

Artículo original

El polimorfismo rs11613352 (genotipo TT) se asocia con disminución de triglicéridos y aumento de HDL en pacientes con hipercolesterolemia familiar



Rosa Aledo^a, Teresa Padró^a, Pedro Mata^b, Rodrigo Alonso^b y Lina Badimon^{a,c,*}

^a Centro de Investigación Cardiovascular, CSIC-ICCC, IIBSant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

^b Fundación Jiménez Díaz y Fundación Hipercolesterolemia Familiar, Madrid, España

^c Cátedra de Investigación Cardiovascular-Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

Historia del artículo:

Recibido el 9 de diciembre de 2013

Aceptado el 2 de abril de 2014

On-line el 30 de septiembre de 2014

Palabras clave:

Polimorfismo de un solo nucleótido
Colesterol unido a lipoproteínas de alta
densidad

Triglicéridos

Hipercolesterolemia familiar

RESUMEN

Introducción y objetivos: Estudios recientes de asociación de genoma completo han identificado un *locus* en el cromosoma 12q.13.3 asociado con las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; rs11613352 es el polimorfismo de un solo nucleótido líder en dicho *locus*. El objetivo del estudio es investigar la implicación de rs11613352 en una población con elevado riesgo cardiovascular por hipercolesterolemia familiar.

Métodos: Se genotipificó mediante análisis Taqman® el polimorfismo de un solo nucleótido en una cohorte de 601 pacientes con hipercolesterolemia familiar no relacionados, y se analizó su asociación genética con las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, mediante métodos multivariados basados en regresión lineal.

Resultados: La frecuencia alélica mínima fue de 0,17 y las frecuencias genotípicas, 0,69, 0,27 y 0,04 para los genotipos CC, CT y TT respectivamente. El polimorfismo se asoció de manera recesiva (genotipo TT) con disminución de los triglicéridos ($p = 0,002$) y aumento de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad ($p = 0,021$) tras ajustar por edad y sexo.

Conclusiones: El polimorfismo rs11613352 puede contribuir a modular el riesgo cardiovascular al modificar las concentraciones plasmáticas de lípidos en los pacientes con hipercolesterolemia familiar. © 2014 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

rs11613352 Polymorphism (TT Genotype) Associates with a Decrease of Triglycerides and an Increase of HDL in Familial Hypercholesterolemia Patients

ABSTRACT

Keywords:

Single nucleotide polymorphism
High-density lipoprotein cholesterol
Triglyceride
Familial hypercholesterolemia

Introduction and objectives: Recent genome-wide association studies have identified a locus on chromosome 12q13.3 associated with plasma levels of triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol, with rs11613352 being the lead single nucleotide polymorphism in this genome-wide association study locus. The aim of the study is to investigate the involvement of rs11613352 in a population with high cardiovascular risk due to familial hypercholesterolemia.

Methods: The single nucleotide polymorphism was genotyped by Taqman® assay in a cohort of 601 unrelated familial hypercholesterolemia patients and its association with plasma triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol levels was analyzed by multivariate methods based on linear regression.

Results: Minimal allele frequency was 0.17 and genotype frequencies were 0.69, 0.27, and 0.04 for CC, CT, and TT genotypes, respectively. The polymorphism is associated in a recessive manner (TT genotype) with a decrease in triglyceride levels ($P = .002$) and with an increase in high-density lipoprotein cholesterol levels ($P = .021$) after adjusting by age and sex.

Conclusions: The polymorphism rs11613352 may contribute to modulate the cardiovascular risk by modifying plasma lipid levels in familial hypercholesterolemia patients.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2014 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Autor para correspondencia: Centro de Investigación Cardiovascular, CSIC-ICCC, IIBSant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Sant Antoni Maria Claret 167, 08025 Barcelona, España.

Correo electrónico: lbadimon@csic-iccc.org (L. Badimon).

Abreviaturas

ECV: enfermedad cardiovascular
 GWAS: estudios de asociación de genoma completo
 HDL: lipoproteínas de alta densidad
 HF: hipercolesterolemia familiar
 LDL: lipoproteínas de baja densidad
 TG: triglicéridos

INTRODUCCIÓN

La hipercolesterolemia familiar (HF) es uno de los trastornos hereditarios más frecuentes, y se caracteriza por una elevación intensa del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en plasma y una enfermedad aterosclerótica prematura. Las mutaciones del gen del receptor de LDL clásico son la principal causa de esta enfermedad. Sin embargo, hay diferencias sustanciales en el inicio y la gravedad de la aterosclerosis en los pacientes con HF heterocigotos, lo cual podría deberse a factores ambientales y metabólicos y otros factores genéticos^{1,2}.

De entre los genes y regiones candidatos involucrados en el metabolismo lipídico, el polimorfismo en el *locus* del cromosoma rs11613352 se halló en estudios de asociación de genoma completo (GWAS) como polimorfismo líder en el *locus* del cromosoma 12q13.3 asociado a una disminución significativa de los triglicéridos (TG) y un aumento de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma³, así como a unos valores séricos de ácido úrico inferiores⁴.

El objetivo del estudio es analizar por primera vez la asociación de este polimorfismo con las concentraciones de lípidos en plasma en esta población propensa a la aterosclerosis (HF).

MÉTODOS

Población estudiada

Se incluyó en el estudio a 601 pacientes no emparentados, casos índice de familias con HF seleccionados aleatoriamente del *Spanish FH Longitudinal Cohort Study* (SAFEHEART). Las principales características de la cohorte de HF se han descrito ya^{5,6}. Se obtuvieron de cada participante datos antropométricos como el índice de masa corporal, perímetro de cintura, cociente cintura/cadera y la presencia de arco corneal, xantomas, diabetes mellitus, hipertensión y hábito tabáquico, junto con las determinaciones bioquímicas de lípidos en plasma de cada sujeto obtenidas según métodos previamente descritos^{5,6} y que se presentan con mayor detalle en el [material suplementario](#).

Se consideró positivos para las manifestaciones clínicas de enfermedad cardiovascular (ECV) a los pacientes con HF si tenían antecedentes documentados de infarto de miocardio, cirugía de *bypass* arterial coronario, angioplastia coronaria transluminal percutánea, angina de pecho con aterosclerosis coronaria angiográfica (estenosis > 50%), ictus aterotrombótico isquémico o enfermedad vascular arterial periférica crónica.

Todos los pacientes incluidos en el estudio eran portadores heterocigotos de mutaciones en el receptor de LDL (gen *LDLR*)⁷. Las características bioquímicas y clínicas de la población con HF se presentan en la [tabla 1](#).

Determinación del genotipo

Se obtuvo ADN a partir de muestras de sangre total empleando el *kit* Wizard DNA Purification de Promega. Se determinó el genotipo del polimorfismo rs11613352 mediante un análisis Taqman[®] específico para el alelo utilizado en el Applied Biosystems[®] 7900 Real-Time PCR System. La discriminación

Tabla 1
Características iniciales de la población con hipercolesterolemia familiar estudiada

	Todos (n=601)	Mujeres (n=288)	Varones (n=313)	p
Edad (años)	49,0 (47,8–50,1)	49,7 (52,8–55,5)	48,1 (42,6–45,4)	0,236
IMC (kg/m ²)	27,1 (26,7–27,5)	26,0 (25,8–27,2)	27,3 (27,1–28,1)	0,006
PC (cm)	89,8 (87,5–90)	82,3 (80,5–84)	94,3 (92,8–95,9)	< 0,001
CCC	0,87 (0,86–0,88)	0,81 (0,81–0,83)	0,92 (0,91–0,94)	< 0,001
ECV (%)	113 (18,8)	32 (11,4)	81 (25,8)	< 0,001
Fumadores actuales (%)	121 (20,1)	51 (17,7)	69 (22,04)	0,153
Hipertensión (%)	99 (16,4)	62 (21,6)	37 (11,7)	0,001
Diabetes mellitus (%)	23 (3,8)	13 (4,5)	10 (3,2)	0,524
Arco corneal (%)	241 (40,1)	106 (36,8)	135 (43,1)	0,137
Xantomas (%)	126 (21,0)	60 (20,9)	66 (21,2)	0,99
CT (mg/dl)	245,8 (240,6–251,3)	256,6 (248,8–264,4)	235,9 (228,8–243,2)	< 0,001
LDL (mg/dl)	177,6 (172,5–182,7)	184,2 (176,6–191,7)	171,8 (164,9–178,7)	0,011
HDL (mg/dl)	48,9 (47,8–49,9)	54,1 (52,8–55,5)	44 (42,6–45,4)	< 0,001
TG (mg/dl)*	89,2 (86,1–92,3)	82,3 (78,3–86,1)	95,8 (91,6–100,3)	< 0,001
CT/HDL	5,0 (5,2–5,6)	4,7 (4,7–5,2)	5,4 (5,5–6,1)	< 0,001
LDL/HDL	3,9 (3,8–4,1)	3,6 (3,4–3,8)	4,4 (4,0–4,6)	< 0,001
ApoA-I (mg/dl)	138,9 (136,6–141,1)	147,5 (144,5–150,9)	130,9 (127,9–133,9)	< 0,001
ApoB (mg/dl)	117,5 (114,5–120,4)	117,8 (113,7–121,9)	117,2 (113,03–121,4)	0,755

ApoA-I: apolipoproteína A-I; ApoB: apolipoproteína B; CCC: cociente cintura/cadera; CT: colesterol total; ECV: enfermedad cardiovascular; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IM: índice de masa corporal; LDL: lipoproteínas de baja densidad; PC: perímetro de cintura; TG: triglicéridos.

Los datos expresan media (intervalo de confianza del 95%) o n. (%).

La significación estadística se probó mediante la prueba de la t de Student o la prueba exacta de Fisher, respectivamente.

La significación estadística se estableció en un valor de $p < 0,05$.

* Media geométrica (intervalo de confianza del 95%), con significación estadística probada por la prueba de la t de Student en los datos transformados logarítmicamente.

alélica se realizó con un ABI PRISM® 7900, al igual que para la determinación del genotipo.

Análisis estadístico

Los datos cuantitativos se expresan en forma de media $\pm$ desviación estándar y los datos categóricos, en porcentajes. Se aplicó una transformación logarítmica a los valores de TG para el análisis estadístico. La significación estadística se evaluó con la prueba de la t de Student para datos cuantitativos y con la prueba exacta de Fisher o la prueba de la χ^2 para las variables discretas.

Se calcularon las frecuencias alélicas a partir de los genotipos de los participantes. La distribución genotípica en la población se evaluó respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg mediante la prueba de la χ^2 . Las diferencias cuantitativas de los valores de lípidos entre los genotipos se ajustaron respecto a edad y sexo, se evaluaron mediante regresión lineal y se resumieron con media, error estándar, diferencia media respecto a una categoría de referencia e intervalo de confianza del 95% (IC95%) de las diferencias. Se evaluaron diversos modelos de transmisión hereditaria (modelo general o codominante, dominante y recesivo), y se calcularon los efectos genéticos para cada genotipo en comparación con el genotipo de referencia de cada modelo. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 19.0 (SPSS Inc.; Chicago, Illinois, Estados Unidos) y el programa SNPStats⁸. Se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$. La potencia estadística para detectar diferencias significativas entre los grupos de genotipos en cuanto a concentración de lípidos en plasma se analizó con el programa Power Calculator (Quantor v2.1).

RESULTADOS

Características clínicas y bioquímicas de la población con hipercolesterolemia familiar estudiada

Las características basales de la población con HF estudiada (el 48% mujeres y el 52% varones) se presentan en la [tabla 1](#). La mayoría de los pacientes (87%) recibían tratamiento hipolipemiente en el momento de la inclusión en el estudio y no hubo diferencias de tratamiento entre los distintos grupos de genotipos (datos no presentados).

Asociación del rs11613352 con las concentraciones de triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad

Las frecuencias genotípicas observadas son compatibles con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p = 0,32$). La frecuencia de los alelos C y T en la HF fue 0,83 y 0,17 respectivamente. Las frecuencias de los genotipos CC, CT y TT fueron del 69, el 27 y el 4% respectivamente.

No hubo diferencias en las frecuencias de genotipos en función del sexo o rasgos antropométricos como el perímetro de cintura, el cociente cintura/cadera o el índice de masa corporal, ni en relación con los antecedentes de ECV, el hábito tabáquico actual o los valores de lípidos distintos del TG y las HDL (prueba de la t de Student, $p = 0,003$ y $p = 0,007$ respectivamente). Sin embargo, es interesante señalar que no se observó ningún genotipo TT en los pacientes con xantomas (prueba exacta de Fisher, $p = 0,012$) ([tabla 1 del material suplementario](#)).

La asociación genotípica con las concentraciones de lípidos en plasma solo fue significativa las de TG y HDL según lo ya descrito³ ([tablas 2 y 3](#) respectivamente). La mejor asociación fue la alcanzada con un modelo de transmisión hereditaria recesiva para los valores plasmáticos de TG y HDL. El análisis de los datos brutos de la asociación genética mostró asociación significativa del genotipo TT con disminución de TG ($p = 0,003$) y aumento de HDL en plasma ($p = 0,0074$). La asociación continúa siendo significativa tras introducir un ajuste para edad y sexo: $p = 0,0026$; diferencia media, $-0,29$ (IC95%, $-0,48$ a $-0,10$) para el logaritmo natural de los valores de TG, que corresponde a un cambio de 22 mg/dl entre los genotipos ([tabla 2](#)); y $p = 0,021$; diferencia media, 6,29 (IC95%, 0,98–11,61) mg/dl para las HDL ([tabla 3](#)).

En los cálculos de la potencia estadística se asumió la independencia de los individuos, una mínima frecuencia del alelo de 0,17, un efecto genético recesivo, una media poblacional de 4,49 y una desviación estándar de 0,48 para el logaritmo natural de TG, y un valor medio de HDL de 48,9 mg/dl con una desviación estándar de 13,2 mg/dl y un error de tipo I de 0,05 (unilateral). Con 601 individuos con HF, había una potencia estadística del 80% para detectar una magnitud del efecto de $-0,3$ para los TG, lo cual corresponde a un cambio de aproximadamente 22 mg/dl respecto a la media de la población, y a una potencia de más del 70% para detectar una magnitud del efecto > 7 mg/dl respecto al valor medio de HDL.

Tabla 2

Asociación de rs11613352 con las concentraciones de triglicéridos

rs11613352		Triglicéridos (LN Tg) [*]	Análisis de datos brutos		Ajustado por edad y sexo	
Modelo y genotipos	n	Respuesta, media $\pm$ EE	Diferencia (IC95%)	p	Diferencia (IC95%)	p
<i>Codominante</i>						
CC	419	4,51 $\pm$ 0,02	0,00	0,011	0,00	0,011
CT	161	4,49 $\pm$ 0,03	$-0,02$ ($-0,10$ – $0,06$)		$-0,01$ ($-0,08$ – $0,07$)	
TT	21	4,22 $\pm$ 0,114	$-0,29$ ($-0,49$ a $-0,10$)		$-0,29$ ($-0,48$ a $-0,10$)	
<i>Dominante</i>						
CC	419	4,51 $\pm$ 0,02	0,00	0,19	0,00	0,35
CT+TT	182	4,45 $\pm$ 0,03	$-0,05$ ($-0,13$ – $0,02$)		$-0,04$ ($0,11$ – $0,04$)	
<i>Recesivo</i>						
CC+CT	580	4,50 $\pm$ 0,02	0,00	0,003	0,00	0,0026
TT	21	4,22 $\pm$ 0,11	$-0,29$ ($-0,48$ a $-0,10$)		$-0,29$ ($-0,47$ a $-0,10$)	

EE: error estándar; IC95%: intervalo de confianza del 95%.

^{*} Se aplicó a los valores de triglicéridos una transformación de logaritmo neperiano.

Tabla 3

Asociación de rs11613352 con las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad

rs11613352		HDL (mg/dl)	Análisis de datos brutos		Ajustado por edad y sexo	
Modelo y genotipos	n	Respuesta, media $\pm$ EE	Diferencia (IC95%)	p	Diferencia (IC95%)	p
<i>Codominante</i>						
CC	419	48,08 $\pm$ 0,63	0,00	0,007	0,00	0,035
CT	161	50,10 $\pm$ 1,06	1,02 (–0,37–4,40)		1,32 (–0,90–3,53)	
TT	21	56,50 $\pm$ 3,50	8,41 (2,66–14,1)		6,66 (1,31–12,01)	
<i>Dominante</i>						
CC	419	48,08 $\pm$ 0,63	0,00	0,019	0,00	0,076
CT + TT	182	50,83 $\pm$ 1,03	2,76 (0,47–5,05)		1,93 (–0,20–4,06)	
<i>Recesivo</i>						
CC + CT	580	48,64 $\pm$ 0,54	0,00	0,0074	0,00	0,021
TT	21	56,50 $\pm$ 3,50	7,85 (2,13–13,57)		6,29 (0,98–11,61)	

EE: error estándar; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IC95%: intervalo de confianza del 95%.

DISCUSIÓN

Estudiar los nuevos genes candidatos hallados por GWAS y sus polimorfismos podría ser útil para comprender la variabilidad fenotípica en la aparición de las manifestaciones clínicas de la ECV en los pacientes con HF. Además, puede tener interés para un futuro uso terapéutico contra la aterosclerosis.

Las LDL elevadas, los TG elevados y las HDL reducidas son importantes factores de riesgo de enfermedad coronaria^{9–11}. No solo las concentraciones de lipoproteínas intervienen en la aterogénesis, sino también el tamaño y la calidad de las partículas lipoproteicas. El tamaño de las partículas de LDL y HDL está relacionado con la concentración plasmática de TG y el cociente TG/HDL muestra buena correlación con el tamaño de las partículas de HDL y con la enfermedad coronaria⁷. En la HF, los pacientes con una elevación de los TG (> 150 mg/dl) presentan más partículas de HDL aterógenas, con una capacidad antiinflamatoria reducida y una disminución de la capacidad de fomentar la salida de colesterol de los macrófagos respecto a individuos normales¹². Así pues, las variantes genéticas que afectan a las HDL y los TG pueden ser de gran relevancia en el proceso aterosclerótico. Sin embargo, recientemente los estudios de aleatorización genética han puesto en duda el papel de las mutaciones que afectan básicamente a los valores de HDL en la ECV¹³.

En los GWAS, se han observado variantes genéticas frecuentes y variantes raras en genes candidatos que contribuyen a la dislipemia, si bien continúa sin conocerse gran parte de la variabilidad^{14,15}. El polimorfismo de GWAS rs11613352, recientemente descubierto, se asoció principalmente con los valores de TG³ y también con los de HDL. Este estudio, llevado a cabo en una población con HF, pone de manifiesto por primera vez que el polimorfismo rs11613352 se asocia a unas cifras de TG y HDL variables. El genotipo TT se asocia a un perfil beneficioso de valores de TG inferiores y de HDL más altos.

El posible efecto protector del genotipo TT se pone de relieve también en la ausencia total de xantomas tendinosos en los pacientes con HF que tienen este genotipo; la presencia de ECV tuvo una prevalencia de casi la mitad entre los pacientes con el genotipo TT (tabla 1 del material suplementario), aunque el tamaño de la muestra no produjo significación estadística.

Hay varios genes que se encuentran en la región de ± 500 kb de la señal de GWAS del rs11613352 que indicadores de TG³. Entre los genes candidatos de interés en esta región (figura 1 del material suplementario), se encuentran el de la proteína relacionada con el receptor de LDL 1 (*LRP1*)³, que forma parte de la familia de receptores de LDL^{3,6,16}; los genes de la región intergénica *R3HDM2*–*INHBC*–*INHBE*

(12q1,31–33)⁴, que codifican la proteína mal caracterizada *R3HDM2* (*KIAA1002*), un dominio *R3H* que se ha demostrado que se une al ácido nucleico monocatenario¹⁷, y los genes *INHBC* e *INHBE* de la superfamilia *TGF β* , que incluyen entre sus múltiples funciones un papel en la regulación del metabolismo, la homeostasis y las respuestas inmunitarias; recientemente se ha identificado el *ARH-GAP9* como gen candidato en el tejido adiposo¹⁸. Por el momento, no existen datos funcionales que relacionen alguno de los genes situados en la proximidad de rs11613352 con las concentraciones lipídicas.

El *LRP1* es un receptor que interviene en la captación de los lípidos^{17,19–21} y está situado a unas 200 kb del rs11613352. En un estudio previo de asociación genética con variantes de *LRP1* en población con HF⁶, no se observó asociación de 10 polimorfismos de un solo nucleótido del *LRP1* con los valores de lípidos plasmáticos en ayunas (colesterol total, LDL, HDL y TG) en la HF (datos no presentados); tampoco se ha observado un desequilibrio de ligamiento entre estos polimorfismos de un solo nucleótido del *LRP1* y el polimorfismo líder de GWAS para TG, rs11613352; por consiguiente, no se cree que el *LRP1* sea el gen candidato involucrado en la modulación de las concentraciones plasmáticas de TG y HDL.

CONCLUSIONES

Se ha observado que el polimorfismo rs11613352 puede contribuir a atenuar el riesgo cardiovascular modificando las concentraciones plasmáticas de lípidos de los pacientes con HF, puesto que el genotipo TT presenta un perfil de menos TG y más HDL. Los efectos concuerdan con los resultados previos de estudios a gran escala de GWAS sobre las concentraciones de lípidos^{3,4}, aunque sería necesaria una confirmación que reproduzca los resultados en otras poblaciones HF independientes.

El rs11613352 está situado dentro del intrón 1 del gen mal conocido *R3HDM2* (o *KIAA1002*) y cerca del *cluster* transcripcionalmente opuesto *INHBC*–*INHBE*, una región rica en centros reguladores transcripcionales. Serán necesarios nuevos estudios de expresión para esclarecer el (los) gen(es) afectados por esta variante genética y su función molecular en la modulación de las concentraciones plasmáticas de lípidos y el riesgo de ECV.

AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias a la Fundación Hipercolesterolemia Familiar de España por su ayuda en el reclutamiento de participantes y controles, así como a los pacientes con HF por su valiosa

contribución y su disposición a participar en el estudio. Agradecemos a Montse Gómez-Pardo su ayuda técnica y a la Fundación de Investigación Cardiovascular-Fundación Jesús Serra su apoyo para el estudio.

FINANCIACIÓN

Este estudio fue financiado en parte por SAF (Servicio de Actividad Física) —SAF2010-16549—, CNIC (Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares) —CNIC-08-2008—, RIC (Red de Investigación Cardiovascular) RD12/0042/0027 y TerCel (Red de Terapia Celular) —RD12/0019/0026— del ISCIII (Instituto de Salud Carlos III), España.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

MATERIAL SUPLEMENTARIO



Se puede consultar material suplementario a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.recesp.2014.04.017](https://doi.org/10.1016/j.recesp.2014.04.017).

BIBLIOGRAFÍA

1. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. The metabolic and molecular bases of inherited disease. Nueva York: McGraw-Hill; 2001. p. 2863–913.
2. Jansen AC, Van Wissen S, Defesche J, Kastelein JJ. Phenotypic variability in familial hypercholesterolemia: an update. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13:165–71.
3. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Kosek M, et al. Biological clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010;466:707–13.
4. Yang Q, Köttgen A, Dehghan A, Smith AV, Glazer NL, Chen MH, et al. Multiple genetic loci influence serum urate levels and their relationship with gout and cardiovascular disease risk factors. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3:523–30.
5. Mata N, Alonso R, Badimón L, Padró T, Fuentes F, Muñiz O, et al. Clinical Characteristics and evaluation of LDL-cholesterol treatment of the Spanish Familial Hypercholesterolemia Longitudinal Cohort Study (SAFEHEART). *Lipids Health Dis*. 2011;10:94.
6. Aledo R, Alonso R, Mata P, Llorente-Cortés V, Padró T, Badimón L. Los polimorfismos del gen *LRP1* se asocian al riesgo prematuro de enfermedad cardiovascular en pacientes con hipercolesterolemia familiar. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65:807–12.
7. Alonso R, Defesche J, Tejedor D, Castillo S, Stef M, Mata N, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia using a DNA-array based platform. *Clin Biochem*. 2009;42:899–903.
8. Solé X, Guinó E, Valls J, Iñiesta R, Morenó V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22:1928–9.
9. Soska V, Jarkovsky J, Ravcukova B, Tichý L, Fajkusova L, Freiberg T. The logarithm of the triglyceride/HDL-cholesterol ratio is related to the history of cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem*. 2012;45:96–100.
10. Baigent C, Keech A, Kearny PM, Blacwell L, Buck G, Pollicino C, et al; Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366:1267–78.
11. Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, Butterworth AS, Di Angelantonio E, Boekholdt SM, et al; Triglyceride Coronary Disease Genetics Consortium and Emerging Risk Factors Collaboration. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaboration analysis of 101 studies. *Lancet*. 2010;375:1634–9.
12. Otttestad I, Halvorsen B, Balstad T, Otterdal K, Borge G, Brosstad F, et al. Triglyceride-rich HDL3 from patients with familial hypercholesterolemia are less able to inhibit cytokine release or to promote cholesterol efflux. *J Nutr*. 2006;136:877–81.
13. Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, Drenos F, Lanktree MB, Nelson CP, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary, heart disease. *Eur Heart J*. 2014. doi: 10.1093/eurheartj/ehu571.
14. Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM, Demissie S, Musunuru K, Schadt EE, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet*. 2009;41:56–65.
15. Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, McIntyre AD, Ban MR, Martins RA, et al. An increased burden of common and rare lipid-associated risk alleles contributes to the phenotypic spectrum of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31:1916–26.
16. Llorente-Cortés V, Martínez-González J, Badimón L. LDL receptor related protein mediates uptake of aggregated LDL in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1572–9.
17. Grishin NV. The R3H motif: a domain that binds single-stranded nucleic acids. *Trends Biochem Sci*. 1998;23:329–30.
18. Haas BE, Horvath S, Pietiläinen KH, Cantor RM, Nikkila E, Weissglas-Volkov D, et al. Adipose co-expression networks across Finns and Mexicans identify novel triglyceride-associated genes. *BMC Medical Genomics*. 2012;5:61–70.
19. Kowal RC, Hwercz J, Goldstein JL, Esser V, Brown MS. Low density lipoprotein receptor-related protein mediates uptake of cholesteryl esters derived from apoprotein E-enriched lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:5810–4.
20. Daniel TO, Schneider WJ, Goldstein JL, Brown MS. Visualization of lipoprotein receptors by ligand blotting. *J Biol Chem*. 1983;258:4606–11.
21. Terrand J, Bruban V, Zhou L, Gong W, El Asmar Z, May P, et al. LRP1 controls intracellular cholesterol storage and fatty acid synthesis through modulation of Wnt signaling. *J Biol Chem*. 2009;284:381–8.