

Rememorando la contribución de Goldstein y Brown al estudio del metabolismo del colesterol: a un cuarto de siglo del Premio Nobel de Medicina

VÍCTOR CORTÉS¹, TATIANA VÁSQUEZ¹, ANTONIO ARTEAGA¹,
FLAVIO NERVI², ATTILIO RIGOTTI^{1,2}

The contribution of Goldstein and Brown to the study of cholesterol metabolism

In December 1985, the Nobel Prize of Medicine was awarded to Drs. Joseph L. Goldstein and Michael S. Brown for their fundamental scientific work on the regulation of cholesterol metabolism mediated by the low density lipoprotein receptor pathway. This article briefly reviews the academic and research accomplishments of Drs. Brown and Goldstein as a tribute to these physician-scientists for their well-deserved award and enormous contribution to biomedical science worldwide.

(Rev Med Chile 2012; 140: 1053-1059).

Key words: Cholesterol; Nobel prize; Receptors, lipoprotein.

El colesterol es una biomolécula que cumple importantes roles metabólicos y fisiológicos en diferentes especies animales, siendo un componente esencial de las membranas celulares y precursor de las hormonas esteroidales y de las sales biliares¹. Además, el colesterol participa en el control de la morfogénesis embrionaria en los mamíferos². Concordantemente, la homeostasis del colesterol, tanto a nivel celular como del organismo en su totalidad, es un proceso muy relevante y se encuentra finamente regulado. Las alteraciones en la regulación de la síntesis, absorción y excreción del colesterol predisponen al desarrollo de enfermedades crónicas de alta prevalencia, alta mortalidad e impacto social y económico.

La enfermedad cardiovascular isquémica de origen aterosclerótico es la primera causa de morbilidad y mortalidad en Chile y el mundo. Dentro de su etiopatogenia, la hipercolesterolemia representa un factor de riesgo claramente establecido ya que favorece el desarrollo de aterosclerosis³. Por otra parte, la hipersecreción de colesterol biliar es el evento fisiopatológico clave que determina la

aparición de colelitiasis, un estado patológico de alta prevalencia en Chile⁴.

La comprensión detallada de los procesos celulares y moleculares que controlan el metabolismo del colesterol ha sido un logro fundamental para el desarrollo de las estatinas, fármacos hipolipemiantes de amplio uso por su demostrado efecto protector antiaterogénico⁵. En efecto, las estatinas han representado uno de los grandes avances en el armamento terapéutico médico de las últimas décadas, disminuyendo significativamente la mortalidad por enfermedad cardiovascular y cerebrovascular aterosclerótica³.

Dentro de los investigadores más insignes en este campo destacan los médicos Joseph L. Goldstein y Michael S. Brown (Figura 1), cuyo trabajo científico fundacional sobre la regulación del metabolismo del colesterol mediado por la vía celular dependiente del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) los hizo acreedores del Premio Nobel de Medicina en 1985^{6,7}. Este artículo es un homenaje a estos médicos investigadores con motivo de los 27 años que han transcurrido desde la obtención de este merecido galardón.

Departamentos de

¹Nutrición, Diabetes y Metabolismo y

²Gastroenterología

Escuela de Medicina,

Pontificia Universidad

Católica, Santiago, Chile.

Recibido el 9 de enero de

2012, aceptado el 19 de

enero de 2012.

Correspondencia a:

Dr. Attilio Rigotti,

Departamento de

Gastroenterología,

Escuela de Medicina,

Pontificia Universidad

Católica de Chile.

Marcoleta #367,

interior, 2do Piso,

Santiago, Chile.

Teléfono: 56-2-3543832.

E-mail: arigotti@med.puc.cl

Algunos aspectos históricos sobre la investigación del colesterol previo a 1985

Durante casi dos siglos, la investigación en el campo del colesterol ha mostrado un avance continuo con aportes científicos de alto impacto⁸. En 1815, el químico francés Michel Chevreul propuso el uso del nombre de colesterol (del griego: *chole*, bilis y *stereos*, sólido) para designar al compuesto lipídico que había sido detectado por François Poulletier de la Salle en 1769 en los cálculos biliares⁹. Con el transcurso del tiempo y el esfuerzo de muchos investigadores, se estableció la importancia biológica del colesterol y sus derivados hormonales esteroidales y las sales biliares. La definición de la compleja estructura molecular del colesterol y las sales biliares, gracias al trabajo de Heinrich Wieland y Adolf Windaus, y de la intrincada vía de biosíntesis del colesterol, estudiada por Konrad Bloch y Feodor Lynen, también les valió el reconocimiento con los Premios Nobel de Química en 1927 y 1928 y el de Medicina en 1964, respectivamente⁸.

En la década de 1930-39, Rudolph Schoenheimer planteó la existencia de un delicado equilibrio entre la cantidad de colesterol que una

célula sintetiza y la que obtiene desde el medio extracelular¹⁰. Por otro lado, el médico noruego Carl Müller definió en 1938 el cuadro clínico de la hipercolesterolemia familiar como una enfermedad autosómica dominante caracterizada por xantomas, altos niveles de colesterol sanguíneo y enfermedad coronaria precoz¹¹. Sin embargo, tanto los mecanismos determinantes de la regulación fisiológica del metabolismo de colesterol así como las causas de la hipercolesterolemia familiar permanecieron desconocidos hasta los años '70 del siglo pasado.

Joseph Goldstein y Michael Brown¹²⁻¹⁵

Los Drs. Goldstein y Brown se conocieron a mediados de la década de 1960-69 durante su residencia en Medicina Interna en el *Massachusetts General Hospital* en Boston, forjando una amistad que les ha permitido desarrollar una de las colaboraciones científicas más notables y duraderas del siglo XX y que se extiende por 40 años hasta la actualidad. Posterior a su estadía en Boston, ambos investigadores completaron su formación científica en los *National Institutes of Health (NIH)* de Estados Unidos de Norteamérica (USA), donde conocieron casos de dislipidemias genéticas, muchos de ellos fatales, que influyeron decisivamente en la elección y desarrollo de su futura línea de investigación. A comienzos de los años 70, el Dr. Goldstein desarrolló un protocolo genético poblacional sobre trastornos lipídicos hereditarios en sobrevivientes de ataques cardíacos¹⁶, el cual daría origen al estudio de la hipercolesterolemia familiar. Finalmente, ambos investigadores iniciaron en 1972 una carrera académico-científica conjunta en la *Southwestern Medical School* de la Universidad de Texas en Dallas, centrados inicialmente en la hipótesis de que las anomalías en la regulación de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA (HMGCoA) reductasa, catalizadora de la única etapa limitante de la síntesis del colesterol, era la causa celular de la hipercolesterolemia familiar.

A lo largo de la década de 1970-79 y a pesar de su intenso trabajo científico, los Drs. Brown y Goldstein continuaron desempeñándose como clínicos en los servicios de medicina del *Hospital Parkland Memorial* de Dallas y haciendo docencia de pre- y postgrado en medicina interna y genética médica. De hecho, la formación de nuevas generaciones de médicos investigadores, así como



Figura 1. Fotografía de los Dres. Michael Brown (izquierda) y Joseph Goldstein (derecha) tomada en sus laboratorios de investigación del *Southwestern Medical Center* de la Universidad de Texas en Dallas, USA.

de científicos básicos puros, ha sido una de sus preocupaciones permanentes, tal como lo manifestaron en una inspiradora publicación de 1997¹⁷. En este trabajo, Brown y Goldstein enfatizan su convicción de la relevancia la participación de médicos clínicos en la investigación de frontera, según ellos la única vía conducente al descubrimiento de los mecanismos celulares y moleculares de enfermedades humanas. Además, este concepto desarrolla un punto central del informe Flexner sobre la formación médica en Estados Unidos de Norteamérica¹⁸, que recalca la necesidad de la investigación científica ejecutada por profesores de medicina para crear los ambientes académicos propicios e indispensables para una formación médica de calidad. Concordantemente con estas opiniones publicadas hace 15 años, Michael Brown actualmente se desempeña como director del programa combinado de médicos investigadores (MD-PhD) de *University of Texas Southwestern Medical Center*, participando activamente en la selección y educación de dichos estudiantes y dicta seminarios y congresos especialmente dedicados a la educación biomédica.

Los descubrimientos claves que llevaron al Premio Nobel de Medicina de 1985

Tanto la biosíntesis celular del colesterol, como la importancia de la enzima HMGCoA reductasa y su regulación por retroalimentación negativa, habían sido previamente delineadas¹⁹. La aproximación experimental clave aplicada por Brown y Goldstein fue la utilización de cultivo primario de fibroblastos obtenidos desde sujetos controles y pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigota²⁰. En sus primeras observaciones, Brown y Goldstein notaron que cuando los fibroblastos normales se cultivaban en medios enriquecidos con LDL, la actividad de la enzima HMGCoA reductasa disminuía. Por el contrario, cuando se cultivaban en medios deprivados de LDL, la actividad de HMGCoA reductasa aumentaba, indicando que la actividad de esta enzima dependía de los niveles de exposición de las células al colesterol LDL presente en el medio extracelular. Adicionalmente, ellos establecieron que esta regulación era gatillada específicamente por LDL y no por HDL, sugiriendo la especificidad lipoproteica de este proceso²¹.

En contraste, los fibroblastos de pacientes homocigotos para hipercolesterolemia familiar no mostraron esta retroalimentación: a partir de una actividad enzimática basal de HMGCoA reductasa muy aumentada, la exposición a medios enriquecidos en LDL no suprimía la actividad de esta enzima. Inversamente, la actividad de la reductasa tampoco aumentaba cuando los fibroblastos se cultivaban en ausencia de LDL²⁰. Como es lógico, la explicación inicial para estos resultados fue que el defecto observado en las células de los pacientes se debía a una alteración en el gen codificante para la HMGCoA reductasa, lo cual impedía su regulación por colesterol. Sin embargo, la hipótesis correcta surgió después del experimento clave de introducir colesterol directamente en las células, mediante su solubilización en etanol, independientemente de la presencia de partículas de LDL en el medio de cultivo. Con esta intervención, sorprendentemente, se detectó una supresión de la actividad de la reductasa en los fibroblastos de los sujetos con hipercolesterolemia familiar, tal como lo observado en fibroblastos controles normales²². Este hallazgo llevó a Goldstein y Brown a postular que el defecto determinante del fenotipo celular asociado a la hipercolesterolemia familiar homocigota residía en una incapacidad de la células para captar colesterol presente en las LDL desde el medio externo hacia el compartimento intracelular, implicando la existencia de un receptor para LDL en la superficie de la membrana plasmática.

La existencia del receptor de LDL (LDLR) se evidenció en 1974 mediante el uso de LDL marcada en su componente proteico con yodo radioactivo (¹²⁵I)²³. Estos experimentos permitieron demostrar la unión saturable y de alta afinidad de LDL a la superficie de células normales en cultivo, la cual se asociaba a internalización y degradación lisosomal de las partículas de LDL, con liberación de colesterol en las células, y reciclaje del receptor hacia la superficie celular (Figura 2). Importantemente, estos fenómenos estaban ausentes en los fibroblastos derivados de pacientes hipercolesterolémicos familiares²³. Paradójicamente, el trabajo que reportaba estos hallazgos fue inicialmente rechazado para publicación en *Journal of Biological Chemistry*, una de las más prestigiosas revistas de bioquímica básica, ya que los revisores argumentaron que “la publicación de este artículo con sus observaciones incompletas no servirán a la ciencia médica ni otorgará reconocimiento en el largo plazo

a sus autores³³, aunque finalmente fue publicado en esta revista en el año 1974²³.

Es interesante destacar que estos descubrimientos clave se lograron pese a los relativamente escasos recursos materiales con que Brown y Goldstein contaban en esa época: un laboratorio con tres mesones, una tecnóloga

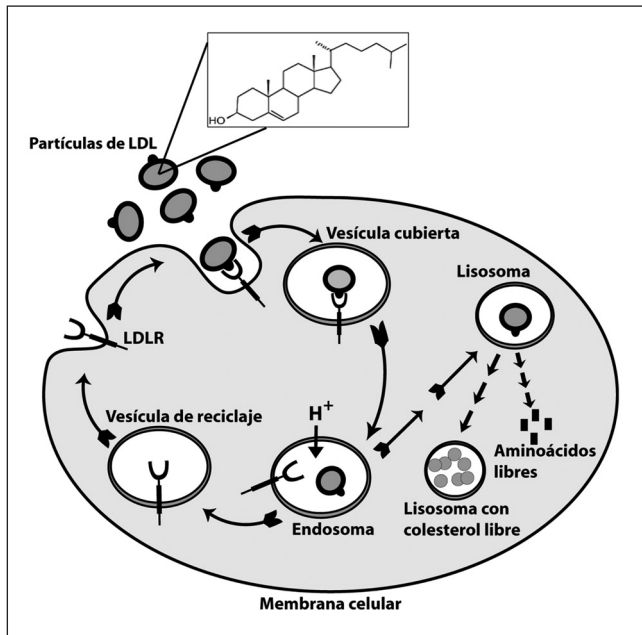


Figura 2. Esquema de endocitosis de LDL, reciclaje del receptor de LDL y el procesamiento intracelular de las partículas de LDL. Las partículas circulantes de LDL, las cuales contienen moléculas de colesterol (recuadro) libre y esterificado, se unen en la superficie celular a los receptores de LDL (LDLR). Estos receptores normalmente se ubican en subdominios de la membrana plasmática conocidos como fosetas cubiertas, por estar asociados en su cara citoplásmica con diversas proteínas intracelulares, de las cuales destaca la clatrina. Una vez producida la asociación entre LDL y su receptor esta foseta es invaginada hacia el espacio intracelular, formándose una vesícula cubierta. Esta estructura se asocia con un nuevo grupo de proteínas intracelulares y sufre acidificación de su espacio luminal, representado aquí por el ingreso de iones H⁺, formándose un nuevo organelo denominado endosoma. El medio ácido del endosoma permite que las partículas de LDL se disocien del LDLR, el cual es destinado de vuelta a la superficie celular por medio de un organelo denominado vesícula de reciclaje. En la superficie celular, el LDLR es relocalizado en las fosetas cubiertas, quedando disponible para un nuevo ciclo de unión y endocitosis de LDL. A diferencia del LDLR, las partículas de LDL son destinadas hacia los lisosomas para su degradación terminal, en donde el componente lipídico es descompuesto hasta colesterol y ácidos grasos libres para su posterior incorporación en los distintos compartimentos de lípidos metabólicamente activos de la célula, mientras que las apolipoproteínas, en particular la apo B, son hidrolizadas hasta sus aminoácidos constituyentes. Este ciclo de internación y retorno a la superficie celular del LDLR demora aproximadamente 10 min y es repetido cientos de veces en las 20 h de vida de esta proteína de la membrana plasmática. (Figura modificada en base referencia 7).

bioquímica y un auxiliar de laboratorio. Es posible que el éxito de estos trabajos iniciales se produjera por la conjunción afortunada de diversos factores: los talentos personales de Brown y Goldstein, su óptima preparación académica obtenida en ambientes universitarios de calidad, el planteamiento de las preguntas claves, la aplicación de métodos apropiados, la motivación y confianza en sí mismos y una buena dosis de serendipia.

Junto con una mejor caracterización de la regulación del metabolismo del colesterol, el esfuerzo de Brown y Goldstein y sus colaboradores permitió entender un fenómeno biológico de alcances más generales. En efecto, aunque la existencia de endocitosis celular había sido descrita en décadas previas, este proceso se asumía como inespecífico e independiente de receptores celulares. Por lo tanto, la demostración que la captación celular de LDL requiere una proteína específica en la superficie celular²⁴ (Figura 2) constituyó un cambio paradigmático esencial en el estudio de las vías endocíticas de una célula^{25,26}.

Adicionalmente, en 1982 Goldstein, Brown y su equipo lograron aislar y purificar el producto proteico del receptor de LDL desde las glándulas suprarrenales de bovino²⁷, permitiendo, *a posteriori*, la identificación del gen codificante para el gen de este receptor en 1985²⁸, sentando las bases para el análisis de las mutaciones genéticas que dan cuenta de la hipercolesterolemia familiar²⁹.

Finalmente, el laboratorio de Brown y Goldstein también identificó por primera vez la existencia de receptores celulares, distintos del LDLR, que median la captación celular de LDL químicamente alteradas, en macrófagos tisulares³⁰, un evento patogénico precoz y central en la aterogénesis. Este hallazgo sentó las bases para el estudio de los mecanismos celulares de acumulación anormal de colesterol en la lesión ateromatosa, llevando a la identificación posterior de los receptores *scavenger*^{31,32} y su papel determinante en la aterosclerosis³³.

La ciencia de excelencia continúa

En su trabajo posterior al Nobel de Medicina en 1985, Brown y Goldstein centraron sus esfuerzos en el entendimiento de los mecanismos subyacentes a la regulación transcripcional del metabolismo de colesterol (Figura 3). Esto les permitió descubrir el sistema transcripcional conocido como *sterol regulatory element binding proteins* (SREBPs)³⁴. Estos factores transcripcionales interactúan con proteínas reguladoras y responden a cambios en los niveles de colesterol en la membrana del retículo endoplásmico, generando una regulación génica concertada de la síntesis y captación de colesterol LDL mediadas por la enzima HMGCoA reductasa y el receptor de LDL, respectivamente (Figura 3).

De manera relevante, la regulación de la expresión del receptor de LDL mediada por SREBP-2 es clave para la acción hipolipemiente de las estatinas. En efecto, las estatinas inhiben competitivamente el sitio activo de la enzima HMGCoA reductasa³⁵, disminuyendo la síntesis intracelular de colesterol, lo que conlleva a una tendencia hacia la disminución del contenido de colesterol en la membrana del retículo endoplásmico. Esta reducción es detectada por la maquinaria proteica endoplásmica que activa el sistema transcripcional dependiente de SREBP-2, el cual sufre proteólisis controlada, siendo liberado desde la membrana del retículo endoplásmico y viajando al núcleo celular para estimular compensatoriamente la expresión del gen del receptor de LDL y cantidad del mismo en la superficie celular (Figura 3B). Como consecuencia, el mayor número de receptores de LDL que se localizan en la membrana celular frente a la exposición a las estatinas determina una remoción aumentada de las partículas de LDL y la característica reducción en los niveles plasmáticos de colesterol LDL^{3,5}. De hecho, el grupo de Brown y Goldstein en colaboración con el Dr. Akira Endo, descubridor de la primera estatina en Japón, fueron quienes

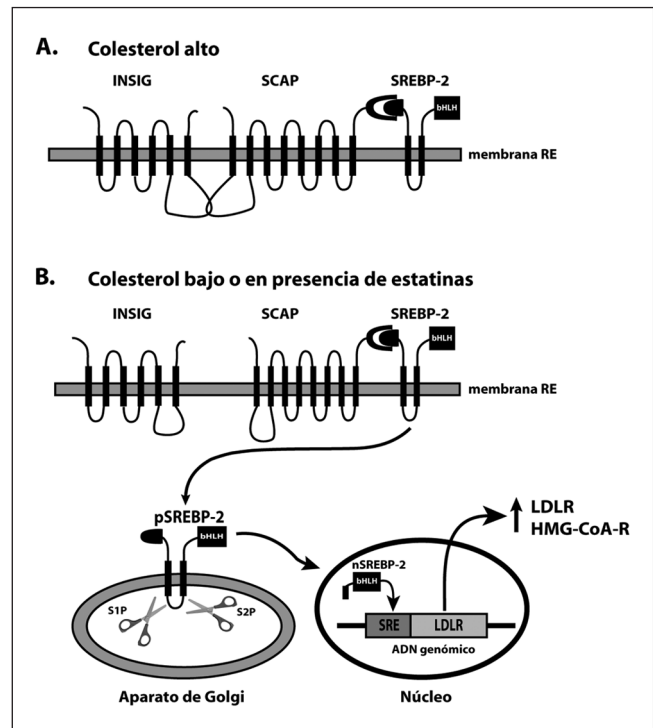


Figura 3. Regulación transcripcional del metabolismo celular del colesterol por el sistema SREBP-2. **(A)** Cuando el contenido de colesterol celular, principalmente en la membrana del retículo endoplásmico (RE), se encuentra elevado, este lípido se une a la proteína SCAP (*SREBP-cleavage activating protein*), la cual en respuesta cambia su conformación e interactúa físicamente con INSIG (*insulin-induced gene*), una proteína residente en el ER. Esta interacción ancla al complejo formado por SCAP y SREBP-2 (*sterol regulatory element binding protein-2*) en el RE y evita su migración hacia el aparato de Golgi. **(B)** Cuando el colesterol celular es bajo, SCAP libre de colesterol se desprende de INSIG y el complejo SCAP-SREBP-2 se transloca hacia el Golgi donde SREBP-2 es activado. **(C)** La activación de SREBP-2 ocurre en el aparato de Golgi y consiste de la liberación del extremo amino terminal de la proteína precursora (pSREBP-2) por acción secuencial de dos proteasas S1P (*site 1 protease*) y S2P (*site 2 protease*). Este segmento liberado, el cual contiene el dominio de unión a ADN conocido como bHLH, no está anclado a ninguna membrana celular y se transloca al núcleo celular (nSREBP-2) donde actúa directamente en los elementos de respuesta a esteroides (SRE, *sterol responsive elements*) que regulan la transcripción del receptor de LDL (LDLR), HMGCoA R (reductasa) y varios otros genes involucrados en la síntesis de colesterol. Esta respuesta transcripcional contribuye a elevar los niveles de colesterol celular y se activa en presencia de estatinas. La mayor expresión del LDLR en la superficie celular inducida por el uso de estatinas trae como consecuencia una reducción de los niveles séricos de colesterol LDL.

establecieron que el efecto farmacológico de este compuesto aislado de un hongo³⁶ dependía de esta vía regulatoria de la homeostasis del colesterol celular³⁷.

Desde la introducción de las estatinas a la práctica clí-

nica a comienzos de la década de los años 1980, el efecto hipocolesterolémico de estos medicamentos, que Brown y Goldstein denominan como la “*penicilina para el colesterol*”³⁸, ha constituido uno de los avances terapéuticos más importantes en la historia de la medicina, así como también una de las fuerzas motoras más poderosas de la industria farmacéutica mundial³.

Finalmente, en los últimos años, Brown y Goldstein han concentrado sus estudios en los detalles moleculares de la vía endocítica de captación de colesterol dependiente del receptor de LDL, con especial énfasis en los mecanismos de acción de las proteínas NPC1 y NPC2, centrales en la solubilización y salida de colesterol desde los lisosomas hacia otros compartimentos intracelulares^{14,39}.

Conclusión

Como se evidencia de este artículo conmemorativo, las casi cuatro décadas de trabajo científico de los Dres. Brown y Goldstein representan fielmente el encanto y la pasión por una idea fija que ha sido abordada desde una perspectiva amplia y sinérgica, alcanzando logros sobresalientes con impacto real para la ciencia, la medicina y la sociedad en general.

Este ilustre ejemplo refleja cabalmente el concepto moderno de ciencia biomédica *translacional* que fluye recíprocamente tanto desde el gen hacia la enfermedad así como del mesón de laboratorio a la cama del paciente y que los Drs. Brown y Goldstein hicieron realidad en forma pionera. Muchos académicos en diferentes partes del mundo, incluyendo los autores de este artículo, han recibido directa o indirectamente la influencia científica de estos investigadores motivando el desarrollo de una carrera académica centrada en el estudio del metabolismo del colesterol en diferentes enfermedades humanas. Como ellos mismos lo encarnan y lo han expresado, “*patient-oriented researchers may be bewitched, bothered, and bewildered, but they are still beloved*”¹⁷. ¡Qué sabio y válido consejo para las futuras generaciones de investigadores biomédicos!

Agradecimientos: Los autores agradecen al Dr. Michael Brown por su gentileza de compartir la fotografía reproducida en este artículo.

Referencias

1. Tabas I. Cholesterol in health and disease. *J Clin Invest* 2002; 110: 583-90.
2. Willnow TE, Hammes A, Eaton S. Lipoproteins and their receptors in embryonic development: more than cholesterol clearance. *Development* 2007; 134: 3239-49.
3. Steinberg D. *The cholesterol wars: the skeptics vs. the preponderance of evidence*. New York, USA: Elsevier Academic Press, 2007.
4. Zanlungo S, Rigotti A, Nervi F. Hepatic cholesterol transport from plasma into bile: implications for gallstone disease. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 279-86.
5. Grundy SM. Cholesterol-lowering drugs as cardioprotective agents. *Am J Cardiol* 1992; 70:271-321.
6. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1985. Disponible en: www.nobelprize.org [consultado el 8 de noviembre de 2010].
7. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
8. Vance DE, Van den Bosch H. Cholesterol in the year 2000. *Biochim Biophys Acta* 2000; 29: 1-8.
9. Mayer J, Hanson SD. Michel Eugene Chevreul. *J Nutr* 1960; 72: 2-7.
10. Schoenheimer R, Breusch F. Synthesis and destruction of cholesterol in the organism. *J Biol Chem* 1933; 103: 439-48.
11. Müller C. Xanthoma, hypercholesterolemia, angina pectoris. *Acta Med Scandinav* 1938; 89: 75.
12. Anderson RG. Joe Goldstein and Mike Brown: from cholesterol homeostasis to new paradigms in membrane biology. *Trends Cell Biol* 2003; 13: 534-9.
13. Kresge N, Simoni RD, Hill RL. 30 years of cholesterol metabolism: the work of Michael Brown and Joseph Goldstein. *J Biol Chem* 2006; 281: e25-e28.
14. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 431-8.
15. Williams R. Joseph Goldstein and Michael Brown: demoting egos, promoting success. *Cir Res* 2010; 106: 1006-10.
16. Goldstein JL, Hazzard WR, Schrott HG, Bierman EL, Motulsky AG. Genetics of hyperlipidemia in coronary heart disease. *Trans Assoc Am Physicians* 1972; 85: 120-38.
17. Goldstein JL, Brown MS. The clinical investigator: bewitched, bothered, and bewildered-but still beloved. *J Clin Invest* 1997; 99: 2803-12.
18. Mitka M. The Flexner report at the century mark: a wake-up call for reforming medical education. *JAMA* 2010; 303: 1465-6.
19. Brown MS, Goldstein JL. Cholesterol feedback: from

- Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J Lipid Res* 2009; 50: S15-27.
20. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 2804-8.
 21. Brown MS, Dana SE, Goldstein JL. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts by lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 2162-6.
 22. Brown MS, Dana SE, Goldstein JL. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in cultured human fibroblasts: Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 1974; 249: 789-96.
 23. Goldstein JL, Brown MS. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts: Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 1974; 249: 5153-62.
 24. Anderson RG, Brown MS, Goldstein JL. Role of the coated endocytic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts. *Cell* 1977; 10: 351-64.
 25. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, et al. Editores. *Molecular Cell Biology*, Sexta Edición. New York, USA: WH Freeman and Co., 2007.
 26. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Editores. *Molecular Biology of the Cell*, Quinta Edición. New York, USA: Taylor and Francis Group, 2008.
 27. Schneider WJ, Beisiegel U, Goldstein JL, Brown MS. Purification of the low density lipoprotein receptor, an acidic glycoprotein of 164,000 molecular weight. *J Biol Chem* 1982; 257: 2664-73.
 28. Südhof TC, Goldstein JL, Brown MS, Russell DW. The LDL receptor gene: A mosaic of exons shared with different proteins. *Science* 1985; 228: 815-22.
 29. Hobbs HH, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet* 1990; 24: 133-70.
 30. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 333-7.
 31. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrecky J, Matsudaira P, Krieger M. Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531-5.
 32. Rohrer L, Freeman M, Kodama T, Penman M, Krieger M. Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature* 1990; 343: 570-2.
 33. Rigotti A. Scavenger receptors and atherosclerosis. *Biol Res* 2000; 33: 97-103.
 34. Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell* 2006; 124: 35-46.
 35. Endo A, Kuroda M, Tanzawa K. Competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by ML-236A and ML-236B fungal metabolites, having hypocholesterolemic activity. *FEBS Lett* 1976; 72: 323-6.
 36. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. *J Antibiot* 1976; 29: 1346-8.
 37. Brown MS, Faust JR, Goldstein JL, Kaneko I, Endo A. Induction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. *J Biol Chem* 1978; 253: 1121-8.
 38. Brown MS, Goldstein JL. A tribute to Akira Endo, discoverer of a "Penicillin" for cholesterol. *Atherosclerosis Suppl* 2004; 5: 13-6.
 39. Infante RE, Wang ML, Radhakrishnan A, Kwon HJ, Brown MS, Goldstein JL. NPC2 facilitates bidirectional transfer of cholesterol between NPC1 and lipid bilayers, a step in cholesterol egress from lysosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 15287-92.