

Cincuenta años de estudio de las hiperlipidemias primarias: El caso de la Hiperlipidemia familiar combinada.

Carlos Aguilar-Salinas¹, Rita Gómez-Díaz² y María Teresa Tusié-Luna³

¹Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, México,

²Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica, UMAE Hospital de Especialidades, CMN-SXXI, IMSS, Col. Doctores, Deleg. Cuauhtémoc y

³Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.

Palabras clave: hiperlipidemia familiar combinada, apolipoproteína B, colesterol, triglicéridos, colesterol HDL.

Resumen. La hiperlipidemia familiar combinada (HLFC) es la dislipidemia primarias más frecuente en México. Se manifiesta por hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o la combinación de estos defectos. Pese a su frecuencia, pocas veces es diagnosticada con certidumbre. Se requiere del estudio de al menos tres familiares directos para corroborar el diagnóstico. En esta revisión se describen los avances ocurridos en los últimos años sobre la fisiopatología y diagnóstico de la hiperlipidemia familiar combinada. Estudios prospectivos han confirmado la aterogenicidad de la enfermedad. Por ser una enfermedad oligogénica es factible identificar los genes involucrados con los recursos ahora existentes. Gracias al uso de nuevas tecnologías, se han identificado regiones cromosómicas que determinan la concentración de la apolipoproteína B y se demostró que diferencias en la actividad o concentración de varios factores nucleares (USF1, TCF7L2, HNF4alfa) juegan un papel importante en la fisiopatología de la HLFC. Los factores nucleares antes mencionados regulan la expresión de múltiples genes que participan en el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

Fifty years studying hiperlipidemias: The case of familial combined hiperlipidemia.

Invest Clin 2010; 51(2): 145 - 158

Key words: Familial combined hiperlipidemia, apolipoprotein B, cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol.

Abstract. Familial combined hiperlipidemia (FCHL) is the most frequent primary dyslipidemia. Its manifestations include hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia or the combination of both abnormalities. In spite of its high frequency, the proper diagnosis is rarely done. For this purpose, the measurement of a lipid profile is required in at least three first-degree relatives. A critical review of the current literature in this field is presented in this paper. Prospective studies have confirmed the atherogenicity of the disease. It is possible to identify the FCHL causal genes with the current methodology because it is an oligogenic disease. Based on the use of new technologies, several loci that regulate apolipoprotein B concentrations have been identified. In addition it was demonstrated that variations of the activity or the expression of various nuclear factors (USF1, TCF7L2, HNF4alfa) have a major role in the pathophysiology of FCHL. These nuclear factors regulate the expression of multiple genes involved in the metabolism of lipids or carbohydrates.

INTRODUCCIÓN

Las hiperlipidemias primarias son un grupo de condiciones heterogéneas que tienen en común anormalidades en el transporte del colesterol y los triglicéridos sanguíneos. Pueden ser causa de aterosclerosis prematura, pancreatitis y de otras manifestaciones clínicas menos frecuentes. Su importancia reside en ser uno de los factores de riesgo cardiovascular modificables más frecuentes.

Varios hallazgos clínicos y bioquímicos precedieron la descripción de las hiperlipidemias primarias. La primera descripción de las lesiones clínicas resultantes de una hiperlipidemia (conocidos como xantomas) fue hecha en 1835 (1). La identificación de la relación xantomas/hiperlipidemias fue realizada en 1873 al hacer el análisis histo-

lógico y químico de los xantomas eruptivos que ocurrían en personas con un plasma de aspecto lechoso. En 1920, Gage observó al microscopio “unos gránulos finos” en la sangre. Tales estructuras eran los quilomicrones, las cuales son las lipoproteínas de mayor tamaño. Wilkinson en 1948 hace la primera descripción clínica de una hiperlipidemia primaria. Integra el cuadro clínico de la hipercolesterolemia familiar y lo publica en la revista *Annals of Internal Medicine*. Sin embargo, fue hasta la década de los años 60's en que nace el estudio de las hiperlipidemias gracias al desarrollo de los métodos de ultracentrifugación y cromatografía. En 1961 se comparan las lipoproteínas aisladas por ultracentrifugación de sujetos sanos contra las de personas con hiperlipidemia. En 1963 se identificó a la deficiencia de la lipasa lipoproteica como causa

de quilomicronemia. Cuatro años después se propuso la primera clasificación clínica de las dislipidemias basada en la electroforesis de lipoproteínas. El campo tuvo un crecimiento rápido; se describieron los fundamentos del metabolismo de las lipoproteínas en menos de 10 años. La identificación en los años 70s de algunos de los receptores que participan en la depuración de las lipoproteínas permitió conocer la causa de la hipercolesterolemia familiar. El estudio de las proteínas que dan estructura a las lipoproteínas hizo posible conocer la causa de la disbetalipoproteinemia (debida a la presencia de la apolipoproteína E4). Sin embargo, la contribución a nivel poblacional de las hiperlipidemias primarias monogénicas es pequeña. Por ello, muchos grupos han centrado su esfuerzo en estudiar las dislipidemias poligénicas durante las dos décadas más recientes. Múltiples genes regulan el metabolismo de las lipoproteínas. Estudios de asociación genética con múltiples marcadores realizados en los años 2008 y 2009 demuestran que al menos 43 loci participan en los procesos que determinan el número, el tamaño y la composición de las partículas (2). Mucho queda por ser descrito; solo la mitad de los loci contienen un gen con una función conocida relacionada al metabolismo de las lipoproteínas. Las variantes asociadas a las diversas anomalías lipídicas son frecuentes en la población, por lo que coexisten entre sí. La suma de sus efectos puede resultar en fenotipos identificables en la práctica clínica. Por lo tanto, las etiologías de las dislipidemias más frecuentes están aún por conocerse. En suma, el estudio de la hiperlipidemia se acerca a sus primeros cincuenta años de historia. Es una rama joven de la medicina, que ha crecido de la mano con el avance de la tecnología. Un ejemplo de ello, es el estudio de la hiperlipidemia familiar combinada, la cual es la hiperlipidemia primaria más frecuente.

LA HIPERLIPIDEMIA FAMILIAR COMBINADA. DEL FENOTIPO DEFINIDO POR CONSENSO A LA ENFERMEDAD OLIGOGÉNICA

A. Características clínicas

La hiperlipidemia familiar combinada (HLFC) es la forma más común de las dislipidemias de origen genético, con una prevalencia de 0,5% a 2% en la población general y de 14% entre los sujetos con enfermedad cardiovascular prematura (3-6). La HLFC participa en la patogénesis de cerca del 30-50% de los casos con cardiopatía isquémica en que existe agregación familiar. Debido a los criterios diagnósticos vigentes (descritos en los párrafos siguientes), no se conoce con certeza su prevalencia en estudios con representación poblacional. Sin embargo, sus manifestaciones más frecuentes (la hiperlipidemia mixta y la hipertrigliceridemia aislada) se presentan en un alto porcentaje de los adultos que viven en zonas urbanas (4). Al aplicar la definición propuesta por Sniderman (hipertrigliceridemia más apoB > percentila 90), la prevalencia en la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas de México (1993-1994) fue 8,1%. Es la hiperlipidemia más frecuente en la mayoría de las clínicas de lípidos (7). Su aterogenicidad ha sido demostrada por dos estudios prospectivos (8, 9).

Su descripción fue realizada en 1973 por Goldstein y Brown después de revisar más de 50 familias con historia de cardiopatía isquémica prematura. Fue reportada como la hiperlipidemia más común en los sobrevivientes de un infarto agudo del miocardio. Observaron que múltiples miembros de las familias tenían elevaciones moderadas de colesterol y/o triglicéridos y que el patrón de herencia era compatible con un modelo autosómico dominante (10). En 1987 se definieron los criterios para su diagnóstico, sin embargo, estos son aún motivo de controversia (11). Fue inicial-

mente caracterizada por tres fenotipos lipídicos: hipercolesterolemia (fenotipo II) hipertrigliceridemia (fenotipo IV) ó ambas (fenotipo II b). Se requiere la presencia de al menos un familiar con concentraciones altas de colesterol, otro con niveles anormales de triglicéridos y otro con ambos defectos. Por ello, para establecer el diagnóstico con certidumbre se requiere el estudio de cuantos miembros de la familia sean posibles. La ausencia de xantomas es un requisito indispensable para considerar un caso como afectado.

Otras características de la enfermedad permiten sospechar su presencia. Las concentraciones de la apoproteína B generalmente se encuentran por arriba de la percentila 90 del grupo étnico correspondiente. En México este punto de corte corresponde a 108 mg/dL en hombres y 99 mg/dL en mujeres (12). La elevación de colesterol-LDL y/o de los triglicéridos es moderada (pocas veces arriba de 300 mg/dL), sin embargo al combinarse con otras causas de dislipidemia pueden observarse niveles extremadamente altos de colesterol y/o triglicéridos. Un alto porcentaje de los casos tienen predominio de las subclases pequeñas y densas entre las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Esta característica es una de las explicaciones de la mayor aterogenicidad de la HLFC, ya que las subclases pequeñas y densas de las LDL's son un factor de riesgo independiente para sufrir eventos cardiovasculares.

La HLFC se caracteriza por tener fluctuaciones espontáneas en las concentraciones de colesterol y triglicéridos. Por ello, se puede encontrar alternancia entre hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, una dislipidemia mixta o incluso normalización de la concentración de los lípidos séricos en el mismo individuo sin que exista ningún cambio en sus condiciones clínicas. La causa de estas fluctuaciones se desconoce. Sin embargo, la normalización espontánea del per-

fil de lípidos no significa la desaparición del riesgo cardiovascular. McNeely y col. (8) demostraron que los individuos que tenían lípidos normales pero que habían sido considerados como afectados tenían una tasa de eventos cardiovasculares a 20 años similar a la de los sujetos hiperlipidémicos al diagnóstico. Esta aparente contradicción puede ser explicada por la presencia de la hiperapobetalipoproteinemia en la fase de aparente normalización de los lípidos séricos. La hiperapobetalipoproteinemia se caracteriza por niveles anormalmente altos de apolipoproteína B (> 120 mg/dL) en las LDL's y el predominio de las subclases pequeñas y densas de estas lipoproteínas. El contenido de colesterol en las LDL's pequeñas y densas es menor de lo normal, lo que explica que los valores de colesterol y colesterol-LDL se mantengan en límites normales. Esta condición se considera como una variante de la HLFC ya que comparte algunas de las alteraciones de la cinética de las lipoproteínas descritas en pacientes con HLFC.

En más de la mitad de los casos es posible demostrar la existencia de resistencia a la insulina y su frecuencia es mayor en pacientes diabéticos. Es la hiperlipidemia primaria más frecuente en pacientes con diabetes sobrevivientes a un infarto del miocardio; 64,7% de los casos coexiste con el síndrome metabólico (diagnosticado por los criterios del Programa Nacional de Educación en Colesterol del 2001). Un porcentaje similar fue informado en una cohorte de casos mexicanos por nuestro grupo de investigación (13). Algunos autores consideran a la HLFC como una variante del síndrome metabólico. Esta visión no es compartida por la mayoría ya que los niveles de la apoB y de lípidos sanguíneos encontrados en la hiperlipidemia familiar combinada la distinguen del síndrome metabólico. Las concentraciones de lípidos sanguíneos y en especial de la apoproteína B no pueden ser explicadas por la cantidad de grasa intraabdo-

minal o por la sensibilidad a la insulina en estudios transversales. Adicionalmente, existen diferencias significativas al comparar el coeficiente de regresión de las variables antes mencionadas entre la población general y la HLFC.

En niños de familias afectadas es difícil catalogar con certeza los casos anormales. Sus concentraciones de lípidos séricos son significativamente mayores que la observada en niños de familias sin HLFC; sin embargo, la diferencia no permite identificar los afectados al analizar caso por caso.

La aterogenicidad de la enfermedad ha sido demostrada por dos estudios prospectivos. Su mortalidad cardiovascular promedio a 10 años es de 18% (riesgo relativo 1,7 (IC 95% 1,1-2,7%, $p = 0,02$) (8,9).

B. Diagnóstico

Los criterios diagnósticos de la enfermedad aún son motivo de controversia, a pesar de haber sido descritos hace más de 20 años. La ausencia de un marcador genético ha sido sustituida por múltiples variantes de los criterios diagnósticos originales. Algunos autores han basado el diagnóstico en las concentraciones de colesterol, triglicéridos y de colesterol HDL; otros han incluido los niveles de la apolipoproteína B debido a la importancia de esta proteína en la patogénesis de la HLFC. Aún más, diferentes puntos de corte se han empleados para considerar como anormales las concentraciones de los lípidos séricos. La definición más frecuentemente utilizada es un valor de colesterol o triglicéridos mayor de la percentila 90 en el probando y al menos dos familiares. Varios autores resaltan la necesidad de incluir a la apolipoproteína B en los criterios diagnósticos.

Nuestro grupo evaluó la concordancia existente entre los diversos criterios diagnósticos (incluyendo o no la concentración de la apoB como criterio diagnóstico). Del Rincón y col. (14) demostraron que la con-

centración de apo B de 130 mg/dL, previamente establecido en otras publicaciones, es demasiado alto para la población mexicana. Además, la concordancia, medida como coeficientes kappa, entre 14 combinaciones de concentraciones de colesterol y de triglicéridos y 8 puntos de corte de la apo B fue poco satisfactoria. Se observó una falta de concordancia en la identificación de un sujeto como anormal cuando se aplicaron los diversos criterios diagnósticos. La concordancia de los criterios más frecuentemente empleados para la concentración de colesterol y triglicéridos ($\geq$ percentil 90) y todos las concentraciones de apoB incluidas en el análisis fue baja (kappa 0,42 a 0,49). Una concentración de triglicéridos ≥ 150 mg/dL y de colesterol ≥ 200 mg/dL fue el único criterio que tuvo una kappa moderadamente aceptable al evaluar su concordancia con una apo B ≥ 120 mg/dL (kappa = 0,604). Al analizar en conjunto los estudios que han incluido cohortes de pacientes con HLFC, aquellos en que utilizaron a la apolipoproteína B en el diagnóstico tuvieron menor dispersión en los lípidos séricos comparado contra los que basaron el diagnóstico en la concentración de colesterol y de triglicéridos (15). Con el fin de homologar los criterios diagnósticos, un consenso organizado por investigadores europeos y canadienses modificó la definición. Propusieron que el diagnóstico se establece en presencia de una concentración de triglicéridos mayor de 130 mg/dL y valores altos de apolipoproteína B (> 120 mg/dL) (16). Esta definición difiere del perfil clínico inicialmente propuesto para la HLFC: los casos con hipercolesterolemia no son considerados en esta definición. Es opinión de los autores que los criterios originales son los deben ser utilizados en la práctica clínica (la demostración de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y de una hiperlipidemia mixta en tres miembros distintos de una familia) ya que con su empleo se demostró la

aterogenicidad de la enfermedad y la asociación de la enfermedad a diversas regiones cromosómicas. Concentraciones altas de la apoB (por arriba de la percentila 90) pueden ser utilizadas como prueba confirmatoria. En los casos en que no sea posible coleccionar los elementos requeridos para establecer el diagnóstico, la existencia de hipertrigliceridemia más la evidencia de concentraciones altas de apoB y/o variaciones espontáneas del perfil de lípidos son datos que deben hacer sospechar el diagnóstico. Por lo anterior, es necesario enseñar al médico de primer contacto sobre la importancia de medir la concentración de los lípidos sanguíneos en todos los familiares de primer grado. Es el mejor método para hacer el diagnóstico de la HLFC. Los estudios de los familiares permiten identificar nuevos casos e iniciar el tratamiento antes de la aparición de las complicaciones macrovasculares.

C. Etiología

La etiología de la enfermedad se desconoce. Factores genéticos y ambientales parecen intervenir en su fisiopatología. Diversos grupos han buscado los genes causantes de la enfermedad, incluyendo el nuestro. La HLFC es una patología oligogénica (17). Es decir, los determinantes mayores del padecimiento se encuentran en un número relativamente pequeño de genes. Existe evidencia de la participación de varios *loci* en distintas familias y poblaciones. En la Tabla I se muestran los genes que han sido implicados en estudios genéticos recientes. El único de ellos que juega un papel mayor se localiza en la región 1q21-23 (18). Dos escaneos completos con múltiples marcadores identificaron un ligamiento positivo entre la HLFC y la región en cromosoma 1. Esta observación ha sido confirmada en familias norteamericanas, chinas, alemanas y finlandesas. Nuestro grupo, en colaboración con la Dra Paivi Pajukanta (Universi-

dad de California, Los Angeles (UCLA), confirmó la asociación de esta región cromosómica en siete familias (153 participantes, 64 casos afectados) (19). El marcador D1S104 (mismo empleado en otras poblaciones) tuvo un LOD score no paramétrico (NPL por sus siglas en inglés) de 3,06 ($p < 0,002$) para el fenotipo HLFC y de 2,58 ($p = 0,005$) para la concentración de triglicéridos. Este mismo locus ha sido asociado a varios componentes del síndrome metabólico y a la diabetes tipo 2. Diversos genes contenidos en esta región han sido estudiados como candidatos para explicar las asociaciones antes descritas. El gen *Hylip1* contenido en una región ortóloga del ratón a locus 1q21-23 del humano es causa de hiperlipidemia mixta. Sin embargo, el gen correspondiente en el humano (*TXNIP*) ha sido secuenciado en casos con HLFC sin encontrar defectos en él. Las evidencias son más sólidas para el gen *USF1* localizado a 1.5 Mb de distancia. Pajukanta y colaboradores demostraron ligamiento al locus que contiene a los genes *USF1* y del receptor F11 (localizado en linfocitos T, donde regula su migración; participa en las uniones estrechas de las células endoteliales) en familias finlandesas y holandesas. Se identificaron dos regiones del gen *USF1* con ligamiento positivo (*usf1s1* en el extremo 3' y *usf1s2* en el intron 7). El ligamiento fue significativo en los hombres. Estos resultados fueron replicados por nuestro grupo en 24 familias (20). Tres SNPs (hCV1459766, rs3737787 y rs2073658) están asociados al fenotipo HLFC y a la concentración de triglicéridos ($p < 0,05$ a $< 0,0009$). La extensión del locus con ligamiento positivo es menor al reportado por Pajukanta originalmente (14 kb vs. 46kb). El SNP rs3737787, el cual está localizado en el extremo 3' UTR del gen *USF1* es el marcador que se asocia con mayor consistencia a la HLFC.

El producto del gen *USF1* es un factor de transcripción que pertenece a la familia

TABLA I
GENES INVOLUCRADOS RECIENTEMENTE EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERLIPIDEMIA FAMILIAR COMBINADA

Gen	Función	Fuente de información
USF1	Factor nuclear que regula el metabolismo de lípidos y carbohidratos	Estudios de asociación con múltiples marcadores, estudios de expresión
TCF7L2	Factor nuclear que regula el metabolismo de lípidos y carbohidratos	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
HNF4 alfa	Factor nuclear que regula el metabolismo de lípidos y carbohidratos	Estudios de ligamiento
FADS3	Desconocida	Estudios de asociación con múltiples marcadores, estudios de expresión
ABCC6	Transportador relacionado con el metabolismo de lipoproteínas	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
GCLM	Depuración de las formas reactivas de oxígeno	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
PNPLA4	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
XPOT	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
STX6	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
IRF8	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
CPR8	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
C17orf91	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
HSD11B1	Metabolismo de glucocorticoides	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
AKT2	Cadena de señalización de la insulina y otras hormonas	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
SKP2	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
C17orf90	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
KIAA1026	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
PIGB	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
VPS45A	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
CLN5	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión
CARD8	Desconocida	Estudios de ligamiento, estudios de expresión

zipper hélice-asa-hélice leucina. Estudios en modelos animales (sobre-expresión del gen USF1 humano en ratones) demuestra que USF-1 es un modulador de la respuesta inmune, del metabolismo de lípidos y de carbohidratos. Junto con otro factor de transcripción (USF2) regula la transcripción de cerca de 40 genes. USF1 y USF2 forman un heterodímero, el cual se une a regiones del promotor (Caja-E) e inicia la transcripción de distintos genes tales como el gen de la apoAV, apoC-III, ApoA-II, ApoE, lipasa sensible a hormonas, sintasa de ácidos grasos, acetilCoA carboxilasa, renina, angiotensinógeno, glucocinasa, receptor de glucagón, insulina, ghrelina, la desaturasa de ácidos grasos tipo 3 y la piruvato cinasa hepática. En presencia de insulina, el heterodímero es fosforilado y pierde su capacidad para unirse al promotor. Naukkarinen y col. demostraron que el polimorfismo de nucleótido único rs2073658 (el cual esta asociado a la HLFC y a la concentración de triglicéridos en varias poblaciones) se asocia a una menor expresión de USF1 en respuesta a la insulina en el tejido muscular y adiposo. Para confirmar la participación de USF1 en la fisiopatología de la HLFC se compararon los patrones de expresión en biopsias de grasa subcutánea de 70 pacientes con HLFC y sus controles (21). Se realizó un análisis de co-expresión con el programa de computación NEO (Network Edge Orienting), el cual permitió identificar módulos o grupos de genes que son regulados por factores comunes. Se observó la expresión diferencial de 2189 genes entre los casos y los controles. Al agruparlos en módulos, dos módulos estuvieron asociados a la HLFC y a la hipertrigliceridemia. Se realizó el mismo análisis dividiendo a la población por la presencia del alelo de riesgo de USF1 (SNP rs3737787). Se encontró que el alelo de riesgo se asoció a diferencias en la expresión de los mismos módulos relacionados a la HLFC. Uno de los módulos, deno-

minado URFA (USF1-regulated, FCHL associated) contiene 504 genes. En la población estudiada, el módulo URFA explica una porción significativa de las variables relacionadas a la HLFC (fenotipo HLFC 10%, colesterol 6%, triglicéridos 17% y apolipoproteína B 9%). Se identificaron 18 genes potencialmente causales para la HLFC y 171 genes relacionados a la concentración de triglicéridos. Trece genes están relacionados con ambos genotipos. Entre los 18 genes relacionados con la HLFC se encuentra FADS3 (Desaturasa de ácidos grasos tipo 3), el cual fue identificado en un escrutinio del genoma con múltiples marcadores como determinante de la concentración de triglicéridos. Las desaturasas de ácidos grasos participan en la síntesis de los ácidos grasos omega-3 y -6. La función de FADS3 no es conocida, sin embargo tiene homología con FADS-1 y -2 (52 y 62% respectivamente). Se confirmó la asociación de los alelos de FADS3 con la concentración de triglicéridos en nuestra población y se demostró que la expresión del gen en el tejido adiposo se asocia con el fenotipo HLFC. De los 17 genes restantes asociados al fenotipo HLFC contenidos en el módulo URFA, tres de ellos tienen funciones conocidas en el metabolismo lipídico (ABCC6, AKT2, HSD11B1) y uno más que puede estar relacionado por su homología con otra enzima (PNPLA4). Otros cuatro participan en vías inflamatorias o en la formación de especies reactivas de oxígeno (CARD8, ICSBP1, STX6 y GCLM).

Otros *loci* han sido asociados con la HLFC. Pajukanta y col. identificaron ligamiento con varios loci (10q11.2-10qter, 2q31,9p,10p,10q y 21q21) en familias finlandesas. Otras regiones con ligamiento positivo en otros estudios son 6p, 8p,11p14, 16q24, 17p11-21 y 20q12-q13.1. Algunos loci o genes merecen especial mención. TCF7L2 es un factor de transcripción que juega un papel importante en la vía de seña-

lización WNT. Las proteínas WNT regulan la proliferación y la diferenciación celular mediante la activación o represión de múltiples genes; algunos de ellos participan en el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Las variantes rs7903146 and rs12255372 del gen TCF7L2 han sido asociadas con un riesgo mayor de diabetes tipo 2 en múltiples poblaciones. Debido a la coexistencia frecuente de la HLFC y la diabetes, Huertas Vazquez y col. (22) exploraron si las variantes rs7903146 and rs12255372 se asocian a algunos de los fenotipos relacionados a la HLFC en familias mexicanas y finlandesas. Se observó asociación de los alelos de riesgo con la concentración de triglicéridos en la población mexicana; el hallazgo fue replicado en los finlandeses. Se encontraron diferencias en la expresión de TCF7L2 en el tejido adiposo subcutáneo al dividir a la población por la presencia del alelo de susceptibilidad. La misma diferencia se encontró al comparar casos y controles. Estos datos sugieren que TCF7L2 participa en la fisiopatología de la HLFC.

Por otra parte, el ligamiento encontrado en la región 20q12-q13.1 es debido a la presencia del gen HNF4alfa (gen causal de una de las variantes de la diabetes MODY y que regula la expresión de la apoB). Nuestro grupo identificó al HNF4alfa como un determinante de la concentración del colesterol y los triglicéridos en pacientes con HLFC de México y Finlandia (23). En esta última población además se encontró asociación con el síndrome metabólico. Los haplotipos asociados con la dislipidemia fueron los mismos en ambas poblaciones. HNF4alfa es un regulador transcripcional de USF1, el gen más importante identificado a la fecha relacionado a la HLFC.

Algunas de estas asociaciones son estadísticamente significativas para sólo uno o dos de los componentes del perfil de lípidos. Por ejemplo, existe asociación entre la concentración de triglicéridos y el locus

10p11.2; sin embargo, la apoB no se asoció con esta región; esta última variable tuvo ligamiento positivo para el locus 21q21. Estos datos sugieren que más de una región cromosómica participa en la fisiopatología de la enfermedad. Estos resultados pueden ser debidos a la heterogeneidad de la HLFC, a variaciones étnicas o a problemas metodológicos.

Con el fin de aclarar algunas de las asociaciones inconsistentes y generar información para la población latinoamericana, nuestro grupo realiza un escrutinio completo del genoma con múltiples marcadores (24). La población está compuesta por 52 familias (n=567) y se analizaron 5721 SNPs. En un reporte preliminar se informó una asociación entre la concentración de la apolipoproteína B con los loci rs1424032 (cromosoma 16q21) y rs1349411 (cromosoma 12p13.31). Las asociaciones fueron replicadas en un grupo de casos con hipertrigliceridemia y sus respectivos controles. El locus 16q21 es una región no codificante altamente conservada entre las especies. El locus 12p13.31 locus incluye al gen *APOBEC1*, quien codifica la enzima que edita el mRNA de la apoB en el enterocito.

La información antes descrita se une al conocimiento disponible en la década de los 90s. Mutaciones en los genes de las lipasas hepática y lipoproteica también han sido descritas, sin demostrar en forma concluyente que jueguen un papel en la fisiopatología de la enfermedad. Estudios de ligamiento han implicado otros genes en la fisiopatología de la HLFC (como el cluster ApoAI/CIII/AIV/AV, LCAT y PPAR alfa).

D. Fisiopatología

La HLFC es un síndrome, en el que se incluye a la hiperapobetalipoproteinemia y casos con tasas elevadas o normales de la producción hepática de la apoproteína B. En la Fig. 1 se resumen las alteraciones fisiopatológicas de la HLFC. En la mayoría de

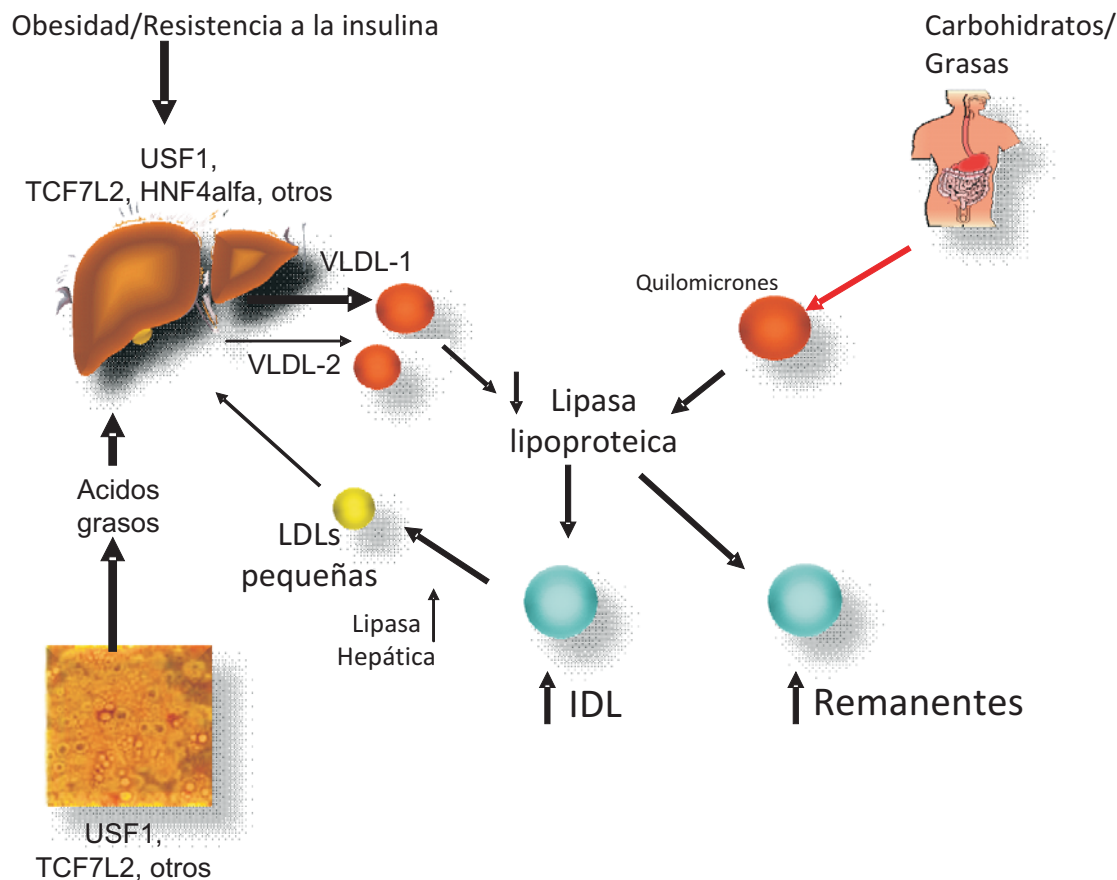


Fig. 1. Fisiopatología de la hiperlipidemia familiar combinada (HLFC). La anomalía primaria es el aumento de producción hepática de la apoproteína B (y en consecuencia de las lipoproteínas de muy baja densidad (conocidas también como VLDL's)) en la mayoría de los casos. La explicación de este fenómeno se desconoce con certeza. Sin embargo, un posible mecanismo es el aumento de la concentración de ácidos grasos libres, los cuales aumentan la expresión del gen de la apoB en el hígado y favorecen la síntesis y secreción hepática de lipoproteínas. Se ha demostrado disminución de la captación de los ácidos grasos en hígado y fibroblastos en pacientes con HLFC y aumento de la lipólisis explicado por resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina está presente en más de la mitad de los casos y ser uno de los mecanismos principales para explicar el aumento de la concentración de ácidos grasos. La resistencia a la insulina no es el mecanismo principal para explicar la dislipidemia de la HLFC, sin embargo puede ser una de los fenómenos que contribuyen al aumento de la concentración hepática de lipoproteínas y de los ácidos grasos libres. A los cambios en la producción hepática de lipoproteínas se unen defectos en sus vías de eliminación. Existe disminución en la actividad de la lipasa lipoproteica, enzima encargada de la lipólisis de las VLDL. La menor actividad de la enzima puede ser debida a la resistencia a la insulina o a las concentraciones anormalmente altas de ácidos grasos quienes son inhibidores de la actividad de la lipasa. La actividad de la lipasa hepática, aumentada por la resistencia a la insulina, favorece la aparición de la LDL's pequeñas y densas, al degradar los triglicéridos de las LDL e IDL. Las LDLs pequeñas y densas tienen un contenido menor de colesterol, por lo que su acumulación no causa una elevación marcada de la concentración de colesterol. Se ignoran los mecanismos que determinan las fluctuaciones espontáneas de las concentraciones de los lípidos sanguíneos, el cual es un rasgo característico de la HLFC.

los casos en que se ha medido la cinética de las lipoproteínas se ha demostrado un aumento de producción hepática de la apoproteína B en consecuencia de las lipoproteínas de muy baja densidad (conocidas también como VLDL's)). La explicación de este fenómeno se desconoce con certeza. Sin embargo, un posible mecanismo es el aumento de la concentración de ácidos grasos libres, los cuales aumentan la expresión del gen de la apoB en el hígado y favorecen la síntesis y secreción hepática de lipoproteínas. Se ha demostrado disminución de la captación de los ácidos grasos en hígado y fibroblastos en pacientes con HLFC y aumento de la lipólisis explicado por resistencia a la insulina. El aumento de la concentración de los ácidos grasos es aún mayor en el periodo post-prandial. El papel de USF-1, TCF7L2 y HNF4alfa en la fisiopatología de la HLFC está por ser descrito. Sin embargo, es posible proponer que regulan la lipogénesis y la utilización de los ácidos grasos circulantes. La resistencia a la insulina parece estar presente en más de la mitad de los casos y ser uno de los mecanismos principales para explicar el aumento de la concentración de ácidos grasos. Purnell y col. (25), empleando mediciones de grasa visceral en sujetos con HFC por medio de tomografía demostraron que los sujetos con HFC tienen acúmulo de grasa visceral. Sin embargo, al emplear un modelo multivariado, ni el aumento de la grasa visceral o la resistencia a la insulina explican las anomalías en el perfil de lípidos. Esta observación sugiere que la resistencia a la insulina no es el mecanismo principal para explicar la dislipidemia de la HLFC, sin embargo contribuye al aumento de la concentración de ácidos grasos libres. El contenido excesivo de ácidos grasos en el hígado determinan un aumento de la síntesis de triglicéridos y de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Las partículas resultantes (conocidas como VLDL-1) tienen una canti-

dad mayor de triglicéridos, lo que aumenta su tamaño y facilita su conversión en partículas aterogénicas (LDLs pequeñas y densas). Las VLDL-1 tienen una vida media mayor y son objeto de la acción repetida de las enzimas lipolíticas (la lipasa lipoproteica y la lipasa hepática) lo que modifica la composición y catabolismo de las lipoproteínas resultantes.

A los cambios en la producción hepática de lipoproteínas se unen defectos en sus vías de eliminación. Existe disminución en la actividad de la lipasa lipoproteica, enzima encargada de la lipólisis de las VLDL. La menor actividad de la enzima puede ser debida a la resistencia a la insulina o a las concentraciones anormalmente altas de ácidos grasos que son inhibidores de la actividad de la lipasa. La actividad de la lipasa hepática, la cual está aumentada por la resistencia a la insulina, favorece la aparición de las LDL's pequeñas y densas al degradar los triglicéridos de las LDL e IDL. Para que la aparición de las LDL pequeñas y densas sea posible, se requiere de la existencia de una concentración de triglicéridos mayor de 130 mg/dL junto a un aumento de la actividad de la lipasa hepática. El predominio de las LDLs pequeñas y densas es una característica de la HLFC. Su presencia determina que la magnitud de la hipercolesterolemia sea moderada ya que tienen una concentración de colesterol menor a lo normal. Esta característica explica, además, la disociación existente entre las concentraciones de colesterol LDL y de la apolipoproteína B observada en la HLFC. A su vez, es un factor que contribuye a la aterogenicidad de la enfermedad debido a que las LDLs pequeñas y densas tienen una menor tasa de depuración (por cambios en la conformación de la apolipoproteína B) y menor resistencia a la oxidación. Como resultado, la probabilidad de ser acumuladas en el espacio subendotelial es mayor para las subclases pequeñas y densas de las LDLs.

No todos los pacientes con HLFC tienen aumento en la tasa de secreción hepática de lipoproteínas. Aguilar Salinas y col. (26) describieron una familia con hiperlipidemia familiar combinada en quienes se midió la cinética de las lipoproteínas que contienen la apoproteína B; ninguno de sus miembros tenía sobreproducción hepática de lipoproteínas. En estos casos, la hiperlipidemia se explicó por disminución en el catabolismo de las VLDL's y de las LDL's. El mismo defecto metabólico se observó en todos los individuos sin importar el patrón de lípidos existente. Este dato sugiere que defectos adicionales en la composición de las lipoproteínas deben contribuir en la expresión fenotípica de la enfermedad. Estos hallazgos son una prueba de la heterogeneidad de la enfermedad.

CONCLUSIONES

La HLFC es la hiperlipidemia primaria más común. El riesgo cardiovascular inherente a su presencia ha sido demostrado en estudios prospectivos. A pesar de ello, el conocimiento que tiene el médico de primer contacto y el público sobre este padecimiento es insuficiente. La HLFC es un modelo de dislipidemia en el que la investigación clínica y bioquímica puede dar mayores beneficios. Por ser una enfermedad oligogénica es factible identificar los genes involucrados con los recursos ahora existentes. Gracias al avance ocurrido en las dos décadas más recientes, se han identificado regiones cromosómicas que determinan la concentración de la apolipoproteína B y se demostró que diferencias en la actividad o concentración de varios factores nucleares (USF1, TCF7L2, HNF4alfa) juegan un papel importante en la fisiopatología de la HLFC. Se requerirán de estudios genéticos (asociación con múltiples marcadores), bioquímicos (cinética de lipoproteínas usando isóto-

pos estables) y de expresión (en biopsias de grasa o hígado) llevados a cabo en poblaciones homogéneas para lograr una caracterización completa de su fisiopatología. De igual importancia es difundir su existencia entre los médicos de primer contacto para que la HLFC pueda ser tratada en forma correcta y oportuna.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud por sus contribuciones a los integrantes del Departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición así como de la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición y del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Además, agradecemos la confianza y colaboración de nuestros pacientes. Finalmente, reconocemos y agradecemos la extraordinaria colaboración que entablamos con la Dra Paivi Pajukanta (Universidad de California, Los Ángeles, USA).

REFERENCIAS

1. **Fredrickson DS, Levy RI.** Familial hyperlipoproteinemia. En: The metabolic basis of inherited disease. Ed Stanbury J, Wyngaarden J, Frederickson D. Mc Graw Hill Book Co. New York 30. Edición 1972. P545-614.
2. **Chasman DI, Pare G, Mora S, Hopewell JC, Peloso G, Clarke R, Cupples LA, Hamsten A, Kathiresan S, Mälarstig A, Ordovas JM, Ripatti S, Parker A, Miletich J, Ridker PM.** Forty-three loci associated with plasma lipoprotein size, concentration, and cholesterol content in genome-wide analysis. *PLoS genet* 5(11): e1000730. doi:10.1371/journal.pgen.1000730.
3. **Davignon J, Genest J.** Genetics of lipoprotein disorders. *Endoc Metab Clin North Am* 1998; 27:521-534.

4. **Arner P.** Is familial combined hyperlipidaemia a genetic disorder of adipose tissue? *Curr Opin Lipidol* 1997; 8:89-94.
5. **Bredie SJ, Demacker PN, Stalenhoef AF.** Metabolic and genetic aspects of familial combined hyperlipidaemia with emphasis on low-density lipoprotein heterogeneity. *Eur J Clin Invest* 1997; 27:802-811.
6. **Aguilar-Salinas CA, Olaiz G, Valles V, Ríos JM, Gómez Pérez FJ, Rull JA, Rojas R, Franco A, Sepúlveda J.** High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nation wide survey. *J Lipid Res* 2001; 42:1298-1307.
7. **Aguilar-Salinas CA, Huertas A, Tusie MT, Gómez-Pérez FJ, Rull JA.** Hiperlipidemia familiar combinada. *Rev Endocrinol Nutr* 2002; 10:58-62.
8. **Mc Neely M, Edwards K, Marcovina S, Brunzell J, Motulsky A, Austin M.** Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001; 159:471-481.
9. **Austin M, McKnight B, Edward K.** Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: A 20 year prospective study. *Circulation* 2000; 101:2777-2782.
10. **Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WT, Bierman EL, Motulsky AG.** Hyperlipidemia in coronary heart disease. II: genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973; 52:1544-1568.
11. **Grundy SM, Chait A, Brunzell JD.** Familial Combined Hyperlipidemia Workshop. *Arteriosclerosis* 1987; 7:203-207.
12. **Valles V, Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Rojas R, Franco A, Olaiz G, Rull JA, Sepúlveda J.** Apolipoprotein B and AI distribution in the Mexican urban adults: Results of a Nation-Wide Survey. *Metabolism* 2002; 51:560-568.
13. **Zamora M, Aguilar-Salinas CA, Gomez-Pérez FJ.** Prevalencia del síndrome metabólico en la hiperlipidemia familiar combinada. *Rev Endocrinol Nutr* 2004; 12:46-50.
14. **Del Rincón-Jarero JP, Aguilar-Salinas CA, Guillén-Pineda LE, Gómez-Pérez FJ, Rull JA.** Lack of agreement between the plasma lipid based criteria and the apoprotein B for the diagnosis of Familial Combined Hyperlipidemia (FCHL) in members of FCHL kindreds. *Metabolism* 2002; 51:218-224.
15. **Aguilar-Salinas CA, Zamora M, Gómez-Díaz RA, Mehta R, Gómez-Pérez FJ, Rull JA.** Familial combined hyperlipidemia: controversial aspects of its diagnosis and pathogenesis. *Semin Vasc Med* 2004; 4: 203-209.
16. **Sniderman AD, Castro-Cabezas M, Ribalta J, Carmena R, de Bruin TWA, de Graaf JA.** proposal to redefine familial combined hyperlipidemia-Third workshop on FCHL. *Eur J Clin Invest* 2002; 32:71-73.
17. **Naukkarinen J, Ehnholm C, Peltonen L.** Genetics of familial combined hyperlipidemia. *Cur Opinion Lipidol.* 2006; 17:285-290.
18. **Lee J, Lusi A, Pajukanta P.** Familial combined hyperlipidemia: upstream transcription factor 1 and beyond. *Cur Opinion Lipidol.* 2006; 17:101-109.
19. **Huertas-Vázquez A, del Rincón-Jarero JP, Canizales-Quinteros S, Vega-Hernández G, Riba L, Ramírez-Jiménez S, Aguilar-Salinas CA, Gómez Pérez FJ, Tusié-Luna MT.** Replication of linkage of familial combined hyperlipidemia to chromosome 1q21-q23 in mexican families. *Ann Hum Genet* 2004; 68(pte5):419-427.
20. **Huertas-Vazquez A, Aguilar-Salinas C, Lusi A, Cantor R, Canizales A, Lee J, Tusié-Luna MT.** Familial combined hyperlipidemia in mexicans. Association with upstream transcription factor 1 and linkage on chromosome 16q24.1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:1985-1991.
21. **Plaisier CL, Horvath S, Huertas-Vazquez A, Cruz-Bautista I, Herrera MF, Tusie-Luna T, Aguilar-Salinas C, Pajukanta P.** A systems genetics approach implicates USF1, FADS3, and other causal candidate genes for familial combined hyperlipidemia. *PLoS Genet.* 2009 Sep;5(9): e1000642. Epub 2009; Sep 11.
22. **Huertas-Vazquez A, Plaisier C, Weissglas-Volkov D, Canizales-Quinteros**

- S, Cruz-Bautista I, Nikkola E, Herrera-Hernandez M, Davila-Cervantes A, Tusie-Luna MT, Taskinen MR, Aguilar-Salinas CA, Pajukanta P. TCF7L2 is associated with high serum triglycerides and differentially expressed in adipose tissue in families with familial combined hyperlipidemia. *Diabetologia* 2008; 51:62-69.
23. Weissglas D, Huertas Vazquez A, Canizalez S, Suviolahti E, Lee J, Aguilar Salinas CA, Tusie-Luna MT, Pajukanta P. Common hepatic nuclear factor 4 alpha variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2006; 55:1970-1977.
24. Weissglas-Volkov D, Plaisier C, Huertas-Vazquez A, Cruz-Bautista I, Riaño-Barros D, Herrera-Hernandez M, Riba L, Cantor R, Sinsheimer J, Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna MT, Pajukanta P. Identification of two common variants contributing to serum apolipoprotein B levels in mexicans. *Arteriosclerosis Thromb Vase Biol* 2010; 30: 353-359.
25. Purnell J, Kahn S, Schwartz R, Brunzell R. Relationship of insulin sensitivity and apoB levels to intrabdominal fat in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2001; 21:567-572.
26. Aguilar-Salinas CA, Barrett HP, Pulai j, Zhu X, Schonfeld G. A familial combined hyperlipidemic kindred with impaired apolipoprotein B catabolism. Kinetics of apolipoprotein B during placebo and pravastatin therapy. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 1997; 17:72-82.