

# Mutación en el gen de apolipoproteína B responsable de hipercolesterolemia familiar: primeros dos casos clínicos reportados en Uruguay

Dres. Patricia Esperón, Víctor Raggio, Mariana Lorenzo, Mario Stoll

## Resumen

**Introducción:** la apolipoproteína B100 defectuosa familiar, debida a la mutación R3500Q en el gen de la apolipoproteína B es una causa conocida de hipercolesterolemia familiar heterocigota. Su frecuencia varía entre 1:500 y 1:700 en distintas poblaciones europeas. Se dispone de escasa información referente a su frecuencia en Uruguay y América Latina.

**Casos clínicos:** en este trabajo se describe el hallazgo, realizado por vez primera en Uruguay, de dos pacientes con hipercolesterolemia familiar dominante con la presencia de la mutación R3500Q de la proteína ApoB. Para su hallazgo, se analizó un grupo de pacientes (n=96) de la Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular (CHSCV), con criterios clínicos y bioquímicos de hipercolesterolemia familiar heterocigota. Se realizó estudio molecular para la mutación R3500Q mediante la reacción en cadena de la polimerasa y posterior digestión con enzimas de restricción.

**Conclusiones:** hemos encontrado dos primeros casos de HFh con una genética que explica su fenotipo debido a la mutación R3500Q en el gen ApoB. Por medio de esta estrategia, mostramos que el análisis genético ayuda a la estratificación de pacientes en riesgo, permite el diagnóstico familiar y constituiría el primer paso en el algoritmo diagnóstico etiológico de las hipercolesterolemias dominantes.

**Palabras clave:** MUTACIÓN  
HIPERCOLESTEROLEMIA  
INFORMES DE CASOS

**Key words:** MUTATION  
HIPERCOLESTEROLEMIA  
CASE REPORTS

## Introducción

La hipercolesterolemia familiar (HF) (OMIM #143890) es una enfermedad hereditaria, autosómica dominante, con una prevalencia global en su forma heterocigota (HFh), de 1/500 individuos en poblaciones occidentales. Se caracteriza por una marcada elevación del LDL-colesterol (LDL-C) sérico, xantomas tendinosos, xantelasmas, halo corneal y evolución temprana a la enfermedad coronaria, especialmente en el varón. La presentación homocigota es menos frecuente, 1/1.000.000 de individuos, de mayor gravedad clínica y generalmente producto de uniones intrafamiliares<sup>(1)</sup>.

El depósito de LDL-C en las paredes arteriales

conduce a que la HFh sea el principal factor de riesgo conocido para el desarrollo de enfermedad cardiovascular (ECV) precoz. Aproximadamente 20% de las mujeres y 45% de los hombres afectados presentan aterosclerosis coronaria antes de los 50 años y se estima que 5%-10% de las muertes por ECV precoz son causadas por HFh<sup>(2)</sup>. Los criterios diagnósticos presuntivos incluyen antecedentes personales y familiares de aterosclerosis temprana, y niveles de LDL-C elevados<sup>(3-5)</sup>. El score MEDPED (Make Early Diagnosis, Prevent Early Death) de la OMS, integra dicha información, categorizando a los individuos según la probabilidad de tener HFh, con un valor predictivo positivo de 80%<sup>(4,6)</sup>.

---

Área de Genética Molecular, Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular.

Correspondencia: Dr. Mario Stoll. Bvar. Artigas 2358, CP 11800, Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: gmstoll@cardiosalud.org

Recibido mayo 8, aceptado agosto 4, 2013

Si bien la causa principal de HFh (entre 85% y 95%) corresponde a defectos estructurales y/o funcionales en el receptor de lipoproteínas de baja densidad debido a mutaciones en su gen LDLR (receptor de LDL, OMIM #606945)<sup>(7)</sup>, las mutaciones en el gene de apolipoproteína B son la segunda causa conocida con una frecuencia de entre 5% y 15%, especialmente en poblaciones europeas. La hipercolesterolemia tipo B (OMIM #144010) debida a una apolipoproteína B defectuosa (FDB)<sup>(8)</sup>, está asociada con un aumento entre moderado y severo en la concentración del LDL-C plasmático y con la aparición de aterosclerosis prematura<sup>(9,10)</sup>. En mucho menor frecuencia (menor de 1%), se encuentra la hipercolesterolemia autosómica dominante 3 (OMIM #603776), causada por mutaciones en el gene PCSK9<sup>(11)</sup> y otros loci<sup>(12)</sup>.

La apolipoproteína B (ApoB) es uno de los componentes principales de las lipoproteínas VLDL y LDL, responsables del transporte de colesterol en la sangre, y actúa como ligando para el receptor de LDL, encargado de realizar el *clearance* de LDL de la circulación.

El gen ApoB se encuentra en el brazo corto del cromosoma 2 (2p24) y codifica dos isoformas proteicas por *splicing* alternativo: ApoB-100 y ApoB-48. Mientras que la ApoB-100 es expresada y secretada principalmente por el hepatocito, la ApoB-48 es sintetizada en el intestino. Los desórdenes genéticos en la ApoB-100 causan el síndrome FDB (*familial defective ApoB-100*), con una frecuencia estimada entre 1/500 a 1/700, con frecuencias más altas en poblaciones centroeuropeas y más bajas en poblaciones mediterráneas. La mutación más frecuente, en estas poblaciones, es la transición G>A que conduce al cambio aminoacídico R3500Q (y nombrada con un número de referencia unívoco rs5742904). Esto produce una ApoB-100 con un cambio conformacional en la región de unión al receptor de LDL, lo que provoca una falla en la unión a éste<sup>(13,14)</sup>. Como la partícula de LDL tiene una sola molécula de ApoB, los portadores heterocigotas de la mutación tienen una mezcla de partículas con ApoB normal y ApoB defectuosa que afecta su capacidad de sustraer LDL de la circulación. La presencia de FDB produce una hipercolesterolemia clínicamente más benigna que la determinada por mutaciones en el LDLR y en un ambiente genético y nutricional adecuado, da lugar a un síndrome clínico indistinguible de una clásica HF heterocigota.

Los datos sobre la epidemiología molecular de la HFh (tanto debido a defectos en LDLR como de ApoB o PCSK9) son escasos en Uruguay así como en el resto de América Latina. Esta información tiene implicancias prácticas ya que el diagnóstico molecu-

lar es el mejor instrumento para identificar a los familiares afectados y presenta ventajas sobre el diagnóstico basado únicamente en el perfil lipídico, especialmente en niños y adultos jóvenes<sup>(15)</sup>. El Área Genética Molecular de la CHSCV viene desarrollando desde el año 2004 un programa piloto para la identificación de individuos con diagnóstico clínico de HFh, el relevamiento del grupo familiar, el registro de la población en riesgo eventual y la determinación de las causas moleculares de la afección<sup>(16,17)</sup>, mediante un *screening* en cascada<sup>(18,19)</sup>. Como parte de este programa se identificaron dos familias no emparentadas con diagnóstico presuntivo de HFh en las que se realizó el diagnóstico molecular positivo de la mutación R3500Q de ApoB-100.

## Presentación de casos

### Pacientes y métodos

Los dos casos que describiremos surgen del análisis de 96 pacientes con hipercolesterolemia familiar provenientes de diferentes policlínicas como son cardiología, enfermedades metabólicas, endocrinología, diabetología y pediatría, tanto de Montevideo como del Interior. Todos cumplieron los criterios clínicos para el diagnóstico de HFh y fueron categorizados por el score MEDPED holandés, recomendado por la OMS para HFh. Consiste en un sistema de puntuación que incluye los niveles LDL-C individuales y familiares, la historia de las enfermedades cardiovasculares (arterias coronarias, carótidas y periféricas), y la presencia de arco corneal antes de cumplir los 5 años, xantomas, y la detección de mutaciones funcionales en el gen LDLR. Como resultado se logra caracterizar al individuo como cierto, probable o posible<sup>(20)</sup>. Toda la información sobre el individuo y los factores de riesgo para aterosclerosis fue recabada y su historia familiar fue evaluada usando un cuestionario diseñado por el Área de Genética Molecular de la CHSCV.

Los procedimientos seguidos están de acuerdo con la Declaración de Helsinki de 1975 en la versión revisada de 1983. En todos los casos se obtuvo consentimiento informado.

Los criterios de inclusión y la estrategia general de nuestro trabajo ya fueron publicados<sup>(21)</sup>. Los criterios clínicos generales para identificar los pacientes con HF están basados en: historia familiar de hipercolesterolemia (en especial en niños), concentraciones altas de cLDL depósitos en tejidos extravasculares como xantomas tendinosos, xantelasmas periorbitales y arco corneal, y fundamentalmente una historia personal y familiar de enfermedad coronaria prematura. En cuanto al perfil lipídico, los

pacientes heterocigotos tienen habitualmente concentraciones de cLDL (CT > 290 mg/dL, LDL > 190 mg/dL) mientras que los triglicéridos plasmáticos se encuentran en el rango de normalidad. Entre los signos físicos los xantomas tendinosos en tendón de Aquiles y extensores de la mano son un fuerte indicador cuando están presentes antes de los 45 años. En especial, es importante considerar que, frente a casos de FDB, los valores de colesterol son levemente inferiores a los debidos a mutaciones en el gen LDLR (CT  $357 \pm 37$  frente a  $415 \pm 80$  mg/dl; y cLDL  $270 \pm 34$  frente a  $355 \pm 72$  mg/dl)<sup>(22)</sup>. Otro dato a considerar es el origen de los pacientes, lo que puede seguirse por los apellidos. Se trata de una mutación que tiene más de 6.000 años de antigüedad y que es propia de los países de Centroeuropa, Gran Bretaña e Irlanda, donde se asentaron los poblados celtas.

### Métodos moleculares para la identificación de mutaciones en APOB

El ADN de los linfocitos de sangre periférica de los pacientes se extrajo mediante extracción con kit comercial (Qiagen). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de enzimas de restricción (RFLP) se utilizaron para la identificación de la mutación R3500Q. El ADN amplificado fue digerido utilizando la enzima de restricción *MspI* y los fragmentos se analizaron en geles de poliacrilamida. Los oligonucleótidos, las condiciones y enzimas empleadas en estos ensayos fueron previamente descritos<sup>(23)</sup>. Los productos amplificados fueron luego secuenciados en un equipo automático (Applied Biosystem) con los mismos oligonucleótidos utilizados para la amplificación.

### Casos clínicos

Al realizar el estudio molecular, se encontró luego de la amplificación por PCR y posterior digestión con la enzima de restricción *MspI* (PCR-RFLP), un patrón de bandas resultante característico con el cambio CGG > CAG en dos de los pacientes analizados (figura 1).

Debido a que el “estándar oro” de diagnóstico de mutaciones es la secuenciación, para validar el método de detección empleado (PCR-RFLP), se secuenciaron ambas muestras (figura 2).

Se reseñan las historias clínicas de los dos casos índice que resultaran positivos para mutación R3500Q en ApoB.

#### Caso clínico 1

Paciente de 50 años, de sexo femenino, con apellido materno de origen centroeuropeo. Presenta antecedentes de fiebre reumática a los 12 años, diagnósti-

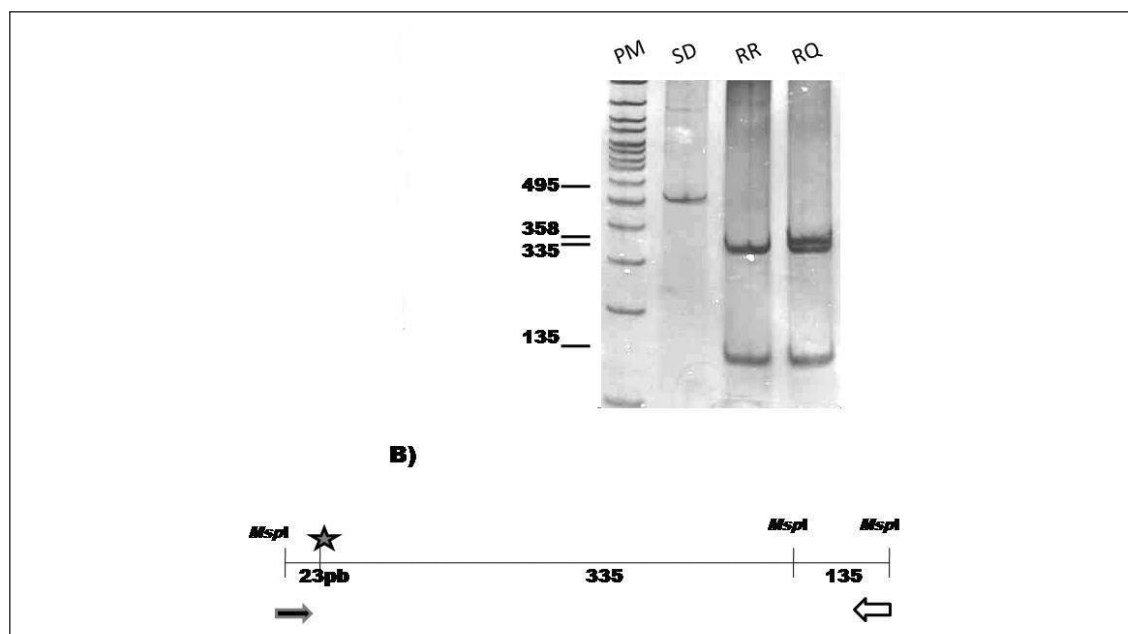
co de lupus eritematoso sistémico a los 33 años e hipertensión arterial en tratamiento. Cifras de colesterol total (CT) máximo de 380 mg/dL detectadas a los 33 años; actualmente en tratamiento con 10 mg de atorvastatina y 5 mg ezetimibe /día, manteniendo cifras de CT de 343 mg/dL a predominio de LDL con triglicéridos (TG) normales. Xantelasmas periorbitales. La paciente sufrió un infarto agudo de miocardio a los 48 años; se le realizó angioplastia percutánea transluminal coronaria (APTC) con colocación de stent en arteria circunfleja, donde presentaba lesión crítica de 95% en sector medio. Presentaba otras lesiones en descendente anterior y primera diagonal. Se repite APTC a los 3 meses por reaparición de los síntomas. Ecocardiograma muestra secuela de infarto pósteroinferior y septal, con FEVI levemente disminuida. Ateromatosis carotídea en ecodoppler.

La paciente presenta una marcada agregación familiar de patología cardiovascular: su padre (fallecido a los 66) presentaba hipercolesterolemia, HTA, diabetes, fue revascularizado a los 52 años por primera vez, con re-estenosis a los 3 años por lo que se realizó cirugía de revascularización miocárdica, con realización de 2 bypass. Su madre presenta hipercolesterolemia severa de CT > 300 mg/dL, sin eventos cardiovasculares documentados. Por línea materna refiere abuela y tío con hipercolesterolemia severa. Ambos abuelos fallecidos de causa cardiovascular, luego de los 60 años. Se trata por lo tanto de un score de riesgo familiar “muy fuertemente positivo”<sup>(24)</sup>, y que significa un riesgo relativo alto debido a factores genéticos. El Score MEDPED para HFh es “posible”, incluye a la paciente en el grupo con una probabilidad entre baja y moderada de presentar alteraciones moleculares dominantes en los genes de ApoB o RLDL. Bajo estas consideraciones se indica la realización de los estudios moleculares.

#### Caso clínico 2

Paciente de 48 años, de sexo masculino, con apellidos de origen gallego. Antecedentes personales de dislipemia detectada a los 26 años, caracterizada por hipercolesterolemia aislada y severa (CT de hasta 365 mg/dL) a neto predominio de LDL-colesterol; hipertenso y ex fumador.

A los 47 años comienza con angor inestable sin cambios en el ECG ni enzimas miocárdicas elevadas. Prueba ergométrica positiva y de alto riesgo, por lo que se le realiza CACG de urgencia. La misma muestra: lesión severa (50%) en el origen del tronco coronario izquierdo, lesiones severas (90%) en tercios medio y distal de descendente anterior, lesión severa (90%) en circunfleja y primera marginal. En



**Figura 1.** A) gel de poliacrilamida al 8% del producto de la reacción de PCR y digestión con MspI. Carriles: RR: indica muestra con los dos alelos normales, RQ: indica presencia de mutación en heterocigosis. SD: fragmento sin digerir. B) diagrama del producto de amplificación por PCR. Las flechas indican la localización de los cebadores utilizados. Sobre la línea se indican los sitios donde la enzima de restricción realiza los cortes. Con asterisco se muestra el sitio de restricción que se pierde en presencia de la mutación G>A. La digestión de una muestra homocigota normal origina fragmentos de 335, 135 y 23pb, mientras que para una muestra RQ los fragmentos serán de 358, 335, 135 y 23. La presencia simultánea de bandas de 358 y 335 pb, en la muestra RQ, en digestión completa, revela la heterocigosis para el sitio analizado.

coronaria derecha dominante: lesión severa (90%) en proximal con irregularidades parietales en sector distal, lesión severa (90%) de ramo descendente posterior. Se le realiza cirugía de revascularización: anastomosis mamaria izquierda pediculada a descendente anterior, bypass con arteria mamaria derecha en injerto libre a marginal con anastomosis proximal en bypass venoso, bypass venoso aorto-descendente posterior. Se continúa con tratamiento médico. Refiere cargados antecedentes familiares de hipercolesterolemia severa y eventos cardiovasculares precoces. El score MEDPED para HFh es “probable”, e indica una probabilidad moderada-alta de tener alteraciones moleculares por lo que se indican los estudios moleculares.

## Discusión

Las dislipemias genéticas dominantes son afecciones que determinan un alto riesgo de aparición de eventos coronarios prematuros. Dentro de éstas, se destaca por su frecuencia y severidad, la HFh y los defectos de ligación de la ApoB a su receptor (por mutaciones en el gene del receptor de LDL como del propio genApoB)<sup>(25)</sup>. El diagnóstico temprano permite certificar el origen genético de la dislipemia, y planear un tratamiento hipolipemiante de por vida,

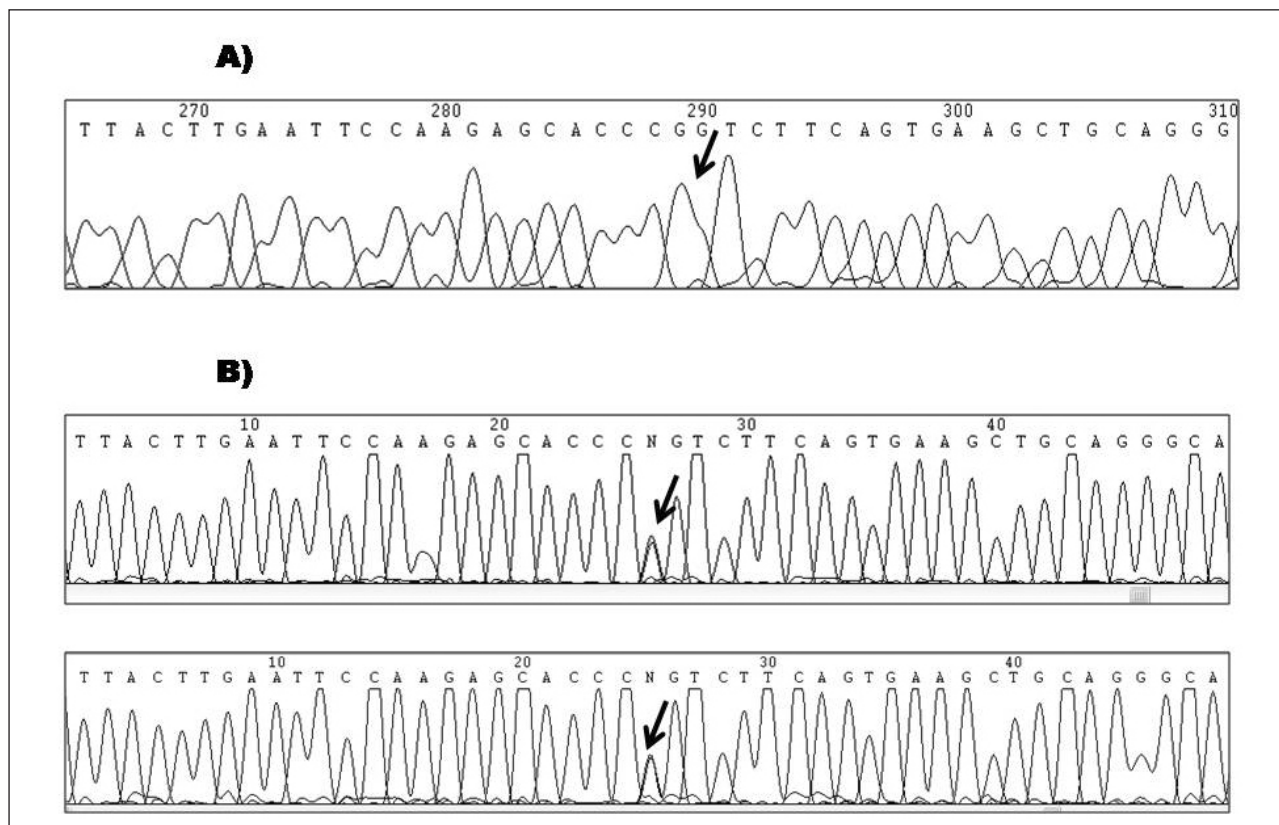
con alta probabilidad de éxito en la prevención de la morbilidad cardiovascular.

A pesar del riesgo elevado de enfermedad coronaria, la mayoría de los individuos con HFh permanecen sin diagnóstico y sin tratamiento o tratados de forma inadecuada<sup>(26)</sup>.

En nuestra estrategia de identificación de casos en riesgo, hemos elegido la identificación de mutaciones de ApoB como un paso inicial para el diagnóstico de los casos de HFh encontrados en nuestro país. La identificación molecular de mutaciones en LDLR de dichos pacientes se realiza posteriormente, mediante secuenciación de todos los exones del gen LDLR, una vez descartada la mutación más frecuente de ApoB. La sencillez y bajo costo de la determinación de la mutación conocida como ApoB R3500Q se incluye como el primer paso del algoritmo diagnóstico en el análisis molecular de las dislipemias monogénicas.

Como resultado de esta estrategia, encontramos dos grupos familiares con el cambio CGG>CAG, lo que resulta, a nivel proteico, en el cambio de una arginina (R) por una glutamina (Q) en la posición 3500 de la cadena aminoacídica (R3500Q).

Creemos que se trata de una estrategia acertada ya que en ambos casos detectados se trató de una hipercolesterolemia pura, de 370 mg/dl promedio, re-



**Figura 2.** Electroferogramas resultado de la secuenciación del fragmento amplificado para a) individuo normal y b) los dos pacientes que presentaron el cambio G>A en la posición 10699 del gen. La fecha marca la posición donde en un individuo normal se observa sólo una G (panel a) o la presencia de superposición de señal de G y A (indicado por N en la secuencia) característico de un genotipo heterocigoto (panel b) que confirma los resultados de la digestión con MspI.

sistente al tratamiento; cardiopatía isquémica de inicio precoz que requirió revascularización en ambos casos, y se encontraron familiares de 1er grado con hipercolesterolemia.

Un aspecto importante del análisis y diagnóstico de las hipercolesterolemias dominantes es la variable expresión ante factores tanto genéticos como adquiridos que están adecuadamente determinados como factores de riesgo cardiovascular en las hipercolesterolemias dominantes, categorizándolas como de “alto riesgo”, que definen objetivos terapéuticos más rígidos<sup>(20,27)</sup>.

La prevalencia encontrada en nuestra cohorte, 2% aproximadamente, resulta mayor que la descrita en otras poblaciones latinoamericanas, como por ejemplo en trabajos realizados en México<sup>(28)</sup> y Brasil<sup>(29)</sup>. Esto podría explicarse por el alto componente de origen español en nuestra población, en especial de origen gallego y centro europeo, donde la prevalencia de FDB es mayor<sup>(30)</sup>.

Un análisis más exhaustivo debería incluir el análisis de otras mutaciones en el gen de ApoB, que también dan cuenta, pero con mucha menor fre-

cuencia, de pacientes con similares características clínicas.

### Conclusiones

En el presente trabajo se presentan los dos primeros casos de HFh con la mutación R3500Q en el gen ApoB, que han sido hallados en nuestro país.

El hallazgo fue posible a partir del empleo de un abordaje molecular de la hipercolesterolemia familiar, que representa el primer reporte realizado en nuestra población en pacientes hipercolesterolémicos. Adicionalmente, nuestro trabajo evidencia que estas alteraciones pueden ser detectadas en forma adecuada mediante un ensayo molecular sencillo, rápido y económico, como el descrito.

Por medio de esta estrategia pretendemos mostrar que el análisis de las mutaciones frecuentes de APOB ayuda a la estratificación de pacientes en riesgo y permite el diagnóstico familiar. Considerando la frecuencia y la simplicidad y bajo costo de este análisis proponemos que sea considerado el primer paso en el diagnóstico etiológico de las hipercolesterolemias dominantes monogénicas<sup>(31)</sup>.

## Bibliografía

1. **Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS.** Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. pp. 2863-913
2. **World Health Organization.** Familial Hypercholesterolaemia (FH): report of a second WHO consultation, Geneva, 4 September 1998. Geneva: World Health Organization, 1999.
3. **Williams R, Hunt S, Schumacher M, Hegele R, Leppert M, Ludwig E, et al.** Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol* 1993; 72:171-6.
4. **Fouchier S, Defesche J, Umans-Eckenhausen M, Kastelein J.** The molecular basis of familial hypercholesterolemia in the Netherlands. *Hum Genet* 2001;109:602-15.
5. **Damgaard D, Larsen M, Nissen P, Jensen H, Soerensen V, Jensen L, et al.** The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis* 2005;180(1):155-60.
6. **Defesche J.** Familial hypercholesterolemia. In: Betteridge DJ, editor. *Lipids and Vascular Disease*, vol. 6. London: Martin Dunitz, 2000: 65-76.
7. **Brown MS, Goldstein JL.** A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47.
8. **Tybjaerg-Hansen A, Humphries S.** Familial defective Apolipoprotein B-100: a single mutation that causes hypercholesterolemia and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1992;96:91-107.
9. **Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Meinertz H, Schnohr P, Nordestgaard B.** Association of mutations in the Apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1998;338(22):1577-84.
10. **Austin M, Hutter C, Zimmern R, Humphries S.** Familial Hypercholesterolemia and Coronary Heart Disease: A HuGE Association Review. *Am J Epidemiol* 2004;160(5):421-9.
11. **Abifadel M, Varret M, Rabes J, Allard D, Ou-guerram K, Devillers M, et al.** Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003;34:154-6.
12. **Marques-Pinheiro A, Marduel M, Rabès J, Devillers M, Villéger L, Allard D, et al.** A fourth locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps at 16q22.1. *Eur J Hum Genet* 2010;18(11): 1236-42.
13. **Pullinger C, Hennessy L, Chatterton J, Liu W, Love J, Mendel C, et al.** Familial ligand-defective Apolipoprotein B: identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995;95:1225-34.
14. **Soria L, Ludwig E, Clarke H, Vega G, Grundy S, Mccarthy B.** Association between a specific Apolipoprotein B mutation and familial defective Apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86: 587-91.
15. **Fahed A, Nemer G.** Familial Hypercholesterolemia: The Lipids or the Genes? *Nutr Metab(Lond)* 2011; 8:23. doi: 10.1186/1743-7075-8-23.
16. **Stoll M, Esperón P, Raggio V, Lorenzo M.** Molecular basis of Familial Hypercholesterolemia in Uruguay[Abstract]. *Circulation* 2008;118: e398.
17. **Esperón P, Raggio V, Stoll M.** A new mutation in the LDL receptor promoter gene associated with familial hypercholesterolaemia in homo and heterozygosis. *Clin Investig Arterioscler* 2009; 2(21):51-5.
18. **Bender R, Bell D, Hooper A, Edwards G, Van Bockxmeer F, Watts G, et al.** Screening for familial hypercholesterolaemia. *Pathology* 2012; 44(2): 122-8.
19. **Ned RM, Sijbrands EJ.** Cascade screening for familial hypercholesterolemia (FH). *PLoS Curr* 2011;3:RRN1238. doi: 10.1371/currents.RRN1238.
20. **Civeira F.** International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2004;173(1): 55-68.
21. **Stoll M, Lorenzo M, Raggio V, Esperón P, Zelayán M.** Previñiendo el infarto en el adulto joven: GENYCO, un registro nacional de hipercolesterolemia familiar. *Rev Urug Cardiol* 2011; 26: 16-26.
22. **García-Álvarez I, Castillo S, Mozas P, Tejedor D, Reyes G, Artieda M, et al.** Diferencias en la presentación clínica en sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia familiar por defectos en el receptor LDL y por defectos de la apo B-100. *Rev Esp Cardiol* 2003;(56):769-74.
23. **Hansen P, Rüdiger N, Tybjaerg-Hansen, Faergeman O, Gregersen N.** Detection of the apoB-3500 mutation (glutamine for arginine) by gene amplification and cleavage with MspI. *J Lipid Res* 1991;(32):1229-33.
24. **Williams R, Hunt S, Heiss G, Province M, Bensen J, Higgins M, et al.** Usefulness of cardiovascular family history data for population-based preventive medicine and medical research (The Health Family Tree Study and the NHLBI Family Heart Study). *Am J Cardiol* 2001;87(2):129-35.
25. **Varret M, Abifadel M, Rabès J, Boileau.** Genetic heterogeneity of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet* 2008;73(1):1-13.

26. **Leren TP, Berge KE.** Subjects with Molecularly Defined Familial Hypercholesterolemia or Familial Defective apoB-100 Are Not Being Adequately Treated PLoS ONE 2011 6(2): e16721. doi:10.1371/journal.pone.0016721
27. **Robinson JG, Goldberg AC; National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia.** Treatment of adults with familial hypercholesterolemia and evidence for treatment: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2011;5(Suppl.3):S18-29.
28. **Robles-Orsorio L, Ordoñez M, Aguilar-Salinas C, Aurón-Gómez M, Tusié-Luna M, Gómez-Pérez F, et al.** Familial Hypercholesterolemia Due to Ligand-Defective Apolipoprotein B100. First Case Report in a Mexican Family. *Arch Med Res* 2003; 34:70-5.
29. **Cavalli S, Hirata M, Hirata R.** Rapid detection of 3500Q and 3531 mutations and MspI polymorphism in exon 26 at the apolipoprotein B gene. *J Clin Lab Anal*, 2001;15(1):35-9.
30. **Fouchier S, Sankatsing R, Peter J, Castillo S, Pocovi M, Alonso R, et al.** High frequency of APOB gene mutations causing familial hypobetalipoproteinaemia in patients of Dutch and Spanish descent. *J Med Genet* 2005; 42:e23.
31. **Stoll M, Esperón P, Raggio V.** Progresos en la identificación de pacientes con Hipercolesterolemia Familiar (HF). Avances hacia un registro nacional de HF. *Boletín de la Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular* 2005; VII,(1):42-3.