

**DEFICIT LCAT**

# ETEROGENEITÀ GENETICA E FENOTIPICA NEL DEFICIT LCAT

## Genetic and phenotypic heterogeneity in LCAT deficiency

**CHIARA PAVANELLO**

Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,  
Università degli Studi di Milano

**SUMMARY**

Genetic LCAT deficiency is a very rare monogenic disorder of lipid metabolism due to loss-of-function mutation in the *LCAT* gene, which codes for the enzyme responsible for esterification of plasma cholesterol. The main feature is the low plasma HDL-cholesterol level. Other manifestations include corneal opacification, anemia and renal disease, which is the major cause of morbidity and mortality in carriers. Despite being monogenic, biochemical and clinical manifestations, as well as the clinical outcomes, may largely vary among carriers and may not be predicted by the residual enzymatic activity, neither by the type of *LCAT* mutation. Thus, the collection of large series of carriers of LCAT deficiency is needed to address various open questions on this disease, mainly related to the prediction of clinical outcome. In addition, despite some therapeutic attempts, serious clinical manifestations, which can occur already in the first decades of life, are presently with no cure. The timely diagnosis in carriers, together with the identification of disease biomarkers able to predict the evolution of clinical manifestations, would be of great help in the identification of carriers to address to future available therapies.

**Key words:** *Lecitin:cholesterol acyltransferase (LCAT), unesterified cholesterol, high-density lipoprotein.*

**Introduzione**

Il deficit genetico di lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT) è una malattia molto rara del metabolismo lipidico a trasmissione autosomica recessiva, dovuta

a mutazioni del gene *LCAT* con perdita di funzione (1). Seppur interessino lo stesso gene, le mutazioni di *LCAT* possono dare origine a due diverse sindromi: il deficit familiare di LCAT (FLD; OMIM #245900) e il fish-eye disease (FED; OMIM #136120). Mentre la prima è causata dall'assenza o dalla completa inattività dell'enzima, la seconda è causata da mutazioni che aboliscono selettivamente la capacità di esterificare il colesterolo in HDL, il principale substrato dell'enzima, che invece conserva intatta la sua capacità di esterificare il cole-

*Indirizzo per la corrispondenza*

Chiara Pavanello  
Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento  
di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,  
Università degli Studi di Milano, Milano, Italy  
E-mail: chiara.pavanello@unimi.it

sterolo nelle lipoproteine contenenti l'apolipoproteina B (apoB) (2). Di conseguenza, mentre gli FLD omozigoti non hanno virtualmente esteri del colesterolo circolanti, i FED ne mantengono livelli plasmatici normali o subnormali, tutti trasportati dalle lipoproteine contenenti apoB (VLDL e LDL).

Le manifestazioni cliniche del deficit LCAT includono l'opacità corneale bilaterale, un chiaro segno distintivo della patologia in tutti i casi, l'anemia emolitica e la malattia renale. Quest'ultima rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità in questo difetto genetico e può manifestarsi già nella seconda decade di vita (3). La maggior parte delle mutazioni del gene *LCAT* ad oggi conosciute sono state identificate e descritte in singoli casi clinici o in piccole famiglie. Negli ultimi vent'anni, il nostro gruppo di ricerca è riuscito invece a mettere insieme 33 diverse famiglie di portatori (4, 5), la più grande coorte disponibile ad oggi, che ha consentito di approfondire le caratteristiche cliniche e biochimiche dei soggetti con difetto genetico di LCAT.

### **Il ruolo della lecitina:colesterolo aciltransferasi nel metabolismo lipidico**

Una singola copia del gene *LCAT* (~4.5 kb) è localizzata sul cromosoma 16 (regione 16q22); l'mRNA di LCAT si trova prevalentemente nel fegato, ma anche nel cervello e nei testicoli. L'enzima maturo è una glicoproteina di 416 amminoacidi con una massa molecolare di circa 67 kDa (2) e circola nel plasma ad una concentrazione che va tra i 3 e i 6 µg/mL, principalmente legato alle lipoproteine. LCAT è l'unico enzima in grado di esterificare il colesterolo nel plasma e negli altri fluidi biologici e la sua attività enzimatica comprende attività fosfoli-

#### **Elenco degli argomenti trattati**

LCAT e metabolismo lipidico  
 Il deficit genetico di LCAT  
 L'eterogeneità genetica nel deficit di LCAT  
 L'eterogeneità biochimica nel deficit di LCAT  
 L'eterogeneità clinica nel deficit di LCAT

pasiche e aciltransferasiche. Infatti, LCAT prima catalizza il taglio dell'acido grasso in posizione sn-2 della lecitina e il suo successivo trasferimento sul residuo Ser181; in seguito, transesterifica l'acido grasso sul gruppo libero 3-β idrossile del colesterolo, per generare gli esteri del colesterolo (2). In questo modo LCAT è responsabile della formazione della maggior parte degli esteri del colesterolo nel plasma. Il substrato lipidico preferenziale di LCAT è in HDL (6) dove viene attivato dall'apolipoproteina A-I (apoA-I) e dove esterifica il colesterolo mediante la sua attività definita α-LCAT. LCAT è però in grado di esterificare anche il colesterolo nelle lipoproteine contenenti apoB, tramite la sua attività definita β, utilizzando invece l'apolipoproteina E (apoE) come cofattore (7). Esterificando il colesterolo sulle HDL nascenti, discoidali (8), LCAT svolge un ruolo cruciale nel rimodellamento intravascolare delle HDL e nel determinare le concentrazioni plasmatiche di colesterolo HDL.

In aggiunta alla sua funzione nel metabolismo lipidico, LCAT è stato a lungo considerato un elemento cruciale del trasporto inverso del colesterolo (reverse cholesterol transport, RCT) nel macrofago, il processo mediante il quale il colesterolo in eccesso è rimosso dalle cellule periferiche e convogliato al fegato per essere escreto (9). Tuttavia, alcuni dati nel modello animale e umano di deficit di LCAT genetico ne hanno messo in discussione il suo ruolo critico (10, 11).

## Il deficit genetico di lecitina:colesterolo aciltrasferasi

Il deficit di LCAT è stato descritto per la prima volta 50 anni fa da Norum e Gjone (12) in una donna norvegese che presentava opacità corneale bilaterale, anemia, proteinuria e dislipidemia. I livelli di colesterolo e trigliceridi plasmatici erano moderatamente elevati, con la maggior parte del colesterolo in forma non esterificata e colesterolo HDL non dosabile. Anche le sorelle della probanda mostravano un fenotipo simile (13) a suggerire la natura ereditaria del difetto. Tutte e tre i soggetti presentavano attività enzimatica di LCAT assente. Dopo questi, circa 130 casi di difetto parziale o completo di LCAT sono stati descritti.

### *L'eterogeneità genetica nel deficit di LCAT*

Le mutazioni causative di FLD possono sia abolire completamente la sintesi di LCAT, sia risultare nella sintesi di un enzima senza alcuna attività sulle lipoproteine (quindi senza attività- $\alpha$  né attività- $\beta$ ). Le mutazioni causative per FED invece aboliscono solo l'attività- $\alpha$ , mantenendo quella  $\beta$  (1). La diagnosi differenziale tra FLD e FED è possibile solo nei portatori di due alleli *LCAT* mutati e richiede la misurazione della capacità del plasma del soggetto di esterificare il colesterolo sulle lipoproteine endogene (attività- $\alpha$  e attività- $\beta$  insieme, CER, cholesterol esterification rate) e su un substrato esogeno standardizzato costituito da una HDL sintetica (solo attività- $\alpha$ , LCAT activity) (4). Entrambe le misurazioni devono risultare nulle negli FLD, mentre nei FED, la prima è normale o subnormale, mentre la seconda è nulla (*Tabella 1*). I portatori di un solo allele *LCAT* mutato non possono invece essere classificati come FLD o FED sulla base dei criteri biochimici, e la diagnosi differenziale richiede l'espressione del mutante di LCAT in col-

ture di fibroblasti, e la successiva misurazione della concentrazione e della attività di LCAT nel medium (14).

Ad oggi sono state riportate 120 diverse mutazioni, la maggior parte delle quali descritte come varianti private. Tra queste, 80 sono state classificate come FLD e 12 con FED, mentre 28 varianti non sono state classificate. Da notare come le mutazioni siano distribuite uniformemente per tutta la sequenza del gene *LCAT*, spesso in regioni anche distanti dal sito catalitico dell'enzima e probabilmente importanti nel mantenimento della struttura dell'enzima. Tutte portano all'abolizione dell'attività- $\alpha$ , mentre non sono state mai descritte mutazioni che aboliscano selettivamente l'attività- $\beta$ . Sembra perciò che l'interazione tra LCAT e le lipoproteine contenenti apoA-I sia molto più sensibile ai cambiamenti strutturali di LCAT rispetto all'interazione tra l'enzima e le lipoproteine contenenti apoB.

Nonostante sia disponibile il modello tridimensionale dell'enzima (15), e gli sforzi di vari gruppi di ricerca abbiano portato a definire l'impatto delle diverse mutazioni sulla relazione struttura-attività enzimatica (16, 17), ad oggi non è ancora possibile predire il fenotipo (FED, FLD) associato alle mutazioni naturalmente presenti in natura. Questo può essere verosimilmente spiegato dalla complessità della reazione catalizzata da LCAT, che non è solo dipendente dall'enzima stesso, ma anche dai suoi substrati e dagli attivatori.

L'analisi molecolare dei 31 portatori di deficit di LCAT appartenenti alla coorte italiana ha consentito di identificare 34 diverse mutazioni, confermando l'eterogeneità genetica della malattia. Ventitré dei 128 individui appartenenti alle 31 famiglie esaminate sono portatori di due alleli *LCAT* mutati (13 omozigoti e 10 eterozigoti composti), 66 sono portatori di un allele mutato e 39 non presentano la mutazione. Undici dei 18 por-

tatori di due alleli mutati non presentano alcuna attività- $\alpha$  né attività- $\beta$  e sono stati quindi catalogati come FLD; sette individui hanno invece attività- $\beta$  misurabile e attività- $\alpha$  nulla, pertanto sono stati classificati come FED.

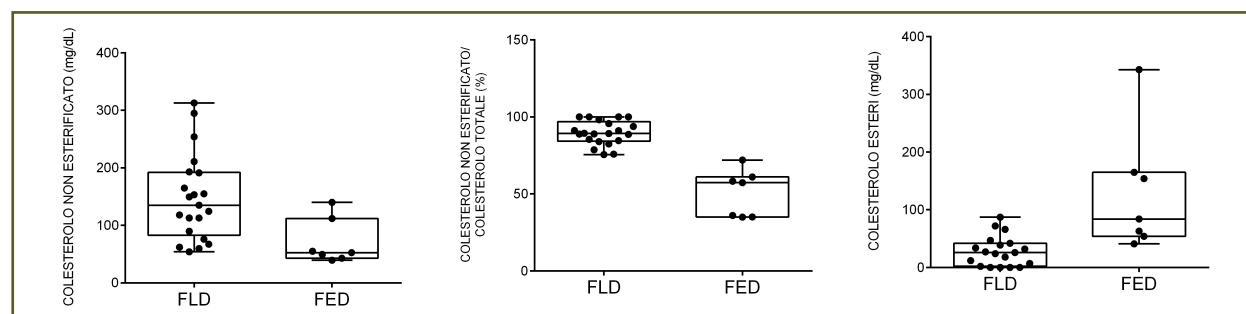
#### L'eterogeneità biochimica nel deficit di LCAT

Il difetto di LCAT comporta drammatiche alterazioni del profilo lipidico e lipoproteico sia negli FLD che nei FED (4, 5). Le principali differenze sono riportate in tabella 1. I ridotti livelli plasmatici di colesterolo HDL rappresentano una caratteristica comune della patologia: tuttavia, la gravità della ipoalfalipoproteinemia varia grandemente tra i portatori di diversi genotipi, come dimostrato dalle ampie variazioni dei livelli di colesterolo HDL (da 3 a 27 mg/dL) misurato nella coorte italiana (4, 18).

Le HDL circolanti nei portatori non sono alterate solo in termini di concentrazione di colesterolo, ma anche in termini di distribuzione delle sottoclassi di HDL, con un aumento di quelle piccole e discoidali, e una completa mancanza di quelle grandi mature e sferiche (19). I livelli di colesterolo totale e LDL, così come i livelli di trigliceridi mostrano un'ampia variabilità interindividuale (18), anche tra soggetti appartenenti alla stessa famiglia e quindi portatori della stessa mutazione genetica (4). Tale variabilità può essere attribuita a

fattori genetici, come la coereditarietà di mutazioni nei geni *LDLR* o *APOB* (20, 21), o a fattori metabolici e ambientali.

La variabilità del profilo lipidico non sembra essere correlata al difetto funzionale dell'enzima LCAT, poiché soggetti con difetto parziale o con assenza completa di attività di LCAT possono avere profili lipidici molto simili (18). Tuttavia, almeno due parametri sono inequivocabilmente determinati dall'attività enzimatica residua. Uno di questi è il colesterolo non esterificato e, ancora più sensibilmente, il rapporto colesterolo esterificato su colesterolo totale. Entrambi sono aumentati notevolmente negli FLD, e questo consente di distinguerli dai casi di FED (*Figura 1*). I livelli circolanti di colesterolo esteri sono invece considerevolmente ridotti solo negli FLD, e non nei FED, eccetto per alcune sovrapposizioni (*Figura 1*). Anche i livelli di apoB sono sorprendentemente bassi negli FLD (18), nonostante i livelli di colesterolo LDL siano comparabili tra i due fenotipi (18). L'accumulo plasmatico di colesterolo non esterificato negli FLD è infatti responsabile della formazione di una lipoproteina anomala, generalmente assente in condizioni fisiologiche, chiamata LpX, che non contiene apoB ed è principalmente costituita da fosfolipidi e colesterolo non esterificato. La LpX è assente nei FED e questo può per-



**Figura 1** - Livelli plasmatici di colesterolo non esterificato, colesterolo esteri e rapporto colesterolo non esterificato/colesterolo totale nella coorte italiana di portatori di deficit familiare di LCAT (FLD) e di fish-eye disease (FED). I box-plot riportano i valori mediani con il 25° e il 75° percentile; i valori minimo e massimo.

ciò dare conto della differenza nei livelli di apoB tra i due fenotipi (*Tabella 1*).

I portatori di un solo allele *LCAT* mutato mostrano un profilo biochimico intermedio a quello degli omozigoti e dei controlli, a suggerire quindi che la malattia, che è descritta come recessiva, sia piuttosto co-dominante per il fenotipo biochimico. Come per gli omozigoti e gli eterozigoti composti, i livelli di colesterolo HDL e di apoA-I sono generalmente ridotti rispetto ai controlli (4), e la distribuzione delle sottoclassi HDL è alterata, con un arricchimento di particelle piccole e discoidali (22). Nessuna differenza si può notare invece tra eterozigoti FLD e FED.

#### *L'eterogeneità clinica nel deficit di LCAT*

Come detto, le manifestazioni cliniche tipiche del deficit di *LCAT* includono l'o-

pacità corneale, l'anemia emolitica e la malattia renale (1). Caratteristiche meno comuni della patologia, come la presenza di lieve trombocitopenia, sono state descritte recentemente in una grande famiglia di FLD (23).

L'opacità corneale è una caratteristica tipica della malattia, presente sia negli FLD che nei FED. Viene spesso individuata durante l'infanzia, anche se esiste un'ampia variabilità nell'esordio e nella severità tra i diversi portatori. L'analisi istochimica e chimica della cornea mostra la presenza di depositi extracellulari di colesterolo non esterificato e fosfolipidi (24). In alcuni casi, quando lo scempenso visivo è grave, è richiesto il trapianto di cornea (25, 26). La maggior parte degli FLD, e alcuni FED, mostrano una lieve anemia normocromica, legata all'alterazione della membrana eri-

**Tabella 1 - Riassunto delle principali caratteristiche genetiche, biochimiche e cliniche del deficit familiare di *LCAT* (FLD) e del fish-eye disease (FED).**

	FLD	FED
<i>Genetica</i>		
Ereditarietà	Autosomica recessiva	Autosomica recessiva
<i>Biochimica</i>		
HDL colesterolo	↓↓	↓↓
Apolipoproteina A-I	↓↓	↓↓
Colesterolo non esterificato/colesterolo totale	↑↑	↑
Colesterolo totale	↓=	↑=
Trigliceridi	↑	=
Colesterolo LDL	↓=	=
Apolipoproteina B	↓	=
Lipoproteina X	Presente	Assente
LCAT activity	0	0
CER	0	Normale/ridotta
<i>Clinica</i>		
Opacità corneale	Presente	Presente
Anemia emolitica	Presente	Assente (rara)
Malattia renale	Presente	Assente
IMT carotideo	Ridotta	Normale/aumentata

trocitaria che si arricchisce in colesterolo non esterificato e fosfolipidi (27). Mediante studi di proteomica il nostro gruppo ha di recente riportato una riduzione dell'aptoglobina, nello specifico delle catene beta, nel plasma degli FLD, come indicatore di anemia emolitica (28).

La malattia renale si sviluppa unicamente negli FLD, e ne rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità. La proteinuria può insorgere già durante la prima decade di vita (3) e può progredire in maniera imprevedibile ad insufficienza renale fino a richiedere il trattamento sostitutivo. La patogenesi della malattia renale è stata compresa solo in parte, ma è chiaramente correlata alle alterazioni sistemiche, come è infatti dimostrato dal ripresentarsi del danno renale nei portatori trapiantati (29). La comparsa e la progressione dell'insufficienza renale è variabile tra gli FLD ed è verosimilmente correlata al fenotipo biochimico piuttosto che alla mutazione genetica (30). In un recente studio il nostro gruppo ha identificato nei livelli di colesterolo non esterificato uno dei fattori predittivi di malattia renale cronica (31). Studi nell'animale hanno dimostrato che la lipoproteina anomala individuata nel plasma degli FLD, la LpX, può rimanere intrappolata nel circolo capillare e provocare danno renale (32, 33); la patogenicità di questa lipoproteina è confermata anche dal trattamento con LCAT ricombinante, che riducendo la quota di colesterolo non esterificato, riduce l'accumulo plasmatico e tissutale di LpX, prevenendo quindi il danno renale (34).

Le ridotte concentrazioni plasmatiche di HDL colesterolo negli FLD e nei FED suggerirebbero un aumento del rischio cardiovascolare. Diversi gruppi hanno esaminato la situazione vascolare nel deficit di LCAT, con risultati spesso controversi (14, 35-37). In un recente studio, che ha messo insieme due coorti numerose di portatori di deficit

### Glossario

- apoA-I:** apolipoproteina A-I  
**apoB:** apolipoproteina B  
**apoE:** apolipoproteina E  
**CER:** cholesterol esterification rate; velocità di esterificazione del colesterolo  
**FED:** fish-eye disease  
**FLD:** familial LCAT deficiency; deficit familiare di LCAT  
**IMT:** intima media thickness; ispessimento medio intimale  
**LCAT:** lecitina:colesterolo aciltransferasi  
**RCT:** reverse cholesterol transport, trasporto inverso del colesterolo

di LCAT e ha valutato l'ispessimento medio intimale (IMT) carotideo come marker surrogato di aterosclerosi preclinica, è emerso che gli FLD mostrano una ridotta aterosclerosi preclinica, mentre i FED hanno un leggero aumento di aterosclerosi carotidea rispetto ai controlli (38). Il diverso fenotipo vascolare tra FED e FLD è stato attribuito alle diverse concentrazioni plasmatiche di esteri del colesterolo in LDL, che sono significativamente ridotte negli FLD, ma aumentate nei FED.

### Conclusioni

FLD e FED sono due sindromi causate da mutazioni con perdita di funzione nel gene *LCAT*. Le due sindromi condividono alcune caratteristiche biochimiche, ma mostrano importanti differenze nelle lipoproteine circolanti e nelle manifestazioni cliniche. Il colesterolo non esterificato si accumula nel plasma degli FLD, principalmente trasportato da lipoproteine anomale e può depositarsi nella cornea, negli eritrociti e nelle cellule renali, provocando le manifestazioni cliniche descritte. Il ridottissimo contenuto di esteri del colesterolo in tutte le lipoproteine plasmatiche limita il deposito di colesterolo nella parete arteriosa,

proteggendo di fatto gli FLD dallo sviluppo di aterosclerosi. I FED hanno invece livelli di esteri del colesterolo normali o aumentati in tutte le lipoproteine contenenti apoB, che quindi si depositano nella parete arteriosa provocando un aumento del grado di

aterosclerosi. Il diverso profilo clinico delle due sindromi sottolinea la necessità di una tempestiva diagnosi differenziale nei portatori di mutazioni del gene *LCAT* al fine di indirizzare i pazienti a programmi di prevenzione e ai futuri trattamenti disponibili.

### Questionario di auto-apprendimento

**1. Mediante la sua attività- $\beta$  LCAT esterifica il colesterolo:**

- a) sulle HDL
- b) sulle LDL
- c) su tutte le lipoproteine

**2. Nei portatori di fish-eye disease:**

- a) CER e LCAT activity sono nulle
- b) CER è aumentata e LCAT activity è ridotta
- c) CER è normale o ridotta, LCAT activity è nulla

**3. I portatori di un solo allele *LCAT* mutato:**

- a) possono essere classificati come FED o FLD sulla base della biochimica
- b) possono essere classificati come FED o FLD sulla base dell'attività enzimatica residua

- c) possono essere classificati come FED o FLD solo dopo studi di mutagenesi

**4. Quale tra queste affermazioni sulla LpX è falsa:**

- a) contiene apoB
- b) è costituita da colesterolo non esterificato e fosfolipidi
- c) non contiene colesterolo esterificato

**5. L'ispessimento medio intimale carotideo nei deficit genetici di LCAT:**

- a) è aumentato solo negli FLD
- b) è aumentato solo nei FED
- c) è ridotto sia nei FED che negli FLD

*Risposte corrette: 1b, 2c, 3c, 4a, 5b*

### RIASSUNTO

Il deficit genetico di LCAT è un disordine monogenico molto raro del metabolismo lipidico, dovuto a mutazioni con perdita di funzione del gene *LCAT*, che codifica per l'enzima responsabile dell'esterificazione del colesterolo nel plasma. La principale caratteristica del deficit di LCAT sono i bassi livelli plasmatici di colesterolo HDL, mentre tra le altre manifestazioni si possono annoverare l'opacità corneale, l'anemia e la malattia renale. Quest'ultima rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità nei portatori. Nonostante si tratti di una malattia monogenica, le manifestazioni biochimiche e cliniche, così come le conseguenze cliniche, possono essere molto diverse tra i portatori del deficit di LCAT e non sono necessariamente conseguenza dell'attività residua dell'enzima, né del tipo di mutazione. Per questo motivo è necessaria la raccolta di un'ampia casistica di portatori di deficit di LCAT che consenta di rispondere ad una serie di quesiti aperti sulla malattia, principalmente correlati alla previsione delle sue conseguenze cliniche. Inoltre, nonostante alcuni approcci terapeutici siano stati perseguiti, le manifestazioni cliniche gravi, che possono già presentarsi nella prima decade di vita, sono ad oggi senza cura. La diagnosi tempestiva, insieme all'identificazione di marcatori della malattia capaci di predirne l'evoluzione delle manifestazioni cliniche, potrebbe essere di aiuto per individuare i pazienti da indirizzare alle future terapie disponibili.

**Parole chiave:** *Lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT), colesterolo non esterificato, lipoproteine ad alta densità.*

## Bibliografia

1. Santamarina-Fojo S, Hoeg JM, Assmann G, Brewer HBJ. Lecithin cholesterol acyltransferase deficiency and fish eye disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. New York: McGraw-Hill. 2001; 2817-2833.
2. Jonas A. Lecithin cholesterol acyltransferase. *BiochimBiophysActa*. 2000; 1529: 245-256.
3. Holleboom AG, Kuivenhoven JA, van Olden CC, et al. Proteinuria in early childhood due to familial LCAT deficiency caused by loss of a disulfide bond in lecithin:cholesterol acyl transferase. *Atherosclerosis*. 2011; 216: 161-165.
4. Calabresi L, Pisciotto L, Costantin A, et al. The molecular basis of lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency syndromes: a comprehensive study of molecular and biochemical findings in 13 unrelated Italian families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 1972-1978.
5. Calabresi L, Simonelli S, Gomaschi M, Franceschini G. Genetic lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2012; 222: 299-306.
6. Nakamura Y, Kotite L, Gan Y, et al. Molecular mechanism of reverse cholesterol transport: reaction of pre-beta-migrating high-density lipoprotein with plasma lecithin/cholesterol acyltransferase. *Biochemistry*. 2004; 43: 14811-14820.
7. Zhao Y, Thorngate FE, Weisgraber KH, et al. Apolipoprotein E Is the Major Physiological Activator of Lecithin-Cholesterol Acyltransferase (LCAT) on Apolipoprotein B Lipoproteins. *Biochemistry*. 2005; 44: 1013-1025.
8. Manthei KA, Patra D, Wilson CJ, et al. Structural analysis of lecithin:cholesterol acyltransferase bound to high density lipoprotein particles. *Commun Biol*. 2020; 3: 28.
9. Cuchel M, Rader DJ. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis? *Circulation*. 2006; 113: 2548-2555.
10. Calabresi L, Favari E, Moleri E, et al. Functional LCAT is not required for macrophage cholesterol efflux to human serum. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 141-146.
11. Tanigawa H, Billheimer JT, Tohyama JI, et al. Lecithin:cholesterol acyltransferase expression has minimal effects on macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation*. 2009; 120: 160-169.
12. Norum KR, Gjone E. Familial serum-cholesterol esterification failure. A new inborn error of metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 1967; 144: 698-700.
13. Torsvik H, Gjone E, Norum KR. Familial plasma cholesterol ester deficiency. Clinical studies of a family. *Acta Med Scand*. 1968; 183: 387-391.
14. Calabresi L, Baldassarre D, Castelnuovo S, et al. Functional lecithin:cholesterol acyltransferase is not required for efficient atheroprotection in humans. *Circulation*. 2009; 120: 628-635.
15. Manthei KA, Ahn J, Glukhova A, et al. A retractable lid in lecithin:cholesterol acyltransferase provides a structural mechanism for activation by apolipoprotein A-I. *J Biol Chem*. 2017; 292: 20313-20327.
16. Peelman F, Verschelde JL, Vanloo B, et al. Effects of natural mutations in lecithin:cholesterol acyltransferase on the enzyme structure and activity. *J Lipid Res*. 1999; 40: 59-69.
17. Sensi C, Simonelli S, Zanotti I, et al. Distant Homology Modeling of LCAT and Its Validation through In Silico Targeting and In Vitro and In Vivo Assays. *PLoS One*. 2014; 9: e95044.
18. Pavanello C, Calabresi L. Genetic, biochemical, and clinical features of LCAT deficiency: update for 2020. *Curr Opin Lipidol* 2020; 31: 232-237
19. Asztalos BF, Schaefer EJ, Horvath KV, et al. Role of LCAT in HDL remodeling: investigation of LCAT deficiency states. *J Lipid Res*. 2007; 48: 592-599.
20. Pisciotto L, Calabresi L, Lupattelli G, et al. Combined monogenic hypercholesterolemia and hypoalphalipoproteinemia caused by mutations in LDL-R and LCAT genes. *Atherosclerosis*. 2005; 182: 153-159.
21. Nanjee MN, Stocks J, Cooke CJ, et al. A novel LCAT mutation (Phe(382)->Val) in a kindred with familial LCAT deficiency and defective apolipoprotein B-100. *Atherosclerosis*. 2003; 170: 105-113.
22. Gomaschi M, Ossoli A, Castelnuovo S, et al. Depletion in LpA-I:A-II particles enhances HDL-mediated endothelial protection in familial LCAT deficiency. *J Lipid Res*. 2017; 58: 994-1001.
23. Fountoulakis N, Lioudaki E, Lygerou D, et al. The P274S Mutation of Lecithin-Cholesterol Acyltransferase (LCAT) and Its Clinical Manifestations in a Large Kindred. *Am J Kidney Dis*. 2019;74: 510-522.
24. Flores R, Jin X, Chang J, et al. LCAT, ApoD, and ApoA1 Expression and Review of Cholesterol Deposition in the Cornea. *Biomolecules*. 2019; 9: 785.
25. Blanco-Vaca F, Qu SJ, Fiol C, et al. Molecular basis of fish-eye disease in a patient from Spain. Characterization of a novel mutation in the LCAT gene and lipid analysis of the cornea. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 1382-1391.
26. Zemsky CJ, Sherman SW, Schubert HD, Suh LH. Case Report: Management of Corneal Clouding



- from Lecithin: Cholesterol Acyltransferase Deficiency. *Optom Vis Sci.* 2019; 96: 137-141.
27. Suda T, Akamatsu A, Nakaya Y, et al. Alterations in erythrocyte membrane lipid and its fragility in a patient with familial lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency. *J Med Invest.* 2002; 49: 147-155.
  28. Simonelli S, Ossoli A, Banfi C, et al. A proteomic approach to identify novel disease biomarkers in LCAT deficiency. *J Proteomics.* 2019; 198: 113-118.
  29. Strom EH, Sund S, Reier-Nilsen M, et al. Lecithin:Cholesterol Acyltransferase (LCAT) Deficiency: Renal Lesions with Early Graft Recurrence. *Ultrastruct Pathol.* 2011; 35: 139-145.
  30. Lamiquiz-Moneo I, Civeira F, Gomez-Coronado D, et al. Lipid Profile Rather Than the LCAT Mutation Explains Renal Disease in Familial LCAT Deficiency. *J Clin Med.* 2019; 8: 1860.
  31. Pavanello C, Ossoli A, Arca M, et al. Progression of chronic kidney disease in familial LCAT deficiency: a follow-up of the Italian cohort. *J Lipid Res.* 2020; 61: 1784-1788.
  32. Ossoli A, Neufeld EB, Thacker SG, et al. Lipoprotein X Causes Renal Disease in LCAT Deficiency. *PLoS One.* 11: e0150083.
  33. Lambert G, Sakai N, Vaisman BL, et al. Analysis of glomerulosclerosis and atherosclerosis in lecithin:cholesterol acyltransferase-deficient mice. *J Biol Chem.* 2001; 276: 15090-15098.
  34. Vaisman BL, Neufeld EB, Freeman LA, et al. LCAT Enzyme Replacement Therapy Reduces LpX and Improves Kidney Function in a Mouse Model of Familial LCAT Deficiency. *J Pharmacol Exp Ther.* 2019; 368: 423-434.
  35. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, et al. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res.* 1997; 38: 191-205.
  36. Ayyobi AF, McGladdery SH, Chan S, et al. Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency and risk of vascular disease: 25 year follow-up. *Atherosclerosis.* 2004; 177: 361-366.
  37. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation.* 2005; 112: 879-884.
  38. Oldoni F, Baldassarre D, Castelnovo S, et al. Complete and Partial LCAT Deficiency are Differentially Associated with Atherosclerosis. *Circulation.* 2018; 138: 1000-1007.