



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»

ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organisation, WHO), η παχυσαρκία ορίζεται ως η ασθένεια κατά την οποία η συσσώρευση σωματικού λίπους είναι μεγαλύτερη του φυσιολογικού με αποτέλεσμα αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του (WHO, 1997). Η εκτίμηση της σύστασης σώματος, του ποσοστού σωματικού λίπους και της κατανομής αυτού, έχει μεγάλη σημασία στην παχυσαρκία, καθώς με τον τρόπο αυτό προσδιορίζεται και ο κίνδυνος εμφάνισης ασθενειών, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Ο προσδιορισμός του σωματικού λίπους μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με εργαστηριακές μεθόδους (όπως η αξονική τομογραφία, η μαγνητική τομογραφία, η απορροφησιμετρία ακτινών Χ διπλής ενέργειας, η υποβρύχια ζύγιση, μέθοδος διάλυσης διπλά σημασμένου νερού) είτε με μεθόδους πεδίου, οι οποίες περιλαμβάνουν την ανθρωπομετρία (μέτρηση βάρους, ύψους, δερματικών πτυχών και περιφερειών) και την ανάλυση βιοηλεκτρικής εμπέδησης (Treuth, 2001).

Ωστόσο, ο πιο εύχρηστος τρόπος αξιολόγησης του σωματικού βάρους και της παχυσαρκίας είναι ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), ο οποίος προτάθηκε από τον Quetelet και χρησιμοποιείται ευρέως έως και σήμερα (Macdonald, 1986). Ισούται με τον λόγο του βάρους σώματος/ύψους² (kg/m²). Αν και αποτελεί έναν αδρό δείκτη εκτίμησης της παχυσαρκίας, είναι ο πιο γρήγορος, άμεσος και αποτελεσματικός τρόπος εκτίμησης της παχυσαρκίας και του υπερβάλλοντος βάρους όχι μόνο σε ενήλικες αλλά και σε παιδιά, στα οποία αλλάζει με την ηλικία και διαφέρει για κάθε φύλο, για αυτό και κατά την εκτίμησή του λαμβάνονται υπόψη οι παράγοντες αυτοί (Cole et al., 2000).

Αν και ο ΔΜΣ αποτελεί έναν εύχρηστο και αποτελεσματικό τρόπο αξιολόγησης του σωματικού βάρους και της παχυσαρκίας, αδυνατεί να εκτιμήσει την κατανομή της λιπώδους μάζας στο σώμα. Η περιφέρεια μέσης, έχει προταθεί ως ένας δείκτης με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα για την εκτίμηση της παχυσαρκίας κεντρικού τύπου. Εκτός από την περιφέρεια μέσης, ο λόγος περιφέρειας μέσης/ύψους προτάθηκε πρόσφατα ως ένας πολύτιμος δείκτης για την αξιολόγηση της παχυσαρκίας κεντρικού τύπου και του κινδύνου μεταβολικών και καρδιαγγειακών διαταραχών (Maffei et al., 2008).

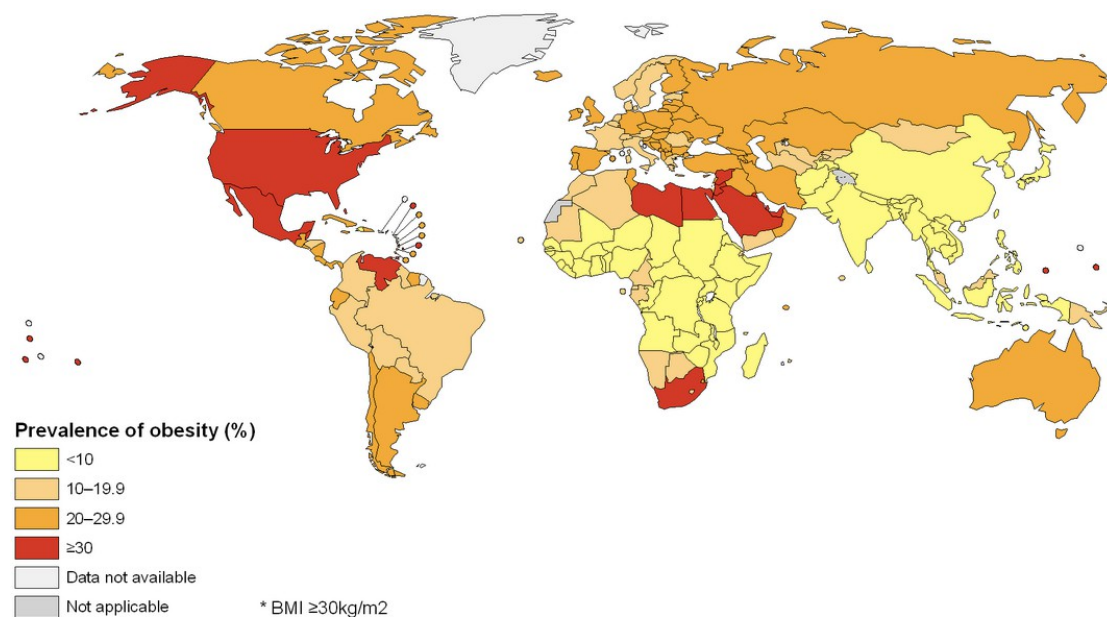
ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ

Ο επιπολασμός του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας έχει αυξηθεί ουσιαστικά τις τελευταίες δεκαετίες. Σύμφωνα με πρόσφατες εκτιμήσεις ο επιπολασμός του υπερβάλλοντος βάρους στους ενήλικες έχει σχεδόν διπλασιαστεί αγγίζοντας περίπου το 70%, από τους οποίους σχεδόν οι μισοί είναι παχύσαρκοι στην Αμερική (Flegal et al., 2010), ενώ και στις υπόλοιπες χώρες του Δυτικού κόσμου παρατηρήθηκε επίσης αύξηση (IOTF 2010) (**Εικόνα 1**).

Παγκοσμίως, 170 εκατομμύρια παιδιά ηλικίας μικρότερης των 18 ετών εκτιμάται ότι έχουν βάρος μεγαλύτερο του φυσιολογικού (Lobstein et al., 2004). Αν και ο επιπολασμός υπερβάλλοντος βάρους κατά την παιδική ηλικία αυξάνεται σχεδόν σε όλες τις χώρες και τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρούνται στις χώρες μεγάλου-

μεσαίου εισοδήματος, ενώ ο ρυθμός αύξησης του επιπολασμού είναι ταχύτερος στις χώρες μικρότερου-μεσαίου εισοδήματος (WHO, 2010). Σύμφωνα με μία βιβλιογραφική ανασκόπηση, ο επιπολασμός υπέρβαρου/παχυσαρκίας διπλασιάστηκε ή τριπλασιάστηκε από τις αρχές τις δεκαετίας 1970 έως τα τέλη της δεκαετίας 1990 στις περισσότερες ανεπτυγμένες χώρες συμπεριλαμβανομένων των Αυστραλίας, Βραζιλίας, Καναδά, Χιλής, Φινλανδίας, Γαλλίας, Γερμανίας, Ελλάδας, Ιαπωνίας, Ηνωμένου Βασιλείου και Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής και κυρίως στις αστικές περιοχές και ιδιαίτερα στις αστικές περιοχές (Wang & Lobstein, 2006).

Στην πιο πρόσφατη αναφορά της διεθνούς μελέτης του WHO 'Health Behaviour in School-Aged Children (HBSC)' (Currie et al., 2012), στην οποία συμμετείχαν 39 χώρες από την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική, τα υψηλότερα ποσοστά των αγοριών και κοριτσιών ηλικίας 11-15 ετών που ανέφεραν ότι είναι παχύσαρκα ή υπέρβαρα καταγράφηκαν στην Αμερική. Στις επόμενες θέσεις με τα υψηλότερα ποσοστά βρέθηκαν η Ελλάδα και ο Καναδάς.

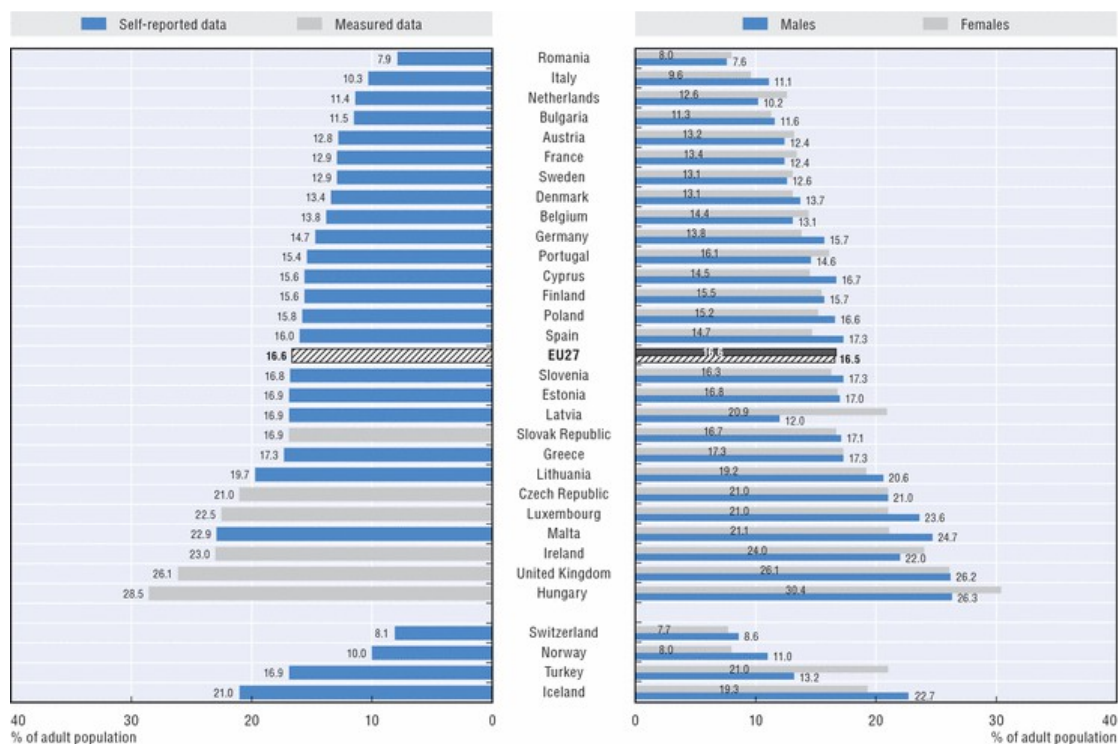


Εικόνα 1. Επιπολασμός της παχυσαρκίας ανά τον κόσμο. Σε ορισμένες χώρες όπως στην Β. Αμερική και στην μέση Ανατολή, το ποσοστό ξεπερνά το 30%.

Σχεδόν σε όλες τις χώρες ο επιπολασμός υπερβάλλοντος βάρους ήταν μεγαλύτερος στα αγόρια συγκριτικά με τα κορίτσια (**Εικόνα 2**).

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΟΙΝΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Η παχυσαρκία προκαλείται από διαταραχή του ισοζυγίου ενέργειας. Η αιτιολογία της μπορεί να είναι μονογονιδιακή, να οφείλεται δηλαδή σε μεταλλάξεις ενός μόνο γονιδίου, συνδρομική (περισσότερα από 20 σύνδρομα που προκαλούνται από γενετικές διαταραχές ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες χαρακτηρίζονται από παχυσαρκία) ή πολυπαραγοντική, είναι δηλαδή το αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στην ισορροπία του ισοζυγίου ενέργειας (Bell et al., 2005, Mutch & Clement, 2006).



Εικόνα 2. Επιπολασμός της παχυσαρκίας στους ενήλικους και στα δύο φύλα με δεδομένα από το 2010. *OECD Health Data 2012; Eurostat Statistics Database; WHO Global Infobase.*

Ωστόσο, τόσο οι μονογονιδιακές όσο και οι συνδρομικές μορφές παχυσαρκίας είναι αρκετά σπάνιες στον γενικό πληθυσμό και χαρακτηρίζονται από ακραίους φαινότυπους. Η αιτιολογία της κοινής παχυσαρκίας, είναι πολυπαραγοντική και είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης γενετικών, συμπεριφοριστικών, περιβαλλοντικών, κοινωνικών, ψυχολογικών και πολιτισμικών παραγόντων στην ισορροπία του ισοζυγίου ενέργειας του ατόμου (Bell et al., 2005, Mutch & Clement, 2006).

Η ραγδαία αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας που παρατηρήθηκε κατά τις τέσσερις τελευταίες δεκαετίες οφείλεται αναμφισβήτητα στην επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων (Swinburn et al., 2011). Η βιομηχανοποίηση καθώς και οι συνέπειές της στην οικονομία είχαν ως αποτέλεσμα την καθιέρωση ενός τρόπου ζωής που χαρακτηρίζεται από μειωμένη σωματική δραστηριότητα. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την υψηλή διαθεσιμότητα φαγητού και ιδιαίτερα τροφίμων υψηλού ενεργειακού περιεχομένου οδήγησαν στην δημιουργία ενός περιβάλλοντος ('obesogenic environment'), στο οποίο ενισχύεται η ενεργειακή πρόσληψη και περιορίζεται η ενεργειακή δαπάνη, ευνοώντας έτσι την ανάπτυξη της παχυσαρκίας (French et al., 2001). Αν και η ραγδαία αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας που παρατηρήθηκε κατά τις τέσσερις τελευταίες δεκαετίες οφείλεται αναμφισβήτητα στην επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων (Swinburn et al., 2011), οι γενετικοί παράγοντες φαίνεται να είναι υπεύθυνοι για την 'αντίδραση' του κάθε ατόμου σε αυτό το περιβάλλον που ευνοεί την ανάπτυξη της παχυσαρκίας (Loos, 2012).

Επιδημιολογικές μελέτες

Οι πρώτες αποδείξεις για την συμβολή των γενετικών παραγόντων στην προδιάθεση της παχυσαρκίας παρατηρήθηκαν σε μελέτες οικογενειών και μεταναστών. Μελέτες διδύμων και μελέτες οικογενειών έχουν δείξει ο κίνδυνος παχυσαρκίας είναι 1,5 – 5

φορές μεγαλύτερος για ένα άτομο με οικογενειακό ιστορικό συγκριτικά με τον κίνδυνο για τον γενικό πληθυσμό (Ziegler et al., 1997). Ο οικογενειακός κίνδυνος αυξάνεται όταν ο βαθμός συγγένειας με το παχύσαρκο άτομο είναι στενότερος (Ziegler et al., 1997) και διπλασιάζεται όταν το άτομο έχει νοσογόνο παχυσαρκία (Lee et al., 1997).

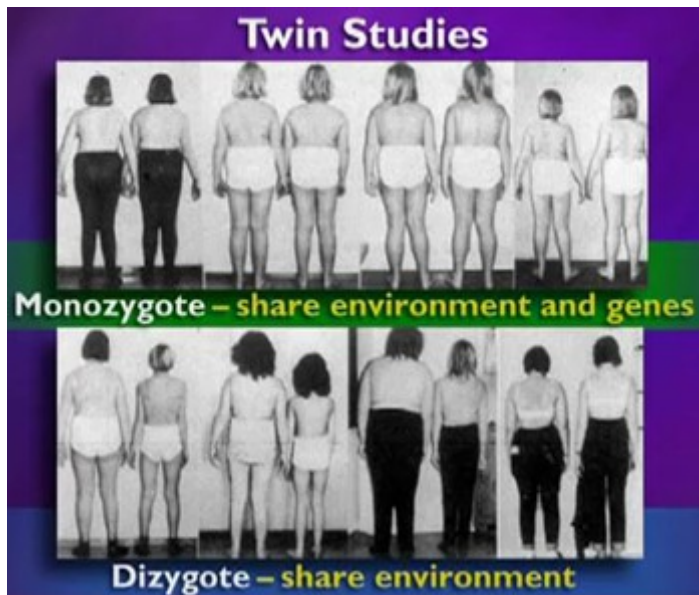
Στις μελέτες μεταναστών, ο κίνδυνος ασθένειας των μεταναστών συγκρίνεται με αυτόν των γηγενών ατόμων της χώρας στην οποία έχουν μεταναστεύσει καθώς και με τον κίνδυνο της ασθένειας των ατόμων που παραμένουν στην χώρα καταγωγής. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μελέτη των Ινδιάνων Pima, Αμερικανών Ινδιάνων οι οποίοι κατοικούν στην κεντρική και νότια Arizona (Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής) και στην Sonora (Μεξικό). Αν και οι Ινδιάνοι Pima της Arizona μοιράζονται το ίδιο περιβάλλον, το οποίο ευνοεί την ανάπτυξη της παχυσαρκίας, με τους γηγενείς λευκούς Αμερικανούς Ευρωπαϊκής καταγωγής, ο επιπολασμός παχυσαρκίας σε αυτούς (69%) είναι σχεδόν διπλάσιος από αυτόν που παρατηρείται στον γηγενή πληθυσμό (33%). Γεγονός το οποίο σημαίνει ότι οι Ινδιάνοι Pima έχουν μεγαλύτερη γενετική προδιάθεση στην παχυσαρκία (Knowler et al., 1991). Από την άλλη πλευρά, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας των Ινδιάνων Pima που κατοικούν στην απομακρυσμένη περιοχή της Sonora είναι σημαντικά μικρότερος (13%) από αυτόν των Ινδιάνων Pima που κατοικούν στην Arizona με τους οποίους μοιράζονται το ίδιο γενετικό υπόβαθρο (Ravussin et al., 1994). Η παρατήρηση αυτή συνιστά την αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικής προδιάθεσης και τρόπου ζωής. Δηλαδή, αν και οι Ινδιάνοι Pima έχουν αυξημένη γενετική προδιάθεση στην παχυσαρκία, αυτή φαίνεται να εκδηλώνεται μόνο όταν τα άτομα εκτίθενται σε ένα περιβάλλον που ευνοεί την ανάπτυξη της παχυσαρκίας.



Εικόνα 3. Pima Indians στην Arizona και Pima Indians που κατοικούν στην Sonora.

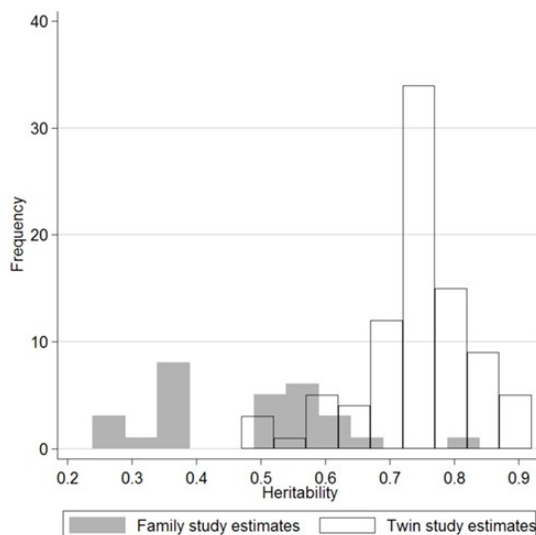
Μελέτες κληρονομικότητας

Οι μελέτες κληρονομικότητας έχουν δείξει ότι η συνεισφορά των γενετικών παραγόντων στην διακύμανση της κοινής παχυσαρκίας μεταξύ των ατόμων κυμαίνεται από 40% έως 70% (Maes et al., 1997). Το μεγάλο εύρος που παρατηρείται στις τιμές της εκτιμώμενης κληρονομικότητας οφείλεται εν μέρει και στον σχεδιασμό των μελετών. Για παράδειγμα, στις μελέτες διδύμων (**Εικόνα 4**) το εύρος της εκτιμώμενης κληρονομικότητας έχει αναφερθεί ότι κυμαίνεται από 40-90%, στις μελέτες οικογενειών από 20-50% και στις μελέτες υιοθετημένων παιδιών από 20-60% (Maes et al., 1997) (**Εικόνα 5**).



Εικόνα 4. Ομοιότητες και διαφορές μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων που μοιράζονται το ίδιο περιβάλλον.

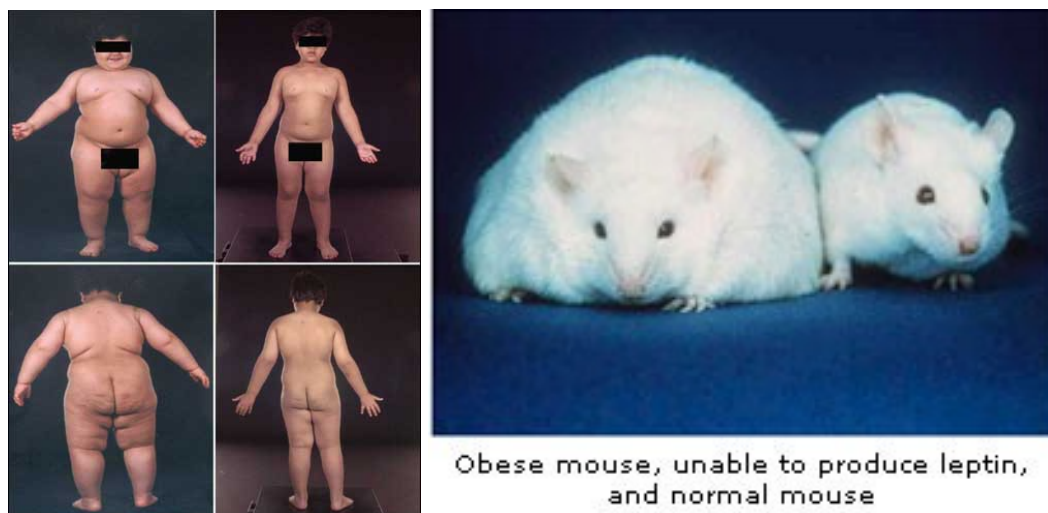
Επιπλέον, η διακύμανση των τιμών της εκτιμώμενης κληρονομικότητας πιθανολογείται ότι οφείλεται και στην στατιστική μοντελοποίηση της διερευνούμενης υπόθεσης. Για παράδειγμα, έχει ή όχι ληφθεί υπόψη, η επίδραση του περιβάλλοντος ή η αλληλεπίδραση μεταξύ των γενετικών παραγόντων ή η αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Loos, 2012). Διαχρονικές μελέτες διδύμων έχουν δείξει ότι η εκτιμώμενη κληρονομικότητα της κοινής παχυσαρκίας αυξάνεται κατά την παιδική και εφηβική ηλικία μέχρι και την αρχή της ενηλικίωσης και έπειτα αρχίζει να φθίνει (Haworth et al., 2008, Lajunen et al., 2009).



Εικόνα 5. Συγκριτική μελέτη της κληρονομικότητας της παχυσαρκίας σε μελέτες οικογενειών και σε μελέτες διδύμων.

Τα γονίδια τα οποία έχουν συσχετιστεί με μονογονιδιακού τύπου παχυσαρκίας, είναι συνήθως υπεύθυνα για την κωδικοποίηση προσδετών και υποδοχέων, οι οποίοι είναι κριτικής σημασίας για την ρύθμιση του σωματικού βάρους. Οι πιο γνωστές μορφές μονογονιδιακής παχυσαρκίας προκαλούνται από μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης (LEP) (Montague et al., 1997), του υποδοχέα της λεπτίνης (LEPR) (Clement

et al., 1998), της προοπιμελανοκορτίνης (POMC) (Krude et al., 1998) και του υποδοχέα 4 της μελανοκορτίνης (MC4R) (Vaisse et al., 1998).



Εικόνα 6. Νοσογόνος παχυσαρκία σε επίμυς και ανθρώπους με μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης

Αν και η μελέτη των μονογονιδιακών μορφών παχυσαρκίας έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη βιολογικών μονοπατιών, τα οποία οδηγούν στην αύξηση του σωματικού βάρους, οι μεταλλάξεις αυτές είναι σπάνιες και αφορούν μόνο ένα πολύ μικρό μέρος του πληθυσμού. Για την αναζήτηση κοινών γενετικών πολυμορφισμών, οι οποίοι συμβάλουν στην αιτιολογία της κοινής πολυπαραγοντικής παχυσαρκίας, χρησιμοποιήθηκαν δύο προσεγγίσεις. Η πρώτη, η οποία περιλαμβάνει τις μελέτες υποψήφιων γονιδίων, είναι καθοδηγούμενη από την ερευνητική υπόθεση, ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει τις μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (μελέτες σύνδεσης του γονιδιώματος και μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος) και δεν βασίζεται εκ των προτέρων σε κάποια ερευνητική υπόθεση (Loos, 2012).

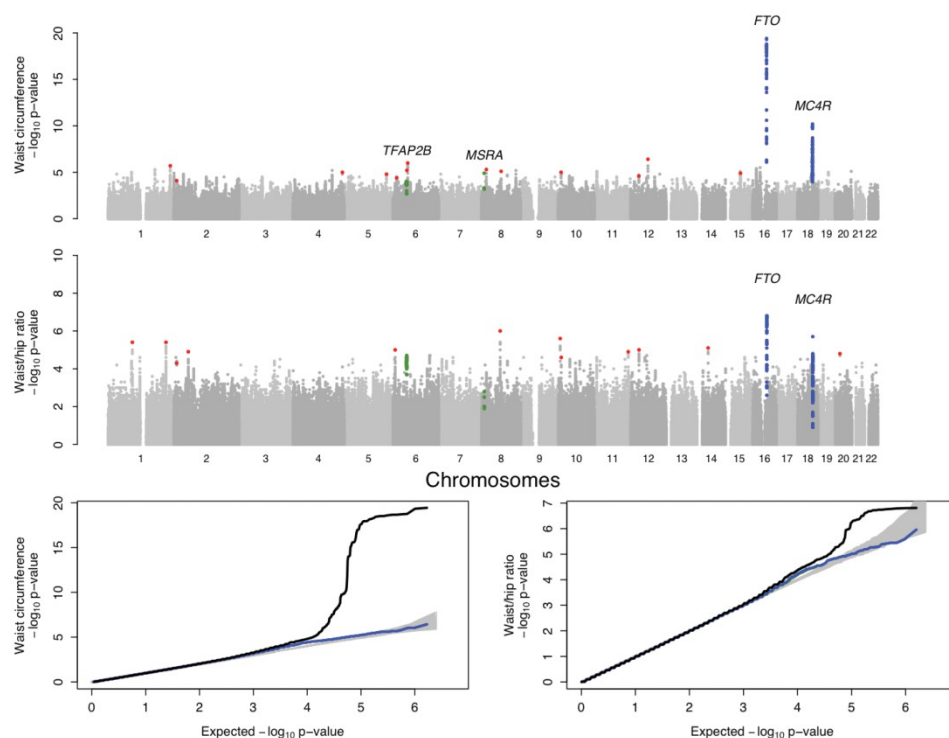
Μελέτες υποψήφιων γονιδίων (Candidate Gene Studies)

Οι μελέτες υποψήφιων γονιδίων βασίζονται στην τρέχουσα γνώση της βιολογίας και της παθοφυσιολογίας της κοινής παχυσαρκίας. Τα γονίδια, τα οποία έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στην ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου ή είναι υπεύθυνα για τις μονογονιδιακές μορφές παχυσαρκίας επιλέγονται προς διερεύνηση. Οι γενετικοί παράγοντες που διερευνήθηκαν κυρίως σε αυτού του τύπου τις μελέτες, είναι μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphisms, SNPs) που εντοπίζονταν στα γονίδια αυτά.

Μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (Genome-Wide Association Studies, GWAS)

Οι μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος δεν βασίζονται σε κάποια ερευνητική υπόθεση εκ των προτέρων και αποσκοπούν στον εντοπισμό νέων, μη αναμενόμενων γενετικών περιοχών, οι οποίες συσχετίζονται με τον φαινότυπο προς διερεύνηση. Η πρόοδος που συντελέστηκε τα τελευταία χρόνια στον εντοπισμό γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με κοινές ασθένειες συμπεριλαμβανομένης και της παχυσαρκίας οφείλεται σε μεγάλο ποσοστό στην τεχνολογική ανάπτυξη, η οποία συνέβαλε αφενός στην γρήγορη κατανόηση της αρχιτεκτονικής του ανθρώπινου

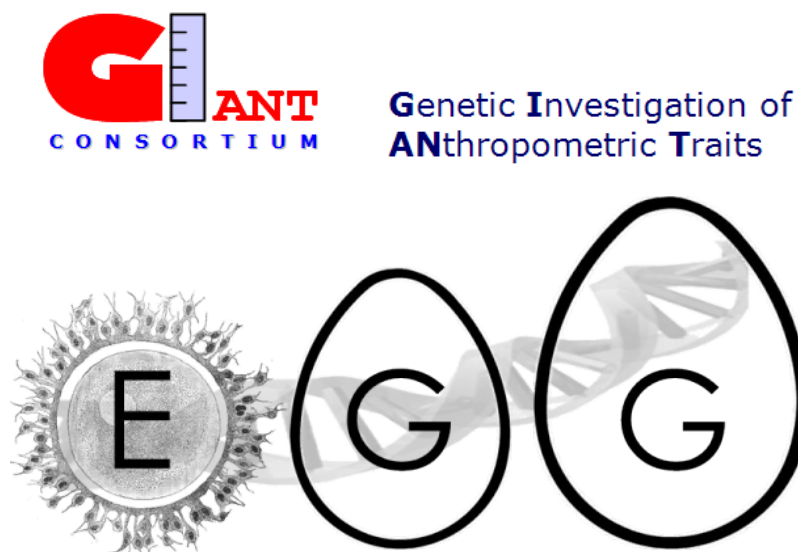
γονιδιώματος [όπως καταγράφεται και στους χάρτες των προγραμμάτων Human Genome Project, International HapMap (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) και 1000 Genomes Project (<http://www.1000genomes.org/>)] και αφετέρου στην γρήγορη γονοτύπηση περισσότερων από ενός εκατομμυρίου πολυμορφισμών. Η επιτυχία των μελετών σάρωσης του γονιδιώματος έγκειται 1) στην μεγαλύτερης ανάλυσης σάρωση του γονιδιώματος με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι πιθανότητες εντοπισμού τις γενετικής περιοχής που συσχετίζεται με τον φαινότυπο, 2) στο γεγονός ότι η συσχέτιση διερευνάται σε μη συγγενικά άτομα εξασφαλίζοντας έτσι ευκολότερα μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος, άρα και μεγαλύτερη ισχύ και 3) στον εύρωστο σχεδιασμό τους, ο οποίος αποτελείται από δύο στάδια, το στάδιο του εντοπισμού και το στάδιο της επαλήθευσης.



Εικόνα 7. Manhattan plots που δείχνει την σημαντικότητα της συσχέτισης πολυμορφισμών με δείκτες παχυσαρκίας σε μεγάλες μετα-αναλύσεις.

Στο στάδιο του εντοπισμού εκατοντάδες χιλιάδες γενετικοί πολυμορφισμοί, οι οποίοι είτε έχουν γονοτυπηθεί απευθείας είτε έχουν προκύψει από την προσομοίωση με την χρήση ειδικών λογισμικών ελέγχονται για πιθανή συσχέτισή τους με το φαινότυπο προς διερεύνηση (κατηγορικές δίτιμες μεταβλητές ή συνεχείς μεταβλητές). Για τον εντοπισμό πολυμορφισμών με μέτρια επίδραση που σχετίζονται με μία ασθένεια μέτριας κληρονομησιμότητας, όπως η παχυσαρκία, απαιτείται ένα μεγάλο μέγεθος δείγματος, το οποίο να εξασφαλίζει και την απαραίτητη ισχύ. Η ανάγκη αυτή οδήγησε στην δημιουργία διεθνών συμπράξεων (international consortia), οι οποίες απαρτίζονται από πολλές ερευνητικές ομάδες ανά τον κόσμο. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων διεθνών ομάδων συνεργασίας αποτελούν το GIANT (Genetic Investigation of Anthropometric Traits) (http://www.broadinstitute.org/collaboration/giant/index.php/GIANT_consortium) και το EGG (Early Growth Genetics) consortium (<http://egg-consortium.org/>). Το GIANT consortium αποσκοπεί στον εντοπισμό περιοχών του γονιδιώματος που συσχετίζονται με ανθρωπομετρικούς δείκτες και το EGG consortium στον εντοπισμό περιοχών του γονιδιώματος που συσχετίζονται με δείκτες ανάπτυξης. Σε κάθε ομάδα

πραγματοποιείται η ίδια ανάλυση της συσχέτισης του γονιδιώματος με το φαινότυπο και στη συνέχεια πραγματοποιείται μετα-ανάλυση όλων των ευρημάτων (Loos, 2012).



Εικόνα 8. GIANT και EGG, οι δύο μεγάλες παγκόσμιες συμπράξεις για την γενετική μελέτη της παχυσαρκίας ενηλίκων και παιδιών αντίστοιχα.

Δεδομένου του μεγάλου αριθμού των ελέγχων που πραγματοποιούνται (ένας έλεγχος για κάθε πολυμορφισμό για περίπου ένα εκατομμύριο πολυμορφισμούς), η πιθανότητα εύρεσης ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων είναι πολύ μεγάλη (Ioannidis, 2005). Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό, το επίπεδο σημαντικότητας στο οποίο μπορεί να θεωρηθεί κάποια συσχέτιση στατιστικά σημαντικά είναι αυστηρό και ισούται με $p \leq 5E-08$. Η τιμή αυτή αντιστοιχεί σε 5% σφάλμα τύπου I για τις μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος και έχει προταθεί ως το ελάχιστο κατώφλι σημαντικότητας προκειμένου να θεωρηθεί μία συσχέτιση στατιστικά σημαντικά μετά την επαλήθευση της συσχέτισης (de Bakker et al., 2008).

ΚΟΙΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

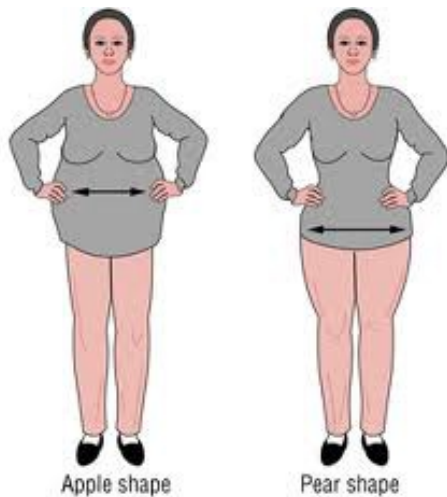
Από το 2007, που πραγματοποιήθηκαν και οι πρώτες αναλύσεις συσχέτισης του γονιδιώματος και έκτοτε έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 95 περιοχές του γονιδιώματος, οι οποίες συσχετίζονται με δείκτες παχυσαρκίας. Μεγάλης κλίμακας μετα-αναλύσεις μελετών συσχέτισης του γονιδιώματος έχουν πραγματοποιηθεί για τον ΔΜΣ, την περιφέρεια μέσης, τον λόγο περιφέρειας μέσης/περιφέρεια ισχύων, την νοσογόνο και πρώιμη παχυσαρκία καθώς επίσης και την παιδική παχυσαρκία κυρίως σε ενήλικες Ευρωπαϊκής καταγωγής.

ΔΜΣ

Το FTO (fat mass and obesity associated gene – γονίδιο σχετιζόμενο με την λιπώδη μάζα και την παχυσαρκία) αποτελεί την πρώτη περιοχή του γονιδιώματος, η ποικιλομορφία της οποίας αναμφισβήτητα συσχετίστηκε σημαντικά με την κοινή παχυσαρκία καθώς και άλλους δείκτες παχυσαρκίας τόσο στους ενήλικες όσο και στα παιδιά σε δύο ανεξάρτητες μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος (Frayling et al., 2007, Dina et al., 2007).

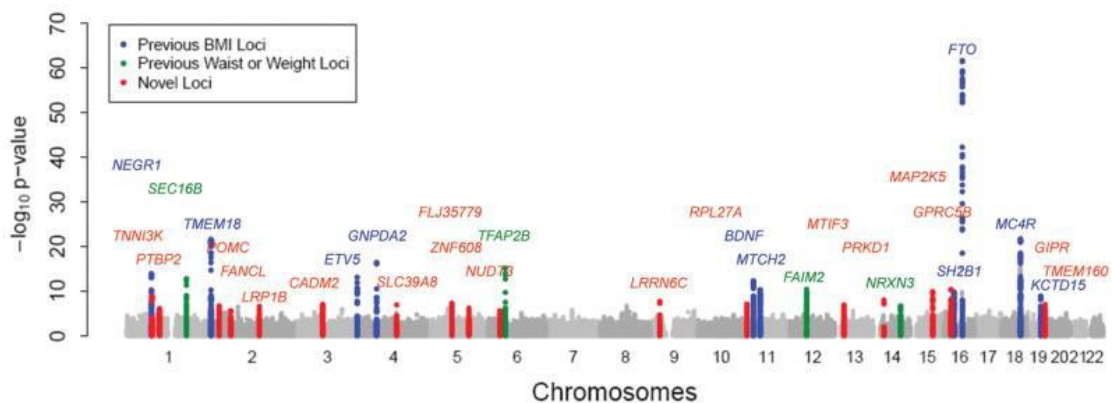
Δείκτες κεντρικού τύπου παχυσαρκίας

Μετα-αναλύσεις μελετών συσχέτισης του γονιδιώματος έχουν πραγματοποιηθεί επίσης και για δείκτες κεντρικού τύπου παχυσαρκίας, όπως η περιφέρεια μέσης και ο λόγος περιφέρειας μέσης/περιφέρεια ισχύων (**Εικόνα 9**). Στις δύο πρώτες μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος (Heard-Costa et al., 2009) με την περιφέρεια μέσης και τον λόγο περιφέρειας μέσης/περιφέρεια ισχύων, οι περιοχές στο FTO και κοντά στο MC4R ξεπέρασαν επίσης το κατώφλι της στατιστικής σημαντικότητας, ενώ παράλληλα εντοπίστηκαν τρεις ακόμη περιοχές του γονιδιώματος (TFAP2B, κοντά στο MSRA και NRXN3) με σημαντική συσχέτιση με την περιφέρεια μέσης και μία (LYPLAL1) με τον λόγο περιφέρειας μέσης/περιφέρεια ισχύων μόνο στις γυναίκες.



Εικόνα 9. Περιφέρεια μέσης και περιφέρεια ισχύος ως δείκτες κεντρικού τύπου παχυσαρκίας.

Οι περιοχές του TFAP2B και NRXN3 συσχετίστηκαν αργότερα και με τον ΔΜΣ (Speliotes et al., 2010) και η περιοχή κοντά στο MSRA με την πρώιμη παχυσαρκία, υποδεικνύοντας ότι αυτές οι περιοχές είναι πιθανότερο να εμπλέκονται στην γενική παχυσαρκία (**Εικόνα 10**).

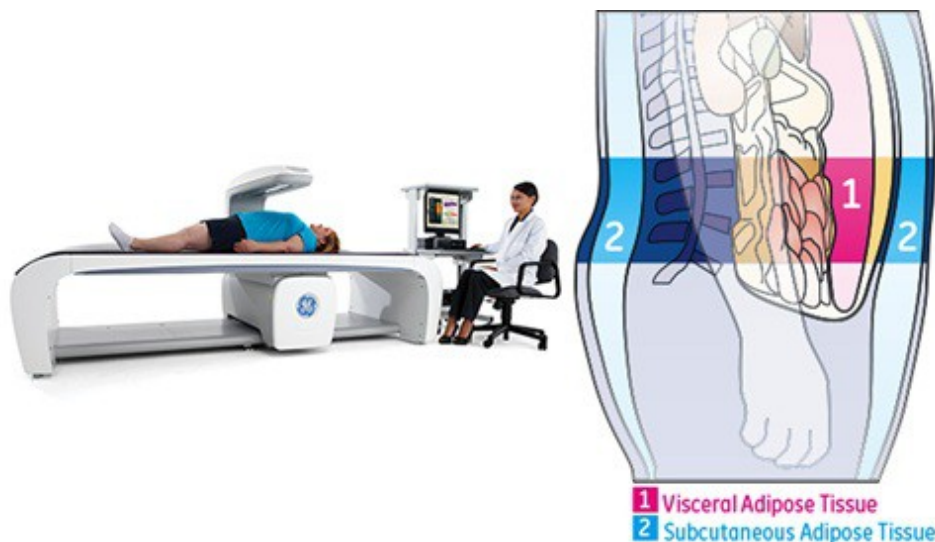


Εικόνα 10. Manhattan plot, το οποίο δείχνει γενετικούς τόπους που συσχετίζονται με δείκτες παχυσαρκίας.

Λιπώδης μάζα

Μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος έχουν πραγματοποιηθεί επίσης και για την λιπώδη μάζα, η οποία αποτελεί ένα πιο εξευγενισμένο και ακριβή δείκτη της σύστασης του σώματος. Σε μία μετα-ανάλυση μελετών συσχέτισης του γονιδιώματος

με το ποσοστό λιπώδους μάζας (όπως αυτό αξιολογήθηκε με χρήση απορροφησιμετρίας ακτινών Χ διπλής ενέργειας – DXA) (Εικόνα 11) 36.626 ατόμων Ευρωπαϊκής καταγωγής επιλέχθηκαν 14 ανεξάρτητες περιοχές προς περαιτέρω διερεύνηση και επαλήθευση σε επιπλέον 39.576 άτομα (Kilpelainen et al., 2011). Η περιοχή κοντά στο IRS1 (insulin receptor substrate 1 gene – γονίδιο του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης 1) συσχετίστηκε σημαντικά με μειωμένο ποσοστό λιπώδους μάζας και η επίδραση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους άνδρες συγκριτικά με τις γυναίκες.



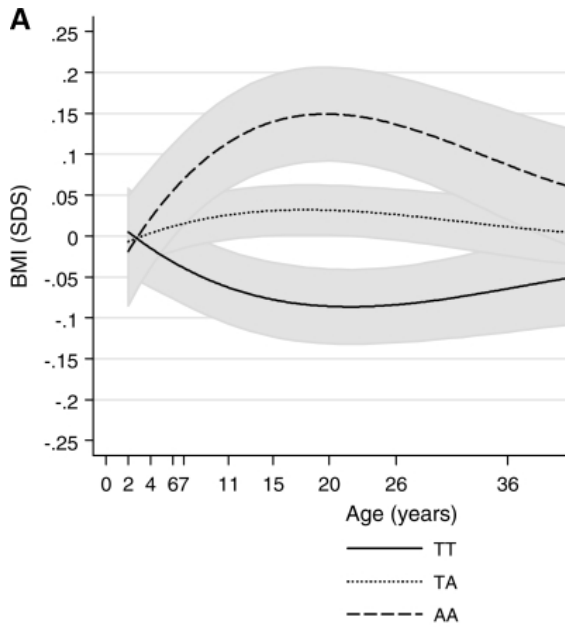
Εικόνα 11. Μέτρηση ποσοστού σωματικού λίπους (σπλαχνικού και υποδόριου) με την χρήση απορροφησιμετρίας ακτινών Χ διπλής ενέργειας – DXA.

Σε μία πρόσφατη μελέτη συσχέτισης του γονιδιώματος για τις λιπο-αποθήκες της κοιλιακής (abdominal adipose depots) χώρας όπως εκτιμήθηκαν με την χρήση υπολογιστικής τομογραφίας (computed tomography) σε 5.560 γυναίκες και 4.997 άνδρες επαληθεύθηκε η συσχέτιση του ίδιου πολυμορφισμού του IRS1 με τον λόγο σπλαχνικού/υποδόριου λίπους στους άνδρες μόνο. Επιπλέον, η περιοχή του γονιδιώματος κοντά στο THNSL2 (threonine synthase-like 2 gene – γονίδιο της συνθάσης της θρεονίνης 2) συσχετίστηκε σημαντικά με το υποδόριο λίπος στις γυναίκες μόνο. Μάλιστα, η συσχέτιση αυτή παρέμεινε σημαντική ακόμη και μετά από έλεγχο για τον ΔΜΣ υποδεικνύοντας ότι ίσως εμπλέκεται κυρίως στην εναπόθεση λίπους στην κοιλιακή χώρα τουλάχιστον στις γυναίκες (Fox et al., 2012).

Νοσογόνος και πρώιμη παχυσαρκία

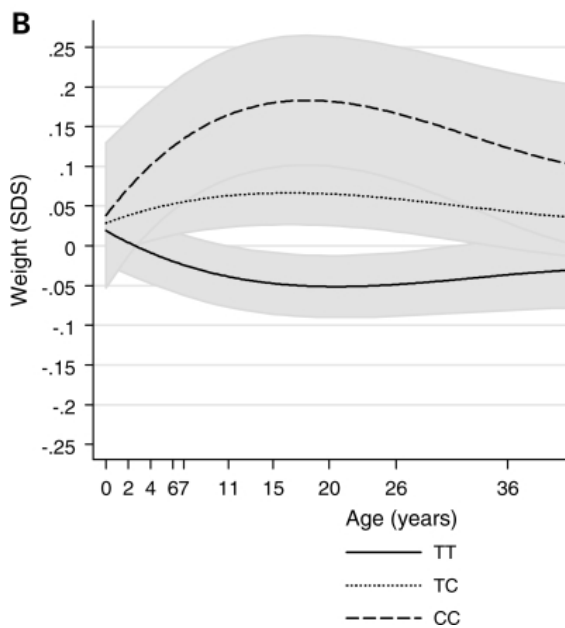
Μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος έχουν πραγματοποιηθεί επίσης και για την νοσογόνο παχυσαρκία και την πρώιμη παχυσαρκία. Τα άτομα με νοσογόνο ή πρώιμη παχυσαρκία μπορεί να έχουν αυξημένη γενετική προδιάθεση με αποτέλεσμα και οι μελέτες να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ισχύ για τον εντοπισμό αυτών των πολυμορφισμών ή μπορεί και να οδηγήσουν στον εντοπισμό γενετικών περιοχών διαφορετικών από αυτών που εντοπίστηκαν για τον ΔΜΣ, τους δείκτες κεντρικού τύπου παχυσαρκίας και λιπώδους μάζας. Σύμφωνα με τα ευρήματα των μελετών συσχέτισης του γονιδιώματος που πραγματοποιήθηκαν για την νοσογόνο και πρώιμη παχυσαρκία (Meyre et al., 2009), εκτός από τις περιοχές του FTO και κοντά στο MC4R που παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση και κοντά στο MSRA () που είχε εντοπιστεί σε προηγούμενη μελέτη συσχέτισης του γονιδιώματος με την περιφέρεια μέσης, εντοπίστηκαν τρεις ακόμη περιοχές στο NPC1 (Niemann-Pick disease type C-

1 gene – γονίδιο της νόσου Niemann-Pick τύπος C-1), κοντά στο MAF (ν-MAF musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologue gene – +++) και κοντά στο PTER (phosphotrienesterase related gene – γονίδιο σχετιζόμενο με την φωσφοτριενεστεράση). Ωστόσο, καμία από αυτές τις περιοχές δεν συσχετίστηκε σημαντικά με τον ΔΜΣ στην μετα-ανάλυση του GIANT consortium (Speliotes et al., 2010).



Επίδραση κοινών περιοχών του γονιδιώματος για τον ΔΜΣ σε δείκτες παχυσαρκίας παιδιών και εφήβων

Μέχρι στιγμής οι περισσότερες κοινές περιοχές του γονιδιώματος που έχουν συσχετιστεί με τους διάφορους δείκτες παχυσαρκίας έχουν εντοπιστεί από μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος ή μετα-αναλύσεις τους που έχουν διεξαχθεί κυρίως σε ενήλικες. Ωστόσο, η επίδραση κυρίως των κοινών περιοχών του ΔΜΣ έχει διερευνηθεί και σε ορισμένες μελέτες παιδιών και εφήβων. Σύμφωνα με τα ευρήματα αρκετών διαχρονικών μελετών, η επίδραση του FTO φαίνεται να ξεκινάει από την ηλικία των δύο εβδομάδων, αυξάνεται κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, αγγίζοντας το μέγιστο περίπου στην ηλικία των 20 ετών και έπειτα αρχίζει να φθίνει (Hardy et al., 2010) (Εικόνα 12).



Εικόνα 12. Γραμμική πρόβλεψη του μέσου και των 95% ενδιάμεσων σε προσθετικά γενετικά μοντέλα για (A) BMI SDS σε σχέση με τους γονότυπους *FTO* rs9939609; (B) Βάρος SDS σε σχέση με τους γονότυπους του *MC4R* rs17782313.

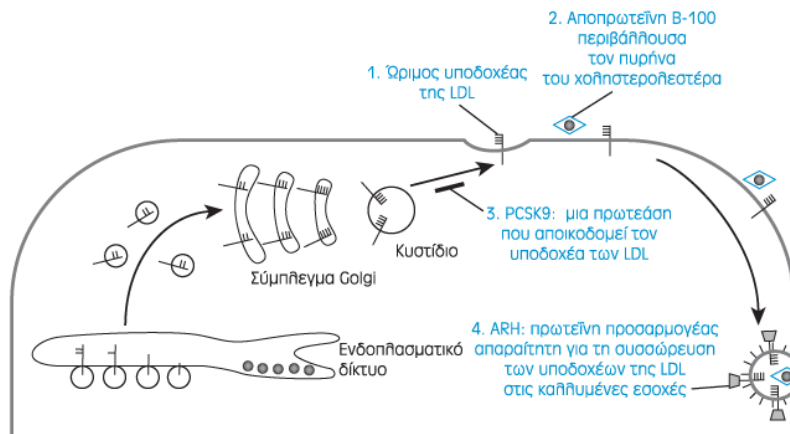
ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ

Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία (Familial Hypercholesterolemia-FH) είναι η πιο συχνή μορφή της γενετικής διαταραχής γνωστής ως επικρατής υπερχοληστερολαιμία τύπου IIa (Autosomal Dominant type IIa Hypercholesterolemia-ADH) και σε αυτήν οφείλεται το 15% των καρδιακών προσβολών. Η ασθένεια αυτή οφείλεται κυρίως σε μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein Receptor-LDLR) και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein-LDL) στο αίμα. Αντίθετα τα επίπεδα τριγλυκεριδίων (TG) και λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein-HDL) συνήθως είναι φυσιολογικά. Το 1973 οι Goldstein και Brown (**Εικόνα 13**) ανακάλυψαν ότι η FH οφείλεται στην ελαττωματική λειτουργία ενός υποδοχέα στην επιφάνεια των κυττάρων, που απομακρύνει τα μόρια της LDL από το πλάσμα. Ο υποδοχέας αυτός έγινε γνωστός ως υποδοχέας της LDL (LDLR). Πρόκειται για μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που μεσολαβεί στη μεταφορά της LDL εντός των κυττάρων, μέσω της διαδικασίας της ενδοκύτωσης. Σημειώνεται ότι η LDL συνδέεται στους ινοβλάστες και σε άλλα κύτταρα, κυρίως τα ηπατοκύτταρα (όπου σχηματίζονται τα χολικά οξέα και τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων (όπου σχηματίζονται οι στεροειδείς ορμόνες), με μεγάλη συγγένεια και ειδικότητα. Η ελαττωματική τους λειτουργία επηρεάζει όχι μόνο την απομάκρυνση της LDL από το αίμα, αλλά και το ρυθμό σύνθεσης της στο πλάσμα.



Εικόνα 13. Το 1973 οι Joseph Goldstein και Michael Brown

Εκτός των μεταλλάξεων στον υποδοχέα της LDL, έχουν ταυτοποιηθεί μεταλλάξεις και σε τρία άλλα γονίδια οι οποίες οδηγούν σε οικογενή υπερχοληστερολαιμία (**Εικόνα 14 και Πίνακας 5**).



Εικόνα 14 ■ Οι τέσσερις πρωτεΐνες που σχετίζονται με την οικογενή υπερκοηστερολαιμία. Ο υποδοχέας της LDL συνδέεται με την αποπρωτεΐνη B-100. Οι μεταλλάξεις στην περιοχή του υποδοχέα της LDL που συνδέεται με την αποπρωτεΐνη B-100 διαταράσσουν την πρόσδεση της LDL με τον υποδοχέα της, οδηγώντας σε μείωση της απομάκρυνσης της LDL-κοηστερόλης από το πλάσμα. Η συσσώρευση του συμπλόκου του υποδοχέα της LDL με την αποπρωτεΐνη B-100 στις καλυμμένες με κηθρίνη εσοχές, απαιτεί την πρωτεΐνη προσαρμογέα απαραίτητη για τη συσσώρευση των υποδοχέων της LDL στις καλυμμένες εσοχές. Οι ομόζυγες μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη ARH διαταράσσουν την ενδοκύττωση του συμπλόκου της LDL με τον υποδοχέα της με συνέπεια να μην απομακρύνεται η LDL. Η δράση της πρωτεάσης PCSK9 οδηγεί σε αποικοδόμηση του υποδοχέα της LDL (βλέπε κείμενο).

Αξιοσημείωτο είναι ότι και τα τέσσερα γονίδια που σχετίζονται με την οικογενή υπερκοηστερολαιμία διαταράσσουν ή την λειτουργία ή την αφθονία των υποδοχέων της LDL στη φυσιολογική τους θέση στην κυτταρική επιφάνεια ή την απολιποπρωτεΐνη B100, το πρωτεϊνικό δηλαδή συστατικό της LDL που αποτελεί και τον προσδέτη του υποδοχέα.

Πίνακας 5-4 Τα τέσσερα γονίδια που σχετίζονται με την οικογενή υπερκοηστερολαιμία				
Μεταλλαγμένο Γονιδιακό Προϊόν	Πρότυπο Κληρονομιάς	Συχνότητα εμφάνισης	Επίπτωση της μετάλλαξης	Επίπεδα LDL-κοηστερόλης (φυσιολογικά επίπεδα ενήλικα: ~120mg/dL)
Υποδοχέας της LDL	Αυτοσωματικό επικρατές	Ετεροζυγώτες: 1/500 Ομοζυγώτες: 1/10 ⁶	Απώλεια λειτουργίας	Ετεροζυγώτες: 350 mg/dL Ομοζυγώτες: 700 mg/dL
Αποπρωτεΐνη B-100	Αυτοσωματικό επικρατές	Ετεροζυγώτες: 1/1000* Ομοζυγώτες: 1/10 ⁶ *	Απώλεια λειτουργίας	Ετεροζυγώτες: 270 mg/dL Ομοζυγώτες: 320 mg/dL
Πρωτεΐνη-προσαρμογέα ARH	Αυτοσωματικό υπολειπόμενο	Πολύ σπάνιο*	Απώλεια λειτουργίας	Ομοζυγώτες: 470 mg/dL
Πρωτεάση PCSK9	Αυτοσωματικό επικρατές	Πολύ σπάνιο	Ενίσχυση λειτουργίας	Ετεροζυγώτες: 225 mg/dL

*Κυρίως σε άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής
*Κυρίως σε άτομα με καταγωγή από την Ιταλία ή την Μέση Ανατολή
Μερικώς τροποποιημένο από: Goldstein JL, Brown MS: The cholesterol quartet. Science 292: 1310-1312, 2001.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ FH

Η διάγνωση της FH μπορεί να γίνει είτε βάσει κάποιων κλινικών κριτηρίων, είτε με γενετική διάγνωση. Τα κλινικά κριτήρια συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Κριτήρια διάγνωσης ετερόζυγων ατόμων με FH

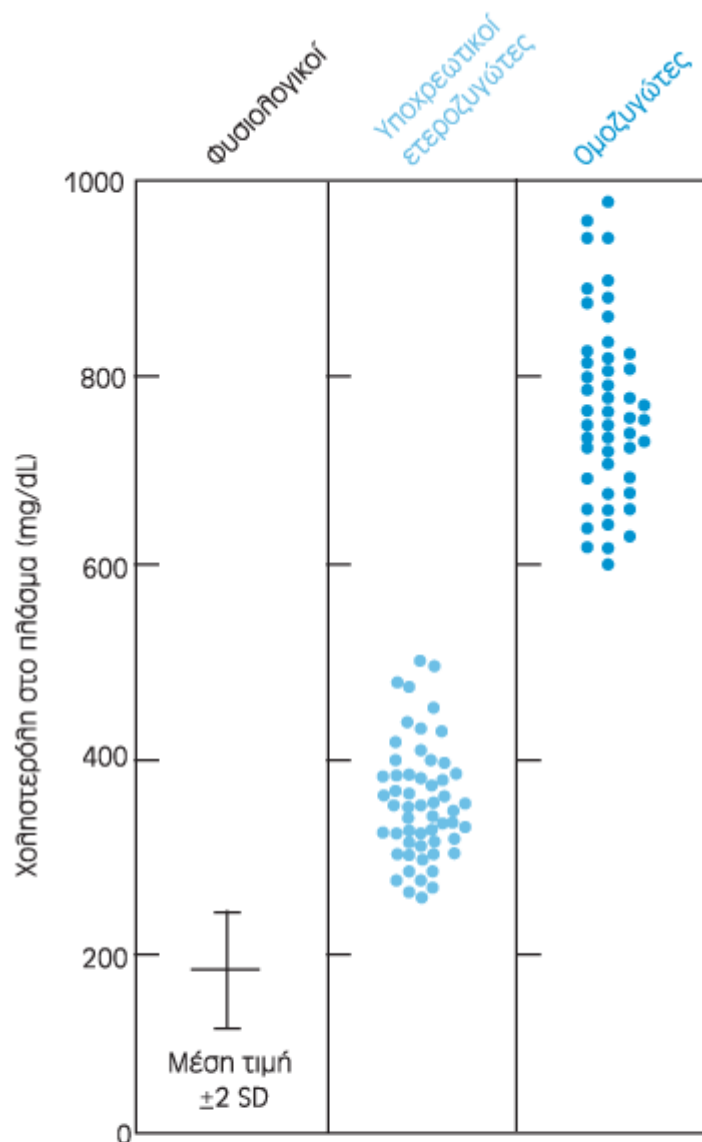
Ηλικία (χρόνια)	45	35	25	≅ 18
Πολύ υψηλή ολική χοληστερόλη-TC (mg/dl)	≧ 360	≧ 340	≧ 290	≧ 270

Φυσιολογικά τριγλυκερίδια-TG (mg/dl)	≈ 200	≈ 180	≈ 150	≈ 100
Απουσία δευτερευόντων αιτιών υπερχοληστερολαιμίας (Διαβήτης, Νεφρωσικό σύνδρομο, Οιστρογόνα, Στεροειδή).				
Τουλάχιστον ένας παιδιατρικός συγγενής (παιδί, εγγονός, ανιψιός) ≈ 18 χρονών με πολύ υψηλή χοληστερόλη (TC [≧] 270) ή ένας ενήλικας συγγενής με ξάνθωμα τενόντων.				
Επικρατής έκφραση στην οικογένεια, δηλ. εμφάνιση της ασθένειας σε μισά από τα αδέρφια ή τους απογόνους.				

Συνεπώς σημαντικά κλινικά κριτήρια για τη διάγνωση ετερόζυγων ατόμων με FH είναι τα επίπεδα TC, LDL-C, TG, καθώς και η παρουσία ξανθωμάτων και ο τρόπος με τον οποίο κληρονομείται η ασθένεια (επικρατής ή υπολειπόμενος). Η διάγνωση ομόζυγων ατόμων μπορεί να γίνει επίσης σύμφωνα με τα παραπάνω κριτήρια, με τη διαφορά ότι η εμφάνιση τους έχει πιο έντονο χαρακτήρα. Αξιοσημείωτο είναι ότι η διάγνωση των ομοζυγωτών μπορεί να γίνει και κατά την ενδομήτρια ακόμη ζωή, λόγω της έλλειψης LDLRs από το αμνιακό υγρό. Τα κριτήρια διάγνωσης για συγγενείς ατόμων με επιβεβαιωμένη FH είναι λιγότερο αυστηρά. Ο έλεγχος αυτών των ατόμων είναι ιδιαίτερα σημαντικός για την πρόληψη και αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της ασθένειας

Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι επειδή τα άτομα με FH έχουν συνήθως περίπου τα ίδια εργαστηριακά ευρήματα με τα άτομα με FDB, είναι δύσκολη η διαφορική διάγνωση τους. Αντίθετα, ο διαχωρισμός τους μπορεί να γίνει με γενετική διάγνωση. Στην περίπτωση αυτή βρίσκεται η μετάλλαξη που μπορεί να έχει κάποιο άτομο στο γονίδιο της ApoB-100 ή του LDLR και σε μερικές περιπτώσεις η επίδραση που έχει αυτή η μετάλλαξη στα επίπεδα χοληστερόλης.

Από τις αρχές του 1970 ήταν γνωστό ότι η FH εμφανίζεται με δύο διαφορετικές κλινικές μορφές, ετεροζυγωτία και ομοζυγωτία. Οι ετεροζυγώτες εμφανίζονται με συχνότητα 1:500 και κληρονομούν ένα μεταλλαγμένο γονίδιο από τον έναν γονέα και ένα φυσιολογικό από τον άλλον. Η απουσία δύο φυσιολογικών γονιδίων προκαλεί αύξηση των επιπέδων της LDL-C κατά 2-3 φορές πάνω από το φυσιολογικό από την παιδική ακόμα ηλικία. Τα άτομα αυτά εμφανίζουν καρδιαγγειακά προβλήματα κατά την ηλικία των 30-40 χρόνων, ενώ εκτιμάται ότι κατά την ηλικία των 50 χρόνων το 50% των ανδρών και το 15% των γυναικών θα έχουν πεθάνει από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Οι ομοζυγώτες εμφανίζονται με συχνότητα 1:1.000.000 και κληρονομούν δύο μεταλλαγμένα γονίδια για τον LDLR, με αποτέλεσμα να συνθέτουν πολύ μικρό αριθμό LDLRs, ή πολλές φορές καθόλου. Τα επίπεδα LDL-C στο πλάσμα είναι αυξημένα κατά 6-10 φορές πάνω από το φυσιολογικό (**Εικόνα 15**), 2-3 φορές αυξημένα σε σχέση με τους ετεροζυγώτες (φαινόμενο γονιδιακής δόσης) και η εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων είναι πολύ συχνή πριν την ηλικία των 20 χρόνων, ενώ είναι πιθανή και η εμφάνιση τους κατά την ενδομήτρια ζωή (θνησιγενής γέννηση). Εκτιμάται ότι οι περισσότεροι FH ομοζυγώτες πεθαίνουν πριν την ηλικία των 30 χρόνων. Τέλος αναφέρεται ότι μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί περίπου 1600 μεταλλάξεις.



Εικόνα 15 ■ Επίδραση της γονιδιακής δόσης στην ανεπάρκεια της LDL: συγκριτικά, η κατανομή της συγκέντρωσης της ολικής χοληστερόλης στο πλάσμα 49 ασθενών με ομόζυγη ανεπάρκεια του υποδοχέα της LDL, στους γονείς τους (οι οποίοι είναι υποχρεωτικοί ετεροζυγώτες) και σε άτομα ελέγχου. SD: σταθερή απόκλιση. (Από: Goldstein JL, Brown MS: Familial hypercholesterolemia. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds): The Metabolic Bases of Inherited Disease, 6th ed. New York, McGraw-Hill, 1989, pp 1215-1250).

Η αυτοσωμική επικρατής υπερχοληστερολαιμία εκτός από τις μεταλλάξεις στο γονίδιο του LDLR μπορεί να οφείλεται και σε μεταλλάξεις στο γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης B-100 (ApoB-100). Η ασθένεια που προκαλείται από τις μεταλλάξεις αυτές είναι γνωστή ως ελαττωματική απολιποπρωτεΐναιμία B-100 (Familial Defective Apolipoprotein B-100-FDB). Η ApoB-100 αποτελεί το συνδετικό κρίκο της LDL με τον υποδοχέα της και παίζει σημαντικό ρόλο στην ενδοκύτωση και στη λυσοσωμική

αποικοδόμηση της. Συνεπώς μεταλλαγές στον υποδοχέα, όπως παρατηρείται στην FH, ή μεταλλαγές στο συνδεδετικό κρίκο, όπως παρατηρείται στην FDB, οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα LDL-C.

Η FDB αναγνωρίστηκε το 1986 σε άτομα που εμφάνισαν μέτρια υπερχοληστερολαιμία (Vega GL, Grundy SM, 1986). Το γονίδιο της ApoB-100 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 26 στη θέση 2p23-24, έχει μήκος 43Kb και αποτελείται από 29 εξόνια, που χωρίζονται από 28 εσόνια. Η πρώτη μεταλλαγή που βρέθηκε στο γονίδιο της ApoB-100 ήταν η R3500Q. Πρόκειται για μία αντικατάσταση γουανίνης (G) από αδενίνη (A) στο νουκλεοτίδιο 10.699, που οδηγεί στην αντικατάσταση αργινίνης (Arg) από γλουταμίνη (Gln) στο υπόλειμμα 3500 (Soria LF, Grundy, 1989). Στη συνέχεια βρέθηκε στο ίδιο κωδικόνιο η μεταλλαγή R3500W, που οδηγεί στην αντικατάσταση Arg από τρυπτοφάνη (Try), (Gaffney D et al, 1995). Τέλος, αναφέρθηκε και μία τρίτη μετάλλαξη, η R3531C, στο νουκλεοτίδιο 10.800, που οδηγεί σε αντικατάσταση Arg από κυστεΐνη (Cys), (Pullinger et al, 1995). Σε επόμενη μελέτη φάνηκε ότι αυτή η μετάλλαξη δεν σχετίζεται με υπερχοληστερολαιμία και καρδιαγγειακά προβλήματα (Tybjaerg-Hansen A et al, 1998). Η R3500Q είναι η πιο συχνή μετάλλαξη στο γονίδιο της ApoB-100, που συναντάται στους Καυκάσιους. Αποτελεί το 6% των περιπτώσεων ADH (Tybjaerg, Hansen A et al, 1992), ενώ γενικά στους λευκούς συναντάται με συχνότητα 1:500-1:1000 και αυξάνει κατά 7 φορές τον κίνδυνο για ισχαιμικό καρδιακό επεισόδιο, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.

Παρόλο που η FDB παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες με την FH, οι δύο αυτές ασθένειες έχουν και σημαντικές διαφορές. Στην περίπτωση της FH οι αλλαγές στον LDLR μπορεί να διαταράξουν όχι μόνο την δέσμευση της LDL, που έχει απολιποπρωτεΐνη την ApoB-100, αλλά και των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη E (ApoE)-της λιποπρωτεΐνης πολύ χαμηλής πυκνότητας (Very Low Density Lipoprotein-VLDL) και της λιποπρωτεΐνης ενδιάμεσης πυκνότητας (Intermediate Density Lipoprotein-IDL), (Brown MS et al, 1982). Αντίθετα, στην FDB παρατηρείται μειωμένη κάθαρση της LDL, αλλά όχι και των VLDL και IDL, που μπορούν να απομακρυνθούν φυσιολογικά από το αίμα, μέσω αλληλεπίδρασης της ApoE με τον LDLR (Innerarity et al, 1987. Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι στην περίπτωση της FDB τα επίπεδα χοληστερόλης μπορεί να είναι χαμηλότερα από ότι στην FH. Σχετικά με την τελευταία αυτή παρατήρηση τα αποτελέσματα διαφόρων ερευνών είναι αντικρουόμενα. Οι Tybjaerg-Hansen et al (1990), παρατήρησαν ότι τα μέσα επίπεδα χοληστερόλης σε 10 FDB ετεροζυγώτες ήταν τα ίδια με αυτά σε 10 FH ετροζυγώτες. Από την άλλη μεριά σε μία μελέτη που έγινε από τους (Innerarity et al (1990) η μέση χοληστερόλη στους FDB ήταν 2,6gr/lit, ενώ στους FH 3,6gr/lit. Η τελευταία αυτή παρατήρηση μπορεί να εξηγηθεί από την ύπαρξη κάποιων ανταγωνιστικών μηχανισμών που εξαλείφουν τις επιπτώσεις της FDB. Επιπλέον, η έκφραση της FDB μπορεί να επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επίσης, η υπόθεση ότι υπάρχουν ανταγωνιστικοί μηχανισμοί που μειώνουν τα συμπτώματα της FDB ενισχύεται και από το γεγονός ότι η αύξηση της χοληστερόλης μπορεί να παρατηρηθεί κατά την ενήλικη ζωή. Αντίθετα στους FH ετεροζυγώτες τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης μπορούν να διαγνωστούν ακόμα και κατά τη γέννηση και να παραμείνουν υψηλά για όλη την υπόλοιπη ζωή. Βέβαια, όπως στην FDB έτσι και στην FH μπορεί να υπάρχουν μηχανισμοί που ανταγωνίζονται την κλινική έκφραση της ασθένειας (Hobbs et al, 1989).

Όσον αφορά στη συχνότητα με την οποία εμφανίζονται η FDB και η FH, φαίνεται ότι η FH είναι πιο συχνή με το 50% των ατόμων να έχουν μετάλλαξη στο γονίδιο του LDLR και το 15% στην ApoB-100, ενώ το υπόλοιπο 35% δεν έχει μετάλλαξη σε κανένα από τα παραπάνω γονίδια, γεγονός που σημαίνει ότι υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που

σχετίζονται με την υπερχοληστερολαιμία. Ένα τρίτο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη PCSK9 εντοπίστηκε στο χρωμόσωμα 1 στη θέση 32-34, που σχετίζεται με την ADH (Varret M et al, 1999). Επίσης, αναφέρεται ότι από το 1974 ήταν γνωστή μία μορφή “ψευδοομόζυγης τύπου II υπερχοληστερολαιμίας”, που είναι τώρα γνωστή ως “οικογενής υπολειπόμενη υπερχοληστερολαιμία τύπου IV” (Zuliani G et al, 1999). Τα άτομα με αυτή την ασθένεια είχαν φυσιολογική δραστηριότητα του LDLR, αλλά προβληματική ηπατική πρόσληψη της LDL-C, παρόμοια με αυτή που παρατηρείται στους FH ομοζυγώτες. Συνεπώς, από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι η ADH είναι μία ετερογενής ομάδα γενετικών διαταραχών, οι οποίες δεν μπορούν να διαχωριστούν μόνο με σύγκριση των κλινικών και βιολογικών στοιχείων.

LDL-ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ (LDLR)

Δομή

Όπως αναφέρθηκε ο LDLR είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που έχει μοριακή μάζα 120Kd. Αρχικά συντίθεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων η πρόδρομη μορφή του, που αποτελείται από 860 αμινοξέα. Στη συνέχεια μεταφέρεται στο σύστημα Golgi, όπου υφίσταται N και O-συνδεσμένη γλυκοζυλίωση (N-linked και O-linked αντίστοιχα). Αυτή η μεταφορά και επεξεργασία συμβαίνει εντός 60 λεπτών. Τελικά η πρόδρομη μορφή του LDLR έχει μοριακή μάζα 160Kd. Τα πρώτα 21 αμινοξέα του υποδοχέα αποτελούν μία υδρόφοβη αλληλουχία έναρξης που απομακρύνεται από την πρωτεΐνη όταν μεταφερθεί στην επιφάνεια του κυττάρου, αφήνοντας την με 5 λειτουργικές περιοχές:

1. Η πρώτη περιοχή αποτελεί το σημείο δέσμευσης του υποδοχέα με το υπόστρωμα του. Είναι το αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης και περιέχει 322 αμινοξέα, με 47 υπολείμματα κυστεΐνης (15% κυστεΐνη). Η έντονη παρουσία δισουλφιδικών δεσμών εδώ αποδίδει μεγάλη σταθερότητα στο σημείο δέσμευσης του υποδοχέα. Η σταθερότητα αυτή μπορεί να τον προστατέψει από τις έντονες αλλαγές του pH που συναντώνται κατά τη φάση της ανακύκλωσης, στην οποία θα γίνει αναφορά πιο κάτω. Πολλά από τα άλλα υπολείμματα αμινοξέων της πρώτης περιοχής έχουν αρνητικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες. Αυτή η περιοχή λοιπόν μπορεί να είναι η θέση δέσμευσης της ApoB-100, λόγω των θετικά φορτισμένων υπολειμμάτων λυσίνης και αργινίνης που περιέχει, τα οποία είναι σημαντικά για τη δέσμευση του υποδοχέα με το μόριο της LDL.
2. Η δεύτερη περιοχή του υποδοχέα αποτελείται από 350 αμινοξέα και ξεκινά από την πλούσια σε κυστίνη περιοχή που αναφέρθηκε παραπάνω. Η περιοχή αυτή εμφανίζει μεγάλη ομολογία με την αλληλουχία αμινοξέων της πρόδρομης μορφής του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (Epidermal Growth Factor-EGF) και είναι η πιθανή θέση που γίνεται η N-συνδεσμένη γλυκοζυλίωση κατά την ωρίμανση του υποδοχέα.
3. Η τρίτη περιοχή αποτελείται από 58 αμινοξέα, είναι πλούσια σε θρεονίνη και σερίνη και περιέχει O-συνδεσμένες αλυσίδες υδατανθράκων. Βρίσκεται ακριβώς πριν από το σημείο που η πρωτεΐνη διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη. Εδώ γίνεται η O-συνδεσμένη γλυκοζυλίωση κατά την ωρίμανση του υποδοχέα.
4. Η τέταρτη περιοχή περιλαμβάνει 22 υδρόφοβα αμινοξέα, που λόγω της συγγένειας τους με τα λίπη αποτελούν το τμήμα του υποδοχέα που διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη.
5. Η πέμπτη και τελευταία περιοχή αποτελείται από 50 αμινοξέα στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης και εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική

μεριά της μεμβράνης. Η “ουρά” αυτή δίνει τη δυνατότητα στους υποδοχείς να κινούνται πλευρικά, με αποτέλεσμα να συναθροίζονται στις καλυμμένες εσοχές, στις οποίες θα γίνει αναφορά παρακάτω.

Λειτουργία

Όταν ένα κύτταρο έχει ανάγκη από χοληστερόλη, συνθέτει LDLRs και τους ενσωματώνει στην κυτταρική του μεμβράνη. Οι υποδοχείς είναι συγκεντρωμένοι σε συγκεκριμένες θέσεις του κυττάρου που καλούνται καλυμμένες εσοχές, και ενώνονται στην κυτταροπλασματική πλευρά της με ένα σύμπλεγμα πολλών μορίων κλαθρίνης, δια μέσου κατάλληλων μορίων συνδέσμων. Ο LDLR αναγνωρίζει τις λιποπρωτεΐνες περιέχουν ApoB-100 και ApoE. Η LDL αφού δεσμευτεί μέσω της ApoB-100 εισέρχεται στο κύτταρο με ενδοκύτωση. Συγκεκριμένα οι καλυμμένες εσοχές εγκολλούνται με τη βοήθεια της δυναμίνης, σχηματίζοντας τελικά τα καλυμμένα κυστίδια.

Ο LDLR ανήκει στην κατηγορία των κυτταρικών υποδοχέων που δεν αποικοδομούνται, αλλά επιστρέφουν στην κυτταρική μεμβράνη και δεσμεύονται με άλλο μόριο για να το φέρουν και αυτό μέσα στο κύτταρο (ανακύκλωση). Στο όξινο περιβάλλον του κυττάρου η LDL αποδεσμεύεται από τον υποδοχέα, ο οποίος όμως παραμένει στη μεμβράνη και μεταφέρεται ξανά στην επιφάνεια αυτής (όπως αναφέρθηκε παραπάνω η αποικοδόμηση της LDL γίνεται στα λυσοσωμάτα). Αυτή η διαδικασία διαρκεί περίπου 10 λεπτά μέσα στον 24ωρο χρόνο ζωής του υποδοχέα).

Η φύση του LDLR είναι τέτοια ώστε να υπόκειται σε ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Συγκεκριμένα η αύξηση της ενδοκυτταρικής χοληστερόλης από την υδρόλυση της LDL έχει ως αποτέλεσμα:

1. Τη μείωση της σύνθεσης LDLRs, ώστε να μειωθεί η περαιτέρω εισροή LDL στο κύτταρο.
2. Τη μείωση της δραστηριότητας της 3-μέθυλο- γλουταρυλο-CoA αναγωγάσης (HMG-CoA αναγωγάση), η οποία είναι υπεύθυνη για την ενδοκυτταρική σύνθεση χοληστερόλης και
3. Την αύξηση της δραστηριότητας της ακυλοτρανσφεράσης της ακυλο CoA χοληστερόλης (Acyl-CoAcholesterol acyltransferase-ACAT), η οποία είναι υπεύθυνη για την εστεροποίηση της χοληστερόλης και την αποθήκευση της στο κυτταρόπλασμα .

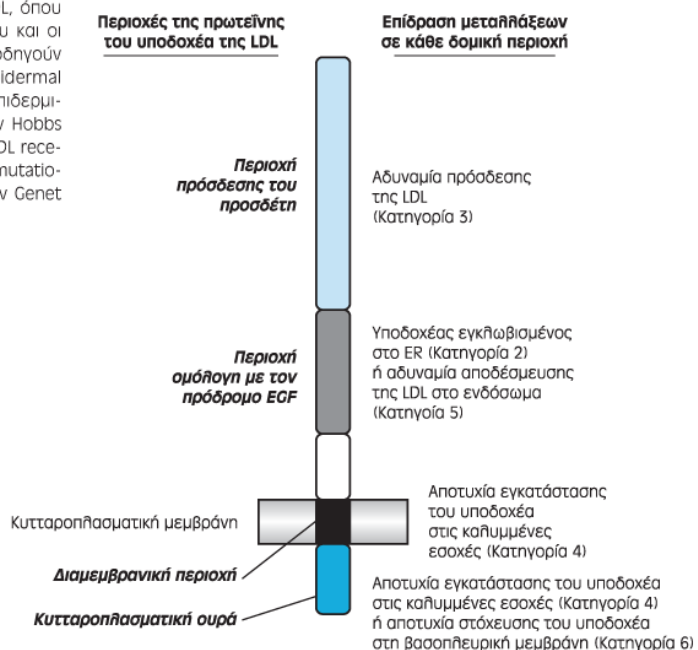
Οι παραπάνω ρυθμιστικοί μηχανισμοί διαταράσσονται σε άτομα με FH (σε διάφορα σημεία της διαδικασίας). Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα τους είναι ελαττωματικά όσον αφορά στην απομάκρυνση της LDL από το πλάσμα. Εκτός από αυτό, πρέπει να συνθέτουν de-novo χοληστερόλη για την ικανοποίηση των αναγκών τους.

Τέλος είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι ο LDLR αποτελεί μία πολύ συντηρητική πρωτεΐνη, αφού η δομή του σε διάφορα είδη παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες (π.χ στην αγελάδα, το κουνέλι και τον αρουραίο). Ιδιαίτερα η κυτταροπλασματική περιοχή του (περιοχή 5) είναι κατά 86% όμοια σε πάρα πολλά είδη. Ακόμα, και οι περιοχές 2 (70-86% ομοιότητα), 1 (60-78% ομοιότητα) και 4 (46-62% ομοιότητα) εμφανίζουν αξιοσημείωτες ομοιότητες. Αντίθετα, η αλληλουχία έναρξης και η Ο-συνδεδεμένη περιοχή εμφανίζουν ελάχιστες ομοιότητες, εκτός από το γεγονός ότι σε όλα τα είδη οι περιοχές αυτές είναι πλούσιες σε θρεονίνη και σερίνη.

ΓΟΝΙΔΙΟ LDLR

Το γονίδιο του LDLR κλωνοποιήθηκε το 1984 (Yamamoto et al), ενώ το 1985 έγινε η χαρτογράφηση του (Lindgren). Βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 στη θέση 13.1-13.3, έχει μήκος 45Kb και αποτελείται από 18 εξόνια που χωρίζονται από 17 εσόνια (Südhof et al, 1985). Τα εσόνια διακόπτουν την αλληλουχία των βάσεων κατά τέτοιο τρόπο, ώστε τα τμήματα της πρωτεΐνης που κωδικοποιούν να είναι προϊόντα συγκεκριμένων εξονίων. Συγκεκριμένα το εξόνιο 1 κωδικοποιεί την αλληλουχία έναρξης, τα εξόνια 2-6 την περιοχή δέσμησης του υποστρώματος, τα εξόνια 7-14 την πλούσια σε κυστεΐνη δεύτερη περιοχή, το εξόνιο 15 την τρίτη περιοχή, το εξόνιο 16 και το 5' άκρο του εξονίου 17 τα 22 υδρόφοβα αμινοξέα της διαμεμβρανικής περιοχής, το υπόλοιπο κομμάτι του εξονίου 17 και το 5' άκρο του εξονίου 18 την κυτταροπλασματική περιοχή, ενώ το υπόλοιπο κομμάτι του εξονίου 18 κωδικοποιεί μία μη μεταφρασμένη περιοχή του mRNA μήκους 2,6Kb (Hobbs et al, 1990).

Εικόνα 16 ■ Η δομή του υποδοχέα της LDL, όπου απεικονίζονται οι πέντε δομικές περιοχές του και οι επιπτώσεις των μεταλλάξεων σε αυτές, που οδηγούν σε οικογενή υπερκολληστερολαιμία. EGF: Epidermal growth factor, αυξητικός παράγοντας των επιδερμικών κυττάρων (Βασισμένο σε ένα σχήμα των Hobbs HH, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL: The LDL receptor locus and familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet* 24: 133-170, 1990).

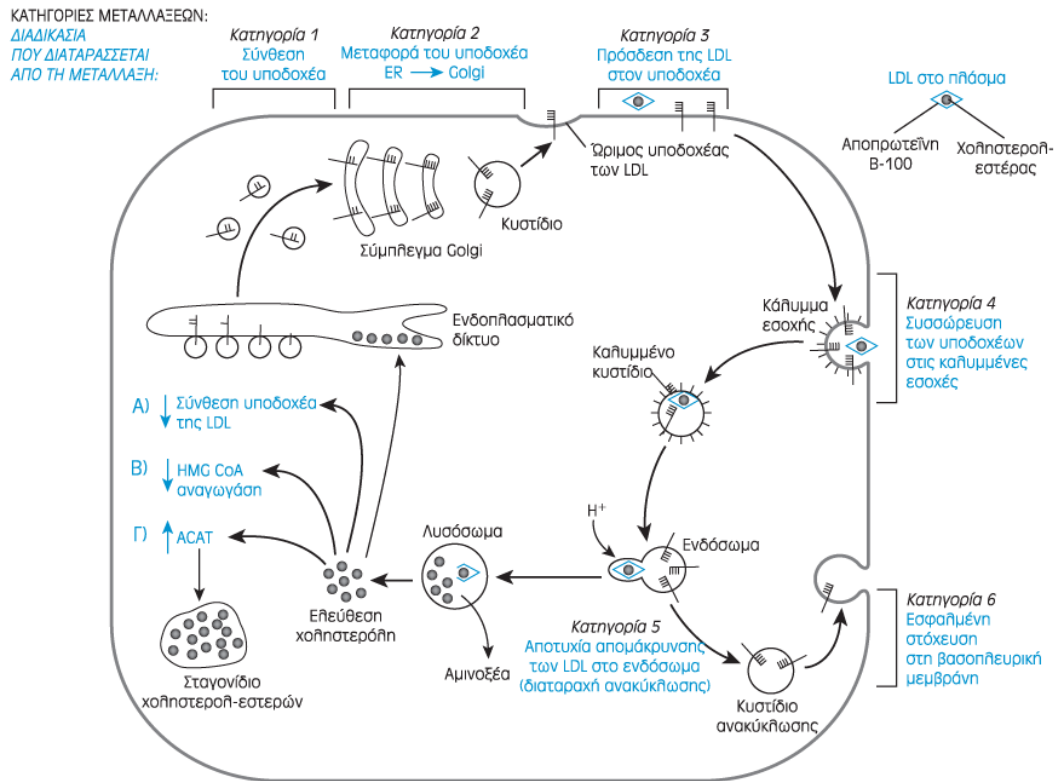


Είδη μεταλλάξεων

Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί περίπου 1600 μεταλλάξεις στο γονίδιο του LDLR, οι οποίες μπορούν να χωριστούν σε 5 κατηγορίες (Hobbs et al, 1990) (**Εικόνα 17**):

- 1) Μεταλλάξεις που οδηγούν σε μη ανιχνεύσιμο αριθμό πρωτεϊνικών προϊόντων (null alleles). Η πλειονότητα αυτών των μεταλλάξεων παράγει mRNA φυσιολογικού μεγέθους, αλλά μειωμένης συγκέντρωσης. Επίσης ένα άλλο χαρακτηριστικό τους είναι ότι μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή κωδικών λήξης (nonsense mutations-ανερμηνεύσιμες μεταλλαγές). Οι μεταλλάξεις αυτές είναι σπάνιες και οι ετεροζυγώτες που τις έχουν παράγουν το μισό αριθμό υποδοχέων, ενώ οι ομοζυγώτες δεν παράγουν καθόλου υποδοχείς.
- 2) Μεταλλάξεις στις οποίες παρατηρείται παρεμπόδιση του περάσματος των πρωτεϊνών, εν μέρει ή πλήρως, από το ενδοπλασματικό δίκτυο στο σύστημα Golgi (transport-defective alleles). Οι μεταλλάξεις αυτές χωρίζονται σε 2 κατηγορίες, την 2α στην οποία δεν γίνεται καθόλου μετακίνηση πρωτεϊνών

προς το σύστημα Golgi, και την 2β, στην οποία η μετακίνηση γίνεται με αργό ρυθμό. Στην πρώτη ανήκουν παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις (missense mutations), που προκαλούν αλλαγή σε ένα μόνο αμινοξύ και μεταλλάξεις που προκαλούν έλλειψη ενός αμινοξέος (deletions), αλλάζοντας την αλληλουχία αμινοξέων του υποδοχέα και συνεπώς τη διαμόρφωση του.



Εικόνα 17 Η κυτταρική βιολογία και ο βιοχημικός ρόλος του υποδοχέα της LDL και οι έξι κατηγορίες μεταλλάξεων που τροποποιούν τη λειτουργία του. Ο υποδοχέας της LDL, μετά τη σύνθεσή του στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), μεταφέρεται στο σύστημα Golgi και στη συνέχεια στην κυτταρική μεμβράνη. Οι φυσιολογικοί υποδοχείς εντοπίζονται σε εσοχές καλυμμένες με κλαθρίνη, οι οποίες εγκοιλώνονται σχηματίζοντας καλυμμένα κυτίδια και, στη συνέχεια, ενδοσώματα, τις πρόδρομες μορφές των λυσοσωμάτων. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η ενδοκυττάρια συσσώρευση της ελεύθερης χοληστερόλης εμποδίζεται γιατί η αύξηση της ελεύθερης χοληστερόλης (A) μειώνει το σχηματισμό υποδοχέων της LDL, (B) ελαττώνει την εκ νέου σύνθεση της χοληστερόλης και (Γ) αυξάνει την αποθήκευση εστέρων χοληστερόλης. Ο βιοχημικός φαινότυπος κάθε κατηγορίας μεταλλάξεων αναλύεται στο κείμενο. ACAT: ακυλοπρωτεϊνική μεταφοράση του ακυλο-συνενζύμου A προς χοληστερόλη, αναγωγή HMG-CoA: αναγωγή του 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουτάριου-συνενζύμου A (Τροποποιημένο από: Brown MS, Goldstein JL: The LDL receptor and HMG-CoA reductase-two membrane molecules that regulate cholesterol homeostasis. *Curr Top Cell Regul* 26:3-15, 1985).

Για παράδειγμα στο εξόνιο 11 έχει βρεθεί μία παρερμηνεύσιμη μεταλλαγή στην οποία παρατηρείται αντικατάσταση γουανίνης από θυμίνη και αλλαγή ενός αμινοξέος, αντικατάσταση γλυκίνης από βαλίνη (FH Naples, Esser et al, 1988). Στην δεύτερη ανήκουν μεταλλάξεις που επηρεάζουν την πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή του LDLR και προκαλούν έλλειψη της αλληλουχίας βάσεων. Για παράδειγμα στο εξόνιο 2 έχει βρεθεί ότι μπορούν να αφαιρεθούν 6bp (GCGATG) που κωδικοποιούν την ασπαραγίνη και τη γλυκίνη (FH CapeTown, Leitersdorf et al, 1988).

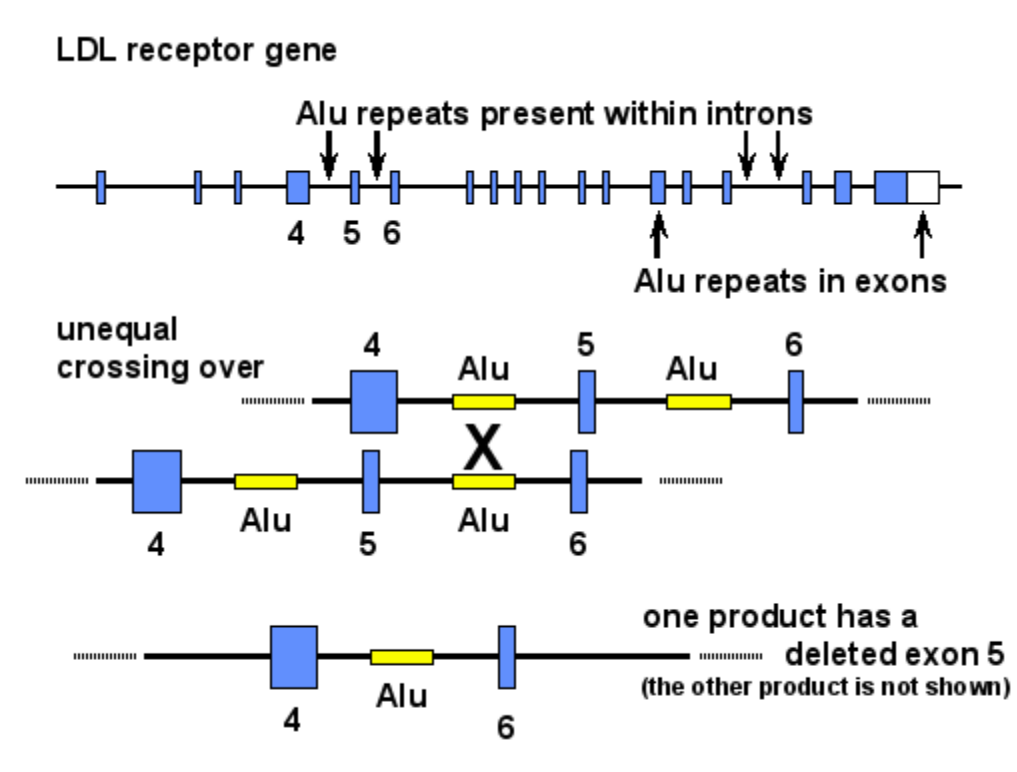
- 3) Μεταλλάξεις στις οποίες ο LDLR συντίθεται κανονικά και μεταφέρεται στην επιφάνεια του κυττάρου, αλλά δεν μπορεί να δεσμεύσει την LDL (binding-defective alleles). Οφείλονται είτε σε αντικαταστάσεις ή ανακατατάξεις στην πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή, είτε σε ελλείψεις στην περιοχή 3 του LDLR

(EGF precursor homology domain). In vitro πρόκληση μεταλλάξεων έχει δείξει ότι αντικατάσταση ενός αμινοξέος της αλληλουχίας δέσμευσης προκαλεί την ίδια λειτουργική ανωμαλία με την αφαίρεση ολόκληρης της αλληλουχίας. Επίσης σημειώνεται ότι στις μεταλλάξεις αυτού του είδους ο υποδοχέας παρουσιάζει πρόβλημα σύνδεσης με την ApoB-100, αλλά ίσως όχι και με την ApoE. Για το λόγο αυτόν μπορεί να συνδέεται με την VLDL, με αποτέλεσμα τη διατήρηση φυσιολογικών επιπέδων τριγλυκεριδίων σε μερικά άτομα.

- 4) Μεταλλάξεις στις οποίες γίνεται φυσιολογικά η σύνδεση της LDL με τους LDLRs, οι οποίοι όμως δεν μπορούν να συγκεντρωθούν στις καλυμμένες με κλαθρίνη εσοχές και γι'αυτό δεν είναι δυνατή η ενδοκύτωση τους (internalization-defective alleles). Σε αυτές μπορεί να επηρεάζεται μόνο η περιοχή 5 του LDLR ή και η περιοχή 4. Παράδειγμα της πρώτης περίπτωσης αποτελεί μία μετάλλαξη που έχει βρεθεί στο εξόνιο 17 και στην οποία γίνεται εισαγωγή μίας αλληλουχίας μήκους 4bp (GAAA), οδηγεί στην παραγωγή κωδικού λήξης (FH Paris-3, Lehrman et al, 1985). Η μετάλλαξη αυτή αφήνει άθικτη την περιοχή 4, αλλά απομακρύνει 44 από τα 50 αμινοξέα της περιοχής 5. Στην δεύτερη περίπτωση οι υποδοχείς αποδεσμεύονται από την κυτταρική επιφάνεια, ενώ μόνο το 10% αυτών παραμένουν προσδεδεμένοι σε αυτήν και δεσμεύουν την LDL, αλλά δεν την μεταφέρουν στο εσωτερικό του κυττάρου. Για παράδειγμα έχει παρατηρηθεί αφαίρεση των εξονίων 16, 17 και μέρους του 18 μεγέθους 5,5Kb (FH Rochester, Lehrman et al, 1985).
- 5) Μεταλλάξεις στις οποίες ο LDLR δεν μπορεί να αποδεσμευτεί από την LDL μετά την είσοδο τους στο κύτταρο, ούτε να επιστρέψει στην επιφάνεια του κυττάρου και τελικά αποικοδομείται (recycling-defective alleles). Συγκεκριμένα οι μεταλλάξεις αυτές παρατηρούνται στην περιοχή 3, η οποία όχι μόνο διευκολύνει τη σύνδεση της LDL με τον υποδοχέα της, αλλά συμμετέχει και στην αποδέσμευση της στο εσωτερικό του κυττάρου και άρα στην ανακύκλωση του υποδοχέα (Davis et al, 1987). Για παράδειγμα στο εξόνιο 9 έχει βρεθεί μία παρερμηνεύσιμη μεταλλαγή, που οδηγεί σε αντικατάσταση γουανίνης από αδενίνη και τελικά βαλίνης από μεθειονίνη (FH Afrikaner-2, Leitersdorf et al, 1989).

Alu αλληλουχίες

Οι Alu αλληλουχίες είναι περιοχές γενετικού ανασυνδυασμού στην αλληλουχία των βάσεων του DNA και σε αυτές οφείλεται η δημιουργία μεγάλων προσθηκών και μεγάλων ελειμμάτων. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα υπάρχουν 910.000 αντίγραφα Alu, τα οποία αποτελούν το 3-6% της συνολικής μάζας του (Hwu et al, 1986). Βρίσκονται σε όλα τα χρωμοσώματα με συχνότητα μία αλληλουχία ανά 3000bp. Συνήθως συναντώνται μέσα στα εσόνια (Schmid and Jelinek, 1982). Οι Deinirger et al (1981) έδειξαν ότι κάθε Alu αλληλουχία συχνά συνοδεύεται από μία σειρά αλληλουχίες στο 3' άκρο, έχει μήκος 300bp και αποτελείται από δύο κατακολουθία επαναλήψεις, γνωστές ως το δεξί και αριστερό άκρο. Το δεξί άκρο είναι μακρύτερο από το αριστερό.

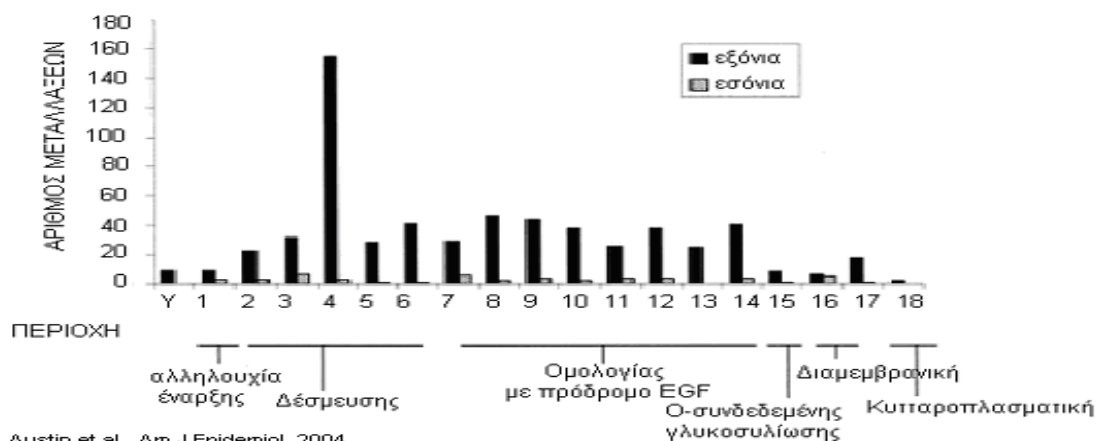


Εικόνα 18. Αλληλουχίες Alu στο γονίδιο LDLR και δημιουργία μεταλλάξεων ως αποτέλεσμα άνισου επιχiasμού.

Όσον αφορά στο γονίδιο του LDLR, η νουκλεοτιδική αλληλουχία του δείχνει ότι περιέχονται σε αυτό αρκετά αντίγραφα της επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας Alu, ενώ στην 3' μη μεταφρασμένη περιοχή του mRNA (μεγέθους 2,5Kb) υπάρχουν 3

κατακολουθία αλληλουχίες (**Εικόνα 18**). Στη μη μεταφρασμένη αυτή περιοχή ιδιαίτερα το πρώτο αντίγραφο προσομοιάζει μία τυπική Alu αλληλουχία, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου του LDLR μπορούν να συμβούν μιας ή περισσοτέρων Alu αλληλουχιών. Η πρώτη τέτοια μετάλλαξη που περιγράφηκε από τους Lehman et al (1985) περιελάμβανε τον ανασυνδιασμό δύο Alu αλληλουχιών που ήταν προσανατολισμένες προς αντίθετες κατευθύνσεις. Συγκεκριμένα μία Alu αλληλουχία του εσονίου 15 ανασυνδυάστηκε με μία αντίθετα προσανατολισμένη Alu αλληλουχία του εξονίου 18 (FH Rochester-internalization defective mutation). Ο ανασυνδυασμός αυτός οδηγεί σε μία διαγραφή (deletion) μεγέθους 5Kb, που εκτείνεται από το εσόνιο 15 έως το εξόνιο 18. Αντίστοιχες μεταλλάξεις μπορούν να συμβούν ως αποτέλεσμα ανασυνδυασμού Alu αλληλουχιών της ίδιας κατεύθυνσης (π.χ FH Paris-1, Hobbs et al 1986- binding defective mutation). Οι μεταλλάξεις αυτές μάλλον προκύπτουν από λάθη που συμβαίνουν κατά τη μείωση. Τέλος έχουν περιγραφεί και μεταλλάξεις που προκύπτουν ως αποτέλεσμα ανασυνδυασμού μιας και μόνο Alu αλληλουχίας. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στο γονίδιο του LDLR υπάρχει ένας ασυνήθιστα μεγάλος αριθμός Alu αλληλουχιών. Υπολογίζεται ότι συναντάται μία αλληλουχία ανά 1,6Kb (ενώ γενικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα συναντώνται με συχνότητα μία αλληλουχία ανά 3Kb). Είναι λοιπόν πιθανόν ότι ο μεγάλος αριθμός των μεταλλάξεων που έχουν βρεθεί στην LDLR οφείλεται στον αυξημένο αριθμό Alu αλληλουχιών. Ορισμένες περιοχές του γονιδίου, όπως η θέση δέσμευσης της LDL, παρουσιάζει τον μεγαλύτερο αριθμό μεταλλάξεων όπως φαίνεται στην **εικόνα 19**.



Εικόνα 19. Κατανομή των μεταλλάξεων στις περιοχές του γονιδίου LDLR.

Η Πρωτεάση PCSK9 και η σχέση της με την LDL-χοληστερόλη

Σε σπάνιες περιπτώσεις η αυτοσωμική επικρατής οικογενής υπερχοληστερολαιμία οφείλεται σε παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις που οδηγούν σε ενίσχυση της λειτουργίας της πρωτεάσης PCSK9. Από πειραματικές μελέτες δείχθηκε ότι η αυξημένη ενεργότητα της πρωτεάσης PCSK 9, οδηγεί σε αποικοδόμηση του υποδοχέα της LDL χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί ένα αυτός ο υποδοχέας αποτελεί άμεσο στόχο της πρωτεάσης. Έτσι αυτή η πρωτεάση ρυθμίζει τα επίπεδα του υποδοχέα στα ηπατοκύτταρα, δρώντας όταν απαιτείται ως αντισταθμιστικός ρυθμιστικός μηχανισμός για την μείωση των επιπέδων του υποδοχέα και της πρόσληψη της χοληστερόλης όπως πχ στην περίπτωση ατόμων με διατροφή χαμηλή στην χοληστερόλη. Οι συγκεκριμένες παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις της πρωτεάσης PCSK9 φαίνεται ότι

σχετίζονται με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία επειδή αυξάνουν την ενεργότητα της πρωτεάσης με αποτέλεσμα την μείωση της αφθονία του υποδοχέα της LDL κάτω από τα φυσιολογικά επίπεδα. Αυτές οι μεταλλάξεις που οδηγούν σε ενίσχυση της λειτουργίας της PCSK9 και προκαλούν οικογενή υπερχοληστερολαιμία, υποδεικνύουν ότι η πρωτεάση αυτή αποτελεί σημαντικό κύριο παράγοντα του μεταβολισμού της LDL-χοληστερόλης.

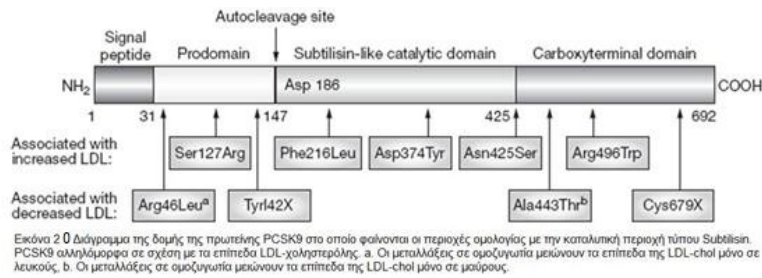
Ορισμένες παραλλαγές της αλληλουχίας του γονιδίου PCSK9 δρουν προστατευτικά έναντι της στεφανιαίας νόσου

Η συσχέτιση της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας με το γονίδιο PCSK9 υποδεικνύει ότι ορισμένες συνηθείς παραλλαγές της αλληλουχία του γονιδίου PCSK9 μπορεί να σχετίζονται με πολύ υψηλά ή πολύ χαμηλά επίπεδα LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα στον γενικό πληθυσμό –συμπεριλαμβανομένων των τριών γονιδίων που σχετίζονται με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία- για τα οποία δεν έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με διακυμάνσεις στα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι αρκετές παραλλαγές της αλληλουχία του γονιδίου PCSK9 έχουν συσχετιστεί με αξιοπιστία με χαμηλά επίπεδα LDL χοληστερόλης στο πλάσμα (**Εικόνα 21, Πίνακας 6**)

Πίνακας 6 - Συχνές παραλλαγές της PCSK9 που σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα LDL-χοληστερόλης			
Παραλλαγή	Συχνότητα των ετεροζυγωτών στον πληθυσμό	Μέση μείωση της LDL- χοληστερόλης	Επίδραση στη συχνότητα εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου
Tyr124Stop ή Cys679 Stop	Αφρο-Αμερικανοί: 2,6%	28% (38mg/dL)	Μείωση 90%
Arg46Leu	Καυκάσιοι: 3,2%	15% (20mg/dL)	Μείωση 50%

Από: Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs H: Sequence variants in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. N Eng J Med 354: 1264-1272, 2006.

Για παράδειγμα, ποσοστό 2,6% των Αφρο-Αμερικανών με πολύ χαμηλά επίπεδα LDL-χοληστερόλης, φέρουν μία εκ των δύο ανερμηνεύσιμων παραλλαγών του PCSK9, ενώ η παρουσία της μίας ή της άλλης παραλλαγής σχετίζεται με μία μέση μείωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης κατά 40%. Η μείωση αυτή ασκεί μία ισχυρή προστατευτική επίδραση έναντι της στεφανιαίας νόσου, μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης της κατά 90%. Σε μία 15ετή μελέτη βρέθηκε ότι μόνο το 1% των Αφρο-Αμερικανών που φέρουν μία από τις ανερμηνεύσιμες μεταλλαγές αναπτύσσουν στεφανιαία νόσο, σε σύγκριση με το αντίστοιχο ποσοστό των ατόμων που δεν τις φέρουν και ανέρχεται στο 10%. Ένα άλλο αλληλόμορφο (Arg46Leu), που είναι πιο σύνηθες σε Καυκάσιους (3,2% των ατόμων), παρόλο που σχετίζεται με μείωση κατά 15% μόνο της LDL-χοληστερόλης, μείωνε τον κίνδυνο εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου κατά 50%.



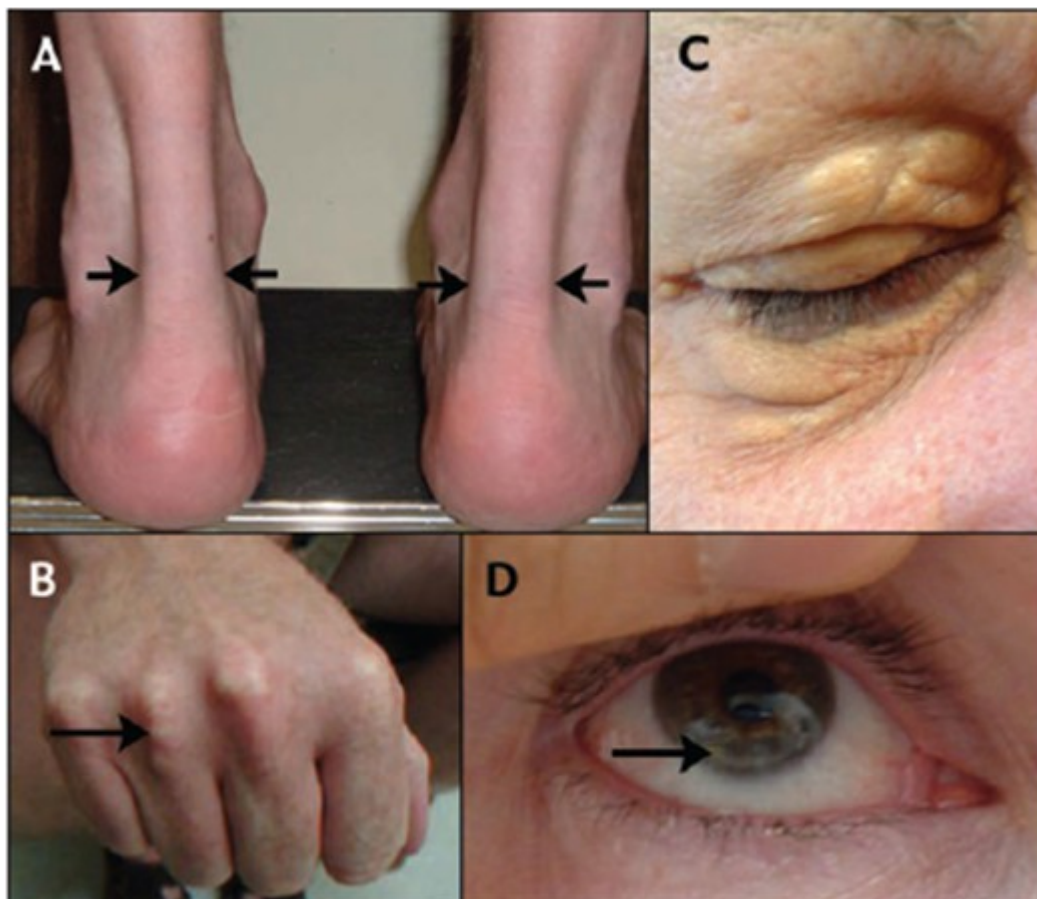
Τα ευρήματα αυτά έχουν σημαντική επίδραση στην δημόσια υγεία καθώς υποδεικνύουν ότι οι μέτριες αλλά οι μεγάλης χρονικής διάρκειας μειώσεις των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα κατά 20-40 mg/dL μειώνουν σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου στον πληθυσμό.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ FH

Οι κλινικές εκδηλώσεις της FH περιλαμβάνουν τα αυξημένα επίπεδα LDL-C στο πλάσμα, το σχηματισμό ξανθωμάτων και την πρόωρη εμφάνιση αθηροσκλήρυνσης. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες οι μεταλλάξεις μπορεί να μην προκαλέσουν αύξηση των επιπέδων LDL-C στο αίμα ή να προκαλέσουν μικρή αύξηση. Συγκεκριμένα έχει βρεθεί μία μετάλλαξη, η FH Paris-9, η οποία δεν προκαλεί FH. Η μετάλλαξη βρέθηκε αρχικά σε έναν ετεροζυγώτη με FH (Hobbs et al, 1992), αλλά και σε ένα δείγμα νορμοχοληστερολαιμικών (Lombardi P et al, 1997). Η εκδήλωση της ασθένειας στον ετερόζυγο ασθενή οφειλόταν σε μία άλλη μετάλλαξη που είχε στο άλλο αλληλόμορφο και όχι στην FH Paris-9. Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η μετάλλαξη αυτή δεν προκαλεί FH, αλλά μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση της ασθένειας όταν συνυπάρχει και κάποιος άλλος γενετικός ή περιβαλλοντικός παράγοντας. Επιπλέον οι μεταλλάξεις στο γονίδιο του LDLR μπορεί να προκαλέσουν μέτρια υπερχοληστερολαιμία, όπως φάνηκε σε μία μελέτη που έγινε σε άτομα με μέτρια αυξημένα επίπεδα LDL-C, τα οποία είχαν μετάλλαξη στο γονίδιο του LDLR (Arca & Jokinen, 1998). Αυτό οφείλεται είτε σε μεταλλάξεις που δεν αναστέλλουν εντελώς τη λειτουργία του LDLR (Hobbs et al, 1992), είτε στη δράση άλλων γονιδίων που ανταγωνίζονται το μεταλλαγμένο γονίδιο του LDLR (Hobbs et al, 1989). Παρακάτω θα γίνει ιδιαίτερη αναφορά στην αθηροσκλήρυνση και στην ξανθωμάτωση που εμφανίζεται σε άτομα με FH.

Ξανθωμάτωση

Σε πολλές περιπτώσεις ατόμων με FH παρατηρείται εναπόθεση χοληστερόλης στο δέρμα και στους τένοντες, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ξανθωμάτων. Αυτά εμφανίζονται κυρίως στον αχίλλειο τένοντα, στον αγκώνα, στο γόνατο και στα βλέφαρα (Εικόνα 21). Επίσης μπορεί να παρατηρηθεί εναπόθεση χοληστερόλης και στο βολβό των ματιών με τη μορφή ενός κίτρινου θολού δακτυλίου (γεροντότοξο).



Εικόνα 21. Α. Ξανθώματα στους αχίλλειους τένοντες. Β. Ξανθώματα στα χέρια. C. Ξανθελάσματα στα βλέφαρα. D. Γεροντότοξο στην κόρη του οφθαλμού.

Σύμφωνα με μία έρευνα που έγινε σε ομόζυγους ασθενείς με FH προέκυψε ότι από την εμφάνιση και τη σοβαρότητα των ξανθωμάτων μπορεί να εκτιμηθεί και η σοβαρότητα της αθηροσκλήρυνσης που παρουσιάζουν τα άτομα αυτά (Khachaturian, 1964). Από in vivo και in vitro μελέτες έχει προκύψει ότι η LDL-C υφίσταται διάφορες οξειδωτικές διαδικασίες και προσλαμβάνεται από ειδικούς υποδοχείς, τους ακετυλ-LDL και καθαριστές υποδοχείς (Krieger M, 1992). Αυτοί οι υποδοχείς εμπλέκονται στην εναπόθεση LDL-C στα αγγειακά τοιχώματα και αλλού. Συνεπώς η μελέτη των γονιδίων αυτών των υποδοχέων μπορεί να δώσει καινούρια στοιχεία για το σχηματισμό ξανθωμάτων. Σε μία μελέτη που έγινε σε μία οικογένεια στη Συρία βρέθηκε ότι ομοζυγώτες για την ίδια μετάλλαξη εμφάνισαν ξανθώματα διαφορετικού μεγέθους. Οι μισοί είχαν σχετικά μικρά ξανθώματα, ενώ οι άλλοι μισοί είχαν ξανθώματα μεγάλου μεγέθους και χρειάζονταν χειρουργική επέμβαση για την αφαίρεση τους. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο σχηματισμός ξανθωμάτων δεν εξαρτάται μόνο από τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα, αλλά και από κάποιο γονίδιο. Ο εντοπισμός αυτού του γονιδίου και ο καθορισμός της λειτουργίας του ίσως να είναι σημαντικός όχι μόνο για την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που οδηγούν σε ξανθωμάτωση, αλλά και αυτών που οδηγούν σε αθηρογένεση (Vergopoulos et al, 1997).

ΘΕΡΑΠΕΙΑ FH

Για την FH έχουν προταθεί διάφορα είδη θεραπειών, που περιλαμβάνουν τη φαρμακευτική και διαιτητική αγωγή, στις οποίες ανταποκρίνονται κυρίως οι ετεροζυγώτες, την πλασμαφαίρεση, το bypass του ειλεού, την αναστόμωση της

πυλαίας φλέβας, τη μεταμόσχευση ήπατος και τη γονιδιακή θεραπεία. Τα δύο τελευταία είδη είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για τους ομοζυγώτες. Το bypass του ειλεού μειώνει την εντεροηπατική κυκλοφορία των χολικών οξέων και τελικά μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης του ορού κατά το 1/4-1/3, με αποτέλεσμα απλά να καθυστερεί την εμφάνιση αθηροσκλήρυνσης. Η αναστόμωση της πυλαίας φλέβας μειώνει την TC και LDL-C κατά το 1/3, αλλά είναι μία επέμβαση που μπορεί να έχει πολλές επιπλοκές, ενώ δυσκολεύει και τη μεταμόσχευση ήπατος που μπορεί να χρειαστεί αργότερα. Παρακάτω θα γίνει αναφορά στη δίαιτα, στη φαρμακευτική αγωγή, την π्लाσμαφαίρεση, στη μεταμόσχευση ήπατος και τη γονιδιακή θεραπεία.

Δίαιτα

Ο κύριος στόχος της διαιτητικής αγωγής σε ετερόζυγα άτομα με FH είναι η μείωση της LDL-C του πλάσματος. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί αυξάνοντας τη δραστηριότητα του LDLR, καθώς και μειώνοντας την ηπατική σύνθεση χοληστερόλης. Σημαντική επίδραση στους δύο παραπάνω παράγοντες έχει η χοληστερόλη και το κορεσμένο λίπος της δίαιτας, που μειώνουν τη δραστηριότητα του LDLR και εμποδίζουν την απομάκρυνση της LDL από το πλάσμα. Επίσης, αξιοσημείωτο είναι ότι οι δύο αυτοί παράγοντες μπορούν να αυξήσουν ή να εξαλείψουν τη δράση των υποχοληστερολαιμικών φαρμάκων. Παρακάτω θα γίνει αναφορά στις δύο αυτές παραμέτρους, καθώς και σε κάποιες άλλες που πιστεύεται ότι μπορούν να παίξουν κάποιο ρόλο στη διαιτητική προσέγγιση ατόμων με FH

Χοληστερόλη της τροφής

Η χοληστερόλη της τροφής μπαίνει στην κυκλοφορία με τη μορφή των χυλομικρών και η απομάκρυνση της από το πλάσμα γίνεται από το ήπαρ ως συστατικό των καταλοίπων των χυλομικρών. Περίπου το 40% της διαιτητικής χοληστερόλης απορροφάται, ενώ το υπόλοιπο 60% αποβάλλεται με τα κόπρανα. Συνεπώς η χοληστερόλη των τροφών προστίθεται σε αυτήν που συντίθεται από το σώμα. Μέρος της χοληστερόλης απεκκρίνεται στη χολή και τελικά στα κόπρανα, είτε ως αυτούσια, είτε ως συστατικό των χολικών αλάτων. Μέσω της εντεροηπατικής κυκλοφορίας κάποια από την ποσότητα χοληστερόλης που απεκκρίνεται στη χολή επιστρέφει στο σώμα.

Η διαιτητική χοληστερόλη που συμβάλλει στο συνολικό ποσό της ηπατοκυτταρικής χοληστερόλης μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση χοληστερόλης στο σώμα, καθώς και των LDLRs. Συγκεκριμένα η αύξηση της ηπατικής χοληστερόλης θα μειώσει τον αριθμό των LDLRs και συνεπώς θα αυξηθούν τα επίπεδα LDL στο πλάσμα. Αντίθετα, η μείωση της διαιτητικής χοληστερόλης θα αυξήσει τον αριθμό των LDLRs στο ήπαρ, θα αυξήσει τη δέσμευση της LDL στους υποδοχείς της και συνεπώς θα μειώσει τα επίπεδα της στο πλάσμα. Συγκεκριμένα σε άτομα με FH έχει βρεθεί ότι η αύξηση της διαιτητικής πρόσληψης χοληστερόλης προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση στην LDL του πλάσματος από ότι σε φυσιολογικά άτομα. Αντίθετα, με χορήγηση διαλύματος ελευθέρου λίπους και χοληστερόλης τα επίπεδα LDL μπορούν να μειωθούν κατά 18-21% ακόμα και σε ομοζυγώτες (Connor et al., 1989).

Λίπος

Η ποσότητα και το είδος του λίπους στη δίαιτα έχει σημαντική επίδραση στα επίπεδα λιπιδίων του πλάσματος. Ο σχηματισμός των χυλομικρών στο λεπτό έντερο και τα επίπεδα τους στην κυκλοφορία μεταβάλλονται ανάλογα με την κατανάλωση λίπους. Συνακόλουθα η παραγωγή των καταλοίπων των χυλομικρών, τα οποία είναι αθηρογόνα μεταβάλλεται ανάλογα με τον αριθμό των συντιθέμενων χυλομικρών.

Επίσης, το λίπος είναι σημαντικό στο μεταβολισμό της χοληστερόλης, αφού η απορρόφηση της γίνεται παρουσία λίπους και η μεταφορά της γίνεται με τα χυλομικρά. Βέβαια όσον αφορά το διαιτητικό λίπος τη μεγαλύτερη επίδραση στα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα ασκεί το είδος του. Τα λίπη μπορούν να διακριθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες ανάλογα με το βαθμό κορεσμού τους, κορεσμένα, μονοακόρεστα και πολυακόρεστα.

Τα κορεσμένα λίπη έχουν σημαντική υπερχοληστερολαιμική δράση, αυξάνουν την LDL-C και επηρεάζουν τη θρομβογένεση. Συγκεκριμένα σημαντικές υπερχοληστερολαιμικές ιδιότητες έχουν το λαυρικό (12:0), το μυριστικό (14:0) και το παλμιτικό (16:0), που μπορούν να μειώσουν τους LDLRs. Όλα τα ζωικά λίπη είναι κορεσμένα, εκτός από αυτά που βρίσκονται στα ψάρια. Η δεύτερη κατηγορία, τα μονοακόρεστα λίπη, βρίσκονται σε έλαια φυτικής και ζωικής προέλευσης και κύριος αντιπρόσωπος τους είναι το ελαϊκό οξύ(18:1 ω-9).

Γενικά η επίδραση τους στα επίπεδα LDL του πλάσματος πιστεύεται ότι είναι ουδέτερη. Το μεγάλο τους όμως πλεονέκτημα είναι ότι ή δεν επηρεάζουν ή αυξάνουν τα επίπεδα της HDL-C, αντίθετα με τα πολυακόρεστα που μπορεί να τη μειώνουν (Grundy et al, 1986). Επίσης έχει βρεθεί ότι δεν επηρεάζουν τα επίπεδα TG, τα οποία όμως μειώνουν όταν συγκριθούν με τους υδατάνθρακες.

Η τρίτη κατηγορία λιπαρών οξέων, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, αποτελούν συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και είναι πρόδρομοι των προσταγλανδινών. Διακρίνονται σε ω-6 και ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Ο κύριος εκπρόσωπος των ω-6 είναι το λινελαϊκό οξύ (18:2 ω-6) που βρίσκεται σε φυτικά έλαια και το αραχιδονικό οξύ (20:4 ω-6) που συντίθεται στο ήπαρ από το λινελαϊκό οξύ. Επειδή το λινελαϊκό οξύ δεν μπορεί να συντεθεί στο σώμα, πρέπει να προσλαμβάνεται από τη δίαιτα σε ποσοστό 2-3% της προσλαμβανόμενης ενέργειας. Ο κύριος εκπρόσωπος των ω-3 λιπαρών οξέων είναι το λινολενικό οξύ (18:3 ω-3), το οποίο δεν συντίθεται από τον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά προσλαμβάνεται από προϊόντα φυτικής προέλευσης (σπόρους, πράσινα φύλλα). Άλλα ω-3 λιπαρά οξέα είναι το εικοσιπεντανοϊκό οξύ (20:5 ω-3) και το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (22:6 ω-3), που βρίσκονται σε ιχθυέλαια. Τα ω-6 λιπαρά οξέα μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα χοληστερόλης του ορού, αν συγκριθούν με τα κορεσμένα, γιατί αυξάνουν τη δραστηριότητα του υποδοχέα της LDL ή την επαναφέρουν στα φυσιολογικά επίπεδα. Όταν όμως χορηγούνται σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να μειώσουν την HDL-C. Επίσης ένα άλλο μειονέκτημα τους είναι και η επιδεκτικότητα τους σε υπεροξειδωση. Για το λόγο αυτό η πρόσληψη τους δεν πρέπει να ξεπερνά το 6% της προσλαμβανόμενης ενέργειας. Τα ω-3 λιπαρά οξέα έχουν ως κύρια επίδραση τη μείωση των TG του πλάσματος, μειώνοντας την VLDL. Τέλος, το εικοσιπεντανοϊκό οξύ παίζει σημαντικό ρόλο στη μείωση της θρομβογένεσης.

Εκτός από τις φυσικές πηγές κορεσμένου λίπους, αυτό μπορεί να παραχθεί και από την υδρογόνωση φυτικών ελαίων. Κατά τη διαδικασία αυτή παράγονται trans λιπαρά οξέα, τα οποία εκτός από αύξηση της LDL-C προκαλούν και μείωση της HDL-C, κάτι το οποίο δεν συμβαίνει με τα κορεσμένα λιπαράοξέα (Troisi et al., 1992).

▪ Υδατάνθρακες

Αν το ποσό λίπους στη δίαιτα μειωθεί και η πρόσληψη πρωτεΐνης παραμείνει σταθερή, πρέπει να αυξηθεί η πρόσληψη υδατανθράκων. Επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι διαίτες πλούσιες σε υδατάνθρακες μπορούν να μειώσουν τη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Αυτό προϋποθέτει ότι προσλαμβάνονται στη σύνθετη και όχι στην απλή μορφή τους, ώστε να αποφευχθεί η υπερτριγλυκεριδαιμική δράση

των τελευταίων. Συνεπώς, οι υδατάνθρακες πρέπει να προσλαμβάνονται κυρίως από το ψωμί, τα ζυμαρικά, τις πατάτες, το ρύζι, το καλαμπόκι και τα όσπρια.

▪ **Φυτικές ίνες**

Οι φυτικές ίνες βρίσκονται σε τροφές φυτικής προέλευσης και περιλαμβάνουν την κυτταρίνη, την ημικυτταρίνη, τη λιγνίνη και την πηκτίνη. Έχουν μικρή συμβολή στην ενεργειακή πρόσληψη, προκαλούν κορεσμό, έχουν σημαντική θετική επίδραση στη λειτουργία του εντέρου και αυξάνουν το χρόνο κένωσης του στομάχου, προκαλώντας πιο αργή απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, κυρίως της γλυκόζης. Μία δίαιτα πλούσια σε φυτικές ίνες είναι σημαντική στην αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας, αφού σε έρευνες έχει φανεί ότι οι υδατοδιαλυτές συγκεκριμένα φυτικές ίνες έχουν υποχοληστερολαιμική δράση (Anderson et al, 1984).

▪ **Πρωτεΐνη**

Η διαιτητική αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας περιλαμβάνει τη μετάβαση από την κατανάλωση πρωτεΐνης ζωικής προέλευσης στην κατανάλωση πρωτεΐνης φυτικής προέλευσης. Η πληρότητα ενός τέτοιου διαιτολογίου μπορεί να επιτευχθεί με κατάλληλο συνδυασμό φυτικών πηγών πρωτεϊνών και κατανάλωση ζωικών πηγών πρωτεΐνης φτωχών σε λίπος. Πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι η καζεΐνη που είναι μία ζωική πρωτεΐνη έχει υπερχοληστερολαιμικές ιδιότητες, ενώ η πρωτεΐνη της σόγιας που είναι φυτική πρωτεΐνη έχει υποχοληστερολαιμικές ιδιότητες. Οι μελέτες που έχουν γίνει σε ανθρώπους δεν έχουν δώσει σαφή αποτελέσματα, γιατί είναι δύσκολο να ελεγχθεί η περιεκτικότητα μιας δίαιτας σε λίπος και χοληστερόλη. Είναι όμως σίγουρο ότι η κατανάλωση περισσότερης φυτικής πρωτεΐνης μπορεί να ωφελήσει τον υπερχοληστερολαιμικό ασθενή.

▪ **Ενέργεια**

Η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη και αποθήκευση μπορεί να επιδεινώσει τη μεταβολική διαταραχή που παρατηρείται σε άτομα με FH. Αντίθετα με τους υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς στους οποίους η παραγωγή TG στο πλάσμα μειώνεται με μείωση του βάρους και αυξάνεται όταν η ενεργειακή πρόσληψη είναι υψηλή, υπάρχουν λίγα άμεσα στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι η λειτουργία του LDLR και τα επίπεδα LDL-C επηρεάζονται από την υψηλή ενεργειακή πρόσληψη. Είναι όμως γνωστό ότι τα παχύσαρκα άτομα παράγουν περισσότερη χοληστερόλη από τους νορμοβαρείς. Η μείωση του βάρους και της ενεργειακής πρόσληψης που περιλαμβάνει και μείωση της χοληστερόλης και του κορεσμένου λίπους αυξάνει τη δραστηριότητα του LDLR και μπορεί να βελτιώσει τα επίπεδα LDL-C σε ετερόζυγα άτομα με FH.

▪ **Αλκοόλ**

Σύμφωνα με αποτελέσματα διαφόρων μελετών τα άτομα που καταναλώνουν αλκοόλ εμφανίζουν καρδιαγγειακά προβλήματα με συχνότητα μικρότερη από αυτούς που δεν καταναλώνουν (Castelli et al, 1977). Αυτό οφείλεται στην αύξηση της HDL-C που παρατηρήθηκε με κατανάλωση 2-7 ποτών/ημέρα για 3-6 εβδομάδες. Τα άτομα όμως που πήραν μέρος στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες είχαν TC² 190mg/dl, γι'αυτό και τα αποτελέσματα τους δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι ισχύουν σε άτομα με FH. Εξάλλου, το αλκοόλ έχει πολλές θερμίδες και η υπερβολική κατανάλωση του μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά προβλήματα, όπως κίρρωση ήπατος, γαστρίτιδα, κάποιες μορφές καρκίνου και νευροπάθειες. Για το λόγο αυτό δεν μπορεί να συστηθεί

σε άτομα με FH να καταναλώνουν αλκοόλ ως μέρος του καθημερινού τους διαιτολογίου, αλλά μόνο περιστασιακά.

▪ Βιταμίνες και Μέταλλα

Υπό την προϋπόθεση ότι οι ανάγκες σε μέταλλα και βιταμίνες ικανοποιούνται από τη δίαιτα, δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι η επιπλέον χορήγησή τους μπορεί να επηρεάσει τις συγκεντρώσεις λιπιδίων στο πλάσμα. Μόνη εξαίρεση ίσως να αποτελεί η νιασίνη που χρησιμοποιείται σε μεγάλες δόσεις για την αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας. Όσον αφορά τη χορήγηση αντιοξειδωτικών (κυρίως βιταμίνες E και C) δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί ακόμα αν πρέπει να συστήνεται η αυξημένη πρόσληψή τους.

▪ Φαρμακευτική αγωγή

Ο κύριος στόχος της φαρμακευτικής αγωγής σε ετερόζυγα άτομα με FH είναι η μείωση των επιπέδων της LDL-C του πλάσματος, ενώ ένας δεύτερος στόχος είναι και η μείωση των επιπέδων Lp(a), TG και η αύξηση της HDL-C. Το επιθυμητό αποτέλεσμα της θεραπείας είναι η μείωση της LDL-C σε <130-160mg/dl σε άτομα που δεν έχουν εμφανίσει ακόμα καρδιαγγειακά προβλήματα και σε <100mg/dl σε άτομα που έχουν εμφανίσει. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι οι στατίνες (αναστολείς της HMG-CoA αναγωγής), οι ρητίνες (χολεστυραμίνη, κολεστιπόλη) και το νικοτινικό οξύ. Από τα παραπάνω φάρμακα τα πιο αποτελεσματικά είναι οι στατίνες. Συγκεκριμένα σε μία έρευνα που έγινε για να συγκριθεί η αποτελεσματικότητά τους βρέθηκε ότι οι ρητίνες μείωσαν την LDL-C κατά 23-36% σε δόσεις 4-6 κουταλιές/ημέρα, αλλά μόνο στο 10-15% των ασθενών. Το νικοτινικό οξύ σε δόσεις 3-6gr/ημέρα προκάλεσε μείωση μέχρι και 30%, αλλά η πλειονότητα των ασθενών παρέμειναν υπερχοληστερολαιμικοί. Τέλος για τις στατίνες στις οποίες η αποτελεσματικότητά μπορεί να μεταβάλλεται με τη δόση παρατηρήθηκε μείωση της LDL-C κατά 20-45%. Πάντως ακόμα και με αυτά τα φάρμακα τα επίπεδα LDL-C παραμένουν >200mg/dl στο 1/3 των ασθενών με FH. Πρόσφατες δημοσιευμένες κλινικές δοκιμές φάσης I και II, με την εφαρμογή ανθρωπίνων μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης PCSK9, έδωσαν ξεκάθαρα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, δείχνοντας ότι αναστέλλοντας την PCSK9, είναι μία πολύ αποτελεσματική μέθοδος για την μείωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης (Stein and Raal, 2014). Ένα άλλο καινούργιο φάρμακο, το οποίο πρόσφατα πήρε έγκριση από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων της Αμερικής (Food and Drug Administration: FDA) για την θεραπεία της ομόζυγης FH, είναι το Mipomersen, ένα ολιγονουκλεοτίδιο αντίστροφης συμπληρωματικότητας (antisense). Η αλληλουχία του είναι συμπληρωματική με την αλληλουχία ενός τμήματος του m-RNA του γονιδίου της (Apo) B-100 με αποτέλεσμα να δεσμεύεται ειδικά σε αυτό και να αναστέλλει την μετάφραση σε πρωτεΐνη (Toth, 2013). Μειώνοντας τα επίπεδα της Apo B-100, μειώνεται η ηπατική παραγωγή των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας τα οποία είναι και ισχυρά αθηρογόνα, των ενδιάμεσων λιποπρωτεϊνών, της LDL, και των σωματιδίων της Lp(a). Παρακάτω θα γίνει ειδική αναφορά στις στατίνες που είναι το φάρμακο πρώτης επιλογής για την FH.

▪ Στατίνες

Τα φάρμακα που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι κυρίως η λοβαστατίνη, η φλουβαστατίνη, η σιμβαστατίνη, η προβαστατίνη και η ατορβαστατίνη. Οι στατίνες παρεμποδίζουν τη δράση της HMG-CoA αναγωγής, που είναι το rate-limiting ένζυμο στη σύνθεση χοληστερόλης. Όταν μειώνονται τα ενδοκυττάρια επίπεδα

χοληστερόλης, αυξάνεται ο ρυθμός μεταγραφής του mRNA του γονιδίου του LDLR, με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των υποδοχέων, την αύξηση της πρόσληψης LDL και τη μείωση των επιπέδων της στο πλάσμα. Επίσης οι στατίνες έχουν και μικρότερη επίδραση στα επίπεδα TG και HDL-C του πλάσματος. Στα TG μπορεί να παρατηρηθεί μία μικρή μείωση της τάξεως του 5-10%, ενώ στην HDL-C μία αύξηση της τάξεως του 5-15%. Οι στατίνες δεν έχουν σοβαρές παρενέργειες, λόγω της ικανοποιητικής κάθαρσης τους από το ήπαρ. Οι παρενέργειες που μπορεί να εμφανιστούν σε σπάνιες περιπτώσεις είναι η μυοπάθεια και η αύξηση της φωσφοκινάσης της κρεατινίνης (Creatinine Phosphokinase-CPK) και η αύξηση των ηπατικών τρανσαμινασών.

Παρόλο που η θεραπευτική αγωγή με στατίνες είναι αποτελεσματική κυρίως σε ετεροζυγώτες με FH, έχουν αναφερθεί θετικές επιδράσεις και σε ομοζυγώτες. Σε μία έρευνα φάνηκε ότι υψηλές δόσεις atorβαστατίνης μπορούν να μειώσουν την LDL-C κατά 28% σε ομοζυγώτες μέσω αναστολής της σύνθεσης VLDL (και πιθανόν LDL) από το ήπαρ (Raal et al, 2000). Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι μεγάλες δόσεις στατινών μπορούν να είναι αποτελεσματικές ακόμα και σε ομόζυγους ασθενείς που δεν παράγουν καθόλου LDLRs. Σε 5 Έλληνες ασθενείς, στους οποίους έγινε γενετική ανάλυση, βρέθηκαν ομόζυγοι για τη μετάλλαξη G1775A, η οποία κατατάσσεται στην 5^η κατηγορία. Οι ασθενείς αυτοί είχαν σχετικά χαμηλά επίπεδα TC και LDL-C και τους χορηγήθηκαν υψηλές δόσεις στατινών (λοβαστατίνη 40mg/ημέρα, πραβαστατίνη 40mg/ημέρα, σιμβαστατίνη 40mg/ημέρα ή φλουβαστατίνη 80mg/ημέρα). Η μείωση της χοληστερόλης που παρατηρήθηκε ήταν κατά μέσο όρο 23,5%. Όταν χορηγήθηκε atorβαστατίνη (80mg/ημέρα) παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη μείωση της LDL-C κατά 35%. Άρα η θεραπεία με στατίνες και μάλιστα με τις πιο αποτελεσματικές από αυτές μπορεί να εφαρμόζεται και σε ομόζυγους ασθενείς μαζί με την πλασμαφαίρεση ή ως μονοθεραπεία σε αυτούς που δεν έχουν πρόσβαση σε πλασμαφαίρεση ή σε άλλη θεραπεία.

Σε μεγάλες μακρόχρονες κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία, η χορήγηση atorβαστατίνης 80 mg ήταν αποτελεσματική και συσχετίστηκε με μικρής συχνότητας μυοσκελετικών και ηπατικών παρενεργειών (Davidson & Robinson 2007). Σε αντίθεση το 1.4% των ασθενών που του χορηγήθηκε σιμβαστατίνη 80 mg παρουσίασε μυοπάθεια (Armitage et al., 2010). Βέβαια ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την αξιολόγηση των στατινών είναι η εκτίμηση της μακροχρόνιας αποτελεσματικότητάς τους. Κάποιες έρευνες έχουν δείξει απώλεια της αποτελεσματικότητάς τους, είτε νωρίς μετά την έναρξη της θεραπείας, είτε μετά από μακροχρόνια χορήγηση. Η εξετιμίβη όταν χορηγηθεί συνδυαστικά με στατίνες, όπως atorβαστατίνη και σιμβαστατίνη, μειώνει σημαντικά τα επίπεδα της LDL-C, κατά 17% με 23% επιπλέον από την μονοθεραπεία με στατίνη. Ανάλογα με την δόση της στατίνης, η προσθήκη εξετιμίβης η οποία αναστέλει την απορρόφηση της χοληστερόλης από το έντερο, μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της LDL-C από 43% μέχρι 70% σε ασθενείς με HeFH και μέχρι 21% σε ασθενείς με HoFH (Hamilton-Craig et al., 2010). Οι ασθενείς με FH μπορεί να ανταποκριθούν διαφορετικά στη θεραπευτική αγωγή με στατίνες και έχει προταθεί ότι αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεταλλάξεις που φέρουν (Santos et al, 2014).

Πλασμαφαίρεση και LDL αφαίρεση

Οι δύο αυτές θεραπευτικές προσεγγίσεις στηρίζονται στην υπόθεση ότι όσο μειώνεται η χοληστερόλη του πλάσματος, τόσο μειώνεται και ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η πλασμαφαίρεση εφαρμόζεται σε FH ομοζυγώτες (ανήλικους και ενήλικες) που δεν ανταποκρίνονταν σε θεραπεία με φάρμακα ή/και

δίαιτα (συνήθως ομοζυγώτες που δεν παράγουν καθόλου LDLRs-receptor negative) (Κολονου et al., 2012). Εφαρμόζεται δύο φορές την εβδομάδα και περιλαμβάνει μία διαδικασία κατά την οποία το πλάσμα του ασθενούς (μαζί με το υπόλοιπο αίμα) εξέρχεται από το σώμα του με συνεχόμενη ροή και ξανα-εισέρχεται, αφού έχουν αφαιρεθεί: LDL, IDL, VLDL, HDL, ινωδογόνο και αιμοπετάλια. Με τη μέθοδο αυτή έχουν σημειωθεί θετικά αποτελέσματα. Παρατηρήθηκε 50% μείωση της TC σε άτομα που έπαιρναν συγχρόνως και φάρμακα (νικοτινοκό οξύ). Επίσης, σημειώνεται ότι το προσδόκιμο ζωής των ομοζυγωτών αυξήθηκε κατά 5,5 χρόνια. Το μειονέκτημα της πλάσμαφαίρεσης είναι ότι μειώνει και τα επίπεδα της HDL-C. Αναφέρεται όμως ότι επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα σε μία εβδομάδα. Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι η πλάσμαφαίρεση αποτελεί αποτελεσματική και ασφαλή μέθοδο θεραπείας (Κολονου et al, 2012). Αντίθετα με την πλάσμαφαίρεση, η LDL-αφαίρεση δεν μειώνει τα επίπεδα της HDL-C. Εφαρμόζεται σε FH ομοζυγώτες και ετεροζυγώτες που δεν ανταποκρίνονται στη μονοθεραπεία με φάρμακα. Σε αυτή τη θεραπεία χρησιμοποιούνται ειδικές στήλες (dextran-sulphatecellulose) που απομακρύνουν μόνο τις ApoB λιποπρωτεΐνες (LDL, Lp(a)). Τα αποτελέσματα της θεραπευτικής αυτής προσέγγισης είναι εντυπωσιακά. Τέλος η LDL-αφαίρεση εμποδίζει και την οξειδωση της LDL-C γεγονός σημαντικό στην πρόληψη της αθηροσκλήρυνσης. Σχετικές μελέτες έχουν δείξει ότι μετά την LDL-αφαίρεση παρατηρήθηκε πρώτης φάσης οξειδωσης της LDL (φάση υστέρησης) (Donner MG, 1999). Όπως φαίνεται λοιπόν από τα παραπάνω η LDL-αφαίρεση παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη των καρδιαγγειακών επεισοδίων.

▪ **Μεταμόσχευση ήπατος**

Η μεταμόσχευση ήπατος αποτελεί τη θεραπεία επιλογής σε FH ομοζυγώτες που δεν παράγουν καθόλου λειτουργικούς υποδοχείς και δεν ανταποκρίνονται σε άλλα είδη θεραπείας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι περίπου τα 2/3 των LDLRs στο σώμα βρίσκονται στο ήπαρ, καθώς και στην πρόοδο που έχει επιτελεστεί τα τελευταία χρόνια στις χειρουργικές και ανοσολογικές τεχνικές για τη μεταμόσχευση ήπατος. Το ήπαρ συνθέτει μεγάλο αριθμό LDLRs, γιατί χρειάζεται μεγάλα ποσά χοληστερόλης για τη σύνθεση χολικών οξέων και για την παραγωγή λιποπρωτεϊνών. Η πρώτη μεταμόσχευση ήπατος έγινε το Σεπτέμβριο του 1983 σε ένα εξάχρονο κορίτσι με ομόζυγη FH. Επίσης λόγω της προχωρημένης καρδιαγγειακής νόσου έγινε και μεταμόσχευση καρδιάς. Η ασθενής ανέχθηκε καλά και τις δύο επεμβάσεις και τα επίπεδα LDL-C μειώθηκαν κατά 81%, ενώ ο καταβολισμός της χοληστερόλης αυξήθηκε κατά 2,5 φορές. Τα επίπεδα LDL-C θα είχαν μειωθεί ακόμα περισσότερο αν είχε αποκατασταθεί η λειτουργία των LDLRs και στους εξωηπατικούς ιστούς. Επίσης τα ξανθώματα στους τένοντες άρχισαν να υποχωρούν και το χρώμα τους άλλαξε από κίτρινο σε ροζ. Από τότε η μεταμόσχευση ήπατος έχει γίνει και σε άλλα ομόζυγα παιδιά με FH με επιτυχία. Τα επίπεδα λιπιδίων αποκαθίστανται χωρίς να είναι απαραίτητη η χορήγηση φαρμάκων, τα ξανθώματα εξαφανίζονται μέσα σε ένα χρόνο, ενώ σε ένα παιδί που είχε κάνει bypass φάνηκε ότι μπορούν να αναστραφούν και οι αθηρωματικές αλλοιώσεις (Kawagishi et al., 2007). Από τα παραπάνω συμπεραίνεται λοιπόν ότι:

-Η μεταμόσχευση ήπατος είναι μία πολύ αποτελεσματική θεραπεία σε ομοζυγώτες με FH.

-Η μεταμόσχευση πρέπει να γίνει πριν εμφανιστούν καρδιαγγειακά προβλήματα, γιατί σε αυτή την περίπτωση χρειάζεται και μεταμόσχευση καρδιάς.

-Σε παιδιά που δεν έχουν κάνει άλλη εγχείρηση στην περιτοναϊκή κοιλότητα οι κίνδυνοι της μεταμόσχευσης είναι περιορισμένοι, αν και η απόρριψη του μοσχεύματος παραμένει ένας σημαντικός κίνδυνος.

▪ Γονιδιακή θεραπεία

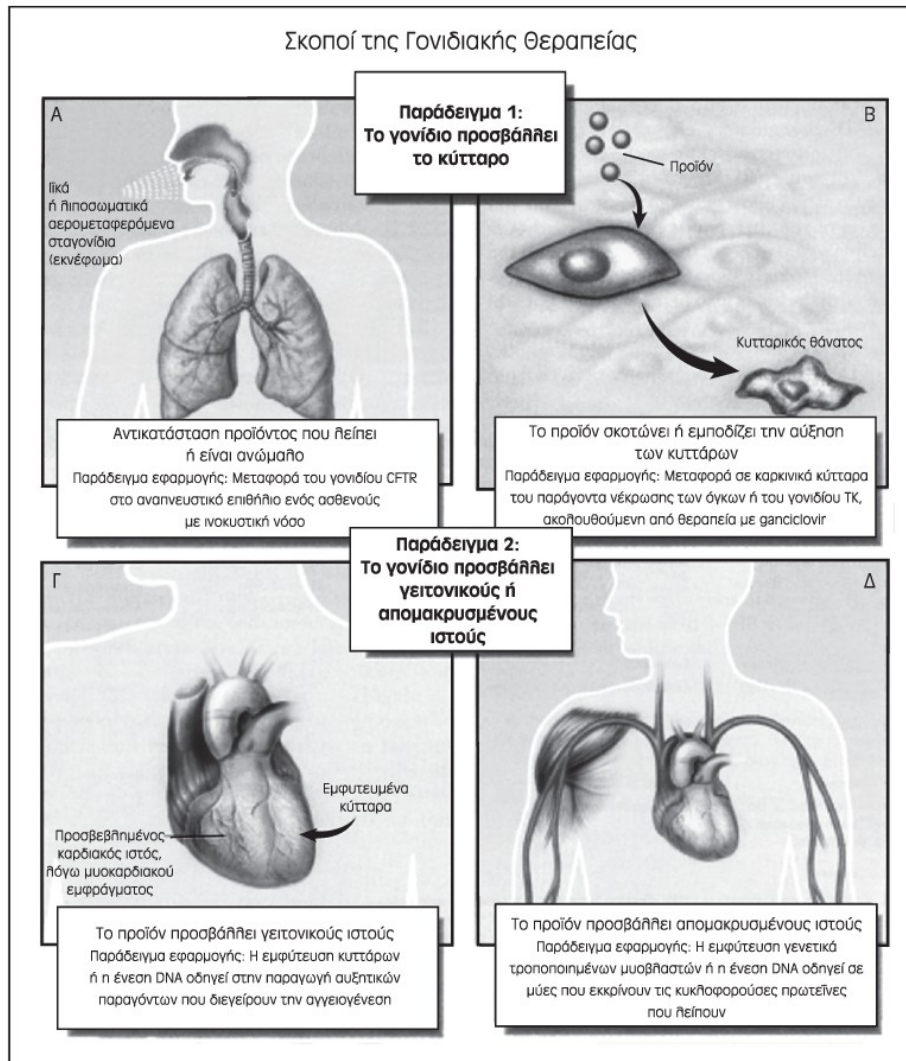
Η αποτελεσματικότητα της μεταμόσχευσης ήπατος σε FH ομοζυγώτες αποδεικνύει ότι η γενετική ανασύσταση ενός και μόνο οργάνου, του ήπατος, είναι αρκετή για να βελτιώσει σημαντικά την υπερχοληστερολαιμία. Αυτό σημαίνει ότι το ίδιο μπορεί να επιτευχθεί και με γονιδιακή ανασύσταση των LDLRs των ηπατοκυττάρων, μέσω γονιδιακής θεραπείας. Μάλιστα η FH είναι ένα καλό μοντέλο για την ανάπτυξη και εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας, για τους παρακάτω λόγους:

-Το φυσιολογικό γονίδιο έχει απομονωθεί (Yamamoto et al, 1984)

-Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας μπορεί να ελεγχθεί με μετρήσεις των λιπιδίων στο αίμα

-Η σοβαρή μορφή της ασθένειας δεν ανταποκρίνεται σε συμβατικές θεραπείες και σχετίζεται με μεγάλη θνησιμότητα κατά την παιδική και εφηβική ηλικία

-Είναι διαθέσιμο ένα μοντέλο, το WHHL (Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbit), που βοηθάει σημαντικά στις μελέτες για τη γονιδιακή θεραπεία στην FH. Το WHHL κουνέλι έχει μία μετάλλαξη στο γονίδιο του LDLR, που τον καθιστά εντελώς ανενεργό, οδηγώντας σε σοβαρή υπερχοληστερολαιμία, αθηροσκλήρυνση και πρόωρο θάνατο (Watanabe et al., 1985). Στην επόμενη εικόνα προβάλλονται γενικά παραδείγματα για την κατανόηση του μηχανισμού και των σκοπών της γονιδιακής θεραπείας.



Εικόνα 22 ■ Τέσσερις τύποι γονιδιακής θεραπείας. Οι εφαρμογές που παρουσιάζονται στην εικόνα είναι θεωρητικές. Οι μόνες έως σήμερα περιπτώσεις επιδιόρθωσης μιας κληρονομικής διαταραχής με γονιδιακή θεραπεία είναι αυτές για τις δύο μορφές βαριάς συνδυασμένης ανοσοανεπάρκειας, τη συνδεδεμένη με το χρωμόσωμα X και αυτήν που οφείλεται σε ανεπάρκεια της απαιμίνης της αδενοσίνης. Και οι δύο αυτές περιπτώσεις αποτελούν παράδειγμα της περίπτωσης Α, της αντικατάστασης ενός προϊόντος που λείπει ή είναι ελαττωματικό (βλ. κείμενο). *CFTR*: γονίδιο του ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της ινοκυστικής νόσου, *TK*: κίνηση της θυμιδίνης του απλού έρπητα η οποία προσδίδει στα κύτταρα ευαισθησία στο ganciclovir (Από: Blau HM, Springer ML: Gene therapy-a novel form of drug delivery. N Engl J Med 333: 1204-1207, 1995).

■ Ex vivo γονιδιακή θεραπεία

Η ex vivo γονιδιακή θεραπεία που εφαρμόστηκε αρχικά στα WHHL κουνέλια έχει ως εξής: Μετά από ηπατεκτομή απομονώνονται τα ηπατοκύτταρα τα οποία χρησιμοποιούνται για καλλιέργειες. Οι καλλιέργειες των ηπατοκυττάρων εκτίθενται στη συνέχεια σε έναν γενετικά ανασυνδισμένο ρετροϊό που εκφράζει το φυσιολογικό γονίδιο του LDLR. Τέλος τα ηπατοκύτταρα εισάγονται στην πυλαία κυκλοφορία των κουνελιών από τα οποία απομονώθηκαν. Η εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας στο WHHL μοντέλο οδήγησε σε μείωση της TC του ορού κατά 30-50%, που παρέμεινε σταθερή καθόλη τη διάρκεια του πειράματος (4 μήνες). Σημειώνεται ότι κατά την παραπάνω διαδικασία στα κουνέλια δεν παρατηρήθηκε ανοσολογική απάντηση (Chowdhury et al, 1991).

Μετά από αυτά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα άρχισαν να γίνονται μελέτες για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας στον άνθρωπο. Ο ηπατικός ιστός από 5 δότες

εκτέθηκε σε κολλαγονάση και εν συνεχεία δημιουργήθηκαν καλλιέργειες από τα ηπατοκύτταρα που απομονώθηκαν. Οι καλλιέργειες εκτέθηκαν σε έναν ρετροϊό που περιείχε το γονίδιο που κωδικοποιεί τον LDLR και εξετάστηκαν για τη γονιδιακή μεταφορά και έκφραση. Από την ανάλυση των ηπατοκυττάρων προέκυψε ότι οι ποσότητες του RNA του LDLR και της πρωτεΐνης ήταν ίδιες ή και περισσότερες από τα προϊόντα του ενδογενούς γονιδίου (Chowdhury et al, 1991). Πριν εφαρμοστεί η θεραπεία αυτή στον άνθρωπο έγιναν και μελέτες σε πιθήκους.

Μετά από τις παραπάνω διαδικασίες το πρωτόκολλο στο οποίο κατέληξαν οι επιστήμονες για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας στον άνθρωπο είναι το εξής: Γίνεται εκτομή και λαμβάνεται το αριστερό πλαινό κομμάτι του ήπατος (10-15% του ήπατος), ενώ τοποθετείται ένας καθετήρας στη μεσεντέρια φλέβα. Από το κομμάτι του ήπατος που απομονώθηκε ελευθερώνονται τα ηπατοκύτταρα με τη δράση της κολλαγονάσης και δημιουργούνται καλλιέργειες. Μετά από 2 ημέρες εκτίθενται σε έναν ανασυνδιασμένο ρετροϊό για 12-16 ώρες. Στη συνέχεια τα κύτταρα αποδεσμεύονται με τη δράση της θρυψίνης και τοποθετούνται στον καθετήρα, ο οποίος απομακρύνεται μετά από 2 ημέρες. Οι ασθενείς που μπορούν να ωφεληθούν περισσότερο από αυτή τη θεραπεία είναι αυτοί που δεν παράγουν καθόλου υποδοχείς. Το χρονικό διάστημα για το οποίο η θεραπεία θα έχει αποτέλεσμα είναι άγνωστο, αν και στο WHHL μοντέλο φάνηκε ότι μπορεί να διαρκέσει για τουλάχιστον 6,5 μήνες, χωρίς σημαντικές αλλαγές. Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά σε ασθενή στις 5 Ιουνίου του 1992, χωρίς επιπλοκές. Σχετικά με την ασφάλεια της γονιδιακής θεραπείας αναφέρεται ότι προκαλεί αύξηση των ηπατικών τρανσαμινασών και των λευκοκυττάρων στο αίμα και μείωση του αιματοκρίτη. Επίσης παρατηρείται αύξηση της πίεσης στην πυλαία φλέβα κατά την έγχυση των κυττάρων, ενώ δεν παρατηρείται περιεγχειρητική θνησιμότητα, κυρίως από έμφραγμα του μυοκαρδίου, αιμορραγία και θρόμβωση στην πυλαία φλέβα.

▪ **In vivo γονιδιακή θεραπεία**

Μετά από την εφαρμογή της ex vivo γονιδιακής θεραπείας άρχισαν να γίνονται μελέτες για την εφαρμογή in vivo γονιδιακής θεραπείας, ώστε να μην χρειάζεται να γίνεται ηπατεκτομή. Η in vivo γονιδιακή θεραπεία συνίσταται στην άμεση παρεντερική χορήγηση γονιδίων του LDLR στο ήπαρ. Συγκεκριμένα χορηγείται ένα σύμπλοκο που αποτελείται από ένα πολυμερές λυσίνης, μία γλυκοπρωτεΐνη-σύνδεσμο που συνδέεται στους υποδοχείς μιας γλυκοπρωτεΐνης στο ήπαρ (asialoglycoprotein) και DNA που περιέχει το γονίδιο του LDLR. Η εφαρμογή της θεραπείας στο WHHL μοντέλο οδήγησε σε μείωση της TC κατά 30% για 6 ημέρες. Παρόλο που αυτά τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, η θεραπεία πρέπει να βελτιωθεί από πολλές απόψεις πριν εφαρμοστεί σε ανθρώπους. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι να αυξηθούν τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων που εισάγονται, καθώς και να παραταθεί ο χρόνος δράσης τους.

Βιβλιογραφία

- Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WJ, Petro MS, Story J. Hypcholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr.* 1984 Dec;40(6):1146-55.
- Arca M, Jokinen E. Low density lipoprotein receptor mutations in a selected population of individuals with moderate hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1998 Jan;136(1):187-94.
- Armitage J, Bowman L, Wallendszus K, Bulbulia R, Rahimi K, Haynes R, Parish S, Peto R, Collins R. Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group, Intensive lowering of LDL cholesterol with 80 mg versus 20 mg simvastatin daily in 12,064 survivors of myocardial infarction: a double-blind randomised trial. *Lancet.* 2010 Nov 13;376(9753):1658-69.
- Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet.* 2005 Mar;6(3):221-34.
- Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, Kagan A, Zukel WJ. Alcohol and blood lipids. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Lancet.* 1977 Jul 23;2(8030):153-5.
- Brown MS, Goldstein JL. Michael S. Brown, MD and Joseph L. Goldstein, MD. 1985 Nobel laureates in medicine. *J Investig Med.* 1996 Feb;44(2):14-23.
- Chowdhury JR, Grossman M, Gupta S, Chowdhury NR, Baker JR Jr, Wilson JM. Long-term improvement of hypercholesterolemia after ex vivo gene therapy in LDLR-deficient rabbits. *Science.* 1991 Dec 20;254(5039):1802-5.
- Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougnères P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 1998 Mar 26;392(6674):398-401.
- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ.* 2000 May 6;320(7244):1240-3.
- Connor SL, Gustafson JR, Artaud-Wild SM, Classick-Kohn CJ, Connor WE. The cholesterol-saturated fat index for coronary prevention: background, use, and a comprehensive table of foods. *J Am Diet Assoc.* 1989 Jun;89(6):807-16.
- Currie C, Ahluwalia N, Godeau E, Nic Gabhainn S, Due P, Currie DB. Is obesity at individual and national level associated with lower age at menarche? Evidence from 34 countries in the Health Behaviour in School-aged Children Study. *J Adolesc Health.* 2012 Jun;50(6):621-6.
- Davidson MH, Robinson JG. Safety of aggressive lipid management. *J Am Coll Cardiol.* 2007 May 1;49(17):1753-62.

- Davis CG, van Driel IR, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. The low density lipoprotein receptor. Identification of amino acids in cytoplasmic domain required for rapid endocytosis. *J Biol Chem*. 1987 Mar 25;262(9):4075-82.
- de Bakker PI, Ferreira MA, Jia X, Neale BM, Raychaudhuri S, Voight BF. Practical aspects of imputation-driven meta-analysis of genome-wide association studies. *Hum Mol Genet*. 2008 Oct 15;17(R2):R122-8.
- Deininger PL, Jolly DJ, Rubin CM, Friedmann T, Schmid CW. Base sequence studies of 300 nucleotide renatured repeated human DNA clones. *J Mol Biol*. 1981 Sep 5;151(1):17-33.
- Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Körner A, Jacobson P, Carlsson LM, Kiess W, Vatin V, Lecoœur C, Delplanque J, Vaillant E, Pattou F, Ruiz J, Weill J, Levy-Marchal C, Horber F, Potoczna N, Hercberg S, Le Stunff C, Bougnères P, Kovacs P, Marre M, Balkau B, Cauchi S, Chèvre JC, Froguel P. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet*. 2007 Jun;39(6):724-6.
- Donner MG, Parhofer KG, Richter WO, Schwandt P. Low-density lipoprotein (LDL) oxidizability before and after LDL apheresis. *Metabolism*. 1999 Jul;48(7):881-6.
- Flegal KM, Ogden CL, Yanovski JA, Freedman DS, Shepherd JA, Graubard BI, Borrud LG. High adiposity and high body mass index-for-age in US children and adolescents overall and by race-ethnic group. *Am J Clin Nutr*. 2010 Apr;91(4):1020-6.
- Fox CS, Liu Y, White CC, et al., Genome-wide association for abdominal subcutaneous and visceral adipose reveals a novel locus for visceral fat in women. *PLoS Genet*. 2012;8(5):e1002695.
- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007 May 11;316(5826):889-94.
- French SA, Story M, Jeffery RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health*. 2001;22:309-35.
- Gaffney D, Reid JM, Cameron IM, Vass K, Caslake MJ, Shepherd J, Packard CJ. Independent mutations at codon 3500 of the apolipoprotein B gene are associated with hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Aug;15(8):1025-9.
- Grundy SM, Nix D, Whelan MF, Franklin L. Comparison of three cholesterol-lowering diets in normolipidemic men. *JAMA*. 1986 Nov 7;256(17):2351-5.
- Hamilton-Craig I, Kostner K, Colquhoun D, Woodhouse S. Combination therapy of statin and ezetimibe for the treatment of familial hypercholesterolemia. *Vasc Health Risk Manag* 2010;6:1023-37.

- Hardy R, Wills AK, Wong A, Elks CE, Wareham NJ, Loos RJ, Kuh D, Ong KK. Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Hum Mol Genet.* 2010 Feb 1;19(3):545-52.
- Haworth CM, Carnell S, Meaburn EL, Davis OS, Plomin R, Wardle J. Increasing heritability of BMI and stronger associations with the FTO gene over childhood. *Obesity (Silver Spring).* 2008 Dec;16(12):2663-8.
- Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, et al.. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009 Jun;5(6):e1000539.
- Hobbs HH, Leitersdorf E, Leffert CC, Cryer DR, Brown MS, Goldstein JL. Evidence for a dominant gene that suppresses hypercholesterolemia in a family with defective low density lipoprotein receptors. *J Clin Invest.* 1989 Aug;84(2):656-64.
- Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat.* 1992;1(6):445-66.
- Hwu HR, Roberts JW, Davidson EH, Britten RJ. Insertion and/or deletion of many repeated DNA sequences in human and higher ape evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986 Jun;83(11):3875-9
- Ioannidis JP. Molecular bias. *Eur J Epidemiol.* 2005;20(9):739-45.
- Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL, Grundy SM, Friedl W, Davignon J, McCarthy BJ. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 1990 Aug;31(8):1337-49.
- Kawagishi N, Satoh K, Akamatsu Y, Sekiguchi S, Ishigaki Y, Oikawa S, Satomi S. Long-term outcome after living donor liver transplantation for two cases of homozygous familial hypercholesterolemia from a heterozygous donor. *J Atheroscler Thromb.* 2007 Apr;14(2):94-8.
- Khachadurian AK. The inheritance of essential Familial Hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964 Sep;37:402-7.
- Kilpeläinen TO, Zillikens MC, Stančáková A et al., Genetic variation near IRS1 associates with reduced adiposity and an impaired metabolic profile. *Nat Genet.* 2011 Jun 26;43(8):753-60.
- Knowler WC, Pettitt DJ, Saad MF, Charles MA, Nelson RG, Howard BV, Bogardus C, Bennett PH. Obesity in the Pima Indians: its magnitude and relationship with diabetes. *Am J Clin Nutr.* 1991 Jun;53(6 Suppl):1543S-1551S.
- Kolovou G, Hatzigeorgiou G, Mihas C, Gontoras N, Litras P, Devekousos D, Kontodima P, Sorontila C, Bilianou H, Mavrogeni S. Changes in Lipids and Lipoproteins after Selective LDL Apheresis (7-Year Experience). *Cholesterol.* 2012;2012:976578.

- Krieger M, Abrams JM, Lux A, Steller H. Molecular flypaper, atherosclerosis, and host defense: structure and function of the macrophage scavenger receptor. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1992;57:605-9.
- Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Grüters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet.* 1998 Jun;19(2):155-7.
- Lajunen HR, Kaprio J, Keski-Rahkonen A, Rose RJ, Pulkkinen L, Rissanen A, Silventoinen K. Genetic and environmental effects on body mass index during adolescence: a prospective study among Finnish twins. *Int J Obes (Lond).* 2009 May;33(5):559-67.
- Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997 Oct;21(10):935-40.
- Lehrman MA, Goldstein JL, Brown MS, Russell DW, Schneider WJ. Internalization-defective LDL receptors produced by genes with nonsense and frameshift mutations that truncate the cytoplasmic domain. *Cell* 1985 Jul;41(3):735-43.
- Leitersdorf E, Hobbs HH, Fourie AM, Jacobs M, van der Westhuyzen DR, Coetzee GA. Deletion in the first cysteine-rich repeat of low density lipoprotein receptor impairs its transport but not lipoprotein binding in fibroblasts from a subject with familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Nov;85(21):7912-6.
- Lobstein T. The prevention of obesity in children. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2004 Aug;1 Suppl 3:471-5.
- Lombardi P, Defesche JC, Kamerling SW, Kastelein JJ, Havekes LM. A novel mutation M-21V in exon 1 of the low density lipoprotein receptor gene causing familial hypercholesterolemia. *Clin Genet.* 1997 Jun;51(6):430-1.
- Loos RJ. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr;26(2):211-26.
- Macdonald FC. Quetelet index as indicator of obesity. *Lancet.* 1986 May 3;1(8488):1043.
- Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet.* 1997 Jul;27(4):325-51.
- Maffeis C, Banzato C, Talamini G; Obesity Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology. Waist-to-height ratio, a useful index to identify high metabolic risk in overweight children. *J Pediatr.* 2008 Feb;152(2):207-13.
- Meyre D, Delplanque J, Chèvre JC, et al., Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet.* 2009 Feb;41(2):157-9.

- Miltioudous G, Elisaf M, Bairaktari H, Xenophontos SL, Manoli P, Cariolou MA. Characterization and geographic distribution of the low density lipoprotein receptor (LDLR) gene mutations in northwestern Greece. *Hum Mutat.* 2001 May;17(5):432-3.
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 1997 Jun 26;387(6636):903-8.
- Mutch DM, Clément K. Unraveling the genetics of human obesity. *PLoS Genet.* 2006 Dec 29;2(12):e188.
- Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, Frost PH, Malloy MJ, Schumaker VN, Kane JP. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest.* 1995 Mar;95(3):1225-34.
- Raal FJ, Pappu AS, Illingworth DR, Pilcher GJ, Marais AD, Firth JC, Kotze MJ, Heinonen TM, Black DM. Inhibition of cholesterol synthesis by atorvastatin in homozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2000 Jun;150(2):421-8.
- Ravussin E, Valencia ME, Esparza J, Bennett PH, Schulz LO. Effects of a traditional lifestyle on obesity in Pima Indians. *Diabetes Care.* 1994 Sep;17(9):1067-74.
- Santos PC, Morgan AC, Jannes CE, Turolla L, Krieger JE, Santos RD, Pereira AC. Presence and type of low density lipoprotein receptor (LDLR) mutation influences the lipid profile and response to lipid-lowering therapy in Brazilian patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2014 Mar;233(1):206-10.
- Schmid CW, Jelinek WR. The Alu family of dispersed repetitive sequences. *Science.* 1982 Jun 4;216(4550):1065-70.
- Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Jan;86(2):587-91.
- Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al., Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet.* 2010 Nov;42(11):937-48.
- Stein EA, Raal F. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol by monoclonal antibody inhibition of PCSK9. *Annu Rev Med.* 2014;65:417-31.
- Sudhof, T. C., Goldstein, J. L., Brown, M. S., Russell, D. W. The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins. *Science* 228: 815-822, 1985.
- Swinburn BA, Millar L, Utter J, Kremer P, Moodie M, Mavoa H, Snowdon W, McCabe MP, Malakellis M, de Courten M, Waqa G, Fotu KF, Roberts G, Scragg R. The

Pacific Obesity Prevention in Communities project: project overview and methods. *Obes Rev.* 2011 Nov;12 Suppl 2:3-11.

- Toth PP. Emerging LDL therapies: Mipomersen-antisense oligonucleotide therapy in the management of hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2013 May-Jun;7(3 Suppl):S6-10.
- Treuth MS, Butte NF, Wong WW, Ellis KJ. Body composition in prepubertal girls: comparison of six methods. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001 Sep;25(9):1352-9.
- Troisi R, Willett WC, Weiss ST. Trans-fatty acid intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. *Am J Clin Nutr.* 1992 Dec;56(6):1019-24.
- Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Meinertz H, Schnohr P, Nordestgaard BG. Association of mutations in the apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1998 May 28;338(22):1577-84.
- Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet.* 1998 Oct;20(2):113-4.
- Varret M, Rabès JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F, Devillers M, Krempf M, Coulon M, Thiar R, Kotze MJ, Schmidt H, Buzzi JC, Kostner GM, Bertolini S, Pocovi M, Rosa A, Farnier M, Martinez M, Junien C, Boileau C. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet.* 1999 May;64(5):1378-87.
- Vega GL, Grundy SM In vivo evidence for reduced binding of low density lipoproteins to receptors as a cause of primary moderate hypercholesterolemia.. *J Clin Invest.* 1986 Nov;78(5):1410-4.
- Vergopoulos A, Bajari T, Jouma M, Knoblauch H, Aydin A, Bähring S, Mueller-Myhsok B, Dresel A, J, oubran R, Luft FC, Schuster H. A xanthomatosis-susceptibility gene may exist in a Syrian family with familial hypercholesterolemia. *Eur J Hum Genet.* 1997 Sep-Oct;5(5):315-23.
- Wang Y, Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes.* 2006;1(1):11-25.
- Watanabe Y, Ito T, Shiomi M. The effect of selective breeding on the development of coronary atherosclerosis in WHHL rabbits. An animal model for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1985;56(1):71-79.
- Yamamoto, T., Davis, C. G., Brown, M. S., Schneider, W. J., Casey, M. L., Goldstein, J. L., Russell, D. W. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell* 39: 27-38, 1984.
- Ziegler A, Schäfer H, Hebebrand J. Risch's lambda values for human obesity estimated from segregation analysis. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997 Oct;21(10):952-3.

Zuliani G, Arca M, Signore A, Bader G, Fazio S, Chianelli M, Bellostà S, Campagna F, Montali A, Maioli M, Pacifico A, Ricci G, Fellin R. Characterization of a new form of inherited hypercholesterolemia: familial recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Mar;19(3):802-9.