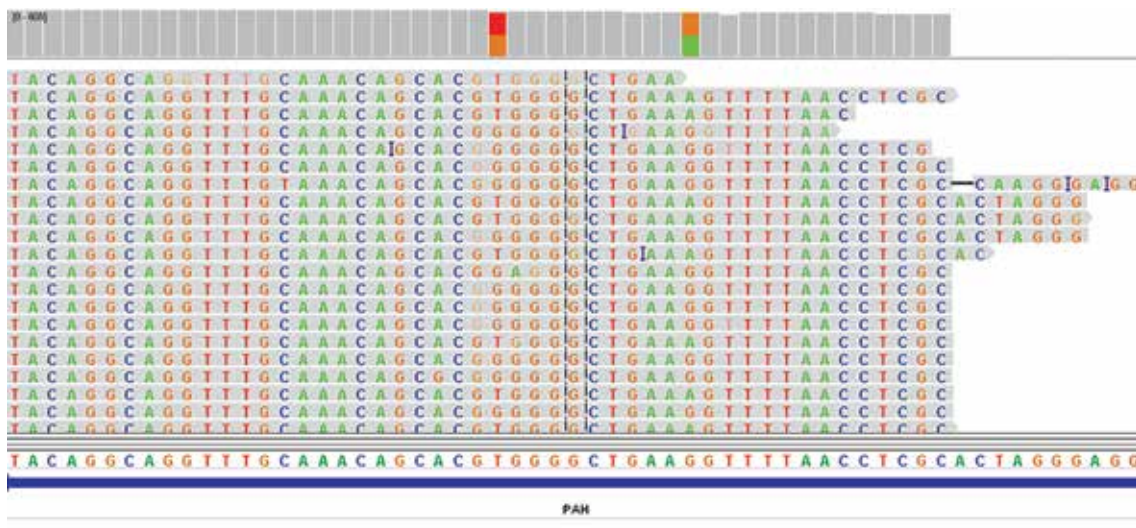


# Μεταβολικά Νοσήματα

Βιοχημική  
και Γενετική διερεύνηση  
Μεταβολικών  
Νοσημάτων



Γενετικός έλεγχος Οικογενούς  
Υπερχοληστερολαιμίας  
με αλληλούχιση DNA  
επόμενης γενιάς (NGS)

  
**NeoLab**

ΙΔΙΩΤΙΚΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Σεπτέμβριος 2017

# Υπερχοληστερολαιμία – Οικογενής Υπερχοληστερολαιμία (FH)

**Ο γενετικός έλεγχος είναι διαγνωστικό κριτήριο της FH (1) «Ο κίνδυνος για στεφανιαία νόσο (Coronary Artery Disease, CAD) πολλαπλασιάζεται έως και 22 φορές σε άτομα με μετάλλαξη FH και LDL >190mg/dL»**

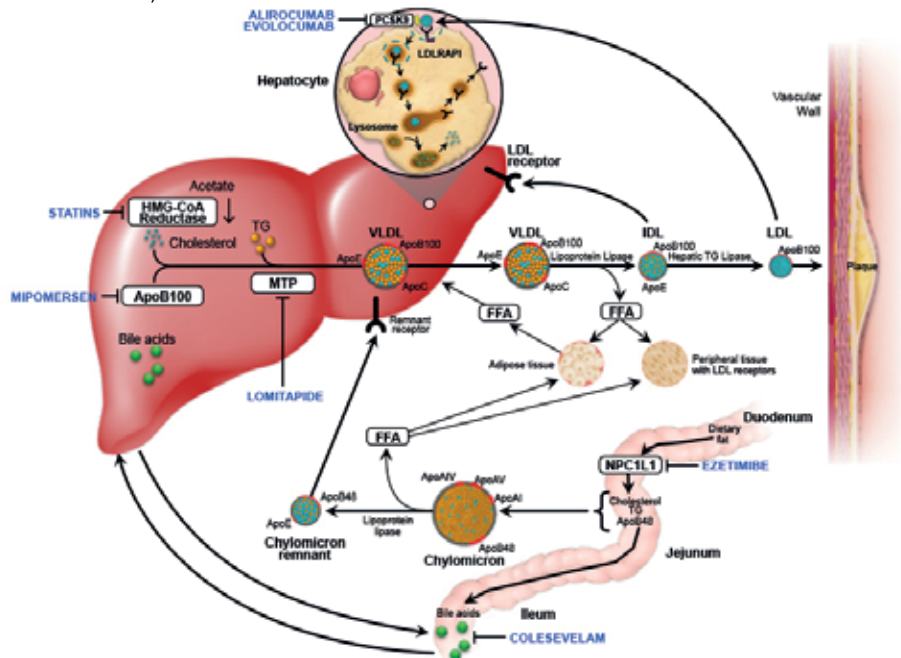
Η Υπερχοληστερολαιμία (=ΥΧ) (Hypercholesterolemia) και ειδικά η οικογενής μορφή της (Familial Hypercholesterolemia, FH), είναι μια παθολογική κατάσταση του οργανισμού που δημιουργείται από αυξημένα επίπεδα LDL-χοληστερόλης στο αίμα. Η χοληστερόλη είναι απαραίτητη ουσία του οργανισμού μας, παράγεται από αυτόν ή/και εισάγεται σε αυτόν μέσω της ζωικής προέλευσης των τροφών μας. Χρησιμοποιείται για δομικό στοιχείο των κυτταρικών μεμβρανών, τη σύνθεση των ορμονών και τη σύνθεση μεταβολιτών που συμβάλλουν στην πέψη των λιπών.

Οι αιτίες δημιουργίας της ΥΧ περιλαμβάνουν κυρίως γενετικούς αλλά και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως διατροφή, άσκηση, κάπνισμα, το φύλο, η ηλικία και άλλα προβλήματα υγείας όπως ο διαβήτης και η παχυσαρκία.

Οι φορείς (ετεροζυγώτες) της Οικογενούς ΥΧ ανέρχονται στους 1/250 άτομα παγκοσμίως και σήμερα η FH θεωρείται το συχνότερο γονιδιακό νόσημα με σοβαρές κοινωνικές επιπτώσεις μιας και στις FH αυξάνεται δραματικά ο κίνδυνος αρτηριοσκληρόνωσης (2) (3).

Η υπερβολική συσσώρευση χοληστερόλης (=ΥΧ) ευθύνεται για τη δημιουργία «πλακών» (αθηρωματικές πλάκες, clumps) στα αγγεία του αίματος οι οποίες στενεύουν ή/και σκληραίνουν τα αγγεία αυξάνοντας σημαντικά τον κίνδυνο για καρδιακή προσβολή (3). **Ο κίνδυνος για στεφανιαία νόσο (Coronary Artery Disease, CAD) πολλαπλασιάζεται έως και 22 φορές σε άτομα με μετάλλαξη FH και LDL >190mg/dL (9).**

Εικόνα που παριστά την ρύθμιση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης από τον LDL υποδοχέα (3). (Sarafova and Kullo 2016).



Κληρονομικές μορφές και τύποι της ΥΧ στοχοποιούνται για προβλήματα υγείας από τη συσσώρευση περίσσειας χοληστερόλης σε άλλους ιστούς, ειδικότερα στους τένοντες (ξανθώματα) και τα μάτια (ξανθελάσματα και arcus cornelais).

Η διάγνωση της FH πραγματοποιείται με την χρήση κριτηρίων όπως τα Dutch Lipid Clinic Network (DLCN), Simon Broome Register (SBR), Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED) (4, 5, 6) με την γενετική διάγνωση (μέσω ανάλυσης DNA) να επιβεβαιώνει, να ερμηνεύει και να εξειδικεύει την κλινική εικόνα. **Σήμερα μάλιστα γνωρίζουμε ότι σε ηλικίες 5-15 ετών η 45-54 ετών οι τιμές της HDL-C έχουν σημαντική επικάλυψη δίνοντας 15% και 46% ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μεταξύ οικογενούς και μη οικογενούς FH! (10)**

## Γενετική βάση Οικογενούς Υπερχοληστερολαιμίας (FH)

Ο γενετικός έλεγχος στις περιπτώσεις ΥΧ περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό γονιδίων (7), ωστόσο τόσο η διερεύνησή τους όσο και η διάγνωση των περιπτώσεων Οικογενούς ΥΧ (Familial Hypercholesterolemia=FH) προαπαιτεί τον έλεγχο των γονιδίων *LDLR*, *APOB*, *LDLRAP1*, *PCSK9* (3, 6, 7, 8).

Το γονίδιο *LDLR* κωδικοποιεί την παραγωγή του υποδοχέα (Receptor) των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDLs) που συνδέεται με «σωματίδια» δηλ. τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας οι οποίες είναι οι κύριοι φορείς χοληστερόλης στο αίμα. Με την αφαίρεση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας από την κυκλοφορία του αίματος, αυτοί οι υποδοχείς διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση των επιπέδων LDL-χοληστερόλης. Τα άτομα με παθολογικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *LDLR* έχουν πολύ υψηλά επίπεδα LDL-χοληστερόλης στο αίμα.

**Λιγότερο συχνά, η υπερχοληστερολαιμία μπορεί να προκληθεί από μεταλλάξεις σε κάποιο από τα γονίδια *APOB*, *PCSK9* ή *LDLRAP1*** οι παραγόμενες πρωτεΐνες των οποίων είναι απαραίτητες για την κανονική λειτουργία των υποδοχέων των LDLs.

Αλλαγές στο γονίδιο *APOB* οδηγούν σε μια μορφή FH γνωστή ως οικογενής ελαττωματική απολιποπρωτεΐνη Β-100 (FDB). Το γονίδιο *PCSK9* πιστεύεται ότι ελέγχει τον αριθμό των υποδοχέων *LDLR* ενεχόμενο έμμεσα στην πρόκληση FH. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *LDLRAP1* είναι υπεύθυνες για έναν άλλο τύπο κληρονομικής υψηλής χοληστερόλης, την αυτοσωμική υπολειπόμενη υπερχοληστερολαιμία (ARH). Μεταλλάξεις σε οποιοδήποτε από αυτά τα γονίδια εμποδίζουν το κύτταρο να δημιουργεί λειτουργικούς υποδοχείς ή μεταβάλλουν τη λειτουργία των υποδοχέων.

## Πώς κληρονομούνται

**Οι μορφές της ΥΧ που οφείλονται σε μεταλλάξεις των γονιδίων *LDLR*, *APOB* και *PCSK9* κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό επικρατή τύπο.** Δηλ. το άτομο που φέρει ένα αντίγραφο από τα τρία αυτά γονίδια με μετάλλαξη θα εκδηλώσει συμπτώματα της ΥΧ/FH και θα έχει 50% πιθανότητα να την μεταφέρει στους απογόνους του. Υπαρξη περισσότερων της μιας μετάλλαξης που ευθύνεται για ΥΧ/FH στο ίδιο άτομο –στο ίδιο ή διαφορετικό γονίδιο– συνδέεται με βαρύτερες μορφές της νόσου και κατά κανόνα εμφανίζεται από την παιδική ηλικία. ΥΧ που οφείλεται σε **μεταλλάξεις του γονιδίου *LDLRAP1*, κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο**, ήτοι χρειάζονται δύο αντίγραφα του *LDLRAP1* να φέρουν μεταλλάξεις για να εκδηλωθούν συμπτώματα ΥΧ. Πιο σύνθετες είναι οι περιπτώσεις ΥΧ/FH που φέρουν μεταλλάξεις σε διαφορετικά γονίδια (3, 7).

## ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΥΧ Η FH ΣΤΗΝ NEOLAB

Ο Γενετικός έλεγχος των γονιδίων που ενέχονται άμεσα στην FH περιλαμβάνει τα γονίδια *LDLR*, *APOB*, *LDLRAP1*, *PCSK9*.

Η μεθοδολογία της NGS που εφαρμόζουμε αποτελεί την πιο σύγχρονη μέθοδο ανάλυσης του DNA, επιτρέποντας την μαζική ταυτόχρονη αλληλούχιση γονιδιακών περιοχών. Σχεδιάσαμε με ειδικά βιοπληροφορικά μέσα και αναλύουμε στοχευμένες περιοχές των γονιδίων *LDLR*, *APOB*, *LDLRAP1*, *PCSK9* ώστε να ανιχνεύονται τόσο οι γνωστές μεταλλάξεις όσο και οι άγνωστες. Η γενική τακτική μας στην αναλυτική μελέτη των γονιδίων περιλαμβάνει: α) τις κωδικοποιούσες περιοχές τους, β) τις περιοχές ματίσματος των εξωνίων (εσωνικές περιοχές), γ) τις 5 και 3' μη μεταφραζόμενες περιοχές τους και δ) τις εσωνικές περιοχές που έχουν καταγραφεί μεταλλάξεις.

Με βάση τον παραπάνω σχεδιασμό **ελέγχεται το σύνολο σχεδόν των σημειακών μεταλλάξεων (>1100 μεταλλάξεις) όπως και οι μικροελλείψεις των γονιδίων, ενώ ταυτόχρονα μπορούν να ανιχνευθούν οι πιθανές νέες μεταλλάξεις.**

**Πίνακας:** Γονίδια που περιλαμβάνονται στον έλεγχο της ΥΧ/FH

ΝΟΣΗΜΑ/ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ	ΓΟΝΙΔΙΟ	ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΤΟΠΟΣ	ΤΡΟΠΟΣ ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΗΣ
HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL (OMIM # 143890)	<i>LDLR</i> (OMIM * 606945)	19p13. 2	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣ (AD)
HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL, DUE TO LIGAND-DEFECTIVE APOLIPOPROTEIN B (OMIM # 144010)	<i>APOB</i> (OMIM + 107730)	2p24. 1	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣ (AD)
HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL, 3 (OMIM # 603776)	<i>PCSK9</i> (OMIM * 607786)	1p32. 3	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣ (AD)
HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL, AUTOSOMAL RECESSIVE (OMIM # 603813)	<i>LDLRAP1</i> (OMIM* 605747)	1p36. 11	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΜΕΝΟΣ (AR)

Τα αποτελέσματα μας ελέγχονται όσο αφορά την ταυτότητά τους με τις διεθνείς και τη δική μας βάση δεδομένων, ελέγχονται για την άμεση ή έμμεση λειτουργική τους επίπτωση και βεβαίως συσχετίζονται με τα βιοχημικά και κλινικά ή φαινοτυπικά ευρήματα που έχουν διαπιστωθεί. **Το τελικό αποτέλεσμα εκδίδεται μετά από έλεγχο ποιότητας, αποτυπώνοντας τα παραπάνω ευρήματα, αλλά και την αξιολόγηση/ερμηνεία τους.** Περαιτέρω διερεύνηση κάθε περιστατικού είναι εφικτή μέσω της συνολικής αλληλούχησης του γονιδίου.

## Η γενετική ταυτοποίηση της ΥΧ και της FH

- α) Θα επιτρέψει την ολοκλήρωση/πιστοποίηση της διαγνωστικής διερεύνησης
- β) Θα συμβάλλει στην καλύτερη πρόγνωση της πορείας του νοσήματος (9)
- γ) Θα επιτρέψει πιθανά την τροποποίηση/επιλογή εξειδικευμένου θεραπευτικού πρωτοκόλλου
- δ) Θα προσφέρει τη δυνατότητα του εστιασμένου ελέγχου μελών της οικογένειας
- ε) Θα αποτρέπει ψευδώς αρνητικά διαγνωστικά αποτελέσματα που εξάγονται από τη μέτρηση και μόνο της LDL-C
- στ) Δίνει τη δυνατότητα προγεννητικού ελέγχου για την πρόγνωση της Ομόζυγης FH (HoFH) (11)

Η εταιρεία μας γνωρίζοντας καλώς ότι ο διάλογος με τους συνεργάτες μας είναι μείζονος σημασίας, είναι ανοικτή σε συνεργασίες διερεύνησης γονιδιακών ή μη περιοχών ή δημιουργία νέων panels που σχετίζονται με παθολογικές ή μη καταστάσεις ενδιαφέροντος.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Familial Hypercholesterolemia Foundation (FHF): <https://thefoundation.org/diagnostic-criteria-for-familial-hypercholesterolemia> European Atherosclerosis Society (και Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης) <http://www.atherosclerosis.gr/thesis-omofonias-tis-european-atherosclerosis-society-gia-tin-antimetopisi-tis-ikogenous-ipercholisterolemias-stous-enilikes/>
2. «The genetics and screening of FH», Henderson R, O’Kane V, Waterson S, Journal of Biomedical Science (2016) 23:39.
3. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2007 Apr;4 (4):214-25.
4. Safarova MS, Kullo IJ. My Approach to the Patient With Familial Hypercholesterolemia. Mayo Clin Proc. 2016 Jun;91 (6):770-86.
5. Lee SH. Update on Familial Hypercholesterolemia: Diagnosis, Cardiovascular Risk, and Novel Therapeutics. Endocrinol Metab (Seoul). 2017 Mar;32 (1):36-40
6. Youngblom E, Pariani M, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. 2014 Jan 2 [Updated 2016 Dec 8]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. , editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
7. Paththinige CS, Sirisena ND, Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia - a comprehensive literature review. Lipids Health Dis. 2017 Jun 2;16 (1):103.
8. Iacocca MA, Hegele RA. Recent advances in genetic testing for familial hypercholesterolemia. Expert Rev Mol Diagn. 2017 Jul;17 (7):641-651.
9. Amit V, Khera et al “Diagnostic Yield of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Severe Hypercholesterolemia”, J Am Coll Cardiol. 2016 June 07; 67 (22): 2578–2589. doi:10. 1016/j. jacc. 2016. 03. 520. “...those with LDL cholesterol  $\geq 190$  mg/dl as well as a FH mutation demonstrated twenty-two fold increased risk for CAD, when compared with non carriers.”
10. Starr B<sup>1</sup>, Hadfield SG, Hutten BA, Lansberg PJ, Leren TP, Damgaard D, Neil HA, Humphries SE. Clin Chem Lab Med. 2008;46 (6):791-803. doi: 10. 1515/CCLM. 2008. 135. «Development of sensitive and specific age- and gender-specific low-density lipoproteincholesterol cutoffs for diagnosis of first-degree relatives with familial hypercholesterolaemia in cascade testing».
11. Youngblom E, Pariani M, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. 2014 Jan 2 [Updated 2016 Dec 8]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. , editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174884/>

**Εικόνα εξώφυλλου:** Οπτικοποίηση της αλληλούχησης DNA σε σύγκριση με το φυσιολογικό γονιδίωμα με χαρακτηριστικό το μέγεθος του πολλαπλασιασμού και αλληλούχησης (γκρίζα οριζόντια ζώνη) όπου περιλαμβάνονται δύο νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις (πορτοκαλί/πράσινο χρώμα).

**Αλληλούχηση DNA Επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS):** Αποτελεί την πλέον σύγχρονη μέθοδο ανάλυσης του γενετικού υλικού, επιτρέποντας τη μαζική, ταυτόχρονη και αξιόπιστη ανάλυση γονιδίων ή/και ολόκληρου του γονιδιώματος σε ελάχιστο χρόνο.

**Για την πραγματοποίηση του ελέγχου της FH αρκεί δείγμα αίματος 1ml σε EDTA (φιαλίδιο Γενικής Αίματος), ενώ ο χρόνος απάντησης είναι 10-15 ημέρες.**