar (FH) homocigota clásica causada por defectos en el gen LDLR. Sin embargo es más variable, generalmente menos severo y responde de mejor manera a las terapias convencionales que esta última.⁴² Existen muy pocos individuos (50 aproximadamente) afectados y la mayoría son de Cerdeña o del Medio Oriente, aunque se han reportado casos raros en otras poblaciones, incluyendo la nuestra.⁴³

El defecto fisiológico en ARH es la imposibilidad de algunos tipos de células de mediar la internalización de LDL dependiente del receptor de LDL. Este hallazgo sugería que alteraciones en el tráfico del receptor de LDL (externalización o internalización) pueden causar hipercolesterolemia.⁴⁴

En el 2001, García *et al.*¹⁰ identificaron el gen LDLRAP1 que codifica una proteína adaptadora para el receptor de LDL (ARH; OMIM 605747) como responsable de esta forma recesiva previamente ligada este *locus* 1p35.⁴⁵ En células afectadas, el gen del receptor de LDL es normal. Sin embargo, la proteína ARH se acumula en la superficie de la célula. Este fenómeno también se ha observado en células de hígado de ratones recombinantes que no producen ARH, lo cual explica la falla en la depuración de LDL en pacientes

afectados.⁴⁶ Las características estructurales de ARH y su capacidad de interacción con la secuencia de internalización del receptor de LDL, fosfolípidos de membrana y la maquinaria de endocitosis de la clatrina indican que juega un papel clave en la vía del receptor de LDL.⁴⁷⁻⁵⁰

El gen LDLRAP1 consta de 9 exones distribuidos en 25.2 kb, su mensajero tiene 2.86 kb y codifica para una proteína de 308 aminoácidos. A la fecha se han descrito 10 mutaciones⁵¹ que producen proteínas truncadas debido a codones de término prematuros, y una mutación⁴³ que altera un sitio de unión intrón-exón y que genera un mensajero alternativo y una proteína con una delección interna de 26 aminoácidos.

Sitosterolemia. En 1974, Bhattacharyya y Connor⁵² describieron a dos hermanos con niveles normales de colesterol que presentaban xantomas grandes, niveles plasmáticos elevados de sitosterol. Sus padres eran normolipémicos. En individuos normales, el colesterol constituye más del 99% de los esteroides circulantes. Otros esteroides, como el sitosterol se encuentran en cantidades minúsculas. En pacientes con sitosterolemia los niveles de sitosterol están elevados en un factor de más de 50. La mayoría de los pacientes identificados tiene niveles plasmáticos muy elevados de C-LDL, especialmente en la infancia comparables a los de pacientes con FH homocigotos. Al igual que éstos, pueden desarrollar estenosis aórtica y enfermedad cardiovascular prematura. El rasgo clínico distintivo es la presencia de bajos niveles de hemólisis, aparentemente debido a la incorporación de esteroides vegetales en las membranas de los glóbulos rojos.^{50,53}

A diferencia de los otros tipos de hipercolesterolemia, la sitosterolemia es el resultado de un flujo de esteroles de las células. Los genes implicados en esta forma monogénica codifican dos genes adyacentes que codifican los semitransportadores ABCG5 y ABCG8.^{12,11}

Los genes ABCG5 y ABCG8 se localizan en el brazo corto del cromosoma 2 (2p21). Sus tamaños son de 26.36 kb y 39 kb respectivamente, sus mensajeros son de 2.74 kb y 2.68 kb y codifican para la esterolina-1 de 651 aminoácidos y la esterolina-2 de 673 aminoácidos. Ambos genes tienen 13 exones. A la fecha se han descrito más de 25 mutaciones en estos genes.^{11,12,54}

Consideraciones finales

El alcance de la caracterización de formas monogénicas de enfermedades comunes, mucho menos frecuentes que las formas complejas, va más allá del potencial beneficio para la fracción de la población que las padece. El número de publicaciones que corrobora la participación de genes responsables de formas monogénicas en las formas más complejas y multifactoriales de padecimientos comunes como la diabetes y la aterosclerosis aumenta cada día.

A diferencia de la identificación de nuevos genes analizando genes candidatos funcionales, la clonación posicional es una estrategia que permite la identificación de genes implicados en desórdenes monogénicos en su mayor parte con base en la definición de un patrón de herencia mendeliano, a través de su localización física en el genoma.^{55,56} La característica más relevante de esta estrategia es que no se requiere conocimiento previo del defecto funcional en sí, más allá de una forma de evaluación clínica bien definida. La identificación de un gen por clonación posicional suele llevar al conocimiento inmediato de la o las proteínas implicadas y, frecuentemente al descubrimiento de las bases moleculares y fisiológicas del fenotipo en cuestión (Botstein y Risch, 2003).

En el caso de las dislipidemias, hay evidencia de que polimorfismos en genes responsables de dislipidemias monogénicas como la disbetalipoproteinemia (Apo E) (MIM 107750), la deficiencia de lipasa lipoproteica (LPL) (MIM 238600) y la deficiencia de lipasa hepática (MIM 151670) (HL) están involucrados en la susceptibilidad al desarrollo de aterosclerosis.⁵⁷⁻⁵⁹

La prevalencia de mutaciones o polimorfismos en distintos genes responsables de condiciones monogénicas o de genes de susceptibilidad, así como las posibles combinaciones de estos últimos, pueden ser muy variables en diferentes grupos étnicos. Debido a las consideraciones anteriores, la caracterización genética y molecular de nuevas formas de dislipidemias monogénicas por mapeo y clonación posicional se ha perfilado como una estrategia importante como aportación al entendimiento de vías metabólicas conocidas y a la identificación de nuevas vías en el metabolismo de lípidos. A su vez, este conocimiento tendrá un impacto en el potencial desarrollo de nuevos blancos terapéuticos y en la aplicación de terapias individualizadas para el tratamiento de la hipercolesterolemia y otras dislipidemias para la prevención de la enfermedad coronaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dirección General de Información y Evaluación del Desempeño. Secretaría de Salud. México. Salud Pública de México 2002: 6.
2. Reckless JPD. Cost effectiveness of statins. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11: 351-56.
3. Aguilar-Salinas CA, PHR Barrett, G. Schonfeld. Description of a kindred with familial combined hyperlipidemia with unusual kinetic abnormalities of the apolipoprotein B containing lipoproteins. Effects of pravastatin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(1): 72-82.
4. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
5. 4S Investigators. Randomized trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 334: 1383-89.
6. Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, Mahley RW, Krauss RM, Vega GL et al. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(19): 6919-6923.
7. Hegele RA. Monogenic dyslipidemias: Window on determinants of plasma lipoprotein metabolism. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 1161-77.
8. Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F et al. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet* 1999; 64(5): 1378-87.
9. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003; 34(2): 154-56.
10. García CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL adaptor protein. *Science* 2001; 292: 1394-98.
11. Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 2001; 27(1): 79-83.
12. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290(5497): 1771-75.
13. Pullinger CR, Eng C, Salen G, Shefer S, Batta AK, Erickson SK et al. Human cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J Clin Invest* 2002; 110(1): 109-17.
14. Goldstein JL, Brown S. Familial Hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 1995: 1215-250.
15. Aguilar-Salinas C. Lipoproteínas y Aterogénesis II. Fisiopatología de las hiperlipidemias primarias. *Rev INNSZ* 1989; (1): 4-11.
16. Aguilar CA, Olaiz G, Valles V, Ríos JM, Gómez 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: 1298-307.
17. Twisk J, Gillian-Daniel DL, Tebon A, Wang L, Barrett PH, Attie AD. The role of the LDL receptor in apolipoprotein B secretion. *J Clin Invest* 2000; 105(4): 521-32.
18. Aguilar-Salinas CA. Hipercolesterolemia Familiar. *Rev Invest Clin* 2001; 53(3): 254-65.
19. Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nature Genetics* 2003; 33 (Suppl): 228-37.
20. Haddad L, Day I, Hunt S, Williams R, Humphries S, Hopkins P. Evidence for a third genetic locus causing familial hypercholesterolemia: a non-LDLR, non-APOB kindred. *Journal of Lipid Research* 1999; 40: 1113-122.

21. Saint-Jore B, Varret M, Dachet C, Rabes JP, Devillers M, Erlich D et al. Autosomal dominant type IIa hypercholesterolemia: evaluation of the respective contributions of LDLR and APOB gene defects as well as a third major group of defects. *Eur J Hum Genet* 2000; 8(8): 30-62.
22. Thiaert R, Varret M, Lintott CJ, Scott AS, Loubser O, du Plessis L et al. Mutation analysis in a small cohort in New Zealand patients originating from the U.K. demonstrates genetic heterogeneity in familial hypercholesterolemia. *Molecular and Cellular Probes* 2000; 14: 299-304.
23. Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL et al. Familial defective apolipoprotein B-100: A mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1990; 31: 1337-42.
24. The low density lipoprotein receptor (LDLR) gene in familial hypercholesterolemia at (<http://www.ucl.ac.uk/fh/>).
25. Real JT, Carmena R. Estudio Genético de las hiperlipemias. JANO EMC [serie en línea] 1999 Feb;56 (1286): 64. Available from <http://db.doyma.es>.
26. Robles-Osorio L, Ordóñez ML, Aguilar-Salinas CA, Aurón-Gómez M, Tusié-Luna MT, Gómez-Pérez FJ et al. Familial hypercholesterolemia due to ligand-defective Apolipoprotein B100. First case report in a Mexican Family. *Archives of Medical Research* 2003; 34: 70-5.
27. Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(2): 587-91.
28. Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995; 95(3): 1225-34.
29. Rabes JP, Varret M, Saint-Jore B, Erlich D, Jondeau G, Krempf M et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B-100: simultaneous detection of the ARG3500GLN and ARG3531CYS mutations in a French population. *Hum Mutat* 1997; 10(2): 160-63.
30. Gaffney D, Pullinger CR, O'Reilly DS, Hoffs MS, Cameron I, Vass JK et al. Influence of an asparagine to lysine mutation at aminoacid 3,516 of apolipoprotein B on low-density lipoprotein receptor binding. *Clin Chim Acta* 2002; 321(1-2): 113-21.
31. Wang J, Huff E, Janecka L, Hegele RA. Low density lipoprotein receptor (LDLR) gene mutations in Canadian subjects with familial hypercholesterolemia, but not of French descent. *Hum Mutat* 2001; 18: 359-62.
32. Hunt S, Hopkins P, Bulka K, McDermott M, Thorne T, Wardell B et al. Genetic localization to chromosome 1p32 of the third locus for familial hypercholesterolemia in Utah kindred. *Arterioscler Thromb Vac Biol* 2000; 35: 1089-93.
33. Canizales-Quinteros S, Aguilar-Salinas CA, Reyes-Rodríguez E, Riba L, Rodríguez-Torres M, Ramírez-Jiménez S et al. Locus on Chromosome 6p Linked to Elevated HDL Cholesterol Serum Levels and to Protection Against Premature Atherosclerosis in a Kindred With Familial Hypercholesterolemia. *Circ Res* 2003; 92: 569-76.
34. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 928-33.
35. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet* Epub. 2005; 37(2): 161-65.
36. Yue P, Aversa M, Lin X, Schonfeld G. The c.43_44insCTG variation in PCSK9 is associated with low plasma LDL-cholesterol in a Caucasian population. *Hum Mutat* 2006; 27(5): 460-6.
37. Fasano T, Cefalu AB, Di Leo E, Noto D, Pollaccia D, Bocchi L et al. A novel loss of function mutation of PCSK9 gene in white subjects with low-plasma low-density lipoprotein cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; [Epub ahead of print].
38. Leren TP. Mutations in the PCSK9 gene in Norwegian subjects with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet* 2004; 65(5): 419-22.
39. Timms KM, Wagner S, Samuels ME, Forbey K, Goldfine H, Jammulapati S et al. A mutation in PCSK9 causing autosomal-dominant hypercholesterolemia in a Utah pedigree. *Hum Genet* Epub. 2004; 114(4): 349-53.
40. Khachadurian AK, Uthman SM. Experiences with the homozygous cases of familial hypercholesterolemia. A report of 52 patients. *Nutr Metab* 1973; 15(1): 132-40.
41. Zuliani G, Vigna GB, Corsini A, Maioli M, Romagnoni F, Fellin R. Severe hypercholesterolaemia: unusual inheritance in an Italian pedigree. *Eur J Clin Invest* 1995; 25(5): 322-31.
42. Zuliani G, Arca M, Signore A, Bader G, Fazio S, Chianelli M et al. Characterization of a new form of inherited hypercholesterolemia: familial recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(3): 802-9.
43. Canizales-Quinteros S, Aguilar-Salinas CA, Huertas-Vázquez A, Ordóñez-Sánchez ML, Rodríguez-Torres M, Venturas-Gallegos JL et al. A novel ARH splice site mutation in a Mexican kindred with autosomal recessive hypercholesterolemia. *Hum Genet* Epub. 2005; 116(1-2): 114-20.
44. Norman D, Sun XM, Bourbon M, Knight BL, Naoumova RP, Soutar AK. Characterization of a novel cellular defect in patients with phenotypic homozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1999; 104(5): 619-28.
45. Eden ER, Naoumova RP, Burden JJ, McCarthy MI and Soutar AK. Use of homozygosity Mapping or Identify a Region on chromosome 1 bearing a defective gene that causes autosomal recessive homozygous hypercholesterolemia in two unrelated families. *Am J Hum Genet* 2001; 68(3): 653-60.
46. Garuti R, Jones C, Li WP, Michael P, Herz J, Gerard AD et al. The modular adaptor protein autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) promotes low density lipoprotein receptor clustering into clathrin-coated pits. *J Biol Chem* 2005; 280(49): 40996-41004. Epub 2005 Sep 22.
47. Mishra SK, Watkins SC, Traub LM. The autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) protein interfaces directly with the clathrin-coat machinery. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(25): 16099-104. Epub 2002 Nov 25.
48. Soutar AK, Naoumova RP, Traub LM. Genetics, clinical phenotype, and molecular cell biology of autosomal recessive

- hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(11): 1963-70. Epub 2003 Sep 4.
49. Soutar AK, Naoumova RP. Autosomal recessive hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med* 2004; 4(3): 241-248.
 50. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2003; 111(12): 1795-1803.
 51. Cohen JC, Kimmel M, Polanski A, Hobbs HH. Molecular mechanisms of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14(2): 121-27.
 52. Bhattacharyya AK, Connor WE. Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. *J Clin Invest* 1974; 53(4): 1033-43.
 53. Salen G, Shefer S, Nguyen L, Ness GC, Tint GS, Shore V. Sitosterolemia. *J Lipid Res* 1992; 33(7): 945-55.
 54. Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Kojima H et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet* 2001; 69(2): 278-90. Epub 2001 Jul 9.
 55. Collins FS. Positional cloning: Let's not call it reverse anymore. *Nat Genet* 1992; 1: 3-6.
 56. Wolff RK Positional cloning: A review and perspective. *Drug Development Research* 1997; 41: 129-41.
 57. Smith JD. Apolipoprotein E4: an allele associated with many diseases. *Ann Med* 2000; 32: 118-24.
 58. Talmud PJ, Humphries SE. Genetic polymorphisms, lipoproteins and coronary artery disease risk. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 405-09.
 59. Cohen JC, Vega GL, Grundy SM. Hepatic lipase: new insights from genetic and metabolic studies. *Curr Opin Lipidol* 1999; 19: 259-67.