

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS,
QUÍMICAS Y NATURALES DE ZARAGOZA**

EL COLESTEROL: UNA MOLÉCULA ENTRE LA VIDA Y LA MUERTE

DISCURSO DE INGRESO LEÍDO POR EL ACADÉMICO ELECTO

Ilmo. Sr. D. MIGUEL POCOVÍ MIERAS

*EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN SOLEMNE
CELEBRADO EL DÍA 20 DE MAYO DEL AÑO 2004*

Y

DISCURSO DE CONTESTACIÓN POR EL

Ilmo. Sr. D. CARLOS GÓMEZ-MORENO CALERA

ACADÉMICO NUMERARIO



ZARAGOZA

2004

EL COLESTEROL: UNA MOLÉCULA ENTRE LA VIDA Y LA MUERTE

POR EL

Ilmo. Sr. D. MIGUEL POCOVÍ MIERAS

Excmos. e Ilmos. Srs,
Señoras y Señores.

Quiero dedicar mis primeras palabras para agradecer al Excmo. Sr. Presidente y a los Ilmos. Srs. académicos el honor que me han concedido al elegirme Académico numerario de esta Ilustre Corporación. Me acerco hoy a esta noble e histórica Academia acudiendo a vuestra invitación con una doble emoción: La satisfacción personal por el honor académico que recibo y la del temor de no estar convencido de merecerlo.

Al recibir este alto nombramiento honorífico que habéis decidido concederme me llena de gozo y expreso mi deseo de colaboración sin reservas en las tareas que la Academia considere oportunas. A partir de hoy seré uno mas colaborando con vosotros en la edificación de esta Academia para el beneficio de la sociedad.

Junto a esta emoción se encuentra mi temor al comprobar la distancia que media entre los Ilustres Académicos que me conceden esta distinción y el merecimiento de quien lo recibe. Reflexionando sobre este nombramiento sólo encuentro un merecimiento que quizá justifique este honor. Es el haber dedicado mi vida a los laboratorios y aulas con total dedicación para enseñar, ayudar y orientar a los jóvenes. Estos jóvenes han sido los protagonistas de la labor que he desarrollado, por tanto considero que ellos, más que yo son los auténticos merecedores que esta distinción.

Cuando surge un evento trascendente en la vida de las personas, y éste para mí lo es excepcional, es bueno hacer una reflexión, que como decía Menandro, “el fruto más dulce a recoger en esta vida es el de reconocimiento” y por tanto deseo hacer una recapitulación. Brevemente quiero aprovechar esta ocasión par expresar públicamente mi agradecimiento a los colegas de la Facultad de Ciencias, del Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular, del Hospital Universitario Lozano Blesa y del Hospital Universitario Miguel Servet por el apoyo, ayuda y estímulo que siempre me han brindado. Muy en

particular quiero destacar las precisas y sabias orientaciones que me infundió el Profesor D. Francisco Grande Covián, que en paz descanse, en mi trayectoria universitaria, al Profesor D. Enrique Meléndez Andreu, a cuya iniciativa se debe mi incorporación a esta Universidad, al profesor D. Carlos Gómez-Moreno Calera por aceptar la responsabilidad de contestar a mi discurso en este acto y, por último, a mi esposa Celia e hija Ana por ayudarme a subir los peldaños del conocimiento y a las que he sustraído mucho de nuestro tiempo en mi afición irresistible por la investigación.

El discurso de ingreso que voy a tener el honor de presentaros, versa sobre las propiedades del colesterol. Éste es el tema que desde distintos ángulos ha centrado mi trabajo de investigación en mis últimos 25 años.

Es mi deseo que la exposición de los datos, resultados, conclusiones y opiniones personales que os voy exponer sean dignos del honor que me concedéis.

Cholesterol is a Janus-faced molecule. The very property that makes it useful in cell membranes, namely its absolute insolubility in water, also makes it lethal

Brown MS y Goldstein JL

El colesterol es una molécula con las dos caras de Jano. Aquella propiedad beneficiosa que la hace imprescindible en la membrana celular, esto es su absoluta insolubilidad en agua, la convierte en una molécula letal.

Brown MS y Goldstein JL

1 Introducción

El colesterol, 3 β -hidroxi-5,6-colesteno, es un esteroide con estructura de ciclopentano-perhidrofenantreno que se caracteriza por presentar un grupo hidroxilo en el carbono 3 del anillo esterano, un doble enlace entre los carbonos 5 y 6 y una cadena lateral de 8 átomos de carbono anclada en el carbono 17 (Figura 1). En los animales superiores el colesterol es el principal representante de los esteroides y es esencial para la formación de membranas celulares, necesario para la síntesis de hormonas, síntesis de vitaminas y ácidos biliares (1).

Todas las células tienen colesterol u otras moléculas que presentan una gran similitud con el colesterol, los hopanoides. Los sedimentos de materia orgánica, tales como el crudo de petróleo contienen proporciones significativas de hopanoides, constituyendo alrededor del 5% del total de materia orgánica. Tanto los hopanoides como el colesterol tienen como característica común el proceder de una misma molécula precursora, el escualeno (Figura 2). Una diferencia significativa entre los hopanoides y el colesterol es que para la síntesis de este último a partir del escualeno se requiere O₂, en cambio para la síntesis de hopano no se necesita la presencia del mismo. La consecuencia de esta diferencia en la síntesis de ambos tipos de moléculas es que los organismos procariotas contienen hopanoides en lugar de colesterol y la presencia de colesterol se limita a los eucariotas. La necesidad de

Figura 1

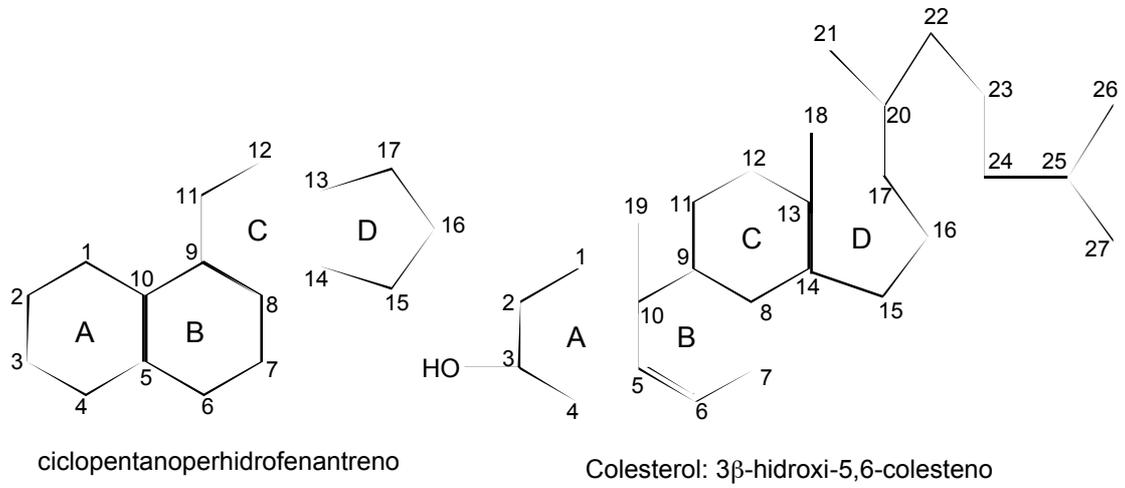


Figura 1:

Figura 2

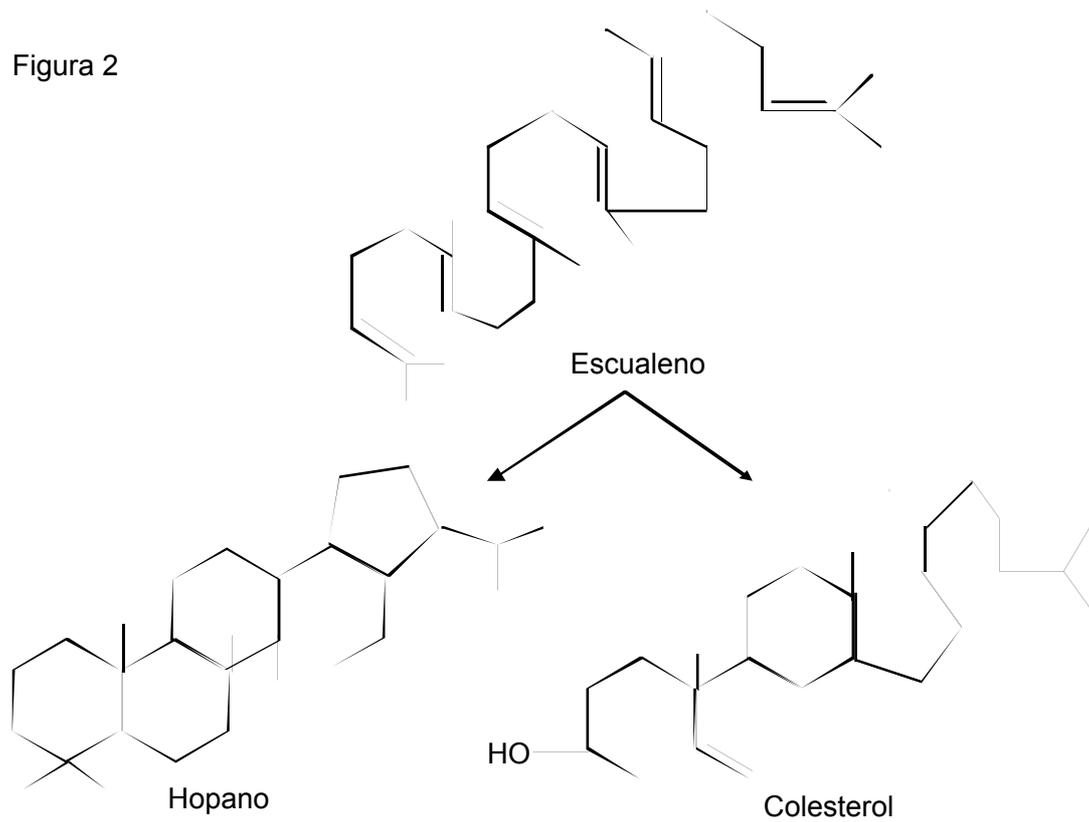


Figura 2:

Año	Investigador/es	Premio Nobel
1927	Wieland H.O.	Química
1928	Windaus O.R	Química
1939	Ruzicka L.	Química
1947	Robinson R.	Química
1950	Diels O.P.	Química
1964	Bloch KE. y Lynen F	Fisiología y Medicina
1965	Woodward R.B., Hassel O. y Barton D.H.	Química
1975	Conforth J.W	Química
1985	Goldstein J.L. y Brown M.S.	Fisiología y Medicina

Tabla 1: Premios Nobel concedidos a investigadores por estudios realizados sobre el colesterol

oxígeno para la biosíntesis de colesterol hizo que éste no apareciera en el proceso evolutivo hasta que la atmósfera no fue aerobia (2).

Reflejo de la importancia que tiene el colesterol en los seres vivos y sus implicaciones en la salud y la enfermedad es el hecho de que, hasta la fecha se han concedido un total de 13 premios Nóbel a investigadores que se han dedicado a estudiar diversos aspectos de la estructura y metabolismo de colesterol (Tabla 1).

2 Colesterol propiedades y estructura

El colesterol fue aislado por el químico orgánico francés Michel Eugene Chevreul quien lo denominó “colesterina” aludiendo al origen biliar del mismo. Chevreul fue el primero en demostrar que las grasas de los productos naturales son ésteres de glicerina y ácidos grasos y caracterizó e identificó una gran cantidad de ácidos grasos dándoles el nombre de la especie animal o vegetal de la que fueron obtenidos. Este químico orgánico es un ejemplo de longevidad y de conservación de la capacidad intelectual a edades avanzadas (3). Después de cumplir los 100 años, Chevreul, declaró que la química orgánica había crecido de tal manera que era imposible dar el curso de química orgánica que venía impartiendo en solo dos años académicos, como hasta entonces. Su último curso de tres años académicos de duración lo finalizó poco antes de morir a la edad de 103 años. En 1812, Chevreul, observó que no todos los lípidos eran saponificables y al analizar las fracciones insaponificables de las grasas obtuvo de la bilis una sustancia blanca de consistencia cerosa semejante a la que había obtenido previamente Poulletier de la Salle de los cálculos biliares. Más tarde, esta sustancia fue identificada como un alcohol estable a la ebullición con álcalis. En 1823 publicó Chevreul sus “Investigaciones químicas sobre las

Nombre	F. empírica	(α)D-cloroformo	P. fusión °C	Distribución
Zoosteroles				
Colesterol	C ₂₇ H ₄₅ OH	-39,5 °	149	Tejidos animales
7.dehidrocolesterol	C ₂₇ H ₄₃ OH	-113,6 °	143	Tejidos animales
Colestanol	C ₂₇ H ₄₇ OH	+23,5 °	141	Tejidos animales
Coprostanol	C ₂₇ H ₄₇ OH	+24,7 °	102	Heces
Fitosteroles				
β -sitosterol	C ₂₉ H ₄₉ OH	-36 °	140	Vegetales
Ergosterol	C ₂₈ H ₄₈ OH	-132 °	160	Levaduras, hongos
Estigmasterol	C ₂₉ H ₄₇ OH	-49 °	170	Soja

Tabla 2: Esteroles más importantes: Propiedades y distribución

grasas de origen animal” que fue seguida por otra obra titulada “Consideraciones generales de química orgánica” en la que describe con gran detalle la metodología empleada en el aislamiento y caracterización de grasas y en especial del colesterol.

El colesterol es un lípido isoprenoide que procede del isopentenilpirofosfato cuya estructura fue determinada con bastante precisión en 1930. Es insoluble en agua y soluble en los solventes orgánicos apolares, se disuelve bien en acetona, éter, benceno, cloroformo, disulfuro de carbono éter de petróleo, alcohol caliente pero poco soluble en alcohol frío, cristaliza en general en forma de placas rómbicas brillantes de color blanco, es insípido e inodoro, sólido a temperatura ambiente con un punto de fusión a 149°C y ópticamente levógiro con una rotación específica (α)_D en cloroformo de -39,5° (Tabla 2). El colesterol es mal conductor de la electricidad al tener una constante dieléctrica alta con lo cual es un buen aislante de descargas eléctricas. Esta propiedad explicaría que sea un componente importante en las estructuras de recubrimiento del tejido nervioso. Mezclado con grasas neutras o aceites facilita la formación de emulsiones acuosas. La lanolina que tiene una alta proporción de colesterol absorbe rápidamente agua.

La mayoría de propiedades químicas del colesterol están relacionadas con la presencia del doble enlace y grupo alcohol secundario de la molécula. El doble enlace le confiere propiedades características de los compuestos insaturados, así la adición de hidrógeno transforma la molécula de colesterol en dihidrocolesterol y la adición de halógenos en dihaluros de colesterol siendo su índice de yodo de 65,8. El grupo hidroxilo secundario se oxida rindiendo la cetona correspondiente. Por otra parte, este grupo hidroxilo forma fácilmente ésteres con ácidos grasos que se conocen con el nombre de ésteres de colesterol o colesterol esterificado, éstos ésteres se encuentra ampliamente distribuidos en tejidos y sangre.

El colesterol se puede obtener en el laboratorio por extracción de los cálculos biliares

o a partir del cerebro. Comercialmente se obtiene a partir de la médula espinal de los desperdicios procedentes de los mataderos. El colesterol produce reacciones características que permiten su identificación (4): Reacción con digitonina. La digitonina forma con el colesterol un precipitado blanco que permite su valoración por gravimetría.

Reacción de Hager-Salkowski. Si a una disolución de colesterol en cloroformo se le añade un volumen idéntico de ácido sulfúrico concentrado, en la interfase aparece un anillo coloreado y agitando se observa la disolución clorofórmica que se tiñe de rojo intenso y el ácido sulfúrico de verde. Esta reacción no es específica del colesterol y otros esteroides producen el mismo efecto.

Reacción de Rosenheim. Cuando el colesterol se calienta suavemente con un exceso de ácido tricloroacético al 90% aparece una coloración rojiza. La reacción también se observa con otros esteroides.

Reacción de Liebermann A una solución de colesterol en cloroformo se le agrega unas gotas de anhídrido acético y varias gotas de ácido sulfúrico concentrado. Al agitar la mezcla se torna de color violeta, pasa a azul y finalmente al verde. La reacción es común a otros esteroides.

Métodos enzimáticos. Son métodos denominados de una sola etapa. De ellos, el más difundido es el que está basado en la reacción catalizada por la enzima colesterol oxidasa.

En primer lugar se transforma el colesterol esterificado por acción de la colesterol esterasa en colesterol libre y a continuación el colesterol libre es oxidado a D4-colestenona por acción de la colesterol oxidasa rindiendo agua oxigenada, la cual oxida por regla general a un compuesto que se colorea al pasar del estado reducido al oxidado. Estos métodos resultan ser los más utilizados en la actualidad en los laboratorios de análisis clínicos ya que se pueden automatizar.

En los últimos años, se han introducido una nueva tecnología que permite la determinación de colesterol en sangre en los consultorios médicos o incluso en el domicilio del paciente. Estos procedimientos están basados en reactivos denominados “secos” incorporados a películas delgadas de varias capas, que se leen en instrumentos relativamente simples. Esto está creando problemas para evaluar los reactivos utilizados así como los equipos, junto con un cierto grado de incertidumbre acerca de la utilidad clínica de los resultados que se obtienen por estos procedimientos.

Método de referencia. El método de referencia que se utiliza para determinar el colesterol sanguíneo es el método de Abell. Este método consta de tres etapas: saponificación de los ésteres de colesterol, extracción de todo el colesterol libre de la muestra con éter de petróleo, evaporación del solvente y desarrollo de la reacción coloreada sobre el residuo seco mediante la reacción de Liebermann- Burchard.

En relación a su estructura, el colesterol consta de tres anillos de 6 carbonos, un anillo de cinco y una cadena lateral de isooctilo (5). La estructura de ciclohexano puede existir en dos formas una denominada nave o bote y otra silla (Figura 3). La forma silla es más estable y es la que se encuentra con mayor frecuencia en los esteroides de origen natural. Los hidrógenos sustituyentes pueden ocupar posiciones relativas diferentes en cuanto al plano del anillo: ecuatorial (e) axial (a) (5) Otro criterio para la descripción de la estructura tridimensional de moléculas de varios anillos es la forma de fusión de estos anillos. Cuando se unen dos anillos completamente sustituidos de ciclohexano, es necesario indicar la dirección de los sustituyentes situados sobre los carbonos 5 y 10. Por convenio, se describe que el grupo metilo del carbono 10 está orientado axial (a) y se representa con una línea de trazo continuo con lo cual la dirección del hidrógeno situado en la posición 5 debe estar en posición cis (β), o en trans (α), representándose en líneas de trazo continuo o discontinuo, respectivamente (Figura 4).

Figura 3

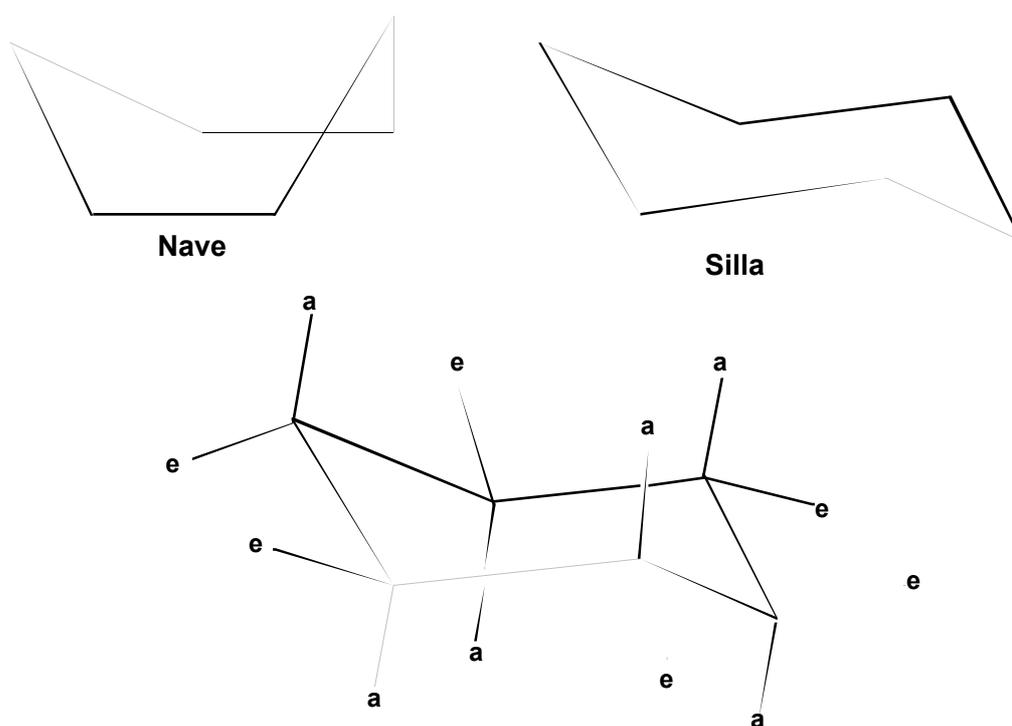


Figura 3:

3 Biosíntesis del colesterol

La primera etapa de la biosíntesis de colesterol es una etapa anaerobia en la que el acetato es transformado en escualeno tal como se muestra en la Figura 5. Dos moléculas de

Figura 4

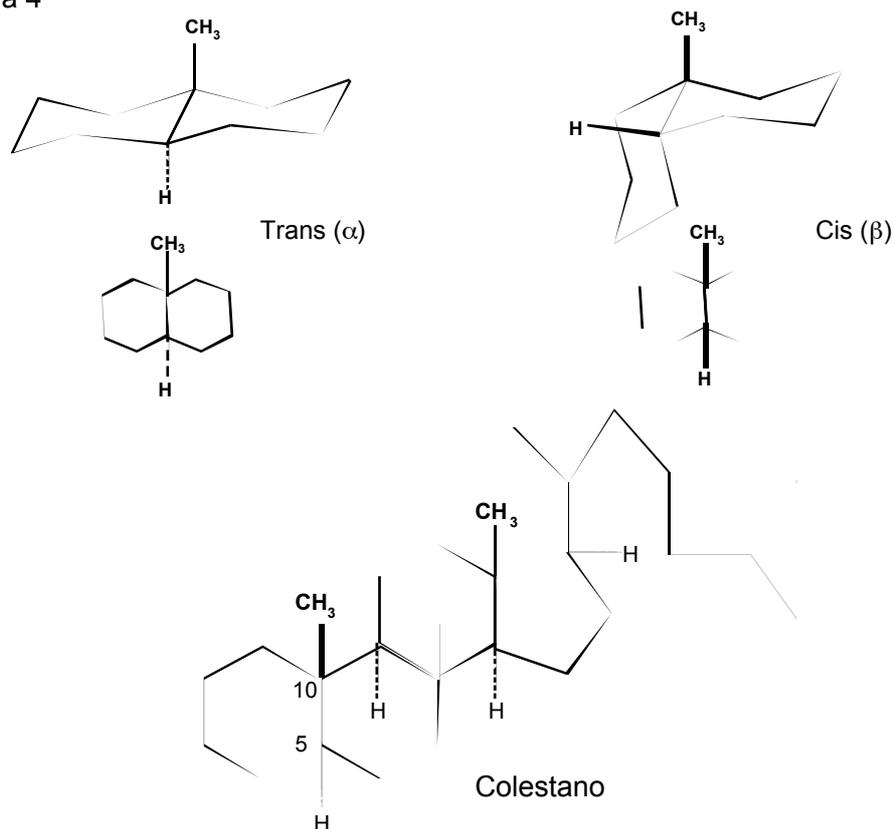


Figura 4:

acetil-CoA se condensan para rendir acetoacetyl-CoA. Esta reacciona con otra molécula de acetil-CoA y forma el β -hidroxi- β metilglutaril-CoA (6). Esta etapa inicial es reversible, el paso a ácido mevalónico es la primera reacción irreversible de la ruta y también la etapa limitante de la biosíntesis de colesterol. Este ácido es seguidamente fosforilado a ácido mevalónico-5 pirofosfato. Se requiere una tercera molécula de ATP para la dehidrodecarboxilación del ácido mevalónico-5-pirofosfato a isopentenil-pirofosfato. El isopentenil-pirofosfato sufre una isomerización irreversible a 3,3 dimetilalilpirofosfato. La condensación de este compuesto con el isopentenil-pirofosfato rinde farnesil-pirofosfato. Dos moléculas de farnesil-pirofosfato condensan y producen el escualeno. Este proceso es reductor y requiere NADPH.

La segunda etapa de la biosíntesis de colesterol se inicia con la ciclación oxidativa del escualeno (Figura 6). En escualeno fue aislado por Tsujimoto en 1916 a partir del hígado de escualos y de ahí su nombre. En 1934 Sir Robert Robinson utilizando acetato marcado con ¹⁴C fue el primero en demostrar que el escualeno era un precursor del colesterol. El primer paso de esta segunda etapa consiste en la epoxidación del escualeno con O₂ para rendir epóxido de 2,3-escualeno el cual se reordena para formar el triterpenoide tetracíclico, lanosterol, que es el primer compuesto de la secuencia que posee estructura

Figura 5

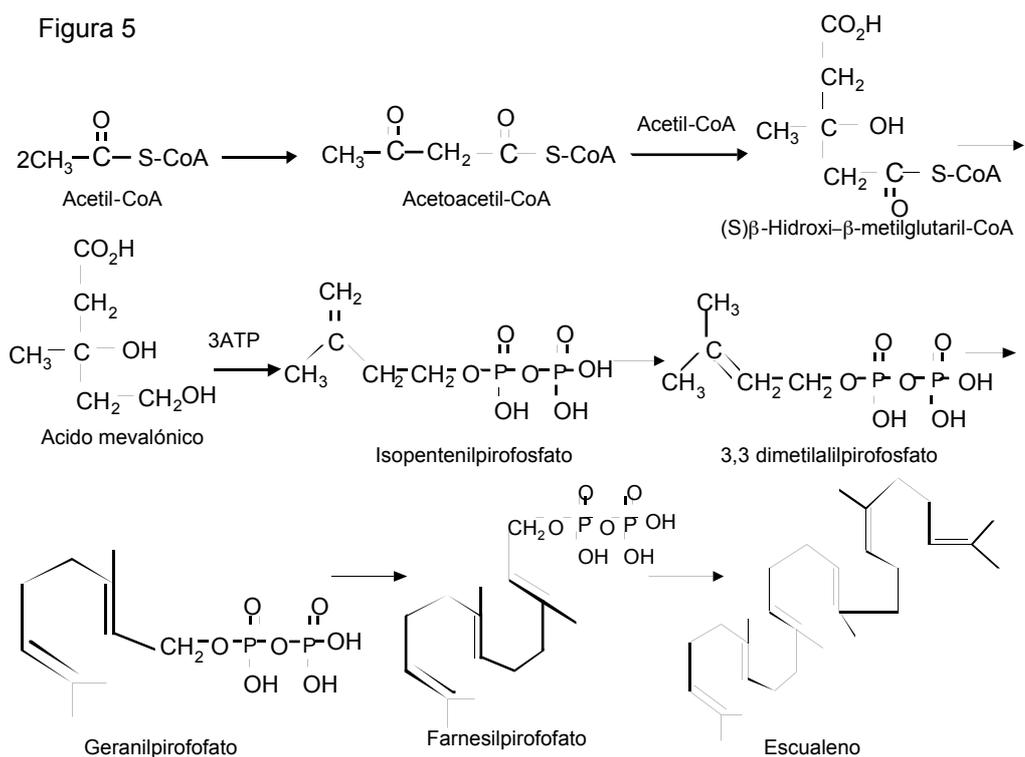


Figura 5:

Figura 6

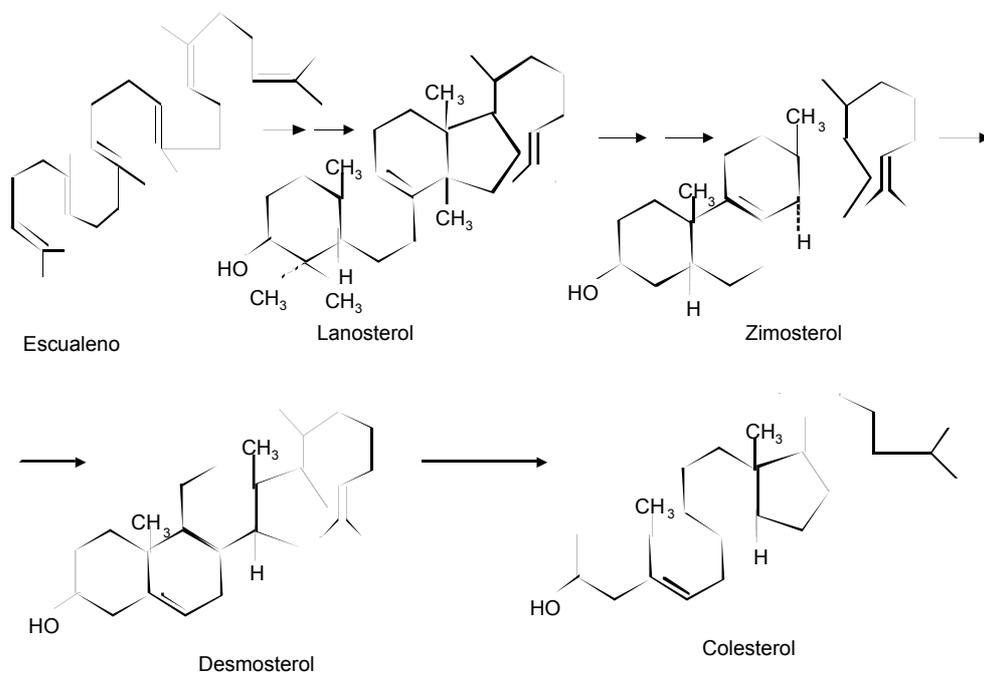


Figura 6:

esteroide. La transformación de lanosterol en colesterol tiene lugar a través de numerosas pasos intermedios, catalizados por enzimas microsómicas, dependientes también algunas de ellas del oxígeno molecular. La conversión del lanosterol a colesterol implica a) una oxidación y eliminación de los dos metilos de la posición 4 y del metilo de la posición 14, b) reducción del doble enlace entre las posiciones 8 y 9 e inserción de un doble enlace entre las posiciones 5 y 6 y c) acortamiento de la cadena lateral. La reducción del doble enlace entre las posiciones 24 y 25 puede tener lugar en diferentes etapas de la conversión de lanosterol a colesterol. En todo este proceso se necesita coenzima, NADPH, para la reducción de los dobles enlaces presentes en el trieno y en el demosterol. Los compuestos intermedios entre el escualeno y el colesterol están asociados a una proteína transportadora de esteroides que permite que compuestos insolubles reaccionen en medio acuoso. Es incluso posible, que la transformación posterior del colesterol a otros compuestos tales como hormonas esteroides y ácidos biliares se produzca con la molécula unida a esta proteína transportadora.

La biosíntesis de colesterol es fundamental para los seres humanos porque diversos defectos localizados en la ruta de la biosíntesis de colesterol causan graves enfermedades. Entre estos defectos se encuentra la aciduria mevalónica que es un error congénito del metabolismo causado por un déficit de mevalonato quinasa (ATP: mevalonato 5' fosfotransferasa) que cursa con una excreción elevada de ácido mevalónico, enfermedad grave que causa la muerte en la infancia (7). Otra enfermedad grave producida por la falta de colesterol es el síndrome de Smith-Lemli-Opitz, esta enfermedad se debe al déficit de 7-dehidrocolesterol reductasa y que produce una dismorfia facial, retraso global del desarrollo, rasgos autistas, polidactilia y feminización en los varones (7). La suplementación con colesterol en forma de huevos o vísceras mejora en parte la sintomatología de estos pacientes.

4 Regulación del contenido de colesterol en el hombre

El colesterol desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la fluidez de las membranas celulares ya que la integridad de las mismas se mantiene gracias al equilibrio entre la cantidad de colesterol y la proporción de ácidos grasos saturados e insaturados de los fosfolípidos (8). Por otra parte, el colesterol junto con la esfingomiélna, forma las “caveolas” que se localizan en las membranas y constituyen los sitios donde se concentran las señalizaciones moleculares. Para que la célula funcione de forma óptima, el colesterol de la membrana debe mantenerse en un nivel constante. Este equilibrio se consigue a través de los factores de transcripción denominados *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins* (SREBPs) que regulan la transcripción de genes que codifican enzimas que intervienen en la biosíntesis de colesterol, del receptor LDL implicado en la captación del

Figura 7

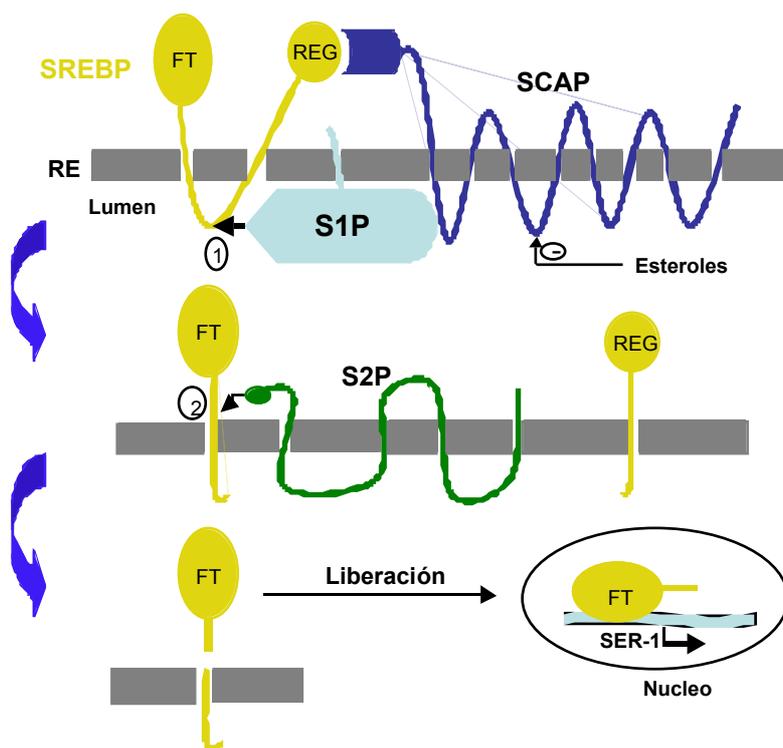


Figura 7:

colesterol plasmático y también, activan genes que codifican enzimas de la biosíntesis de ácidos grasos. Los SREBPs son una familia de factores de transcripción anclados a la membrana, que son liberados por enzimas proteolíticas de la misma y translocados al núcleo celular (9). En la actualidad se conocen tres SRBPs, dos de ellos SREBP-1a y SREBP-1c son codificados por el mismo gen a través de dos promotores que producen transcritos de diferente tamaño (10). La tercera isoforma SREBP-2 es el producto de otro gen (10).

Las SREBPs son proteínas de aproximadamente 1150 aminoácidos que se subdividen en tres dominios (Figura 7). Los dominios NH₂-terminal y COOH-terminal se proyectan al citosol y están anclados a la membrana por un dominio central de unos 80 aminoácidos que comprende dos espacios intermembrana separados por un bucle de 31 aminoácidos que se proyecta dentro del lumen del retículo endoplásmico(RE) (11).

Para que los SREBPs produzcan su efecto activador transcripcional, los extremos NH₂-terminales deben ser liberados del RE mediante la ruptura proteolítica que tiene lugar de forma secuencial en dos sitios de la proteína. La primera digestión proteolítica es realizada por una enzima denominada S1P (*Site-1 protease*), una serin-proteasa que rompe el buche hidrofílico del SREBP que se proyecta en el lumen del RE. La segunda ruptura requiere de la acción de otra proteasa S2P (*Site -2 protease*), una metaloproteasa dependiente de Zn. Esta segunda ruptura es poco habitual ya que tiene lugar en el

espacio intermembrana. Los esteroides bloquean el procesamiento de los SREBPs mediante la inhibición de la S1P. En este proceso regulador interviene otra proteína SCAP (SREBP cleavage-activating protein), que es un regulador que activa a S1P y que actúa de sensor de esteroides, disminuyendo su actividad cuando se produce un acumulo de esteroides en la célula.

Este sistema regulador proteolítico es en gran medida el responsable del control de los niveles de colesterol en las membranas, células y sangre (11).

5 El colesterol en las membranas biológicas

Las membranas biológicas tienen como principal función la separación de los compartimentos celulares y subcelulares, actúan de barreras que solo permiten el paso selectivo y regulado de solutos, controlando de esta forma la composición de los distintos compartimentos. Los procesos de transporte son de gran importancia por lo que son llevados a cabo por proteínas específicas. Estas membranas están formadas por lípidos y proteínas en proporciones variables dependiendo de la actividad biológica de cada membrana. La proporción de proteínas de las membranas internas es superior a las externas, pudiendo llegar a constituir hasta el 80% del peso seco en las membranas mitocondriales internas, mientras que en las vainas de mielina, cuya función principal es actuar de aislantes la proporción de proteínas solo alcanza el 20%.

Los componentes lipídicos de las células animales son fosfolípidos, esfingolípidos y colesterol, encontrándose este último por regla general en forma no esterificada. En las membranas biológicas de las plantas en lugar de colesterol contienen sitosterol y estigmasterol, las levaduras y hongos contienen ergosterol y las membranas bacterianas no contienen esteroides. El colesterol de las membranas de las células animales viene a representar entre un 20 y un 30 por ciento en peso de todos los lípidos. Dado que el peso molecular del colesterol es aproximadamente el doble que el peso molecular medio de los fosfolípidos y esfingolípidos que forman las membranas, estos porcentajes suponen que la relación de moléculas de colesterol a moléculas de otros lípidos se encuentra comprendida entre el 0,7 y 0,8. Esta relación se ve sensiblemente reducida en las membranas internas, no llegando a superar la cifra de 0,2, sin embargo dada la abundancia relativa de membranas internas a externas, el colesterol de las membranas internas constituye más de la mitad de todo el contenido del colesterol de la célula.

El colesterol por si solo no es capaz de formar bicapas lipídicas, pero tiene gran facilidad en integrarse en bicapas lipídicas formadas por otros lípidos de naturaleza anfipática. La parte esferoidal de la molécula de colesterol así como la cadena lateral anfipática anclada en el carbono 17 tiene facilidad de intercalarse entre las cadenas hidrocarbonadas de

los esfingolípidos y fosfolípidos, mientras que el grupo hidroxilo del colesterol tiene la capacidad de interactuar con los grupos polares de los lípidos de la superficie.

Las membranas biológicas desempeñan funciones que son fundamentales para la vida, como son una permeabilidad selectiva que les permite tomar del exterior moléculas selectivas y eliminar las no deseadas, almacenamiento de energía y transmisión de información. Con toda probabilidad la aparición de los seres vivos tuvo que estar condicionada con la formación previa de las membranas biológicas, es decir no se conciben los seres vivos sin tener compartimentos y membranas biológicas.

6 El colesterol como precursor de hormonas

El colesterol es la fuente biosintética de todas las hormonas esteroideas. Los principales órganos implicados en la biosíntesis de estas hormonas son las gónadas, la corteza suprarrenal y la placenta. El colesterol es el precursor de los adrenocorticoides que se sintetizan en las glándulas adrenales, de los estrógenos del ovario, placenta y corteza adrenal femenina, de los andrógenos de los testículos y corteza adrenal masculinas, hormonas esenciales para la vida y la reproducción .

Las hormonas esteroideas se biosintetizan a partir de la oxidación escalonada de la cadena lateral C17 del colesterol, que conduce a un compuesto intermedio de gran importancia, la pregnenolona, 3β -hidroxi-preg-5 en-20 ona (12). La molécula de pregnenolona es la precursora, a través de una gran variedad de rutas, de un gran número de adrenocorticoides activos de la corteza suprarrenal tales como el cortisol, corticosterona y aldosterona. El cortisol interviene en la regulación del metabolismo glucídico y protéico, la corticosterona en el metabolismo de agua, minerales y glúcidos y la aldosterona en la regulación del agua y minerales siendo de gran importancia en la regulación de la eliminación del potasio por orina. Entre los derivados del colesterol, secretados por el cuerpo amarillo del ovario, los progestágenos, se encuentra la progesterona que regula el ciclo menstrual y es fundamental para el mantenimiento del embarazo. En los testículos a partir del colesterol se sintetizan los andrógenos cuyo principal representante es la testosterona que regula el paso de la infancia a la pubertad, la maduración del espermatozoide y la funcionalidad del tracto genital. Al igual que los adrenocorticoides, las hormonas sexuales femeninas, los estrógenos, son biosintetizados a partir del acetato vía colesterol, síntesis que tiene lugar en el ovario, placenta y corteza adrenal. Durante el embarazo la placenta es la principal fuente de biosíntesis de estrógenos. Pequeñas cantidades de hormonas estrogénicas también se sintetizan en los testículos y corteza adrenal de los varones.

Un exceso o una deficiencia de las hormonas de la corteza suprarrenal, glucocorticoides, mineralocorticoides o andrógenos, ya sea debido a causas genéticas, adquiridas o por uso

terapéutico, produce complicaciones serias que ponen en peligro la vida. Por otra parte, una producción inadecuada de hormonas de las gónadas, afecta a la reproducción y por lo tanto a la supervivencia de las especies, además las hormonas gonadales tienen funciones anabólicas por lo que se requieren para el metabolismo óseo y muscular.

7 El colesterol como precursor de vitamina D

La vitamina D₃ se forma a partir del 7-dehidrocolesterol por fotólisis, es una prohormona esteroide que se forma mediante varios procesos que tienen lugar en el organismo, y da origen a la hormona denominada calcitriol (13). El calcitriol desempeña una función central en el metabolismo del calcio y del fosfato. La falta de vitamina D produce raquitismo en los niños y osteomalacia en adultos, que no se exponen con frecuencia a la luz solar o no reciben cantidades adecuadas de vitamina D a través de los alimentos. Por otra parte, un exceso de vitamina D produce hipervitaminosis que se caracteriza por la calcificación de los tejidos.

8 El colesterol como precursor de ácidos biliares

El hígado es el único órgano que dispone de los mecanismos enzimáticos capaces de transformar la molécula de colesterol en compuestos solubles y catabolizar el exceso de colesterol corporal. De esta forma el hígado es el órgano que desempeña un papel fundamental en la regulación de la homeostasis del colesterol. El colesterol libre es eliminado por la bilis transformándose en ácidos biliares o emulsionados con estos como un componente más. Los denominados ácidos biliares primarios, ácido cólico y quenodesoxicólico, son los mayoritarios del hombre y se sintetizan exclusivamente a partir de colesterol mediante una serie de vías metabólicas en las que intervienen más de 15 reacciones enzimáticas. El transformar el colesterol en un compuesto soluble como son los ácidos biliares conlleva: a) la adición de varios grupos hidroxilo a la molécula de colesterol; b) la oxidación y acortamiento de la cadena lateral anclada en el carbono 17; c) la saturación del núcleo esteroide y epimerización del hidroxilo en posición 3 β .

Los ácidos biliares desempeñan un papel fundamental en la generación del flujo biliar y circulación enterohepática. Un defecto en cualquiera de las reacciones enzimáticas de sus vías biosintéticas y/o de los procesos de transporte origina colestasis y otras disfunciones de gravedad variable.

9 El colesterol y las enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares son responsables de aproximadamente la mitad de todas las muertes en los países desarrollados y consumen una gran parte de los recursos sanitarios, a pesar de los avances en el diagnóstico y tratamiento. En Estados Unidos se estima en cerca de cien mil millones de dólares los gastos médicos directos por enfermedad cardiovascular, incluyendo hospitalizaciones y procedimientos de revascularización (14).

La aterosclerosis, substrato anatómico de la enfermedad coronaria, se produce por la interacción en el tiempo de factores ambientales y hereditarios. La aterosclerosis se define según la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una combinación de cambios que se produce en la íntima de las arterias a consecuencia de un acumulo focal de lípidos y componentes complejos que se acompaña con la formación de tejido fibroso y calcificación que a su vez se asocia con cambios en estructura de la media.

La aterosclerosis puede considerarse como una forma especial de arteriosclerosis con un depósito patogénico de lípidos en la pared arterial. La mayoría de formas de la arteriosclerosis implican la degeneración grasa de la pared vascular, con lo que el término arteriosclerosis y aterosclerosis suele utilizarse de forma indistinta (15).

La hipótesis lipídica de la aterosclerosis se fundamenta en toda una serie de estudios realizados en humanos y animales de experimentación, así como en estudios clínicos y epidemiológicos (16). Esta hipótesis no excluye la intervención en dicho proceso de otros factores genéticos y/o ambientales. Hoy en día, aparte de los lípidos plasmáticos, se conocen una serie de factores de riesgo, algunos susceptibles de ser modificados, que condicionan una mayor predisposición para el desarrollo de la aterosclerosis, como son la hipertensión arterial, el tabaquismo y la diabetes mellitus, entre otros.

Como hemos comentado anteriormente el colesterol es insoluble en disoluciones acuosas. Las lipoproteínas son las partículas que posibilitan el transporte de los lípidos en la sangre. El estudio de estas partículas se inició en 1928, cuando Macheboeuf describió las “*cenapses lipoproteínicas*” (17) Las lipoproteínas se dividen en varias categorías según su densidad dependiendo de como pueden separarse por ultracentrifugación (18). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) ($d=1.019-1.063$ g/mL) son las que mayoritariamente transportan el colesterol en el torrente circulatorio. Estas lipoproteínas están formadas por el 75% en peso de lípidos (principalmente colesterol libre, colesterol esterificado y fosfolípidos), alrededor el 70 % del colesterol total de la sangre es transportado por las partículas LDL.

El colesterol plasmático procede de la absorción intestinal del colesterol que se encuentra presente en la dieta o de su síntesis de novo a partir del acetyl-CoA. La cantidad de

colesterol que procede de la síntesis endógena es superior al que deriva de la dieta. El contenido medio de colesterol del cuerpo humano es de 1,4 g/Kg, aunque varía de unos tejidos a otros oscilando entre los 15 g/Kg de peso en el cerebro hasta los 0,5 g/Kg del músculo.

Existen dos vías principales de eliminación de colesterol del organismo: una la excreción en forma inalterada a través del tracto gastrointestinal y la otra es su eliminación en forma de ácidos biliares u hormonas esteroideas, las cuales son eliminadas a través de la orina o a través de las heces. Se puede decir que existe una tercera vía de eliminación de colesterol minoritaria en el adulto que es la que se incorpora a tejidos nuevos, siendo esta vía importante durante la fase de crecimiento ya que como hemos comentado la cantidad de colesterol que debe acumularse durante esta fase es por término medio de 1,4 g de colesterol por Kg de peso ganado. Cuando el colesterol precedente de la síntesis endógena y el de la dieta superan a la cantidad de colesterol que se elimina, se produce un acumulo de colesterol en organismo. El termino hipercolesterolemia se utiliza para reflejar la elevación del colesterol del plasma por encima de los niveles considerados normales para una determinada población y es uno de los factores cruciales para el inicio y progresión de la arteriosclerosis.

Los humanos al igual que el resto de mamíferos carecemos de las enzimas necesarias que permiten degradar la molécula del esterano y solo disponemos de los mecanismos enzimáticos capaces de modificar ligeramente la molécula del colesterol transformándola en hormonas esteroideas o en ácidos biliares. Por lo tanto, la única forma de eliminar el exceso del colesterol que poseen los mamíferos es a través de la bilis de forma inalterada o emulsionado con los ácidos biliares o bien mediante su transformación en hormonas esteroideas.

La hipótesis lipídica de la aterosclerosis, postula que dicho proceso patológico se debe al acumulo de colesterol en la pared de las arterias debido al aumento del colesterol del plasma circulante (16). Durante muchos años se ha pensado que la aterosclerosis era un proceso debido al acumulo de colesterol procedente del plasma circulante en las arterias consecuencia de la edad, de ahí la famosa frase fatalista de Cazallis “*Usted tiene la edad de sus arterias*”. Sin embargo, estudios más recientes han observado que es posible influir sobre los niveles de colesterol del hombre por diferentes métodos de intervención entre los que destacan los dietéticos, farmacológicos e incluso físicos tales como la plasmaféresis.

10 Influencia de la dieta sobre la concentración plasmática de colesterol

En 1933 el investigador alemán Rudolf Schoenheimer demostró, por primera vez que la sustitución de una dieta habitual con productos cárnicos por una dieta vegetariana en una

paciente que padecía una hipercolesterolemia familiar, producía un descenso importante en la cifra de su colesterol plasmático. Como la dieta vegetariana carece de colesterol concluyó que el descenso del colesterol plasmático producido por dicha dieta era consecuencia de la eliminación del colesterol de la dieta. Kempner en 1949 observó que una dieta de arroz y fruta que el utilizó para el tratamiento de la hipertensión arterial también reducía la concentración de colesterol plasmático (16). Un año mas tarde Ancel Keys y sus colaboradores demostraron que esta dieta de arroz y fruta carecía de efecto hipocolesterolemiante si se le adicionaba a esta dieta una margarina obtenida por hidrogenación de un aceite vegetal, y por lo tanto desprovista de colesterol (19). De esta forma, se demostró que el efecto hipocolesterolemiante de la dieta de arroz y fruta no se debía a la ausencia de colesterol sino a la ausencia de la grasa de la dieta.

El efecto de la grasa de la dieta sobre los niveles de colesterol fue ampliamente estudiado en la década de los años 1950-1960 por un ilustre Académico de esta Academia Profesor. Francisco Grande Covián. Este investigador junto con los Dres Ancel Keys y Anderson analizaron las cifras de colesterol plasmático en 900 varones de media edad, voluntarios sanos, que fueron sometidos a distintos estudios de intervención dietética modificando el contenido de la grasa de la dieta (20). Los resultados de estos estudios demostraron que la relación entre el contenido de grasa de la dieta y la concentración plasmática de colesterol venía determinada por una ecuación lineal, $y = a + bx$, en la que “y” representa la concentración de colesterol en el plasma, “a” -la ordenada en el origen- la concentración de colesterol plasmático correspondiente a una dieta desprovista de grasa, “b” -la pendiente de la recta- y “x” el contenido de grasa expresado en tanto por ciento de las calorías totales de la dieta. Este mismo grupo investigador demostró que no todas las grasas de la dieta ejercen el mismo efecto sobre los niveles de colesterol en el hombre, para ello realizaron toda una serie de estudios sistemáticos analizando el efecto de la ingesta de cada uno de los tres tipos principales de ácidos grasos: saturados, monoénicos y polienicos. Los resultados de estos estudios les permitieron derivar la famosa ecuación de Keys, Anderson y Grande:

$$\Delta \text{ col} = 2,7 \Delta S - 1.3 \Delta P,$$

en la que $\Delta \text{ col}$ representa el cambio en la concentración de colesterol total expresada en mg/dl, producido al pasar de una dieta a otra de distinta composición en ácidos grasos; y ΔS y ΔP representan respectivamente el cambio en el contenido de ácidos grasos saturados y poliinsaturados, expresados en porcentaje de la energía total de la dieta. En esta ecuación no aparecen los ácidos grasos monoinsaturados, porque el coeficiente que describe el efecto de estos ácidos grasos resulto ser próximo a cero.

Según se deduce de esta ecuación, un aumento en el contenido de ácidos grasos saturados de la dieta equivalente a un uno por ciento de su valor calórico, con la eliminación

de una cantidad equivalente de calorías procedente de los hidratos de carbono (dieta isocalórica), causa una elevación media en el nivel de colesterol total en el plasma de 2,7 mg/dl. Del mismo modo, un aumento en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la dieta equivalente al uno por ciento del valor calórico, con eliminación de una cantidad idéntica en calorías de hidratos de carbono, causa un descenso medio de 1,3 mg/dl. Por otra parte, la sustitución de una cantidad de grasa saturada equivalente al uno por ciento de las calorías totales de la dieta por otra equivalente de grasa poliinsaturada produce un descenso en la cifra de colesterol plasmático equivalente a 4 mg/dl (2,7 + 1,3).

Esta ecuación ha sido utilizada en todas las situaciones a la hora de predecir los efectos de la grasa de la dieta. Cabe resaltar una curiosa utilización de esta ecuación por el grupo Amigos del Quijote de Albacete, que analizaron los alimentos mencionados por Cervantes en “El Quijote” (21). En el Capítulo I el pan es mencionado 47 veces, el queso 18, el aceite 6, la sal 5, el vinagre 1, las bellotas 15, las gallinas 13, la ternera 7, la vaca 6, el tocino 5, el pescado 3, el vino 43 veces y el agua 16. Entre los platos, la olla es el más nombrado (19 veces) seguido de salpicón, duelos y quebrantos, lentejas y palominos. La conclusión a que llegan estos investigadores es que la aportación dietética de los platos relatados en el Capítulo I es deficiente en hidratos de carbono y excesiva en grasa total, a expensas de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados.

Si observamos la ecuación de Keys, Anderson y Grande el efecto del colesterol dietético no se encuentra incluido (20). En la literatura científica hay una gran cantidad de artículos en los cuales se ha tratado de analizar el efecto de cifras de colesterol de la dieta, de hasta 6 gramos/día, dado en forma de huevos (un huevo tiene por término medio unos 250 miligramos de colesterol) no producen cambios significativos en la cifra de colesterol plasmático. Este hecho hizo pensar que el colesterol presente en la dieta tenía poco o ningún efecto sobre la cifra de colesterol plasmático, esto es debido a que el intestino humano tiene una limitación importante en su capacidad de absorber colesterol; y a limitaciones en la capacidad de síntesis diaria de colesterol que es de 1,5 gramos/día, por tanto, por encima de esta cifra no tiene ningún efecto. Sin embargo, si variamos la cifra de colesterol dietético por debajo de esta cifra el colesterol de la dieta afecta a la concentración de colesterol plasmático. Keys, Anderson y Grande observaron que por debajo de 1.500 mg/día el efecto no era lineal, a diferencia de lo que ocurría con los ácidos grasos. La ecuación que mejor que cumple para explicar los cambios del colesterol de la dieta sobre el plasmático es una función de potencia 0,5, es decir la raíz cuadrada del contenido de colesterol dietético. Por lo tanto, estos investigadores propusieron que el efecto del colesterol puede ser predicho por la ecuación siguiente: $\Delta\text{col} = 1,5(\sqrt{\text{col } D1} - \sqrt{\text{col } D2})$, donde $D1$ y $D2$ son las cantidades de colesterol en las dos dietas que se comparan, expresadas en mg por 1000 kcal.

Analizando las dos ecuaciones de Keys Anderson y Grande, llama la atención la importancia relativa de la grasa y el colesterol de la dieta y cuando se trata de modificar la cifra de colesterol plasmático. Así por ejemplo, el caso de la mantequilla, cerca del 80 % del efecto es debido al efecto a su composición en ácidos grasos, mientras que sólo el 20 % del efecto sería debido a la presencia de colesterol.

Como hemos comentado la fracción de colesterol LDL ejerce un efecto aterogénico mientras que el colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tiene un efecto protector o antiaterogénico. Diversos estudios han analizado el efecto de la grasa de la dieta sobre el reparto de colesterol entre estas dos clases de lipoproteínas ya que la prevención de la aterosclerosis pasa por la reducción del colesterol de las LDL, sin reducir o elevar el colesterol transportado por las HDL. Merecen especial mención los estudios realizados en Francia por Jacotot y col (22.) y los realizados en España por Mata, De Oya y Carmena (23,24) que demuestran que la sustitución de la grasa saturada por poliinsaturada reduce el colesterol tanto de las lipoproteínas LDL como HDL, mientras que la sustitución de grasa saturada por monoinsaturada (aceite de oliva) reduce el colesterol LDL no modificando o incluso elevando ligeramente el colesterol de las HDL. Todo ello, indica que los aceites ricos en ácidos grasos monoinsaturados tales como el aceite de oliva, reducen el nivel de colesterol total en una proporción semejante a los obtenidos con aceites ricos en ácidos linoléico, con la ventaja de reducir, o elevar, la fracción de colesterol transportada por las HDL

11 Influencia de los factores genéticos sobre la variabilidad del colesterol plasmático

Las concentraciones de colesterol y fracciones del colesterol en las lipoproteínas en la población son extraordinariamente variables. En una población como la española los percentiles 10 y 90 de concentración plasmática de colesterol varían en torno a 130 mg/dl (25)

Esta variación normolipémica en las concentraciones de lípidos en una población es el resultado de complejas interacciones entre genes y ambiente que puede cuantificarse gracias al estudio de núcleos familiares y la correlación entre los diferentes miembros.

En el estudio de la contribución genética y ambiental son especialmente importantes los trabajos realizados en gemelos monozigóticos y dizigóticos, según compartan o no un mismo ambiente familiar

12 Genes responsables de la variabilidad del colesterol en la población

A la hora de identificar los genes responsables de la variabilidad del colesterol se disponen de dos tipos de análisis.

En los estudios de asociación un determinado marcador polimórfico de un locus, habitualmente denominado SNP (*single nucleotide polymorphism*) es estudiado en un grupo grande de sujetos representativos de una población determinada. Si dicho locus está relacionado con un determinado fenotipo es probable que la variación en dicho locus también lo esté. Este fenómeno de asociación entre un fenotipo y determinado polimorfismo no indica necesariamente relación causal, ya que la mayor parte de los SNPs no tienen efecto biológico apreciable, sino más bien, que están en “desequilibrio de unión” con otras variaciones genéticas próximas al SNP. Es decir, si están asociadas significa que se transmiten de forma conjunta, en otras palabras, que no existen fenómenos de recombinación y que por tanto están relativamente próximas en un determinado locus.

Estos estudios de asociación son muy útiles para identificar pequeñas contribuciones de loci en fenotipos cuantitativos con contribución poligénica. Tienen el inconveniente de que se necesitan grupos numerosos de sujetos, la falta de información causal de la asociación y la dificultad de reproducir los resultados en otras poblaciones.

En relación al metabolismo lipídico el polimorfismo mejor estudiado es el del gen de la apolipoproteína E (apoE). Gracias a los estudios de asociación conocemos que el gen de apo E es responsable del 10% de la variación en la concentración de colesterol en lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) en la mayor parte de las poblaciones. Además este polimorfismo genético, modifica la proteína y parece tener un papel causal en dicha asociación (26).

Los estudios de ligamiento analizan la contribución de un determinado locus en relación a un determinado fenotipo estudiando núcleos familiares. Los estudios de ligamiento intentan demostrar la cosegregación en las familias de un determinado fenotipo con un determinado genotipo. Este análisis es muy útil para identificar locus responsables de fenotipos monogénicos, o bien de fenotipos poligénicos siempre y cuando tengan efecto de loci mayores. Sin embargo, son menos informativos a la hora de estudiar contribuciones genéticas en fenotipos poligénicos. La contribución genética en las concentraciones de colesterol y en su variabilidad en la población son muy poligénicas por lo que los resultados de este tipo de estudios no han conseguido grandes éxitos.

En los últimos años el mejor conocimiento del genoma humano, el desarrollo de las técnicas de biología molecular y los nuevos procedimientos estadísticos han permitido el uso de marcadores altamente informativos a largo del todo el genoma en los estudios

de ligamiento. Los denominados barridos genómicos “*scanning genómicos*” analizan centenares de marcadores genéticos a lo largo de todo el genoma en familias, habitualmente parejas de hermanos (*sib-pair analysis*), y con técnicas estadísticas paramétricas y no paramétricas multifactoriales (27).

13 Contribución genética en la variabilidad del colesterol en la población

Diversos estudios han analizado la contribución porcentual de los factores genéticos y ambientales en la variabilidad de los lípidos plasmáticos. Cabe destacar el estudio realizado por Iliadou y col. (28) en el cual se analizaron 725 pares de gemelos suecos de edades entre 17 y 85 años. La heredabilidad observada en este estudio fue entorno al 60% para colesterol y c-LDL, en torno al 50% para ApoA-I (principal proteína de las HDL), y en torno al 40% para los triglicéridos. Resultados semejantes han sido publicados por otros autores.

Una vez analizada la contribución cuantitativa de los genes, paso a resumir qué genes son los responsables.

La variación genotípica estudiada de los genes conocidos no llega a explicar el 10% de toda la variación fenotípica observada en el colesterol. Quiere ello decir que todavía estamos muy lejos de conocer los genes que influyen de forma sustancial en sus concentraciones plasmáticas

En la Tabla 3 se detallan los loci más representativos que han demostrado en estudios de asociación su implicación en la heredabilidad de c-LDL, triglicéridos y c-HDL.

Como hemos referido con anterioridad, dos polimorfismos del gen de apo E en los codones 112 y 158, da lugar a tres alelos frecuentes en la población: E3 (alelo mayor), E2 y E4. Está bien establecido que los sujetos portadores del alelo E4 tiene concentraciones más altas de CT y c-LDL que los portadores del alelo más común (E3). Del mismo modo los portadores del alelo E2 tienen concentraciones más bajas de c-LDL que los E3/E3 así como concentraciones más altas de triglicéridos.

Utilizando la técnica de barrido genómico “*scanning genómico*” se han llevado a cabo varios análisis de ligamiento en vistas a identificar los principales loci que determinan la concentración de colesterol plasmático. Las localizaciones cromosómicas son variables entre los estudios y muchos de ellos encuentran contribuciones significativas en muchos genes (29,30) Tabla 4. Los resultados parecen demostrar que: a) existen muchos loci responsables. b) la contribución de cada uno de ellos es pequeña en la población general. c) los genes responsables posiblemente son diferentes entre poblaciones. d) la mayor parte de los genes localizados en las regiones cromosómicas son de función desconocida o no relacionada previamente con el metabolismo lipídico.

LDL-colesterol:

- Apo E*
- Lipasa ácida lisosomal
- Lipoprotein lipasa
- Apo B
- MTTP
- ABCG5/8
- CYP7A1

Triglicéridos:

- AI-CIII-AIV*
- Lipoprotein lipasa*
- LCAT
- Apo AV

HDL-colesterol:

- Lipasa hepática*
 - Betaglucocerebrosidasa
 - ABCA1
 - CLA1
 - AI-CIII-AIV*
 - CETP*
-

Tabla 3: Principales genes relacionados con la variación normolipémicas de lípidos en la población (* Genes que de forma consistente han demostrado estar asociados con la variación de la concentración lipídica)

14 Genes implicados en hipercolesterolemias

En la expresión de una hipercolesterolemia por regla general intervienen factores genéticos y ambientales y la concentración plasmática de colesterol de cada individuo es el resultado de la interacción entre genes y ambiente. En algunos tipos de hipercolesterolemias el factor genético es más importante que los factores ambientales. Desgraciadamente en la actualidad no conocemos la totalidad de los factores ambientales ni tampoco genéticos que intervienen en la homeostasis del colesterol. En algunas familias se han identificado algunas causas genéticas específicas. Sin embargo, los genes que están implicados en la hipercolesterolemia no se conocen con precisión y en otros casos como es la hipercolesterolemia familiar (HF) los defectos responsables, que se sabe que están localizados en un solo gen, son múltiples y variados (31,32).

Lípidos	Cromosomas	Población
Colesterol	1q21-23	EEUU
Colesterol	19p	Indios Pima
Triglicéridos	7p	Framingham-EEU
Triglicéridos	15q	Mejicanos-EEUU
Triglicéridos	2p	Indios Pima
Triglicéridos	3p	EEUU
Triglicéridos	12	EEUU
HDL-colesterol	3q	Indios Pima
HDL-colesterol	9p, 8q	Mejicanos-EEUU
HDL-colesterol	8q23, 16q, 20q, 3p	Finlandia
HDL-colesterol	5p	Canadá
HDL-colesterol	11q23	Utah-EEUU
HDL-colesterol	5p	NHLBI-EEUU

Tabla 4: Localizaciones cromosómicas de los principales loci asociados con las concentraciones lipídicas en los estudios de ligamiento con marcadores múltiples (scanning genómico)

La concentración de colesterol transportada por las LDL depende entre otros factores, de la función de muchas proteínas como la apolipoproteína B100 (apoB100), el receptor de las LDL (rLDL), las proteínas de transporte implicadas en la absorción intestinal de esteroides y en la excreción hepática a través de la bilis (ABCG5/ABCG8) y de la proteína adaptadora del rLDL (ARH) encargada de la estabilización del rLDL (Figura 8). Cualquier defecto en estas proteínas puede generar una situación de hipercolesterolemia, caracterizada por un aumento anómalo de la concentración de colesterol en LDL (cLDL) (32).

Las hipercolesterolemias primarias tipo IIa, según la clasificación de Friedrickson, son consecuencia del aumento del cLDL y pueden clasificarse en: a) Hipercolesterolemia familiar (HF) debida a defectos en el gen del rLDL; b) Apo B-100 defectuosa familiar, producida por la presencia de varias mutaciones localizadas a nivel del gen de la apo B; c) Hipercolesterolemia asociada a sitosterolemia, causada por defectos en los transportadores intestinales de colesterol, ABCG5 y ABCG8; d) Hipercolesterolemia autosómica recesiva debida a defectos en la proteína ARH estabilizadora del rLDL; e) Hipercolesterolemias asociadas a variantes raras de apo E; y por último, f) Hipercolesterolemia poligénica cuya causa genética está todavía por determinar.

Entre las hipercolesterolemias IIa de origen genético, y de herencia autosómica dom-

Figura 8 **GENES IMPLICADOS EN HIPERCOLESTEROLEMIAS IIa**

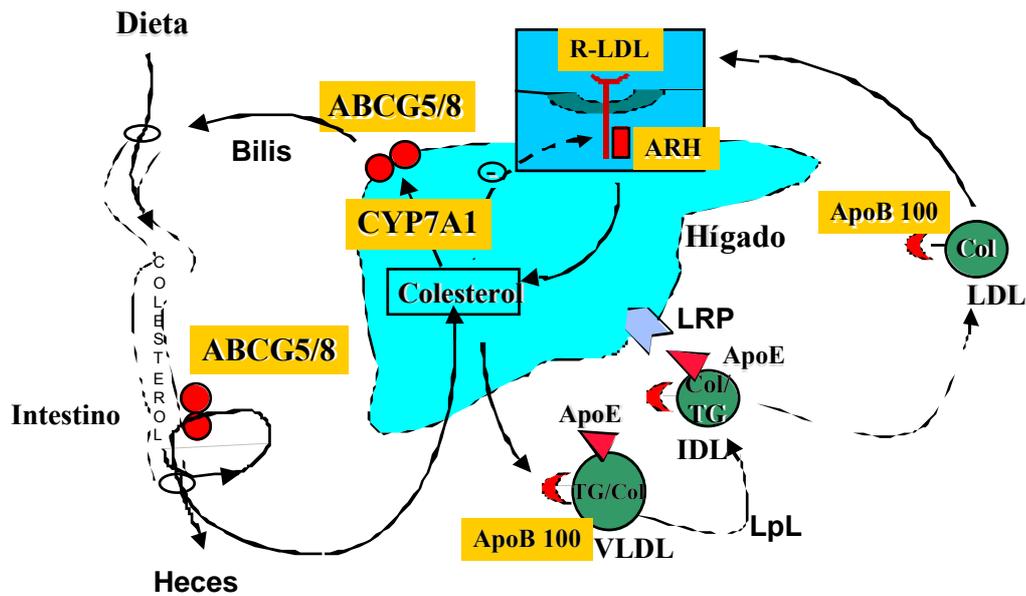


Figura 8:

inante la más frecuente en población caucasiana es al hipercolesterolemia familiar (HF) debida a defectos en el gen rLDL, seguido de la apo B100 defectuosa familiar. Sin embargo, en algunas poblaciones centro europeas la frecuencia de la apo B100 defectuosa familiar puede ser incluso superior a la HF. Se han identificado otros loci asociados con hipercolesterolemias autosómicas dominantes, sin embargo la frecuencia de tales hipercolesterolemias es por regla general muy baja (33,34).

15 Hipercolesterolemia Familiar (HF)

La HF es consecuencia de distintos defectos en r-LDL que controla la captación de las LDL plasmáticas. El r-LDL regula la homeostasis del colesterol intracelular, ya que cuando éste disminuye, aumenta su síntesis endógena, aumenta la síntesis de receptores celulares y disminuye la esterificación del colesterol. Cuando el contenido intracelular de colesterol aumenta, todos estos efectos se invierten, de manera que la célula tiende a mantener constante su contenido total en colesterol (31)

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una enfermedad hereditaria autosómica dominante que se caracteriza por la acumulación de colesterol en lipoproteínas de baja densidad (cLDL) en sangre, xantomas en tendones y un riesgo muy elevado de enfermedad coronaria (31). La frecuencia de heterocigotos en población caucasiana es de 1/500, con lo cual se puede estimar que en España puede haber alrededor de 80.000 sujetos con HF y unos 10 millones en la población mundial, siendo por tanto una de las enfermedades

Hiperlipemia: tipo IIa**Herencia: Autosómica dominante****Frecuencia:**

- Heterocigotos: 1 / 500
 - En España 80.000-100.000 personas
 - En el Mundo 10 millones de personas

Lípidos en plasma: Aumento de CT y cLDL

- Heterocigotos: CT 300-550 mg/dL
- Homocigotos: CT 650-1000 mg/dL
- Triglicéridos y cHDL: normales

Características clínicas:

- Xantomas tendinosos
- Enfermedad coronaria prematura

Defecto bioquímico: Mutaciones en el gen del rLDL

Tabla 5: Características de la Hipercolesterolemia Familiar

monogénicas más frecuentes Tabla 5. La frecuencia de homocigotos es de 1/1.000.000 de la población, estos pacientes suele presentar enfermedad coronaria durante la primera o segunda década de vida (35).

La concentración de colesterol total está muy elevada en los pacientes homocigotos, por encima de 500 mg/dl, con medias en torno a 700 mg/dl, esta elevación del colesterol total se debe exclusivamente al aumento de los niveles de cLDL. Esta concentración se modifica muy poco a lo largo de la vida del sujeto y sufre pocas variaciones debido a factores ambientales (31). Las principales diferencias dependen de la naturaleza de la mutación en caso de los homocigotos, o de las mutaciones, en caso de heterocigotos compuestos, observándose una buena correlación entre la actividad residual del receptor y la concentración de cLDL (36). La concentración de triglicéridos por regla general es normal y el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL) suele ser normal o estar ligeramente disminuido con respecto a población general.

La HF no tratada acorta la esperanza de vida, entre 20 y 30 años, con respecto a la población general, ya que la mayoría de las personas que sufren esta hiperlipidemia fallecen de enfermedad coronaria prematura (ECP) (31).

La ECP es la manifestación más importante de la HF. En sujetos homocigotos verdaderos o heterocigotos compuestos sin tratamiento hipolipemiante suele aparecer antes de los 30 años.

Analizando la mortalidad coronaria de forma prospectiva en un grupo de heterocigotos

HF seguidos durante casi 10 años se observó que el riesgo de muerte coronaria entre los 20-74 años fue de 3,7 veces superior a lo esperado en los varones y de 4,1 veces en las mujeres (36). Goldstein y col. fijan una frecuencia de ECP en pacientes con HF heterocigota del 20, 45 y 75% a los 40, 50 y 60 años respectivamente, para los varones, y del 3, 20 y 45% para las mujeres a la misma edad (31).

Existen distintos tipos de diagnóstico de HF:

a) Diagnóstico basado en sintomatología clínica

El aumento del colesterol plasmático no cursa por regla general con ningún cambio de las características externas que sean fácilmente observables a excepción del caso de los xantomas tendinosos, pero ésta no es una característica generalizada entre los pacientes de HF. Así por ejemplo, resulta muy infrecuente en pacientes menores de 20 años. En consecuencia, la detección de sujetos con HF basado exclusivamente en la presencia de xantomas tendinosos no es un método adecuado.

b) La determinación del colesterol y cLDL no permite realizar una identificación inequívoca debido a la gran variabilidad clínica y bioquímica interindividual de estos parámetros, incluso observada entre los heterocigotos de la misma familia. Koivisto y col en Finlandia demostraron que el error (mal diagnosticados) que se comete utilizando este criterio puede llegar superar el 15%, incluso en familias en que previamente se sabe que hay un paciente con HF (37). Por otra, parte en Holanda un estudio similar realizado en familias con HF ha demostrado que este porcentaje supera el 18% (38).

Hay que señalar que la determinación de colesterol es un parámetro muy importante, indicativo de HF y que en ningún caso debe sustituirse, aunque no debe considerarse definitivo, sobre todo cuando se pretende identificar personas con HF a partir de “un caso índice”.

Hay que tener en cuenta que todos estos criterios se basan en el análisis de variables continuas, y por lo tanto, para un diagnóstico positivo o negativo deben establecerse puntos de corte por encima de los cuales el diagnóstico es positivo y por debajo es negativo.

En cambio, los métodos de diagnóstico basados en el análisis del ácido desoxirribonucleico (DNA) del gen del r-LDL por técnicas de Biología Molecular son criterios basados en negativo/positivo y por lo tanto altamente específicos. Son los métodos recomendados por la OMS en el programa MedPed (*Make Early Diagnosis - Prevent Early Deaths in MEDical PEDigrees*) (39).

Se han descrito más de 800 mutaciones diferentes en el gen del rLDL, pero su número aumenta rápidamente y se calcula que pueden existir más de mil mutaciones diferentes en población caucasiana (<http://www.ucl.ac.uk/fh/>). Se han encontrado mutaciones de

todo tipo: de cambio de aminoácido o “*missense*”, de codón de parada o “*nonsense*”, de ajuste o “*splicing*”, de cambio de la pauta de lectura o “*frameshift*”, mutaciones en pauta o “*inframe*” y deleciones e inserciones que se distribuyen a lo largo de todo el gen.

En poblaciones aisladas por motivos geográficos, religiosos, culturales o por haberse generado por emigración de grupos aislados, una o unas pocas mutaciones puede ser las causantes de la mayoría de las HF en esas poblaciones. Por ejemplo, los canadienses franceses, los “afrikaner” de Sudáfrica, los finlandeses, los judíos Ashkenazi o los libaneses cristianos. Sin embargo, en la mayoría de los países donde las poblaciones son genéticamente más heterogéneas, como ocurre en España, existe un amplio número de mutaciones entre los pacientes con HF (40-45).

El gen del rLDL, de 45 kilobases (Kb) aproximadamente, está localizado en el brazo corto del cromosoma 19 (región p13.1-p13.3), y consta de 18 exones y 17 intrones Figura 9 (31). El exón 1 codifica la secuencia señal de 21 aminoácidos hidrofóbicos. Este péptido es hidrolizado en el retículo endoplásmico durante el proceso de translocación para dar lugar a la proteína madura de 839 aminoácidos. Los exones 2 a 6 codifican el dominio de unión al ligando, y los exones 7 a 14, el dominio homólogo al precursor del EGF. El exón 15 codifica la región que une azúcares. El exón 16 y la primera mitad del 17 corresponden al dominio transmembrana, y el resto del exón 17 y la zona 5' del exón 18 codifican el dominio citoplásmico.

En España, varios grupos han analizado el gen del rLDL en pacientes diagnosticados clínicamente de HF, y hasta la fecha se han identificado un total de 160 mutaciones distintas, muchas de las cuales no han sido descritas en otros países (40-45).

El diagnóstico genético de la hipercolesterolemia familiar analizando el gen completo requiere una gran inversión económica y se necesita mucho tiempo hasta que se identifica la mutación responsable por lo que nuestro grupo de investigación decidió desarrollar un “biochip” que permita realizar el diagnóstico más rápido de esta hiperlipidemia. Brevemente, el sistema consiste de depositar trozos de DNA “sondas” normales y mutadas, en microespacios sobre un vidrio de aspecto parecido a un portaobjetos de microscopio. El material genético del paciente se amplifica por la técnica de la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) “*multiplex*” en la zona donde está el gen del rLDL y se marca con un fluoróforo, tras depositar este material marcado sobre el “*biochip*” y después de sucesivos lavados se detecta la fluorescencia excitando con un laser. Este sistema permite detectar cientos de mutaciones de una sola vez. En la actualidad este “*biochip*” se encuentra en periodo de comercialización en vistas a ser utilizado como sistema de diagnóstico de HF en nuestro País.

Estructura del r-LDL

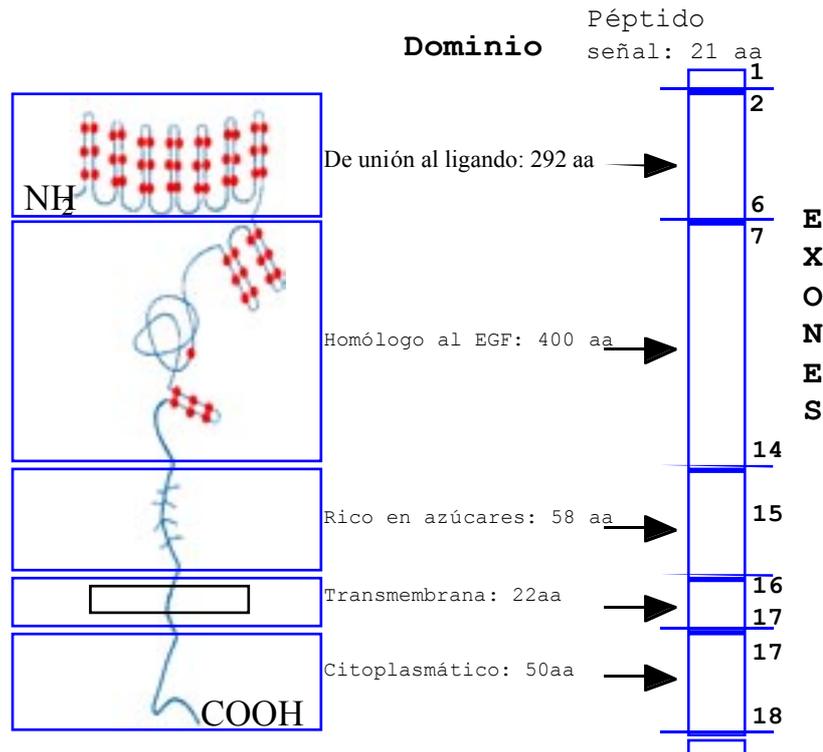


Figura 9:

16 Apo B100 Defectuosa Familiar (BDF)

La apoB100 es la única proteína de las LDL y por lo tanto la principal proteína implicada en el transporte de colesterol. Esta proteína se sintetiza de forma exclusiva en el hígado, formando parte de las VLDL y LDL. La región comprendida entre los aminoácidos 3400-3600 es la responsable de la unión al receptor.

El gen de la apo B se encuentra situado en el cromosoma 2. Contiene 29 exones y tiene una longitud de 43 Kb. Se conocen en la actualidad más de 30 formas mutantes de apo B que dan lugar a proteínas truncadas, sin embargo, estos defectos están siempre asociados con una disminución de las partículas LDL y por tanto a una hipocolerolemia denominada hipobetalipoproteinemia familiar. Los defectos en el gen de la Apo B, que obstaculizan su unión al receptor LDL, producen una hipercolesterolemia de herencia autosómica dominante denominada Apo B defectuosa familiar (BDF) (46).

En la actualidad solo se conocen tres mutaciones que asociadas a BDF, la más frecuente sustituye la Arginina de la posición 3500 por Glutamina (R3500Q) y se le conoce con el sobrenombre de la mutación apo B 3500 (46). Este cambio de aminoácido reduce la capacidad de unión al receptor hasta un 5%. Las características clínicas de esta hipercolesterolemia son muy semejantes a las causadas por defectos en el r-LDL, de tal forma

que ambas hiperlipidemias solo pueden distinguirse por análisis genético.

La mutación (R3500Q) conocida con el sobrenombre de apo B3500 es frecuente en países Centroeuropeos. Por otra parte, esta mutación es poco frecuente en el norte y sur de Europa. Se ha calculado que esta mutación tiene una antigüedad de más de 6000 años y su procedencia se cree que es de origen Celta (47). En España esta mutación es poco frecuente, con una frecuencia de alrededor del 1% de la población con hipercolesterolemias autosómicas dominantes (48). Sin embargo es una causa frecuente de hipercolesterolemia en la población gallega, probablemente por su origen Celta (49).

17 Sitosterolemia- Hipercolesterolemia Familiar Pseudohomozigota

Recientemente se han identificado dos genes adyacentes en el cromosoma 2p21 que codifican las proteínas ABCG5 y ABCG8 y que están asociadas con sitosterolemia (50). La sitosterolemia es un trastorno autosómico recesivo, que se caracteriza por la hiperabsorción de esteroides vegetales entre los que se encuentra el sitosterol (51). Los pacientes con sitosterolemia también hiperabsorben el colesterol de la dieta y eliminan menos colesterol a través de la bilis desarrollando los típicos síntomas clínicos de hipercolesterolemia familiar. Estas proteínas pertenecen a la clase de proteínas ABC y forman un complejo de proteínas que es el responsable de la devolución de los esteroides absorbidos por las células intestinales al lumen intestinal, así como de llevar a cabo el transporte de esteroides hepáticos al conducto biliar. Este trastorno se diagnostica en muchos casos como una hipercolesterolemia familiar pseudohomozigota. Por regla general este tipo de pacientes son hiper-respondedores a la restricción del colesterol de la dieta y al tratamiento con resinas.

La pared intestinal presenta una barrera que sólo permite que se absorba un 40% del colesterol ingerido, condicionando que sea muy escasa la absorción de esteroides de origen vegetal, tales como el sitosterol, producto que sólo se absorbe en un 5%. Los genes *abcg5* y *abcg8* están situados en el cromosoma 2, orientados en dirección opuesta, y su expresión esté dirigida por el mismo promotor. Se han identificado mutaciones en ambos genes que están asociadas con sitosterolemia (50-52). Estas mutaciones determinan la aparición de una proteína que tiene menos capacidad para excretar esteroides desde el enterocito hacia la luz intestinal. Como consecuencia se produce un aumento de la absorción de sitosterol, y de la concentración sanguínea de este esteroide que se conoce con el nombre de sitosterolemia. En esta enfermedad, junto al aumento plasmático de esteroides vegetales, se produce un dramático incremento en la absorción de colesterol, seguida del desarrollo de arteriosclerosis precoz.

18 Hipercolesterolemias autonómicas recesivas

Hay determinadas hipercolesterolemias tipo IIa cuyo patrón de herencia es autosómico recesivo. Estas hiperlipidemias presentan una sintomatología y una elevación de cLDL que se asemeja a la de los homocigotos de hipercolesterolemia familiar. Los familiares que son heterocigotos obligados presentan por regla general niveles normales de cLDL. Este tipo de hipercolesterolemias se asocian también con enfermedad coronaria prematura y xantomias tendinosos.

El defecto molecular ha sido identificado recientemente y se trata de un defecto en una proteína citosólica que contiene un dominio de unión a fosfotirosina y denominada ARH (53). La función de esta proteína no se conoce con precisión, pero parece que está implicada en la incorporación del receptor en las vesículas recubiertas de clatrina durante el proceso de endocitosis.

El gen ARH se encuentra situado en el cromosoma 1 región p35 y se han identificado varias mutaciones en este gen asociadas a hipercolesterolemia (53). No se conoce si existe alguna predisposición genética a desarrollar hipercolesterolemia en los sujetos portadores de un alelo defectuoso en este gen.

19 Mutaciones en otros genes asociados a hipercolesterolemias

Se han descrito varias mutaciones en el gen de apo E asociadas a un fenotipo de hipercolesterolemia en lugar del típico fenotipo de Hiperlipoproteinemia tipo III: apo E5 Japan (Glu3 → Lys), apo E5 Frankfurt (Gln81 → Lys; Cys112 → Arg), apo E5 (Pro84 → Arg; Cys112 → Arg), apo E3 (Cys112 → Arg; Arg251 → Gly) (100) y apo E1 (Arg158 → Cys; Leu252 → Glu), aunque en la mayoría de ellas la hipercolesterolemia observada era moderada y en algunos casos también se observaba en sujetos con hipertrigliceridemia. Únicamente la variante E5(Glu3 → Lys) se ha asociado a una forma de hipercolesterolemia tipo IIa relativamente importante y presenta una afinidad por el rLDL que prácticamente duplicaba la afinidad de la apo E3 común (54). Una de estas mutaciones, la que afecta a la delección del amino ácido 149 Leu, se ha encontrado con cierta frecuencia en la población de hipercolesterolémicos españoles.

Mediante estudios de barrido genómico, en combinación con otros investigadores conseguimos mapear en el cromosoma 1 región p34.1-p32 otro locus y asociado con hipercolesterolemia autosómica dominante (33). Recientemente este locus ha sido identificado como el gen PCSK9, el cual codifica una proteína putativa de la subfamilia de las sultilasas denominada NARC1- *Neural Apoptosis-Regulated Convertase 1*. Esta proteína tiene una estructura relacionada con la S1P (*Specific 1 Protein*), la cual desempeña una papel clave

-
-
- Hiperlipemia tipo IIa/ IIb y IV
 - Frecuencia: 1–2 %. En España 350.000–400.000 personas
 - Herencia: Autosómica dominante
 - Etiología: desconocida
 - Patogenia: Sobreproducción hepática de lipoproteínas.
 - Edad de comienzo: Generalmente > 20 años
 - Colesterol y triglicéridos elevados: 250–350 mg/dl
 - Lipoproteínas: Aumento de LDL y/o VLDL, descenso de HDL
 - Xantomas: Poco frecuentes
 - Cardiopatía isquémica: muy frecuente
 - Asociación: HTA, obesidad, diabetes, hiperuricemia
-

Tabla 6: Características de la Hiperlipemia Familiar Combinada

en la homeostasis del colesterol a través del procesado de los proteínas de unión al elemento regulado por esteroides (SRBPs) (55). Sin embargo, el papel que desempeña la proteína no se conoce todavía.

20 Hiperlipemia Familiar Combinada

La Hiperlipemia Familiar Combinada (HFC) se caracteriza por la presencia de varias anomalías lipídicas, como hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, aumento de apo B y descenso de cHDL, que se presentan de forma aisladas o en combinación, y con tendencia a manifestar fenotipos diferentes con el tiempo (Tabla 6). La HFC es el defecto del metabolismo lipídico de mayor importancia clínica, ya que predispone de forma grave al desarrollo de arteriosclerosis prematura (56). Aproximadamente, el 20% de los sujetos con enfermedad coronaria prematura padecen esta dislipemia (57).

La HFC no tiene ninguna prueba diagnóstica inequívoca, lo que dificulta su definición y diagnósticos precisos. La mayor parte de autores definen desde el punto de vista clínico a los sujetos afectados de HFC cuando existe una hiperlipemia mixta, de presentación autosómica dominante y con enfermedad coronaria prematura en la familia (58).

La herencia en la HFC es compleja, la mayor parte de estudios muestran una herencia multigénica con efecto de loci mayores para los principales componentes del fenotipo: triglicéridos y apo B. El gen o genes responsables de este efecto mayor no son conocidos, pero muy posiblemente nos encontremos ante una enfermedad con importante heterogeneidad etiológica genética, es decir, que mutaciones en diferentes genes pueden dar lugar a un mismo fenotipo, en este caso HFC.

Recientemente, un estudio realizado en familias de Finlandia afectas de HFC ha demostrado que un locus en el cromosoma 1, muy próximo al gen de apo A-II, está ligado a la HFC en estas familias (59). Este gen estaría en una zona homóloga al gen *Hyplip1* del ratón. Mutaciones en este gen producen un modelo animal muy semejante a la HFC humana. Estos hallazgos están en consonancia con estudios realizados previamente donde se demostró asociación significativa de diferentes variantes genéticas en el gen de apo A-II con fenotipos asociados a la HFC en sujetos con enfermedad coronaria prematura.

Junto al efecto del locus mayor, intervienen otros genes modificadores o moduladores, factores no modificables como la edad o el sexo, y por último una importante influencia ambiental; todo ello condiciona un fenotipo final muy variable.

El mecanismo patogénico predominante en la HFC es la hiperproducción de partículas VLDL por parte del hígado (58). Este defecto se vería acompañado de alteraciones en el catabolismo de partículas ricas en triglicéridos tanto de origen endógeno (VLDL e IDL) como exógeno (remanentes de quilomicrones).

El aumento en la síntesis de triglicéridos por parte del hepatocito es el factor determinante de la sobreproducción de VLDL en la HFC. La síntesis aumentada de apo B, principal apolipoproteína de las VLDL, y de ésteres de colesterol parece un fenómeno secundario consecuencia de la producción aumentada de triglicéridos. Como la disponibilidad hepática de ácidos grasos libres (AGL) es a su vez lo que principalmente determina la síntesis de triglicéridos, se cree que es uno de los mecanismos patogénicos, posiblemente el principal, de la dislipemia en la HFC y sería consecuencia de una concentración elevada de AGL. El aumento de partículas VLDL condiciona un aumento de su transformación a LDL. La sobreproducción de triglicéridos por parte del hígado lleva a una acumulación de los mismos en las VLDL y a un mayor intercambio desde las VLDL hasta las HDL y LDL por la acción de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP). Este enriquecimiento en triglicéridos favorece su catabolismo por la acción de la lipasa hepática (LH) lo que favorece descensos en la concentración de HDL y la aparición de LDL densas y pequeñas con capacidad aterogénica (60,61).

La HFC no tiene ninguna prueba diagnóstica de certeza, ni unos criterios diagnósticos universalmente aceptados. El diagnóstico debe basarse en el estudio familiar y la exclusión de otras dislipemias. El análisis familiar muestra una presentación autosómica dominante de hiperlipemia en sujetos mayores de 20 años. Es frecuente encontrar diferentes fenotipos, pero suele predominar el fenotipo IIb, es decir, la hiperlipemia mixta. Una vez demostrado el carácter familiar, la exclusión de HF no suele ser difícil por la presencia de hipertrigliceridemia y ausencia de xantomas tendinosos en la HFC. El diagnóstico diferencial entre HFC e HLP tipo III de presentación dominante por variantes de apo E raras es difícil y a menudo requiere la determinación del genotipo de apo E y separación de

Herencia

- Autosómica recesiva + factor /es adicionales
- Autosómica dominante + factor/ es adicionales

Frecuencia: 3–5 / 10.000 → En España 12.000–20.000 personas

Defecto genético : E2/E2 u otras variantes de apo E

Lípidos plasma

- CT y TG elevados
- c-VLDL / TG > 0.30; C-VLDL / TG-VLDL > 0.42
- Aumento de partículas remanentes

Clínica

- Xantomas cutáneos, palmares estriados, tuboeruptivos
 - Enfermedad coronaria prematura, vascular periférica
-

Tabla 7: Características de la hiperlipoproteinemia tipo III

lipoproteínas por ultracentrifugación para descartar un aumento de partículas IDL. Es frecuente en la HFC la presencia de otras alteraciones metabólicas en el probando o la familia que ayudan a establecer el diagnóstico como cHDL bajo, hiperuricemia, sobrepeso, hiperglucemia y elevación discreta de enzimas hepáticos por esteatosis.

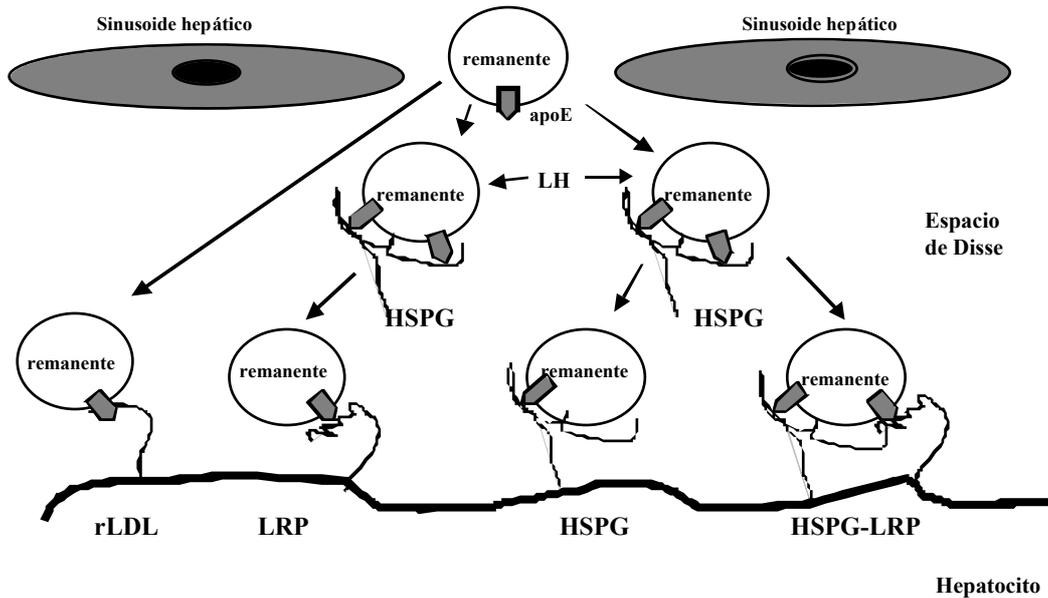
21 Tipo III (Disbetalipoproteinemia)

La Hiperlipoproteinemia tipo III (HLP tipo III) es un trastorno del metabolismo lipídico de origen genético que se presenta en la clínica como una hiperlipemia mixta, es decir con elevación de colesterol y triglicéridos plasmáticos, habitualmente por encima de 350 mg/dl y con cifras similares para ambos (Tabla 7).

Las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos elevadas se deben a la presencia de un aumento de lipoproteínas con movilidad beta. Estas lipoproteínas son partículas remanentes que proceden de los quilomicrones de origen intestinal y del catabolismo periférico de las VLDL de origen hepático. Debido a que en la HLP tipo III se produce por acúmulo de partículas beta (remanentes) a veces se le ha dado el sobrenombre de “enfermedad de la beta ancha” y más frecuentemente de “disbetalipoproteinemia”. Sin embargo, en la actualidad distinguimos dos conceptos diferentes: 1. Disbetalipoproteinemia: aumento de partículas beta-VLDL plasmáticas pero sin hiperlipidemia, es decir con concentraciones totales de colesterol y triglicéridos normales. 2. HLP tipo III: hiperlipoproteinemia secundaria a disbetalipoproteinemia (62).

Las partículas remanentes son retiradas de la circulación fundamentalmente en el

Figura 10 **Metabolismo partículas remanentes**



Adaptado de Mahley RW, et al. J Lipid Res 1999;40:1933-49

Figura 10:

hígado. En primer lugar atraviesan el endotelio fenestrado del hígado y son secuestradas en el espacio de Disse donde se completa el catabolismo de sus triglicéridos por la acción de la LPL y sobre todo la lipasa hepática (LH) y adquieren una mayor proporción de apo E en su superficie gracias a la apo E secretada por los hepatocitos (Figura 10). Tras esta etapa de procesamiento y enriquecimiento en apo E las partículas remanentes son captadas e internalizadas en el hepatocito por cuatro mecanismos diferentes: 1. Por el receptor r-LDL; 2. Por el receptor LRP (proteína relacionada con el r-LDL) interaccionando previamente con los heparán sulfato proteoglicanos (HSPG) del espacio de Disse; 3. Por los HSPG de la superficie celular por un mecanismo lento; y 4. Por la interacción de forma conjunto de los remanentes con el complejo LRP-HSPG. En estos cuatro mecanismos la apo E sirve como ligando por lo que variaciones en el gen de la apo E que afecten a la proteína pueden afectar tanto a la unión de las partículas remanentes a los receptores como a su interacción con los HSPG (62-64).

La apolipoproteína E es polimórfica en la población. Tres alelos frecuentes se encuentran en la población. El alelo mayor es apo E3. Apo E2 es la mutación más frecuente asociada a hiperlipoproteinemia tipo III (37). La apo E presenta el dominio de unión al r-LDL entre los aminoácidos 136-150. La mayor parte de mutaciones en el gen de apo E en este dominio van a producir una forma dominante de HLP tipo III (63).

La apo E2 conserva entre un 50%-80% su capacidad de interaccionar con los HSPG (63). Esta casi normal capacidad de unión de apo E2 a los HSPG explica la presentación recesiva de la HLP tipo III en sujetos con apo E2. Sin embargo, la presencia de un solo alelo E2 no es suficiente para que se produzca una acumulación de partículas remanentes en plasma siendo necesario la E2 doble dosis para que se exprese la hiperlipidemia.

En la mayor parte de los casos se presenta de forma esporádica, excepcionalmente, la HLP tipo III se presenta con herencia dominante asociada a variantes raras de apo E una de las cuales, apo E2 Arg136Ser, es frecuente en nuestro país (65,66). En el caso de la HLP tipo III asociada a variantes raras de apo E la penetrancia de la dislipemia depende en gran medida del tipo de mutación, pudiéndose encontrar variantes con una penetrancia total o parcial.

La presencia de xantomas palmares estriados, "xantomas de las estrías palmares", son patognomónicos de la HLP tipo III. La cardiopatía isquémica es la causa principal de muerte en la HLP tipo III, y como ocurre en la HF suele adelantarse una década en los varones con respecto a las mujeres. En el momento del diagnóstico, aproximadamente el 50% de los sujetos son sintomáticos para alguna lesión de arteriosclerosis. Los accidentes vasculares periféricos suelen ser casi tan frecuentes como los coronarios, mientras que los cerebrales parecen estar solo discretamente elevados con respecto a población control (67).

Nuestro grupo ha tenido la oportunidad de estudiar un grupo numeroso de sujetos con HLP tipo III y hemos encontrado varias variantes genéticas de apo E asociadas de forma dominante con esta hiperlipemia en población española (65,66).

Factores que aumentan la producción de VLDL, como la hiperlipemia familiar combinada, dietas ricas en grasa saturada y/o colesterol, la diabetes mellitus o la obesidad van a ser claves para que determinados sujetos expresen la dislipemia. Del mismo modo, aquellos factores que disminuyen el número o afinidad de receptores hepáticos van a empeorar la hiperlipidemia, entre ellos, la edad, el hipotiroidismo y la menopausia.

En la actualidad, la presencia de una hiperlipemia mixta en presencia de un genotipo de apo E compatible con disbetalipoproteinemia (E2/E2 o variantes dominantes de apo E) es suficiente para hacer el diagnóstico de HLP tipo III. Esto simplifica el diagnóstico, ya que la ultracentrifugación es un método caro, laborioso y no exento de errores. Por tanto, la observación de un genotipo E2/E2 o bien la presencia de una variante rara de apo E asociados a una hiperlipidemia, confirma el diagnóstico de HLP tipo III.

22 El colesterol bueno: colesterol transportado por las HDL

Numerosos estudios han demostrado una relación inversa entre la concentración de c-HDL y el riesgo de EC. La concentración de c-HDL es el resultado de complejas interacciones

entre factores genéticos y ambientales. Ya hemos visto anteriormente los genes responsables más importantes que influyen en la variabilidad del c-HDL en la población, sin embargo existen otras situaciones en las que se observa un alto componente hereditario en la cifra de c-HDL. Si esta tendencia es a presentar concentraciones de c-HDL bajas se denomina hipoalfalipoproteinemia familiar y si son altas hiperalfalipoproteinemia familiar

23 Hipoalfalipoproteinemias familiares

La enfermedad de Tangier es una enfermedad rara del metabolismo lipídico que se caracteriza clínicamente por una deficiencia casi completa de cHDL. Se caracteriza por la presencia de concentraciones bajas de colesterol total, cLDL, apo A-I y apo B, y concentraciones aumentadas de triglicéridos. El descenso en apo A-I se debe un catabolismo muy rápido de la partícula HDL, con aumento proporcional de proapo A-I sobre apo A-I, sin existir alteraciones en la estructura de los genes de sus principales apolipoproteínas A-I y A-II (68). Se asocia con hipertrofia amigdalara, adenomegalias, hepato-esplenomegalia, polineuropatía periférica y riesgo aumentado de enfermedad coronaria prematura de unas 6 veces la población general. Todas las manifestaciones se deben a depósito de ésteres de colesterol en células macrofágicas.

Diferentes estudios demostraron que los pacientes con enfermedad de Tangier tenían un defecto en la maduración de la partícula HDL naciente con formación de prebeta-HDL pero sin capacidad de producción de alfa-HDL. La consecuencia de este defecto era un flujo deficiente de colesterol, especialmente desde macrófagos, a sangre periférica, con la consiguiente acumulación de ésteres de colesterol en su interior. Recientemente se ha encontrado que la enfermedad de Tangier se debe a mutaciones en el gen que codifica la proteína ABCA1 (69).

ABCA1 es miembro de una familia de proteínas de membrana que sirven a la célula para el transporte activo de diferentes sustancias con consumo de energía. Todas comparten un dominio de unión a ATP conocido como “*ATP-binding cassette*” y dominios transmembrana. ABCA1 se encarga del transporte de colesterol libre y fosfolípidos desde la membrana celular hasta la partícula HDL. En la enfermedad de Tangier se produce el defecto en las fases iniciales del transporte reverso, al ser incapaz las células de donar a las HDL el colesterol que les sobra.

La hipoalfalipoproteinemia familiar (HALPF) se caracteriza por concentraciones de cHDL en torno a 20-35 mg/dl, es decir, un 50% de la concentración normal, descensos proporcionales en apo A-I y normalidad en el resto de parámetros lipídicos, aunque en muchos sujetos la concentración de triglicéridos se encuentra en el nivel normal-alto, entre

100-200 mg/dl. A pesar de la normalidad en cLDL, la HALPF se acompaña de riesgo aumentado de enfermedad coronaria prematura.

Recientemente, se ha comprobado que las mutaciones en heterocigosidad en ABCA1 reducen un 50% la concentración de cHDL, multiplican por 3,5 el riesgo de enfermedad coronaria prematura y reducen de forma importante el flujo de colesterol.

Se ha demostrado que el gen de ABCA1 no sólo es responsable de la enfermedad de Tangier, sino también de un grupo de HALPF, posiblemente de aquéllas con cHDL más bajos y presencia de enfermedad coronaria precoz. Por otra parte, la mayor parte de sujetos con cHDL bajo de forma aislada no tienen mutaciones en ABCA1, lo que implica que este fenotipo es heterogéneo desde el punto de vista genético.

La enfermedad de Gaucher es una enfermedad autosómica recesiva de presentación clínica variable producida por acumulación de glucosilceremida en los lisosomas de las células del sistema mononuclear fagocítico, secundaria a mutaciones en el gen de la β -glucocerebrosidasa ácida (GBA). Es una enfermedad rara, pero el estado de portador, es decir, sujetos heterocigotos para mutaciones funcionales en el gen de la GBA es relativamente frecuente y se calcula en torno al 1% de la población no judía. Nuestro grupo han demostrado que el locus del gen de GBA es responsable del 20% de la variación genética en la concentración de cHDL, y que un gran número de portadores asintomáticos de la enfermedad de Gaucher y la casi totalidad de los enfermos presentan una HALPF (70).

El fenotipo lipídico en los portadores se caracteriza por concentraciones normales de CT, TG, apo B y apo E, con descensos en torno al 30% en la concentración de cHDL y algo menores de apo A-I. Los homocigotos tienen concentraciones bajas de colesterol total, cLDL, cHDL (inferiores al 50%), apo B y apo A-I, y concentraciones elevadas de triglicéridos y apo E (70).

En la actualidad se conocen más de 40 mutaciones en el gen de la lecitín:colesterol aciltransferasa (LCAT) que cursan en homocigosidad con dos patologías de herencia autosómica recesiva y con concentraciones muy bajas de cHDL: 1) Deficiencia familiar de LCAT (FLD): Cursa con opacidad corneal, anemia hemolítica e insuficiencia renal. Concentraciones muy reducidas de cHDL y actividad de LCAT y velocidad de esterificación del colesterol (CER) extremadamente bajas. 2) Enfermedad de ojos de pescado (FED): Cursa con opacidad corneal, HALP, actividad de LCAT sobre partículas HDL muy reducida y CER aproximadamente normal. La presencia de dichas mutaciones en heterocigosidad cursa con concentraciones bajas de cHDL (HALPF) en ausencia de manifestaciones clínicas (71).

Otro grupo de HALPF se caracteriza por mutaciones en el gen de apo A-I que impiden su síntesis completa o crean una proteína disfuncional, habitualmente con un catabolismo

aumentado, lo que en ambas situaciones lleva a concentraciones muy bajas de cHDL. Existen unas 60 mutaciones diferentes en el gen de apo A-I, pero aproximadamente sólo unas 40 de ellas se acompañan de HALPF entre ellas la apo AI Zaragoza identificada y caracterizada por nuestro grupo (72).

24 Farmacogenómica

No quisiera acabar sin comentar el efecto de determinados loci en la respuesta hipocolesterolemiantes a fármacos.

Varios estudios han analizado el efecto de diferentes polimorfismos genéticos en la respuesta hipolipemiantes de diferentes fármacos, especialmente los inhibidores de la HMG-CoA reductasa conocidos con el nombre de estatinas.

Los resultados han sido variables y en algún caso importantes. Por ejemplo, varios estudios han demostrado un efecto hipocolesterolemiantes de las estatinas en relación con el genotipo de apo E. Nuestro grupo ha descrito un efecto diferencial en la respuesta hipolipemiantes de atorvastatina y bezafibrato en sujetos con hiperlipemia mixta de acuerdo con un polimorfismo en la zona promotora del gen de apo E, diferente del polimorfismo de la proteína (73).

Dos estudios son de especial importancia clínica, ya que demuestran que diferentes factores genéticos modifican, no la respuesta hipolipemiantes al fármaco, sino lo que es más importante, el beneficio clínico que se obtiene con el mismo.

El estudio 4S analiza el riesgo de muerte en relación con el genotipo de apo E, la concentración de Lp(a) y la administración de simvastatina o placebo (74). La simvastatina redujo de forma significativa la morbimortalidad con respecto al grupo placebo. Sin embargo, cuando la mortalidad se analiza según el genotipo de apo E, aquellos sujetos portadores del alelo E4 en tratamiento con simvastatina tuvieron un beneficio clínico doble que los sujetos sin dicho alelo E4, a pesar de presentar una respuesta hipolipemiantes similar. Cuando además se analizó la mortalidad de acuerdo a la presencia del alelo apo E4 junto con la presencia de una concentración plasmática elevada de Lipoproteína (a), se encontró que ambos marcadores identifican un subgrupo de pacientes donde el beneficio clínico fue máximo con una reducción en la mortalidad próxima al 80% a lo largo del estudio.

En el estudio REGRESS se analizó la respuesta angiográfica coronaria en 807 sujetos en dependencia de un polimorfismo (B1/B2) en el gen que codifica la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) (75). En este estudio los portadores del alelo B2 tuvieron menor actividad CETP y concentraciones más altas de cHDL que los sujetos homocigotos

para el alelo mayor B1. El alelo B2 estuvo asociado a una menor progresión de las lesiones coronarias, especialmente en los homocigotos B2/B2 con respecto a los sujetos B1/B1 en el grupo placebo. Cuando se estudió el beneficio clínico, medido a través de la evolución de las lesiones coronarias tras dos años de tratamiento con pravastatina o placebo, éste fue máximo en los sujetos homocigotos para el alelo B1

Este estudio demuestra de forma clara la relación entre la variación en el locus de CETP y la progresión de la arteriosclerosis de forma independiente de la concentración de cHDL. Además permite predecir qué sujetos pueden beneficiarse más del tratamiento farmacológico con pravastatina

25 Los nuevos enfoques que debemos asumir a la hora de ampliar el conocimiento sobre las hiper- e hipo-colesterolemias

Para poder interpretar los datos que aportan la genética, epidemiología y la clínica es necesario disponer de herramientas que nos faciliten esta tarea y para ello es decisiva la aportación de la biotecnología,

Algunas personas se benefician de las especiales características de su genética al interactuar con el medio ambiente y puede decirse que envejecen con éxito porque su edad cronológica se encuentra por encima de la fisiológica. Más frecuentemente se produce una coincidencia entre ambas edades, pero en algunas situaciones, la edad cronológica es menor que la fisiológica, es decir, los individuos envejecen rápidamente, situación que se produce en una gran parte de la población. En otros casos, el envejecimiento se produce de forma prematura, como es el caso de la HF ya que sus arterias se deterioran más rápidamente. Si gracias a los adelantos de la genética pudiéramos conocer nuestra situación en la curva de envejecimiento sería posible una intervención para equiparar la edad fisiológica con la cronológica, frente a enfermedades como la demencia, la osteoporosis o el cáncer, entre otras. En los casos en que ello no es suficiente, como en la HF, es posible recurrir a tratamientos farmacológicos e incluso a la terapia génica para incrementar la supervivencia.

Las mediciones de las interacciones a diferentes niveles de la organización biomolecular dependen de las técnicas “ómicas”. Así, la genómica se ocupa de estudiar las variaciones del genoma que producen cambios de la expresión de los genes y de ello se ocupan la transcriptómica y la proteómica.

El metabolismo alterado, que se detecta en el fenotipo o enfermedad, es estudiado por la metabolómica. Sobre todo influye el componente ambiental y, en cualquier caso, las técnicas se respaldan en la bioinformática.

El problema actual es que la gran cantidad de técnicas disponibles producen muchos más datos de los que somos capaces de interpretar. Aunque lo realmente preocupante es que las enfermedades más comunes de la población no son las que responden a un patrón de herencia mendeliana, en su mayoría son enfermedades con un patrón de herencia complejo, en las que las mutaciones son comunes y para las que existe un elevado polimorfismo. Cada una de las mutaciones no es suficiente para promover el fenotipo de la enfermedad, sus efectos fenotípicos son escasos y dependen del ambiente y de la combinación con otros genes. En estos casos resulta complicado descubrir nuevos genes implicados en la expresión fenotípica. Por ello se han utilizado diferentes aproximaciones con eficacia demostrada en las enfermedades monogénicas. Este es el caso del barrido genómico con microsatélites, comentado anteriormente, que nos permite localizar la región cromosómica responsable.

De la misma forma que los estudios de terapia génica hasta ahora han producido resultados poco prometedores para las dislipidemias comunes, tampoco se están obteniendo buenos resultados en la búsqueda de nuevos genes que confieran predisposición para las enfermedades poligénicas.

A pesar del desarrollo de métodos estadísticos que permiten analizar todos los datos que proporciona el análisis genético, no somos capaces de asimilar la complejidad de los mismos. Debe tenerse en cuenta que no solo existen asociaciones genotipo-fenotipo y considerar otros canales de influencia, como el ambiental y las asociaciones entre genes. Debemos ser capaces de desarrollar algoritmos y técnicas estadísticas que faciliten la asimilación de la información disponible y entonces sí seremos capaces de recomponer la imagen final.

Referencias

- [1] Gibbons GF, Mitropoulos KA y Myant D: Biochemistry of cholesterol. Elsevier Biomedical, Amsterdam 1982.
- [2] Herrera E. Metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares. En Herrera E. Bioquímica: Aspectos estructurales y vías metabólicas. 2. Edición. Interamericana - Mc Graw Hill. Madrid 1991.
- [3] Grande F. El Hombre y la Máquina. Ensayos. Biblioteca Caja de Ahorros de Asturias. Oviedo 1991.
- [4] Fabiani F. Métodos recomendados para la determinación de lípidos en suero. Manual de las Clínicas de Lípidos Españolas. Sociedad Española de Arteriosclerosis. 1992.
- [5] Fieser LF y Fieser M. Steroids. Reinhold. Nueva York. 1959.
- [6] Stample E. The biosíntesis of steroids. En Bernfeld P. Biosíntesis of natural compounds. Pergamon Londres. 1963.
- [7] Vilaseca MA, Artuch R y Pineda M. Defectos de la biosíntesis del colesterol.: En Sanjurjo P, y Baldellou A. Diagnostico y tratamiento de las enfermedades metabólicas. Ediciones Ergon. Madrid. 2001.
- [8] Devaux PF. Static and dynamic lipid asymetry in cell membranas. Biochemistry 1991; 30: 1163.
- [9] Goldstein JL y Brown MS. The SREBP pathway: regulation of colesterol metabolism by proteolysis of a membrane –bound transcription factor. Cell 1997; 89; 331.
- [10] Hua X, Wu J, Goldstein JL, Brown MS y Hobbs HH. Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein 1 (SREBF-1) and localization of SREBF-1 and SREBF-2 to chromosome 17p11.2 and 22q13. Genomics 1995; 25; 667.
- [11] Brown MS y Goldstein JL. A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells and blood. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96:11041.
- [12] Witiak DT y Millar DD. Cholesterol adrenocorticoids and sex hormones. En Foye WO. Principles of medicinal chemistry. Lea & Febiger. Philadelphia.1974.
- [13] Blanc B. Biosynthèse des vitamines liposolubles. Masson & Cie. Paris 1973.
- [14] American Heart Association. Heart and stroke facts: 1994 statistical supplement, American Heart Association, Dallas, Texas1994.
- [15] Assmann G. in “Lipid Metabolism and Atherosclerosis” Schattauer Verlag GmbH, Stuttgart 1982.

- [16] Grande F. La hipótesis lipídica de la aterosclerosis. En "La Nutrición y La Salud". Fundación Príncipe de Asturias. Oviedo 1991
- [17] Macheboeuf MM. Etat des lipids dans le matière vivant. Thèse de Sciences . Paris 1928.
- [18] Havel RJ , Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955, 34:1345.
- [19] Keys A . Atherosclerosis: A problem in New Public Health. *J Mt Sinai Hosp. New York*1953; 20:118.
- [20] Keys A, Anderson JT y Grande F. Serum cholesterol response to changes in the diet. (I, II, III, IV) *Metabolism* 1965; 14: 747, 759, 766, 776.
- [21] Carbayo J A., Guardado R, Fernández H. y col. Alimentos mencionados en la novela - D. Quijote de la Mancha-. Aproximación a la composición dietética de los platos nombrados en el primer capítulo. IX Coloquio Internacional de la Asociación de Cervantistas.
- [22] Delplanque B, Richard JC y Jacotot B. Influence of diet on plasma levels and distribution of Apo A-I- containing lipoprotein particles. *Prog Lipid Res* 1991: 30: 159.
- [23] Mata P, Alvarez Sala LA, Rubio MJ, Nuño J y De Oya M. Effects of long-term monounsaturated vs polyunsaturated-enriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 846.
- [24] Ascaso JF, Serrano S, Martínez Valls J, Arbona C y Carmena R. Effects of dietary olive oil on plasma high density lipoproteins *Rev Clin Esp* 1987: 180: 486.
- [25] Civeira F, Pocoví M, Moreda A y col. Niveles de colesterol y triglicéridos, distribución de colesterol en una población laboral: (I y II) *Clin Invest Arteriosclerosis* 1990; 2: 43, 48.
- [26] Curtiss LK y Biosvert WA. Apolipoprotein E and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:243.
- [27] Soro A, Pajukanta P, Lilja HE y col. 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.
- [28] Iliadou A, Lichtenstein P, de Faire U y Pedersen NL. Variation in genetic and environmental influences in serum lipid and apolipoprotein levels across the lifespan in Swedish male and female twins. *Am J Med Genet* 2001; 102:48.
- [29] Imperatore G, Knowler WC, Pettit DJ y col.. A locus influencing total serum cholesterol on chromosome 19p: results from an autosomal genomic scan of serum lipid concentrations in Pima Indians. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:2651.

- [30] Shearman AM, Ordovas JM, Cupples LA y col. Evidence for a gene influencing the TG/HDL-C ratio on chromosome 7q32-qter: a genome-wide scan in the Framingham study. *Hum Mol Genet* 2000; 9:1315.
- [31] Goldstein JL, Hobbs HH y Brown MS. Familial hypercholesterolemia. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, y Valle D. *The metabolic and molecular basis of inherited disease* McGraw-Hill, Vol. II, Capítulo: 120. New York..2001.
- [32] Goldstein JL, Brown MS. The cholesterol quartet. *Science* 2001; 292: 1310.
- [33] Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B y col. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet.* 1999; 64: 1378.
- [34] Ciccarese M, Pacifico A, Tonolo G y col. A new locus for autosomal recessive hypercholesterolemia maps to human chromosome 15q25-q26. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 453.
- [35] Civeira F y Cenarro A. Relación entre fenotipo y genotipo en la hipercolesterolemia familiar monogénica. *Clin Invest Arteriosclerosis* 1997; 9: 23.
- [36] Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Brit Med J* 1991; 303: 893.
- [37] Koivisto PVI, Koivisto UM, Miettinen TA y col. Diagnosis of heterozygous familial hypercholesterolemia. DNA analysis complements clinical examination and analysis of serum lipid levels. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 584.
- [38] Umans-Eckenhuisen MAW, Defesche JC, Sijbrands EJG y col Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolemia in Netherlands. *Lancet* 2001; 357: 165.
- [39] WHO. Human Genetics Program. Familial Hypercholesterolaemia, a global perspective. WHO .Ginebra 1999.
- [40] Cenarro A, Civeira F, Casao E y col. Detección y caracterización de mutaciones en el gen del receptor de LDL en sujetos con hipercolesterolemia familiar por la técnica de SSCP. *Clin Invest Arteriosclerosis* 1995; 7: 135.
- [41] Cenarro A, Jensen HK, Civeira F y col. Two novel mutations in the LDL receptor gene: Common causes of familial hypercholesterolemia in a Spanish population. *Clin Genet* 1996; 49: 180.
- [42] Cenarro A, Jensen HK, Casao E y col. Identification of a novel mutation in exon 13 of the LDL receptor gene causing familial hypercholesterolemia in two Spanish families. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1316: 1.
- [43] Cenarro A, Jensen HK, Casao E, y col. Identification of recurrent and novel mutations in the LDL receptor gene in Spanish patients with familial hypercholesterolemia. *Hum Mutation* 1998; 11: 413.

- [44] Mozas P, Cenarro A, Civeira F y col. Mutation analysis in 36 unrelated Spanish subjects with familial Hypercholesterolemia: Identification of 3 novel mutations in the LDL receptor gene. *Hum Mutat* 2000; 15: 483-484.
- [45] Chaves FJ, Real JT, Garcia Garcia AB y col. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in a South European outbreed population. Influence of low density lipoprotein (LDL) receptor gene mutations on treatment response to simvastatin in total. LDL, and high-density lipoprotein cholesterol. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4926.
- [46] Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR y col. Association between a specific apoprotein B mutation and familial defective apo B-100. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 587.
- [47] Miserez A y Muller PY. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation emerged in the Mesolithic ancestor of Celtic peoples?. *Atherosclerosis* 2000; 148: 433.
- [48] Real JT, Chaves JF, Ascaso JF y col. Familial defective apo B-100 in subjects clinically diagnosed primary hypercholesterolemia: identification of a first family with this disorder in Spain. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 15.
- [49] Castillo S, Tejedor D, Mozas P y col. The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2002; 165:127-135.
- [50] Berge KE, Tian H, Graf GA y col. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290: 1771.
- [51] Bjorkhem K y Boberg KM. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols others than cholesterol. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, y Valle D. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7^a Edición. pg 2073-2099. McGraw-Hill. New York. 1995.
- [52] Lu K, Lee MH, Hazard S y col. 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: 278.
- [53] Garcia CK, Wilund K, Arca M y col. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001; 292: 1394.
- [54] Tajima S, Yamamura T y Yamamoto A. Analysis of apolipoprotein E5 gene from a patient with hypercholesterolemia. *J Biochem* 1988; 104: 48.
- [55] Adifadel M, Varret M, Rabés JP, y col Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hipercolesterolemia. *Nat Genet* 2003; 34: 154.
- [56] Genest JJ Jr, Martin-Munley SS, McNamara JR, y col. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992; 85: 2025.

- [57] Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, y col. Hyperlipidemia in coronary heart disease. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973; 52: 1544.
- [58] Bredie SJH, Demacker PNM y Stalenhoef AFH. Metabolic and genetic aspects of familial combined hyperlipidaemia with emphasis on low-density lipoprotein heterogeneity. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 802.
- [59] Pajukanta P, Terwilliger JD, Perola M y col. Genome wide 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.
- [60] Porkka KVK, Nuotio Y, Pajukanta P y col. Phenotype expression in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1997; 133: 245..
- [61] McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, Brunzell JD, Motulsky AG y Austin MA. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia: a 20-year prospective study. *Atherosclerosis* 2001; 159: 471.
- [62] Mahley RW y Rall SC. Type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): The role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, y Valle D. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases*. 7^a Edición pg 1953-1980. McGraw-Hill. New York. 1995.
- [63] Mahley RW, Huang Y y Rall SC. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res* 1999; 40: 1933.
- [64] Utermann G, Hees M y Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature* 1977; 269: 604.
- [65] Pocovi M, Cenarro A, Civeira F, y col. Incomplete dominance of type III hyperlipoproteinemia is associated with the rare apolipoprotein E2 (Arg136Ser) variant in multigenerational pedigree studies. *Atherosclerosis* 1996; 122: 33.
- [66] Civeira F, Pocovi M, Cenarro A y col. Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996; 127: 273.
- [67] Dobmeyer J, Lohrmann J y Feusner G. Prevalence and association of atherosclerosis at three different arterial sites in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996; 119: 89.
- [68] Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM y col. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nature Genet* 1999; 22: 236.
- [69] Clee SM, Kastelein JJP, van Dam M y col. Age and residual efflux affect HDL cholesterol levels and coronary artery disease in ABCA1 heterozygotes. *J Clin Invest* 2000; 106: 1263.

- [70] Pocoví M, Cenarro A, Civeira F y col. Beta-glucocerebrosidase gene locus as a link for Gaucher's disease and familial hypoalphalipoproteinemia. *Lancet* 1998; 351: 1919.
- [71] Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J y col. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997; 38:191.
- [72] Ordovás JM. Aspectos metabólicos y genéticos de las alteraciones de las lipoproteínas de alta densidad. Hipoalfa e hiperalfalipoproteinemias. En: Carmena R, Ordovás JM,. Hiperlipemias. Clínica y Tratamiento. Doyma, SA , Barcelona 1999.
- [73] García-Otín AL, Civeira F, Arístegui R y col.. Allelic polymorphism -491A/T in apo E gene modulates the lipid-lowering response in combined hyperlipidemia treatment. *Eur J Clin Invest* 2002; 32:421.
- [74] Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K y col. The apolipoprotein epsilon4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction: a substudy of the Scandinavian simvastatin survival study. *Circulation*. 2000;101:1366.
- [75] Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH y col. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med* 1998; 338:86..

