

## L'hypercholestérolémie familiale 25 ans après II. Formes non liées au récepteur des LDL

Jean-Pierre Rabès  
Mathilde Varret  
Catherine Boileau

L'hypercholestérolémie familiale fut d'abord rapportée à une altération du récepteur des LDL. Mais, trois ans après la première description d'une mutation de son gène (*LDLR*), l'hypothèse qu'un déficit de son ligand, l'apolipoprotéine B-100, pouvait produire un phénotype clinico-biochimique similaire à celui de l'hypercholestérolémie familiale allait être confirmée. A ce jour, trois mutations ponctuelles du gène *APOB*, ont été associées à cette nouvelle entité moléculaire, la déficience familiale en apolipoprotéine B-100. Des défauts combinés des gènes *APOB* et *LDLR* ont également été identifiés. Enfin, différents travaux actuels démontrent que d'autres gènes doivent contribuer au phénotype d'hypercholestérolémie familiale.

### ADRESSES

J.-P. Rabès: *assistant hospitalier universitaire, étudiant en doctorat*. C. Boileau: *maître de conférences, praticien hospitalier*. Inserm U. 383, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université René-Descartes, Paris V, 149-161, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. Laboratoire central de biochimie et de génétique moléculaire, CHU Ambroise-Paré, 9, avenue Charles-de Gaulle, 92104 Boulogne Cedex, France. M. Varret: *étudiante en doctorat*. Inserm U. 383, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université René-Descartes, Paris V, 149-161, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.

### TIRÉS À PART

C. Boileau.

L'exhaustivité des travaux tant fonctionnels que moléculaires des chercheurs de l'équipe de Michael Brown et Joseph Goldstein a longtemps occulté la possibilité d'une hétérogénéité génétique de l'hypercholestérolémie familiale. Deux observations sont à l'origine des travaux qui conduisirent à l'individualisation d'une nouvelle entité moléculaire: la déficience familiale en apolipoprotéine B-100 (FDB pour *familial defective apolipoprotein B-100*). Premièrement, les défauts du récepteur LDL n'expliquaient pas toutes

les hypercholestérolémies familiales, en particulier les formes modérées. Deuxièmement, la mévinoline (inhibiteur de l'HMGCoA réductase), qui induit une synthèse hépatique accrue du récepteur LDL en bloquant la synthèse *de novo* du cholestérol, augmentait nettement l'épuration plasmatique des LDL chez les patients hétérozygotes pour un défaut du gène *LDLR* (sujets hétérozygotes FH pour *familial hypercholesterolemia*), mais n'augmentait pas de façon marquée cette épuration chez certains patients présentant une hypercholestérolémie familiale modérée, comme

si la fixation de leurs particules LDL était déficiente. Cette dernière observation poussa Vega et Grundy à comparer, chez des patients présentant une hypercholestérolémie familiale modérée, le taux d'épuration *in vivo* de leurs propres particules LDL marquées à celui de particules LDL dites homologues, prélevées chez des étudiants en médecine normocholestérolémiques. Pour 5 patients sur les 15 étudiés, l'épuration des LDL auto-logues était significativement inférieure à celle des LDL homologues suggérant une liaison plus faible au récepteur LDL. En 1987, Innerarity *et al.* étudièrent, *in vitro*, l'affinité pour le récepteur des particules LDL de ces 5 patients. Les résultats obtenus pour un des patients révélèrent une affinité nettement diminuée correspondant à 32 % de la normale. Les propriétés physiques et chimiques des LDL de ce sujet étaient normales et une délipidation partielle ne modifia pas leur taux de fixation, suggérant une anomalie minime de l'apolipoprotéine B-100 (apo B-100). Un autre argument en faveur d'une anomalie de l'apo B-100 fut apporté par Weisgraber *et al.* qui montrèrent une plus forte affinité de l'anticorps monoclonal MB47 pour les particules LDL déficientes. Enfin, des études familiales révélèrent un mode de transmission dominant du défaut fonctionnel. Ce nouveau défaut fut appelé FDB (*familial defective apoB*). Ce n'est qu'à la fin de l'année 1988 que Soria *et al.* identifièrent par séquençage du gène *APOB*, la mutation responsable. Il s'agissait d'une transition C → T substituant une glutamine à l'arginine du codon 3500 [1]. Cette mutation (R3500Q\*) dans la région de liaison au récepteur LDL co-ségrégait avec l'hypercholestérolémie familiale et le défaut de fixation des particules LDL. L'utilisation de techniques de criblage de cette région permis de détecter d'autres mutations de l'apo B-100 diminuant l'affinité des LDL pour leur récepteur. Pullinger *et al.* décrivent au mois de mars 1995 une mutation faux-sens du codon 3531

(R3531C) associée à une hypercholestérolémie familiale [2]. Enfin, en août 1995, une troisième mutation substituant un tryptophane à l'arginine 3500 (R3500W) fut associée à un défaut de fixation des LDL [3].

## Le gène APOB et la protéine

Le gène de l'apo B est situé sur le bras court du chromosome 2 en 2p23-p24. Il s'étend sur 43 kb et comprend 29 exons dont deux ont une taille remarquablement importante. La plupart des exons ne dépassent pas 374 pb alors que l'exon 26 comporte 7572 pb et code pour plus de la moitié de la protéine et l'exon 29 comporte 1906 pb codantes (*figure 1*). Le gène est exprimé dans les hépatocytes, les entérocytes et les cellules endothéliales [4]. Il code pour un ARNm de 14 121 nucléotides. L'apoB-100, protéine glycosylée (550 kDa) formée de 4536 acides aminés est synthétisée dans les hépatocytes et correspond à la transcription puis à la traduction de la totalité des exons du gène *APOB*. Au niveau intestinal, un phénomène d'*editing* rend compte de la synthèse d'une protéine formée des 2152 acides aminés amino-terminaux de la protéine hépatique soit 48 % de sa taille. Cette apo B-48 entérocytaire résulte de la transformation de la cytosine 6666 de l'ARNm en uracile, convertissant la glutamine 2153 en un codon stop prématuré. Le mécanisme fondamental de cette régulation post-transcriptionnelle est une désamination catalysée par l'apobec-1 (pour *apoB-editing catalytic subunit*) au sein d'un « éditosome ». Cette

enzyme de la famille des cytidine-désaminases contenant du zinc reconnaît une séquence riche en AU de l'ARNm de l'apoB et transforme une cytidine spécifique en uridine (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1089*) [5]. L'apoB-48 (241 kDa) est caractéristique des chylomicrons, lipoparticules assurant le transport des lipides alimentaires. L'apoB-100, quant à elle, est présente dans toutes les lipoparticules athérogènes (VLDL, IDL, LDL) et joue quatre rôles différents: (1) elle est nécessaire à la synthèse, à l'assemblage et à la sécrétion des particules VLDL, (2) elle est le constituant structural des lipoparticules (3) elle permet la liaison à l'héparine et à différentes protéoglycanes de la paroi artérielle, et enfin (4) elle est un ligand du récepteur LDL. De nombreuses régions de liaison aux lipides (structure amphipathique en feuillet  $\beta$  et segments d'acides aminés hydrophobes) se répartissent tout le long de cette protéine, lui conférant ses caractéristiques uniques parmi les apolipoprotéines: insolubilité en milieu aqueux et absence de transfert entre lipoparticules [6]. Le domaine de fixation au récepteur LDL est l'une des régions fonctionnelles les plus intéressantes. Trois approches ont permis de localiser ce domaine [7]: l'étude de la structure secondaire de l'apoB-100 déduite de sa structure primaire, la recherche d'analogies structurales avec l'apolipoprotéine E (apoE) qui se lie au même récepteur et, surtout, l'utilisation d'anticorps monoclonaux reposant sur la cartographie des épitopes de l'apoB-100, sont en faveur d'une région unique de liaison encore mal définie et comprise entre les codons

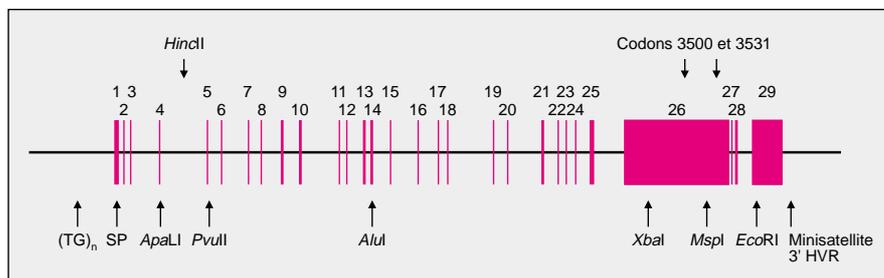


Figure 1. **Schéma du gène APOB.** Les barres verticales représentent les 29 exons du gène APOB. Les codons 3500 et 3531 porteurs des mutations hypercholestérolémiantes sont indiqués par des flèches. Les 10 polymorphismes définissant les haplotypes associés à ces mutations sont aussi indiqués.

\* Code à une lettre des acides aminés: A: Ala; C: Cys; D: Asp; E: Glu; F: Phe; G: Gly; H: His; I: Ile; K: Lys; L: Leu; M: Met; N: Asn; P: Pro; Q: Gln; R: Arg; S: Ser; T: Thr; V: Val; W: Trp; Y: Tyr.

3000 et 4000 (figure 2). Cette région est en particulier inaccessible aux anticorps quand la lipoparticule LDL est fixée sur son récepteur.

## Les mutations

Les trois mutations hypercholestérolémiantes du gène *APOB* sont des transitions C → T au sein de dinucléotides CpG, responsables de mutations faux-sens par substitution d'une arginine dans le domaine de liaison de la protéine au récepteur LDL. Toutes trois diminuent l'affinité des LDL pour leur récepteur spécifique. Dans la mesure où il n'existe qu'une seule molécule d'apoB-100 par lipoparticule LDL, les porteurs à l'état hétérozygote de l'une de ces mutations possèdent deux populations de particules LDL : l'une normale, l'autre défectueuse.

### FDB-R3500Q

La première transition C → T décrite affecte le nucléotide 10 708 du brin transcrit (non codant) du gène *APOB*, remplaçant l'arginine du codon 3500 par une glutamine (R3500Q). Cette mutation induit un changement conformationnel [8] et fonctionnel de l'apoB-100. La mutation R3500Q a été essentiellement identifiée chez des patients européens ou américains d'origine euro-

péenne. Elle était presque toujours associée à un seul et même haplotype de 10 marqueurs du locus *APOB* (figure 1) démontrant ainsi qu'elle s'est produite sur un chromosome ancestral européen commun [9] et J.-P. Rabès *et al.*, résultats non publiés). En 1993, deux haplotypes différents ont été décrits, l'un chez un sujet allemand [10], l'autre chez un sujet d'origine chinoise [11], démontrant ainsi la récurrence de cette transition C → T.

Les conséquences fonctionnelles de la mutation R3500Q ont été largement étudiées. L'affinité des particules LDL d'un sujet hétérozygote (mélange de LDL normales et de LDL déficientes) est égale à environ le tiers de la normale laissant donc supposer que moins de la moitié des LDL de ces patients sont normales. L'étude des seules LDL défectueuses isolées par chromatographie d'affinité en présence de l'anticorps MB19 (anticorps monoclonal ayant une affinité beaucoup plus grande pour l'un des deux allotypes définis par un polymorphisme neutre de l'apoB) a révélé une fixation entre 2 % et 4 % dans une première étude [12] et autour de 9 % de la normale dans une publication plus récente [13]. La comparaison en terme d'affinité des LDL totales et des LDL défectueuses isolées permet d'estimer la proportion de LDL plasmatiques défec-

tueuses chez un sujet hétérozygote à 72 %, estimation confirmée par une mesure radio-immunologique en présence d'anticorps MB19 [13]. L'étude de patients homozygotes permet de mesurer directement et uniquement l'activité fonctionnelle des particules LDL défectueuses. De façon surprenante, l'affinité des LDL prélevées chez des patients homozygotes s'est avérée supérieure à celle de LDL défectueuses isolées du plasma d'un sujet hétérozygote. En effet, les chiffres rapportés variaient de 10 % à 22 % [14]. Deux leçons importantes peuvent être tirées de ces études de fixation des particules LDL. Premièrement, la diminution d'affinité attribuée à la mutation R3500Q varie notablement en fonction des publications. Les différences de résultats entre laboratoires sont probablement dues en grande partie aux différences dans les méthodes de préparation des LDL. De telles différences peuvent intéresser l'intervalle de densité et le contenu en apoE des lipoparticules obtenues, mais aussi, dans le cas de LDL mutées obtenues de patients FDB hétérozygotes, la quantité de LDL normales contaminantes. Cependant, les différences observées, en particulier entre sujets homozygotes, peuvent aussi être expliquées par des polymorphismes génétiques modulant la liaison des LDL à leur récepteur et contribuant à la variabilité d'expression de la mutation R3500Q. Deuxièmement, l'étude des sujets homozygotes prouve l'existence d'une affinité résiduelle suffisante pour permettre le catabolisme des particules LDL défectueuses.

Les études précédentes, complétées par l'étude de l'affinité des sous-fractions des LDL d'un patient homozygote, et l'analyse *in vivo* des cinétiques des lipoparticules contenant l'apoB-100 [15], ont démontré l'existence de différents mécanismes compensatoires de l'élévation des LDL dans la FDB. Tout d'abord, les particules LDL défectueuses de grande taille (LDL<sub>1</sub> et LDL<sub>2</sub>) contenant de l'apoE seraient épurées de façon efficace. Les sous-fractions de densités intermédiaires (LDL<sub>3</sub> et LDL<sub>4</sub>) posséderaient une affinité résiduelle. D'autre part, l'épuration des particules IDL (résidus de VLDL), précurseurs des LDL (figure 3), est augmentée chez les sujets hétéro-

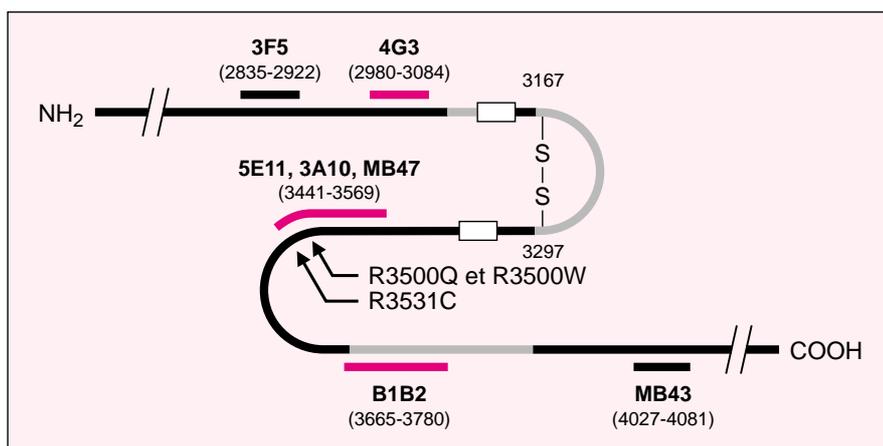


Figure 2. **Structure du domaine de liaison au récepteur LDL de l'apoB-100** d'après Milne *et al.* [7]. Les régions amphipathiques de la protéine sont grisées. Les rectangles rouges et noirs soulignent les régions incluant les épitopes des anticorps monoclonaux bloquant respectivement, totalement et partiellement, la fixation au récepteur LDL. Le pont disulfure entre les résidus 3167 et 3297 et la localisation des trois mutations hypercholestérolémiantes sont indiqués.

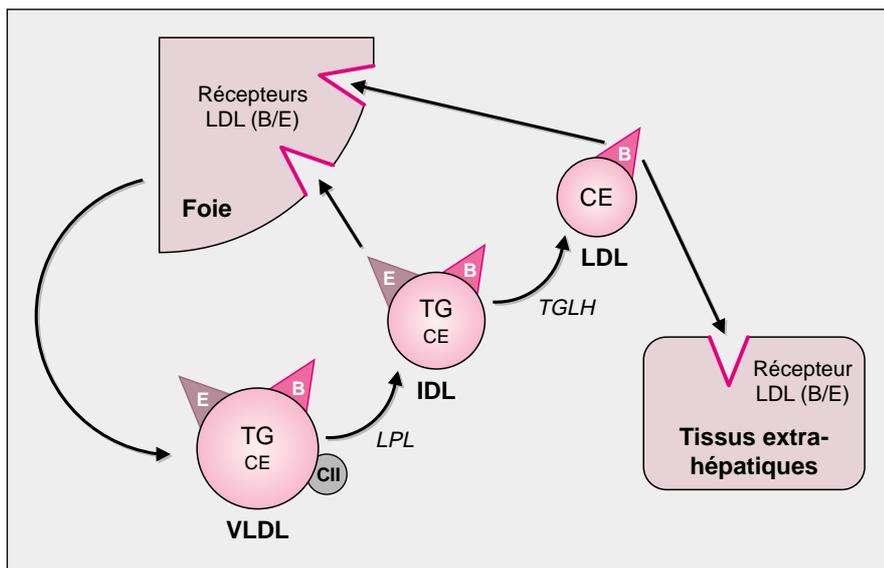


Figure 3. **Métabolisme des particules LDL.** LPL: lipoprotéine lipase; TGLH: triglycéride lipase hépatique; B: apolipoprotéine B-100; E: apolipoprotéine E; CII: apolipoprotéine CII; TG: triglycérides; CE: cholestérol estérifié.

zygotes. Celle-ci se fait *via* le récepteur LDL pour lequel l'affinité des résidus est conservée, le ligand en jeu étant l'apoE. Enfin, toujours chez les sujets FDB hétérozygotes, la conversion des IDL en LDL est diminuée. L'ensemble de ces mécanismes atténuateurs de l'hyper-LDLémie pourrait expliquer l'expression clinico-biochimique généralement plus modérée dans la FDB que dans la FH.

### FDB-R3531C

Cette deuxième altération du gène *APOB*, associée à la FDB, est la substitution de la cytosine 10 800 du brin codant par une thymine (R3531C). Elle est à l'origine d'une mutation faux-sens du codon 3531 où une arginine est remplacée par une cytosine. Les particules LDL des sujets hétérozygotes pour cette mutation ont une affinité égale à 63 % de la normale (alors qu'elle est de 36 % pour des sujets hétérozygotes FDB-R500Q testés dans les mêmes conditions). La proportion de LDL défectueuses dans le plasma de sujets hétérozygotes pour la mutation R3531C est d'environ 59 % et permet d'estimer que l'affinité des LDL associées à la mutation représente 27 % de la normale. En moyenne l'élévation du cholestérol total et lié aux LDL chez les porteurs de la mutation par rap-

port aux concentrations moyennes ajustées pour l'âge et le sexe est de 0,7 g/l. Elle est donc un peu plus faible que l'élévation observée pour la mutation FDB-R3500Q. Deux haplotypes différents sont associés à la mutation R3531C [2]. La présence d'un de ces haplotypes chez les sujets FDB-R3531C d'origine française est en faveur, là encore, d'un ancêtre commun européen [9].

### FDB-R3500W

Une seule étude a rapporté cette troisième mutation hypercholestérolémiant. Elle résulte de la transition C → T du nucléotide 10 707 du brin codant, substituant un tryptophane à l'arginine du codon 3500 (R3500W). L'altération fonctionnelle liée à cette transition a été démontrée *in vitro* en utilisant la lignée U937. Il s'agit d'une lignée myélomonocytaire tumorale humaine qui a perdu la capacité de synthétiser le cholestérol et dont la prolifération dépend d'un apport de cholestérol *via* le récepteur LDL. Sa vitesse de croissance est donc fonction de l'affinité pour leur récepteur des LDL présentes dans le milieu de culture. Les tests fonctionnels sur lignée cellulaire U937 des particules LDL de ces sujets ont montré une réduction de la fixation comparable à celle induite par la muta-

tion R3500Q. Enfin, deux différents haplotypes de quatre marqueurs du locus *APOB* sont associés à la mutation R3500W [3].

### Une sévérité clinique controversée chez les sujets hétérozygotes FDB

Le nombre de patients rapportés présentant les mutations R3500W ou R3531C étant trop restreint, il n'est pas possible de conclure à un tableau clinique particulier. La situation est totalement différente pour la mutation R3500Q dont l'impact clinique, souvent comparé à celui de la FH, a fait l'objet de très nombreuses publications. L'ensemble de ce paragraphe ne concerne donc que les sujets porteurs de la première mutation hypercholestérolémiant de l'apoB-100 décrite: les patients FDB-R3500Q.

Les premières mutations FDB-R3500Q décrites s'accompagnaient d'une hypercholestérolémie modérée, reflétant celle de la population au sein de laquelle elles avaient été tout d'abord recherchées. L'extension de cette recherche aux patients dont la symptomatologie était celle d'une forme d'hypercholestérolémie familiale autosomique dominante avec dépôts tissulaires manifestes de cholestérol (tableau dit « FH clinique », initialement attribué aux seules mutations du gène *LDLR*), a révélé l'existence de sujets FDB-R3500Q dont l'hypercholestérolémie était importante. Ces sujets hétérozygotes FDB et les sujets hétérozygotes FH étaient indiscernables tant par la fréquence des atteintes coronaires, des xanthomes et des arcs cornéens, que par les concentrations plasmatiques de cholestérol [12, 16]. Cependant, Myant *et al.*, comparant les prévalences relatives des mutations responsables de FDB et de FH dans la population générale et parmi les patients présentant un tableau d'hypercholestérolémie sévère, concluent que, pour la majorité des porteurs de la mutation R3500Q, l'hypercholestérolémie n'était pas assez marquée pour produire des signes cliniques [17]. Plus récemment, Miserez *et al.* ont étudiés 28 sujets hétérozygotes FDB et 129 sujets hétérozygotes FH consti-

tuant deux groupes de patients parfaitement appariés du point de vue de l'âge, du sexe, de la distribution des génotypes de l'apoE et des concentrations de lipoprotéine (a). Ils ont observé, chez les sujets FDB, des concentrations plasmatiques de cholestérol total et lié aux particules LDL significativement plus faibles (respectivement, 3,1 g/l contre 3,9 et 2,4 contre 3,2). Les mêmes résultats ont été obtenus en reprenant dans la littérature les analyses de 238 sujets FDB et 415 patients FH [18].

Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer en partie par deux biais de sélection. Tout d'abord, le choix des populations au sein desquelles ont été recherchés les sujets FDB. L'échantillon idéal devrait provenir de la population générale et son effectif devrait être suffisant pour être statistiquement représentatif de l'ensemble des sujets FDB. D'autre part, la comparaison avec le tableau clinico-biochimique de la FH est délicate [19] dans la mesure où cette maladie est elle-même sujette à une forte variabilité phénotypique que sous-tend une grande variabilité allélique [20]. Le choix de la population choisie pour comparaison représente donc le deuxième biais possible. Malgré ces biais, la FDB, comme toute maladie autosomique dominante, s'accompagne d'une variabilité phénotypique. Si la présence de la mutation R3500Q de l'apoB-100 augmente la concentration de cholestérol, cette dernière est aussi modulée par des facteurs liés à l'environnement et par différents facteurs génétiques mineurs. En outre, concernant l'athérosclérose coronarienne, cette variabilité peut être accentuée par d'autres facteurs de risque dont l'hypertension artérielle et le tabagisme. Cependant, la variabilité d'expression interfamiliale de la FDB semble particulièrement importante si l'on tient compte de l'homogénéité génétique des sujets étudiés (R3500Q uniquement) puisque les concentrations de cholestérol peuvent varier de 2,6 à 5,8 g/l d'un patient à l'autre [21]. Cette variabilité se retrouve aussi à l'intérieur même d'une famille, voire au cours du temps chez un même individu. Au sein d'une seule famille, ont été décrits deux individus asymptomatiques dont la

concentration des LDL plasmatiques était normale et un patient hypercholestérolémique décédé d'un infarctus du myocarde à 31 ans [22]. Dans une autre famille co-existaient trois phénotypes différents associés à la mutation FDB: hypercholestérolémie sévère, hypercholestérolémie modérée et normolipidémie [23]. Miserez *et al.* ont même noté, au niveau individuel, une fluctuation spontanée de la cholestérolémie beaucoup plus importante chez les patients FDB-R3500Q que chez les sujets normaux ou atteint de FH [18]. Cependant, chez tous les hétérozygotes dont les LDL ont été étudiées, l'affinité pour le récepteur LDL est diminuée, même s'il s'agit de sujets normocholestérolémiques. Par conséquent, la pénétrance de la FDB n'est incomplète (autour de 90 %) que si elle est appréciée par la cholestérolémie.

### Les sujets homozygotes pour la FDB-R3500Q

A ce jour seuls quatre sujets homozygotes pour la FDB-R3500Q ont été décrits [14]. Le premier sujet était une femme de 31 ans présentant un arc cornéen bilatéral et une cholestérolémie comprise entre 2,9 et 3,3 g/l sensible au traitement par les inhibiteurs de l'HMGCoA réductase (statines). Le deuxième cas était celui d'un homme de 54 ans, asymptomatique, dont le cholestérol plasmatique se situait entre 3,3 et 3,6 g/l. Les derniers cas rapportés étaient deux homozygotes appartenant à la même fratrie [14]. L'un d'eux (66 ans) présentait un arc cornéen, un xanthélasma, des xanthomes tendineux et une occlusion de l'artère interventriculaire gauche visible à l'angiographie coronaire, avec une hypercholestérolémie à 3,7 g/l. L'examen clinique de sa sœur (69 ans), malgré une cholestérolémie à 4,6 g/l, était strictement normal. La cholestérolémie de ces deux individus a diminué sous statine. En résumé, aucune atteinte cardiovasculaire et aucun xanthome n'ont été détectés chez trois des quatre sujets FDB homozygotes rapportés à ce jour. Leur cholestérolémie variait de 2,9 à 4,6 g/l et diminuait sous traitement par statine. Ces manifestations contrastent nettement avec la forme

### \* GLOSSAIRE \*

- apo B-100**: apolipoprotéine B hépatique (100 %).
- apo B-48**: apolipoprotéine B intestinale (48 %).
- APOB**: gène codant pour l'apolipoprotéine B.
- apo E**: apolipoprotéine E.
- EGF**: epidermal growth factor.
- FDB**: familial defective apolipoprotein B-100 ou déficience familiale en apolipoprotéine B-100.
- FH**: familial hypercholesterolemia ou hypercholestérolémie familiale par défaut du gène LDLR.
- HCF**: hypercholestérolémie familiale ou dyslipidémie de type IIa monogénique.
- HDL**: high-density lipoprotein ou lipoprotéine de haute densité.
- IDL**: intermediate-density lipoprotein ou lipoprotéine de densité intermédiaire.
- LDL**: low-density lipoprotein ou lipoprotéine de faible densité.
- LDLR**: gène codant pour le récepteur des LDL.
- VLDL**: very low-density lipoprotein ou lipoprotéine de très faible densité.

homozygote de la FH où l'athérosclérose coronarienne entraîne une forte mortalité souvent avant la fin de la deuxième décennie et où la cholestérolémie, résistante au traitement par les inhibiteurs de l'HMGCoA réductase, est comprise entre 5,8 et plus de 12 g/l [20]. La comparaison de la symptomatologie des homozygotes FDB et FH révèle une sévérité moindre pour la FDB. De plus, le tableau clinico-biologique est semblable chez les homozygotes et les hétérozygotes FDB, révélant un mécanisme de dominance vraie. La FDB et la chorée de Huntington sont donc les deux seules maladies héréditaires humaines dans lesquelles ce phénomène est observé.

### Les doubles hétérozygotes FH/FDB

Neuf cas de double hétérozygotie FH/FDB ont été rapportés dans la littérature [24]. Six membres d'une famille afrikaner, porteurs de la mutation D206E du gène LDLR et de

la substitution R3500Q du gène *APOB*, présentait un phénotype intermédiaire entre les patients hétérozygotes et homozygotes FH. Inversement Rauh *et al.* (1991) ont rapporté le cas d'un double hétérozygote dont le tableau clinique était celui d'un hétérozygote FH. Enfin, deux patients français, FH (substitution W66G ou E207K dans le gène *LDLR*) et FDB-R3500Q, présentaient une expression clinique assez spécifique : l'élévation de leur cholestérol lié aux particules LDL était plus importante que chez les sujets hétérozygotes FH ou FDB, ou homozygotes FDB mais, contrairement aux sujets FH homozygotes, elle restait sensible aux hypocholestérolémiants [24]. Ces observations soulignent les rôles différents joués par le récepteur LDL et son ligand dans la régulation du métabolisme des LDL. Elles démontrent, par ailleurs, que la variabilité phénotypique au sein d'une famille souffrant d'hypercholestérolémie familiale peut s'expliquer par un digénisme.

### La prévalence et l'impact de la FDB-R3500Q

La mutation R3500Q de l'apoB-100 a tout d'abord été recherchée parmi des patients dyslipoprotéïnémiques (Tableau I), en particulier ceux de type IIa et ceux présentant un tableau «FH clinique», mais aussi parmi des sujets présentant une athérosclérose symptomatique (Tableau II). Au sein des populations dyslipoprotéïnémiques, les fréquences observées varient d'un pays à l'autre et sont comprises entre 0,3 % (Canada) et 12 % (Suisse). En Europe, il existe un gradient centrifuge décroissant centré sur la Suisse. Aucune mutation n'a été retrouvée jusqu'à présent en Finlande [25], en Israël et au Japon [26]. Les sujets souffrant d'athérosclérose sont plus rarement porteurs de la mutation, seulement 0,2 % à 1,8 % des cas (Tableau II). Afin de déterminer précisément la prévalence de la mutation R3500Q, des études dans la population générale ont été entreprises sur des échantillons impor-

tants. Elle a été estimée de trois manières, selon les équipes. La première, grossière, consistait à multiplier la fréquence de la mutation observée parmi des patients hypercholestérolémiques, par la fréquence de cette dyslipidémie (5%) dans la population générale. Cette estimation n'est valable que si la mutation entraîne systématiquement une hypercholestérolémie, ce qui n'est pas le cas de la FDB. La deuxième, plus fine, est la somme des produits suivants : fréquence de la mutation observée parmi des patients, hommes ou femmes, dans une certaine tranche d'âge et dans un certain intervalle de cholestérolémie, par la fréquence de ces hommes ou femmes dans la population générale. Cette estimation n'est possible que si la distribution de la concentration de cholestérol plasmatique dans la population étudiée est équivalente à celle de la population de référence (études LRC américaine ou MONICA européenne). Enfin, la troisième méthode mesure directement la fréquence de

Tableau I  
PRÉVALENCE DE LA MUTATION R3500Q CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE HYPERLIPIDÉMIE

Pays	Dyslipidémie	Effectif	R3500Q	Prévalence	Référence
Suisse	«FH clinique»	76	9	12% (1/8)	[18]
	HCF	142	7	5% (1/20)	[26]
Allemagne	HCF	43	4	9% (1/11)	[34]
	Type IIa «FH clinique»	980 1027	39 18	4% (1/25) 2% (1/50)	[35], [21] et [10] [16] et [12]
Belgique	Type IIa	62	5	8% (1/12,5)	[19]
Australie	«FH clinique»	37	2	5% (1/20)	[12]
Tchécoslovaquie	«FH clinique»	52	5	4% (1/25)	[36]
Grande-Bretagne	Type IIa	91	3	3,5% (1/29)	[12]
	«FH clinique»	250	8	3% (1/33)	[12]
France	Type IIa	39	1	2,5% (1/40)	[19]
	HCF	225	3	1,5% (1/67)	[37] et [9]
Danemark	«FH clinique»	101	2	2% (1/50)	[25]
Suède	«FH clinique»	127	2	1,5% (1/67)	[38]
États-Unis	Type IIa	521	8	1,5% (1/67)	[12]
	HL	1368	12	0,9% (1/111)	[2]
Canada	«FH clinique»	173	2	1% (1/100)	[23] et [39]
	Type IIa	343	1	0,3% (1/333)	[12]
Écosse	HL non «FH clinique»	859	5	0,5% (1/200)	[3]
Norvège	«FH clinique»	208	1	0,5% (1/200)	[40]

«FH clinique» : hypercholestérolémie familiale autosomique dominante avec dépôts tissulaires manifestes de cholestérol.  
HCF : hypercholestérolémie familiale.  
Type IIa : hypercholestérolémie liée à une augmentation des particules LDL et normotriglycéridémie.  
HL : hyperlipidémie.

Tableau II					
PRÉVALENCE DE LA MUTATION R3500Q CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ATHÉROSCLÉROSE SYMPTOMATIQUE					
Pays	Pathologie	Effectif	R3500Q	Prévalence	Référence
Autriche	Coronaropathie sévère	110	2	1/55 (1,8%)	[19]
Danemark	Sténose carotidienne	57	1	1/57 (1,8%)	[12]
	Coronaropathie et HC modérée	445	1	1/445 (0,2%)	[27]
France et Irlande du Nord	Coronaropathie Survivants IDM	80 622	0 2	– 1/311 (0,3%)	[12] [9]
France	Coronaropathie	700	2	1/350 (0,3%)	[9]
Suède	Coronaropathie	113	0	–	[12]
Finlande	Coronarographiés	188	0	–	[25]
	AMI	38	0	–	[25]

HC: hypercholestérolémie.  
IDM: infarctus du myocarde.  
AMI: artérite des membres inférieurs.

Tableau III					
PRÉVALENCE DE LA MUTATION R3500Q DANS LA POPULATION GÉNÉRALE					
Pays	Population étudiée	Effectif	R3500Q	Prévalence	Référence
Suisse	Appelés sains (volontaires)	728	3	1/240	[26]
	Hypercholestérolémie familiale	142	7	1/190*MONICA 1/420*LRC	[26]
Belgique	Type IIa	62	5	1/250**	[19]
Allemagne	Type IIa et « FH clinique »	300	8	1/700**	[12]
	Type IIa	252	12	1/400**	[21]
États-Unis, Canada et Autriche	Type IIa et/ou coronaropathie	974	11	1/500*LRC	[12]
Grande-Bretagne	type IIa et « FH clinique »	164	9	1/600**	[12]
France et Irlande du Nord	Contrôles (étude ECTIM)	639	1	–	[9]
États-Unis	Employés d'une banque (volontaires)	5 160	4	1/1300	[11]
	– Caucasiens	2 859	3	1/950	
	– Asiatiques	1 109	–	–	
	dont Chinois	315	1	–	
Danemark	Nouveau-nés	5 000	4	1/1250	[25]

Type IIa: hypercholestérolémie liée à une augmentation des particules LDL et normotriglycéridémie.

\*\* : estimation grossière.

\* : estimation plus fine.

« FH clinique » : hypercholestérolémie familiale autosomique dominante avec dépôts tissulaires manifestes de cholestérol.

la mutation dans un échantillon important de la population générale. Les différents résultats obtenus sont réunis dans le *Tableau III* et révèlent des prévalences très variables allant de 1/190 à 1/1300.

La mesure de l'impact clinique intègre la prévalence d'une maladie et sa gravité en terme de morbidité et

de mortalité. La moyenne de la cholestérolémie des patients FDB est 50 % à 70 % plus élevée que celle de leurs apparentés non atteints [27]. Cette augmentation du cholestérol total et lié aux particules LDL chez les porteurs de la mutation par rapport au taux moyen ajusté pour l'âge et le sexe, est en moyenne de 1g/l [28].

Par ailleurs, la sévérité du tableau clinique et donc la sévérité de l'atteinte vasculaire de la FH, est corrélée au degré d'hypercholestérolémie. Cependant, pour la FDB cet impact serait relativement faible : très peu de patients porteurs de la mutation R3500Q sont retrouvés parmi les patients qui souffrent d'athérosclé-

rose (Tableau II); les résultats de l'étude ECTIM, en particulier, montrent un faible risque d'infarctus du myocarde attribuable à la FDB [9]. En outre, la comparaison des homozygotes FDB et FH indique que la prédisposition à la maladie coronarienne est beaucoup moins marquée dans le premier cas. Enfin, nous avons vu précédemment que des éléments physiopathologiques propres à la FDB jouent un rôle compensateur face à l'élévation plasmatique des LDL.

## Les modèles animaux

Il n'existe pas de véritable modèle animal de FDB ni spontané ni, jusqu'à présent, transgénique. Le modèle le plus proche de la FDB est une variété de porc qui se caractérise par une hypercholestérolémie associée à un variant allélique de l'apoB. Ces porcs, appelés IHLC (*inherited hypercholesterolemia LDL cholesterol pigs*) ont une concentration plasmatique de particules LDL 2 à 4 fois supérieure à la normale et sont homozygotes pour un polymorphisme de l'apoB (Lpb5). Cependant, même si l'épuration *in vivo* et *in vitro* de leurs LDL est réduite, l'affinité de ces dernières pour le récepteur LDL n'est pas aussi diminuée que chez les patients FDB. En outre, la composition des LDL de ces porcs est anormale, ce qui n'est pas le cas dans la maladie humaine. Enfin, l'absence de mutation dans la région du gène *APOB* codant pour le domaine de fixation au récepteur LDL de l'apoB-100, prouve définitivement que les porcs IHLC ne sont pas un modèle exact de FDB humaine [29].

Il existe des différences majeures, au niveau du métabolisme lipoprotéique entre l'homme et les souris. Ces dernières sont naturellement résistantes à l'athérosclérose, leur cholestérol, en concentration inférieure à 1 g/l, est essentiellement (80 %) transporté dans des HDL, leur synthèse d'apoB-100 est donc faible et elles ne possèdent pas d'activité CETP (*cholesterol ester transfer protein*) notable [30]. Cependant, ces différences peuvent être exploitées par les techniques de transgénèse car l'impact d'un gène peut être plus facilement mesuré s'il n'a pas d'homologue murin ou si ce dernier est peu exprimé. La première souris transgénique construite portait un mini-gène,

codant pour un protéine de 150 kDa, sous le contrôle de son promoteur humain. Cette mini-apoB, fortement synthétisée dans le foie et l'intestin, n'était pas transférable, ce qui suggère que les structures permettant un ancrage permanent dans la particule sont présentes. Une souris transgénique pour le gène *APOB* humain complet a été obtenue par la même équipe. Le transgène s'exprimait aussi de façon spécifique dans le foie et l'intestin. L'apoB-100 se retrouvait dans le plasma, mais aucune forme apoB-48 n'a pu être isolée, démontrant ainsi que le mécanisme d'édition est spécifique d'espèce [31]. Depuis, d'autres équipes ont utilisé, comme modèle d'athérosclérose, les souris transgéniques exprimant le gène *APOB* humain. Sous régime pauvre en lipides, les concentrations de cholestérol plasmatique de ces souris varient entre 1 et 2 g/l et elles ne développent pas de lésions. Cependant, sous régime très riche en cholestérol et acide cholinique leurs cholestérolémies s'élèvent jusqu'à 3 à 5 g/l et des stries lipidiques apparaissent dans la paroi artérielle [30]. Hormis ces modèles transgéniques, il n'existe pas actuellement de lignée murine transgénique porteuse de l'une des trois mutations hypercholestérolémiantes du gène *APOB*.

## Autres gènes impliqués dans l'hypercholestérolémie familiale

Les défauts du gène *LDLR* et les mutations dans le gène *APOB* ne rendent pas compte de tous les cas d'hypercholestérolémie familiale. Lestavel-Delattre *et al.* ont réalisé des études fonctionnelles chez 41 patients présentant une forme clinique d'hypercholestérolémie familiale, indiscernable des formes FH et FDB [32]. Chez 9 de ces patients l'activité des récepteurs LDL et la fixation des LDL à leurs récepteurs étaient strictement normales. L'hypercholestérolémie de ces sujets pourrait être attribuée à une régulation négative *in vivo* du gène *LDLR*, soit par des mutations dans un des éléments de régulation de ce gène, soit par une répression excessive du gène *LDLR*. Cette répression, déjà évoquée pour expliquer l'augmentation du taux de cholestérol avec l'âge ou, chez les femmes, après la ménopause, pour-

rait affecter plus sévèrement les patients étudiés par Lestavel-Delattre *et al.* Une autre hypothèse est l'implication d'un autre gène majeur. Cette hypothèse est corroborée par des études menées dans notre laboratoire. Nous avons identifié deux familles présentant une hypercholestérolémie familiale à transmission autosomique dominante. Par analyse génétique nous avons exclu l'implication des gènes *LDLR* et *APOB*. Ces analyses génétiques ont été confirmées par des analyses fonctionnelles. De même Miserez et Keller [18] ont identifié trois familles comparables aux nôtres. Ces résultats démontrent l'existence d'au moins un troisième gène majeur impliqué dans l'hypercholestérolémie familiale autosomique dominante et non encore identifié

Les cas d'hypercholestérolémies familiales récessives sont également en faveur de l'existence d'un autre groupe de gènes impliqués dans les hypercholestérolémies familiales. Ces formes récessives ont été rapportées par plusieurs équipes [20, 33]. Au total 5 patients ont été identifiés qui montraient, dès la petite enfance, une hypercholestérolémie sévère (6 g/l), une élévation des LDL et des xanthomes cutanés et souvent tendineux. Ces signes étaient évocateurs des formes homozygotes de FH. Néanmoins, leurs parents étaient indemnes de toute altération clinique ou biologique. Par ailleurs, le test fonctionnel d'activité du récepteur LDL était normal et les LDL de l'un des patients se liaient normalement à des récepteurs témoins [33]. Enfin, à la différence encore des sujets FH, tous les auteurs ont noté une réponse parfaite à un traitement simple (régime pauvre en cholestérol et riche en acides gras polyinsaturés) puisque chez l'un des patients la cholestérolémie était maintenue à moins de 1 g/l. Ces sujets présentent ce qui a été appelé une « hyperlipoprotéïnémie pseudo-homozygote de type IIa », transmise selon un mode autosomique récessif. Le défaut moléculaire associé est à l'heure actuelle encore inconnu. La seule particularité biologique identifiée est une production très accrue de particules LDL, trois à quatre fois plus importante que celle d'une population témoin, semblant indiquer que le défaut est d'origine hépatique et lié à la synthèse de ces particules.

En conclusion, l'ensemble des études menées depuis les travaux de Michael Brown et de Joseph Goldstein ont permis de démontrer l'existence d'une hétérogénéité génétique dans l'hypercholestérolémie familiale. Les travaux de l'équipe de Thomas Innerarity ont magistralement démontré la contribution des mutations du gène *APOB*. Actuellement, le défi à relever est l'identification d'autres gènes dont les mutations sont responsables d'hypercholestérolémie familiale à transmission dominante et récessive. La découverte de ces gènes permettra peut-être d'individualiser les facteurs de prédisposition génétique aux hypercholestérolémies multifactorielles, beaucoup plus fréquentes dans la population générale et à fort impact dans le développement de la maladie coronarienne ■

#### Remerciements

Ce travail a bénéficié de divers soutiens financiers, pour cela nous remercions : la Fondation de France, la Faculté de Médecine de Paris-Ouest-Université Paris V, le GREG (Groupe de Recherche et d'Études du Génome) et le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (ACCSV2).

#### RÉFÉRENCES

- 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.
- Pullinger C, Hennessy L, Chatterton J, Liu W, Love J, Mendel C, Frost P, Malloy M, Schumaker V, Kane J. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decrease LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995; 95: 1225-34.
- Gaffney D, Reid J, Cameron I, Vass K, Caslake M, Shepherd J, Packard C. Independent mutations at codon 3500 of the apolipoprotein B gene are associated with hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Biol* 1995; 15: 1025-9.
- Sivaram P, Vanni-Reyes T, Goldberg I. Endothelial cells synthesize and process apolipoprotein B. *J Biol Chem* 1996; 271: 15261-6.
- Benne R. RNA editing: how a message is changed. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 221-31.
- Knott T, Pease R, Powell L, Wallis S, Rall S, Innerarity T, Blackhart B, Taylor W, Marcel Y, Milne R, Johnson D, Fuller M, Lusis A, McCarthy B, Mahley R, Levy-Wilson B, Scott J. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature* 1986; 323: 734-8.
- Milne R, Théolis R Jr., Maurice R, Pease R, Weech P, Rassart E, Fruchart J, Scott J, Marcel Y. The use of monoclonal antibodies to localize the low density lipoprotein receptor-binding domain of apolipoprotein B. *J Biol Chem* 1989; 264: 19754-60.
- Lund-Katz S, Innerarity T, Arnold K, Curtiss L, Phillips M. <sup>13</sup>C-NMR evidence that substitution of glutamine for arginine 3500 in Familial Defective apolipoprotein B-100 disrupts the conformation of the receptor-binding domain. *J Biol Chem* 1991; 266: 2701-4.
- Rabès J, Varret M, Saint-Jore B, Erlich D, Jondeau G, Krempf M, Giraudet P, Junien C, Boileau C. Familial ligand-defective apolipoprotein B-100: simultaneous detection of the Arg<sub>3500</sub> → Gln and Arg<sub>3531</sub> → Cys mutations in a french population. *Hum Mutat* 1997; 10: 160-3.
- Rauh G, Schuster H, Schewe C, Stratmann G, Keller C, Wolfram G, Zöllner N. Independent mutation of arginine<sub>(3500)</sub> → glutamine associated with familial defective apolipoprotein B-100. *J Lipid Res* 1993; 34: 799-805.
- Bersot T, Russell S, Thatcher S, Pomernecki N, Mahley R, Weisgraber K, Innerarity TL FC. A unique haplotype of the apolipoprotein B-100 allele associated with familial defective apolipoprotein B100 in a Chinese man discovered during a study of the prevalence of this disorder. *J Lipid Res* 1993; 34: 1149-54.
- Tybjærg-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.
- Arnold K, Balestra M, Krauss R, Curtiss L, Young S, Innerarity T. Isolation of allele-specific, receptor-binding-defective low density lipoproteins from familial defective apolipoprotein B-100 subjects. *J Lipid Res* 1994; 35: 1469-76.
- Gallagher J, Myant N. The affinity of low-density lipoproteins and of very-low-density lipoprotein remnants for the low-density lipoprotein receptor in homozygous familial defective apolipoprotein B-100. *Atherosclerosis* 1995; 115: 263-72.
- Pietzsch J, Wiedemann B, Julius U, Nitzsche S, Gehrisch S, Bergmann S, Leonhardt W, Jaross W, Hanefeld M. Increased clearance of low density lipoprotein precursors in patients with heterozygous familial defective apolipoprotein B-100: a stable isotope approach. *J Lipid Res* 1996; 37: 2074-87.
- Defesche J, Pricker K, Hayden M, van der Ende B, Kastelein J. Familial defective apolipoprotein B-100 is clinically indistinguishable from familial hypercholesterolemia. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2349-56.
- Myant N. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993; 104: 1-18.
- Miserez A, Keller U. Differences in the phenotypic characteristics of subjects with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1719-29.
- Kotze M, Peeters A, Langenhoven E, Wauters J, Van Gaal L. Phenotypic expression and frequency of familial defective apolipoprotein B-100 in Belgian hypercholesterolemics. *Atherosclerosis* 1994; 111: 217-25.
- Goldstein J, Brown M. Familial Hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, eds. *The metabolic basis of inherited diseases, 6th ed.* New York: McGraw-Hill, 1989: 1215-50.
- Geisel J, Schleifenbaum T, Oette K, Weibhaar B. Familial defective apolipoprotein B-100 in 12 subjects and their kindred. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 729-36.
- Myant N, Gallagher J, knight B, McCarthy S, Frostegard J, Nilsson J, Hamsten A, Talmud P, Humphries S. Clinical signs of familial hypercholesterolemia in patients with familial defective apolipoprotein B-100 and normal low density lipoprotein receptor function. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 691-703.
- Davignon J, Dufour R, Roy M, Bétard C, Ma Y, Ouellette S, Boulet L, Lussier-Cacan S. Phenotypic heterogeneity associated with defective apolipoprotein B-100 and occurrence of the familial hypercholesterolemia phenotype in then absence of an LDL-receptor defect within a Canadian kindred. *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 10-17.
- Benlian P, de Gennes J, Dairou F, Hermelin B, Ginon I, Villain E, Lagarde J, Federspiel M, Bertrand V, Bernard C, Berezat G. Phenotypic expression in double heterozygotes for familial hypercholesterolemia and familial defective apolipoprotein B-100. *Hum Mutat* 1996; 7: 340-5.
- Hansen P, Norgaard-Petersen B, Meinertz H, Jensen H, Hansen A, Klausen I, Gerdes L, Faergeman O. Incidence of the apolipoprotein B-3500 mutation in Denmark. *Clin Chim Acta* 1994; 230: 101-4.
- Miserez A, Laager R, Chiodetti N, Keller U. High prevalence of familial defective apolipoprotein B-100 in Switzerland. *J Lipid Res* 1994; 35: 574-83.
- Hansen P, Meinertz H, Jensen H, Fruergaard P, Launbjerg J, Klausen I, Lemming L, Gerdes U, Gregersen N, Faergeman O. Characteristics of 46 heterozygous carriers and 57 unaffected relatives in five Danish families with Familial defective apolipoprotein B-100. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 207-13.
- Tybjærg-Hansen A. Rare and common mutations in hyperlipidemia and atherosclerosis. With special reference to familial defective apolipoprotein B-100. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55: 57-76.
- Overturf M, Loose-Mitchell D. *In vivo* model systems: the choice of the experimental animal model for analysis of lipoproteins and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1992; 3: 179-85.
- Breslow J. Mouse models of atherosclerosis. *Science* 1996; 272: 685-8.
- Xiong W, Zsigmond E, Gotto A, Reneker L, Chan L. Transgenic mice expressing full-length human apolipoprotein B-100: full-length human apolipoprotein B mRNA is essentially not edited in mouse intestine or liver. *J Biol Chem* 1992; 267: 21412-20.
- Lestavel-Delattre S, Benhamamouch S, Agnani G, Luc G, Bard J, Brousseau T, Billardon C, Kusnierz J, De Gennes J, Fruchart J, Clavey V. Evidence of non-deficient low-density lipoprotein receptor patients in a pool of subjects with clinical Familial hypercholesterolemia profile. *Metabolism* 1994; 43: 397-402.

## RÉFÉRENCES

33. Masana L, Joven J, Rubiés-Prat J, Lewis B. Low density lipoprotein metabolism and receptor studies in a patient with pseudohomozygous familial hypercholesterolemia. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 475-6.
34. Koch M, Pfohl M, Enderle M, Schnauder G, Seif F. Detection of the apolipoprotein B-100 arg(3500) → Gln mutation in familial defective apoB-100 by temperature-gradient gel electrophoresis. *Z Gastroenterol* 1996; 34: 16-8.
35. Geisel J, Holzem G, Schleifenbaum T, Oette K. Screening for mutation in the LDL receptor gene and apolipoprotein B-100 gene in 218 patients with severe hypercholesterolemia. *Z Gastroenterol* 1996; 34: 14-5.
36. Horinek A, Slezka V, Sobra J, Ceska R. Možnosti DNA analýzy u heterozygotu familiární hypercholesterolemie. *Čas Lek Cesk* 1995; 134: 234-9.
37. Brousseau T, Lecerf J, Luc G, Devulder B, Fruchart J, Amouyel P. Recherche de la mutation Arg3500 → Gln de l'apolipoprotéine B. *Presse Med* 1995; 24: 769-72.
38. Eggertsen G, Eriksson M, Wiklund O, Iitiä A, Olofsson S, Angelin B, Berglund L. Time-resolved fluorometry in the genetic diagnosis of familial defective apolipoprotein B-100. *J Lipid Res* 1994; 35: 1505-8.
39. Morash B, Guernsey D, Tan M, Dempsey G, Nassar B. Detection of Familial defective apolipoprotein B-100 among patients clinically diagnosed with heterozygous familial hypercholesterolemia in maritime Canada. *Clin Biochem* 1994; 27: 265-72.
40. Leren T, Rodningen O, Tonstad S, Rosby O, Urdal P, Ose L. Identification of the apoB-3500 mutation in the Norwegian population. *Scand Clin Lab Invest* 1995; 55: 217-21.

## Summary

### Familial hypercholesterolemia 25 years after. II. forms with normal LDL receptor

Fourteen years after the identification of the LDL receptor and the demonstration that its defects account for familial hypercholesterolemia (FH), the hypothesis that a defect in its ligand, apolipoprotein B-100 (apo B-100) could also account for FH was confirmed. Innerarity *et al.* identified the R3500Q mutation in the *APOB* gene and showed that it significantly affected the affinity of LDL for the receptor. Thus, genetic heterogeneity was demonstrated and the new molecular entity was called familial defective apolipoprotein B-100 (FDB). Great clinical and biological variability was reported between heterozygotes for the FDB-R3500Q mutation. Paradoxically, all homozygotes for this mutation displayed a clinical and biological presentation markedly comparable to that of heterozygotes. Double heterozygosity for mutations in the *LDLR* and the *APOB* genes was also identified. The probands presented with an intermediate phenotype between heterozygous FDB and homozygous FH. The FDB-R3500Q mutation is mostly found in populations of European descent and is carried by a unique ten-marker haplotype of the *APOB* gene, therefore demonstrating that it is carried by a unique European ancestral chromosome. Finally, the prevalence of the R3500Q mutation was shown to be as high as 1/500 but variable among populations and could be associated with an European north-south gradient. Allelic heterogeneity was also demonstrated in FDB. Two other C → T transitions were identified resulting in the substitution of an arginine residue in the binding domain of apo B-100 (mutations R3531C and R3500W). The R3531C mutation is less frequent than the R3500Q mutation but also seems to be carried by an unique European ancestral chromosome. At present, no animal models of FDB have been identified or obtained through transgenesis. Finally, the results of various functional and genetic studies clearly demonstrate that defects in other major genes are involved in dominant as well as in recessive familial hypercholesterolemia.