

Regulación de la absorción intestinal de colesterol: el papel protagonista de NPC1L1 y sus polimorfismos funcionales

Carmen Garcés

Unidad de Lípidos. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

La homeostasis del colesterol se mantiene balanceando la síntesis endógena con la absorción intestinal del colesterol de la dieta y con la secreción de ácidos biliares y colesterol, de forma que su absorción intestinal constituye una vía fundamental en la homeostasis del colesterol en el organismo¹. Sin embargo, el porcentaje de colesterol absorbido presenta una enorme variación interindividual, oscilando entre el 20 y el 80% del colesterol ingerido en la dieta².

A pesar de que los mecanismos moleculares responsables de la absorción intestinal de colesterol y esteroles vegetales no están completamente definidos, en los últimos años los progresos han sido significativos³. Durante mucho tiempo el proceso de absorción de colesterol se había considerado el resultado de un balance entre la difusión pasiva de entrada a través de la membrana del enterocito y la excreción de vuelta a la luz intestinal. El descubrimiento de que mutaciones en los genes de 2 transportadores de membrana que actúan como heterodímeros, ABCG5 y ABCG8, eran las causantes de la β-sitosterolemia, enfermedad debida a una absorción intestinal de esteroles elevada y caracterizada por altos valores plasmáticos de esteroles vegetales⁴, confirmaba una intervención genética en la absorción intestinal de los esteroles y abría la puerta a estudios en los que se observaba como polimorfismos en los genes de ABCG5/ABCG8 modulaban la relación de la ingesta de colesterol o grasa saturada en la dieta con los valores plasmáticos de lípidos⁵.

En 2004 Altman et al⁶ identificaron a la Niemann-Pick C1-like protein 1 (NPC1L1) como la proteína crítica en la absorción intestinal del colesterol de la dieta, al comprobar que la delección de NPC1L1 en ratones producía una dramática reducción de la absorción de colesterol. Establecían así que NPC1L1 era un modulador clave de la homeostasis corporal de colesterol⁷. Posteriormente García-Calvo et al⁸, demostraron que el transportador intestinal del colesterol situado en el ribete en cepillo de los enterocitos, NPC1L1 era la diana molecular de la ezetimiba, un inhibidor de absorción intestinal de colesterol, un fármaco hipolipemiante que había supuesto un gran estímulo en la búsqueda durante años de la proteína cuya función interfiere⁸.

Además de NPC1L1 y la familia de genes ABC, otra serie de proteínas están implicadas en el transporte intestinal de colesterol, entre ellas se encuentran: SR-BI (*scavenger receptor class B type I*), FAT/CD36 (*fatty acid translocase/cluster determinant 36*), aminopeptidasa N y el heterocomplejo caveolina-1 (CAV1)/annexina-2 (ANXA2)³. La mayoría de estos transportadores intestinales de colesterol están regulados por factores de transcripción, entre los que se incluyen RXR, LXR, SREBP-2 y PPAR³. Se trata de factores reguladores de la transcripción cuyas secuencias de unión están codificadas en las regiones promotoras proximal y distal, de modo que la presencia de polimorfismos en dichas regiones puede afectar de forma importante la expresión génica. Aunque actualmente algunos de los aspectos relacionados tanto con estas proteínas transportadoras como con los factores que las regulan permanecen controvertidos y siguen siendo objeto de intensa investigación, NPC1L1 se ha instituido en el transportador esencial en la absorción intestinal de colesterol^{9,10}.

Correspondencia: Dra. C. Garcés.
Unidad de Lípidos. Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: cgarcés@fid.es

Así, por ejemplo, se ha descrito que la amplia variación interindividual en los valores de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) en respuesta al tratamiento con ezetimiba, probablemente se deba a polimorfismos en NPC1L1 que influyen la absorción intestinal de colesterol y en consecuencia en los valores plasmáticos de LDL, tanto en condiciones fisiológicas¹¹ como durante el tratamiento con ezetimiba^{12,13}. Algunos trabajos han asociado polimorfismos en el gen *NPC1L1* con la cinética de la apolipoproteína B¹⁴. Recientemente los estudios han comenzado a encaminarse a la caracterización funcional de variantes genéticas de *NPC1L1*¹⁵. En este contexto, el artículo de Martín et al¹⁶ que se publica en el presente número de CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS no puede ser más actual a la vez que oportuno, abriendo una línea de investigación pionera en España. En su trabajo el grupo de investigadores integrado por líderes absolutos de este tipo de estudios en los ámbitos nacional e internacional, se proponen como objetivos identificar variantes genéticas en la zona promotora del gen *NPC1L1* y analizar el efecto funcional sobre la actividad transcripcional de *NPC1L1* del polimorfismo -133A>G, polimorfismo que puede afectar al sitio de unión para el factor de transcripción RXR. Justifican la selección de este polimorfismo, además de basándose en su alta prevalencia, por las evidencias existentes que muestran una mayor modificación de la secuencia consenso de unión del factor de transcripción RXR alrededor del polimorfismo -133A>G¹⁷. En su estudio de la funcionalidad del polimorfismo emplean las técnicas de ensayo de retardo en gel o EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay), y de medida de la actividad luciférica.

Estudiando 2 kb de la región promotora del gen *NPC1L1* en 102 sujetos normolipídémicos identifican, además de una serie de mutaciones previamente descritas, 5 nuevas mutaciones de las cuales una de ellas (-18C>A) presenta una frecuencia para su alelo menos común del 22%, frecuencia considerable que puede convertir a este polimorfismo en objeto de análisis en un futuro.

Como resultado de su estudio de la funcionalidad del polimorfismo -133A>G describen diferencias en la afinidad de unión de proteínas nucleares y en la actividad transcripcional del promotor del gen *NPC1L1* en función de la variante alélica, que atribuyen a la alteración del sitio de unión del factor de transcripción RXR, alteración que provocaría que disminuya la afinidad de unión de este factor de transcripción con efecto represor, originando por ello una disminución de su regulación

negativa. Las diferencias de expresión observadas podrían relacionarse con la variabilidad interindividual en la absorción intestinal de colesterol. Lamentablemente, como los propios autores reconocen, no se determinó la concentración de esterolos vegetales o fitoesteroles, claros marcadores de la absorción intestinal de colesterol, por lo que resultarían extremadamente interesantes estudios posteriores en los que se determinasen dichas concentraciones de esterolos y se analizase su relación con la variación de expresión.

Podemos decir que, en general, caracterizar polimorfismos con una función reguladora se ha convertido en un objetivo fundamental dentro del estudio de la genética humana¹⁸. En particular, identificar y analizar el efecto funcional de polimorfismos en genes de proteínas relacionadas con la absorción de colesterol, responsables potenciales del alto grado de la variabilidad interindividual en la absorción intestinal de colesterol y, por tanto, de los valores de lípidos en respuesta a la ingesta de grasa y colesterol, cobra un significado especial. Sin embargo, como reconoce uno de los autores del trabajo que estamos comentando, identificar y desentrañar los mecanismos de acción de polimorfismos funcionales es una labor costosa, de una elevada complejidad técnica¹⁹. Ahí radica la singular relevancia del trabajo de Martín et al, el estudio del efecto de los polimorfismos funcionales en el gen *NPC1L1* abre un campo apasionante de investigación. La aplicación de técnicas como las descritas en este trabajo y el desarrollo de nuevos métodos de ensayo y análisis informático adquieren una singular trascendencia, ya que nos llevarán a identificar polimorfismos funcionales que contribuirán en gran medida a aclarar las bases genéticas de un tema tan complejo como es la absorción intestinal de colesterol.

Bibliografía

1. Turley SD. The role of Niemann-Pick C1 - Like 1 (NPC1L1) in intestinal sterol absorption. *J Clin Lipidol.* 2008;2:S20-8.
2. Bosner SM, Lange LG, Stenson WF, Ostlund RE Jr. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res.* 1999;40:302-8.
3. Levy E, Spahisa S, Sinnetta D, Perettia N, Maupas-Schwalmd F, Delvina E, et al. Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18:310-8.
4. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia is caused by mutation in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290:1771-5.
5. Viturro E, de Oya M, Lasunción MA, Gorgojo L, Martín-Moreno JM, Benavente M, et al. Cholesterol and saturated fat intake determine the effect of polymorphism at ABCG5/ABCG8 genes on lipid levels in children. *Genet Med.* 2006;8:594-9.
6. Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science.* 2004;303:1201-4.

7. Davis HR Jr, Zhu LJ, Hoos LM, Tetzloff G, Maguire M, Liu J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem*. 2004;279:33586-92.
8. García-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, Hawes BE, Burnett DA, Braun MP, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:8132-7.
9. Davis HR, Basso F, Hoos LM, Tetzloff G, Lally SM, Altmann SW. Cholesterol homeostasis by the intestine: Lessons from Niemann-Pick C1 Like 1 [NPC1L1]. *Atheroscler Suppl*. 2008 Jun 26 [Epub ahead of print].
10. Yu L. The structure and function of Niemann-Pick C1-Like 1 protein. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19:263-9.
11. Cohen JC, Pertsemlidis A, Fahmi S, Esmail S, Vega GL, Grundy SM, et al. Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:1810-5.
12. Hegele RA, Guy J, Ban MR, Wang J. NPC1L1 haplotype is associated with inter-individual variation in plasma low-density lipoprotein response to ezetimibe. *Lipids Health Dis*. 2005;4:16.
13. Simon JS, Karnoub MC, Devlin DJ, Arreaza MG, Qiu P, Monks SA, et al. Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics*. 2005;86:648-56.
14. Chan DC, Watts GF, Wang J, Hegele RA, van Bockxmeer FM, Barrett PH. Variation in Niemann-Pick C1-like 1 gene as a determinant of apolipoprotein B-100 kinetics and response to statin therapy in centrally obese men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69:45-51.
15. Fahmi S, Yang C, Esmail S, Hobbs HC, Cohen JC. Functional characterization of genetic variants in NPC1L1 supports the sequencing extremes strategy to identify complex trait genes. *Hum Mol Genet*. 2008;17:2101-7.
16. Martín B, Solanas M, Pampín S, Rodríguez-Rey JC, Civeira F, Pocoví M. Estudio funcional del promotor del gen *NPC1L1*. *Clin Invest Arterioscl*. 2008;20:183-9.
17. Cartharius K, Frech K, Grote K, Klocke B, Haltmeier M, Klingenhoff A, et al. MatInspector and beyond: promoter analysis based on transcription factor binding sites. *Bioinformatics*. 2005;21:2933-42.
18. Buckland PR. The importance and identification of regulatory polymorphisms and their mechanisms of action. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1762:17-28.
19. Pampín S, Rodríguez-Rey JC. Functional analysis of regulatory single-nucleotide polymorphisms. *Curr Opin Lipidol*. 2007;