

**VILNIAUS UNIVERSITETAS
MEDICINOS FAKULTETAS**

Baigiamasis darbas

**Genetinių mutacijų paplitimas ir analizė šeimine hipercholesterolemija sergančių
pacientų tarpe**

**Prevalence and Analysis of Genetic Mutations in Patients with Familial
Hypercholesterolemia**

Studentė Miglė Vilniškytė, VI kursas, 17 gr.

Katedra/ Klinikos kurioje ruošiamas ir ginamas darbas : **Širdies ir kraujagyslių ligų
klinika, Biomedicinos mokslų institutas, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas**

Darbo vadovas

Prof. dr. Žaneta Petrulionienė

(pedagoginis vardas, mokslo laipsnis, vardas, pavardė)

Konsultantas

gyd. Urtė Aliošaitienė

(pareigos, vardas, pavardė)

Katedros arba Klinikos vadovas

Prof. dr. Sigita Glaveckaitė

(pedagoginis vardas, mokslo laipsnis, vardas, pavardė)

2024-05-08

Studento elektroninio pašto adresas: migle.vilniskyte@mf.stud.vu.lt

SANTRAUKA

Nors šeiminė hipercholesterolemija yra dažna įgimta padidėjusios mažo tankio lipoproteinų cholesterolio priežastis, ši liga dėl jai būdingo genetinio heterogeniškumo visame pasaulyje išlieka nepakankamai diagnozuojama bei dėl to nepakankamai gydoma.

Tikslas: nustatyti genetinių mutacijų paplitimą pacientams su kliniškai įtariama šeimine hipercholesterolemija bei išanalizuoti ir nustatyti ryšį tarp mutacijų patogeniškumo ir hipercholesterolemijos, Olandų lipidų klinikos kriterijų bei ankstyvo vainikinių arterijų ligos pasireiškimo.

Metodai: Retrospektyvinei analizei panaudoti 154 pacientų nuasmeninti duomenys. Tyrime dalyvavo 0-85 m. vyrai ir moterys, kuriems nustatyta mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija didesnė nei 4,9 mmol/l (suaugusiesiems) ir >3,9 mmol/l (vaikams).

Rezultatai: 30,57% tiriamųjų nustatytos mutacijos MTLR, 14,65% – APOB ir 0,64 % – LDLRAP1 genuose. Tyrimo metu nustatyti 23 patogeniniai mutacijų variantai su šeimine hipercholesterolemija siejamuose genuose. Dažniausiai nustatytos mutacijos: MTLR c.654_656del p. (Gly219del) ir APOB c.10580G>A p.(Arg3527Gln), siejamos su pradininko efektu. Aptiktų tikėtina patogeninių ir neaiškios klinikinės reikšmės mutacijų nešiotojams būdingos didesnės vidutinės mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos lyginant su bendrąja populiacija. Nustatytas silpnas ryšys tarp ankstyvos vainikinių arterijų ligos ir didesnio Olandų lipidų klinikos kriterijų balo. Atlikus genetinius tyrimus pacientų priskiriamų „Neabejotinos šeiminės hipercholesterolemijos“ grupei pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus skaičius išaugo daugiau nei 70%.

Išvados: Aptiktų patogeninių mutacijų įvairovė pagal mutacijos tipą bei paveiktą geno vietą, atskleidžia ŠH genetinį polimorfizmą ir pabrėžia genetinių tyrimų atlikimo būtinybę skirtingose populiacijose, siekiant išsiaiškinti tikslų ŠH genetinį pagrindą

RAKTAŽODŽIAI

Šeiminė hipercholesterolemija; genetinės mutacijos; MTLR, APOB, LDLRAP1.

SUMMARY

Although familial hypercholesterolaemia is a common congenital cause of elevated low-density lipoprotein cholesterol, it remains underdiagnosed and undertreated worldwide due to its genetic heterogeneity.

Aim: To determine the prevalence of genetic mutations in patients with clinically suspected familial hypercholesterolaemia and to analyse the association between mutation pathogenicity

and hypercholesterolaemia, early onset coronary artery disease and Dutch Lipid Clinic Network criteria.

Methods: Anonymized data of 154 patients was used for retrospective analysis. The study included men and women aged 0-85 years with low density lipoprotein cholesterol concentrations greater than 4.9 mmol/l (adults) and >3.9 mmol/l (children).

Results: 30.57% of subjects had mutations in LDLR, 14.65% in APOB and 0.64% in LDLRAP1 genes. The study identified 23 pathogenic mutation variants in genes associated with familial hypercholesterolemia. The most common mutations were LDLR c.654_656del p. (Gly219del) and APOB c.10580G>A p. (Arg3527Gln), which are associated with the founder effect. Carriers of likely pathogenic mutation variants and variants of uncertain significance have higher mean low-density lipoprotein cholesterol concentrations compared to the general population. There was a slight association between premature coronary artery disease and a higher Dutch Lipid Clinic Network criteria score. After genetic testing the number of patients classified as "Definite familial hypercholesterolaemia" increased by more than 70%.

Conclusions: The variety of mutation variants detected, unveils the genetic polymorphism of this condition, and thus emphasises the need for further studies in different populations to elucidate the exact genetic basis of familial hypercholesterolemia.

KEYWORDS

Familial hypercholesterolaemia; genetic mutations; LDLR, APOB, LDLRAP1.

ĮVADAS

Nepaisant visuotinių pasaulinių pastangų širdies ir kraujagyslių ligos (ŠKL) išlieka pirmaujančia mirtingumo priežastimi pasaulyje. Didžiausiu mirtingumu nuo ŠKL išsiskiria Centrinės Europos, Centrinės Azijos bei Rytų Europos regionai, tarp kurių patenka ir Lietuva (1). Dar XX a. Framingamo Širdies Tyrimo (The Framingham Heart Study (FHS, 1948)) tyrėjai pradėjo dešimtmečius trukusias veiksnių, didinančių ŠKL riziką, paieškas (2). Šio bei daugybės kitų po to sekusių tyrimų dėka, nustatyta, kad hipercholesterolemija, ypač MTL-Ch koncentracijos kraujo plazmoje padidėjimas, yra vienas pagrindinių veiksnių, nulemiančių aterosklerotinių plokštelių formavimąsi bei ŠKL vystymąsi (2,3). Dažniausiai hipercholesterolemiją ir tuo pačiu padidėjusią ŠKL riziką sukelia gyvenimo būdo nulemti veiksniai, kurie gali būti koreguojami, pvz. rūkymas, nutukimas, nesveika mityba ar sėslus gyvenimo būdas (3,4). Visgi, aterosklerozės formavimasis yra lėtinis procesas, lemiamas ilgalaikės ekspozicijos didelėmis cholesterolio koncentracijomis. Nors dabar manoma, kad

hipercholesterolemija gali pradėti formuotis jau vaikystėje bei paauglystėje, taip sukuriant ilgą kumuliacinę ekspoziciją, įprastai širdies ir kraujagyslių ligos pasireiškia vyresniame amžiuje (4). Būtent į vyresnio amžiaus žmones ir nukreipta dauguma visuotinai taikomų pirminės ŠKL prevencijos programų. Tik nuo 2022 m. spalio Lietuvoje į prevencinę ŠKL programą įtraukiami visi 40-60 m. vyrai bei moterys (iki tol į programą būdavo įtraukiamos 40-55 m. vyrai bei 50-65 m. moterys) (5). Tačiau susiduriama su problema, jog tokiu būdu praleidžiami žmonės, turintys padidėjusią cholesterolio koncentraciją nuo vaikystės dėl įgimtų priežasčių (6,7).

Viena pagrindinių įgimtos hipercholesterolemijos priežasčių – šeiminė hipercholesterolemija (ŠH) (7). Tai dažna autosominė dominantinė liga, pasireiškianti ilgalaikiu mažo tankio lipoproteinų cholesterolio (MTL-Ch) padidėjimu ir nulemianti padidėjusią aterosklerozės ir ankstyvos koronarinės širdies ligos riziką (8). ŠH dažniausiai sukelia mutacijos mažo tankio lipoproteinų cholesterolio receptorių (MTL-R), apolipoproteiną B-100 (ApoB-100) ir proproteinų konvertazės subtilizino/9 tipo heksiną (PCSK9) koduojančiuose genuose. Itin retai aptinkamos ir mažo tankio lipoproteinų cholesterolio receptorių adaptorinį baltymą 1 (LDLRAP-1) koduojančio geno mutacijos, galinčios nulemti recesyvinę ligos formą (9).

Pacientai, sergantys ŠH, jau nuo vaikystės turi 2 – 3 kartus padidėjusią MTL-Ch koncentraciją (10). Priklausomai nuo paveldėtų alelių skaičiaus jie gali būti heterozigotai ir homozigotai. Heterozigotine ŠH (HeŠH) forma sergantiems ir gydymo negaunantiems vaikams MTL-Ch koncentracija plazmoje gali būti > 8,89 mmol/l (160 mg/dl), o suaugusiems > 10,56 mmol/l (190 mg/dl). Homozigotinės ŠH (HoŠH) atveju, šios koncentracijos dar didesnės, o negydant ankstyvos širdinės mirties rizika iki trisdešimties dar didesnė (11). Mirštamumas nuo ŠKL jauname amžiuje (20-39 m.), pacientams, sergantiems ŠH ir nesulaukiantiems gydymo, gali būti apie 100 kartų didesnis nei bendrojoje populiacijoje. Vyresnio (40-59 m.) amžiaus pacientams – iki 4 kartų didesnis lyginant su bendraja populiacija (11). Visgi, nepaisant didelės su ŠH susijusios kardiovaskulinės rizikos, ši liga yra nepakankamai diagnozuojama, o kartu ir nepakankamai gydoma – skaičiuojama, kad šiuo metu daugumoje pasaulio šalių, identifikuojama tik mažiau nei 1 % visų ŠH atvejų (7).

Šiame baigiamajame magistriniame darbe apžvelgiami pacientų, kurie 2018 – 2023 metais Vilniaus Universiteto Ligoninės Santaros Klinikose (VUL SK) buvo konsultuojami dėl kliniškai įtariamos ŠH pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus, nuasmeninti duomenys. Pagrindinis darbo tikslas – nustatyti genetinių mutacijų paplitimą pacientams su kliniškai įtariama ŠH. Darbo uždaviniai:

1. Išanalizuoti ir nustatyti ryšį tarp mutacijų patogeniškumo ir hipercholesterolemijos.
2. Palyginti nustatytų mutacijų ir jų patogeniškumo pasiskirstymą pagal Olandų lipidų klinikos kriterijų grupes.
3. Išanalizuoti ir palyginti ryšį tarp Olandų lipidų klinikos kriterijų ir ankstyvo VAL pasireišimo.

LITERATŪROS APŽVALGA

1. Šeiminė hipercholesterolemija – ligos apibrėžimas ir epidemiologija

Nepaisant to, jog ŠH pacientai susiduria su didesne koronarinės širdies ligos, miokardo infarkto bei staigios mirties rizika nei bendroji populiacija, šios ligos paplitimas išlieka nežinomas daugumoje (apie 90 %) pasaulio šalių (6,12). Tačiau skaičiuojama, kad 2019 m. pacientų, sergančių ŠH, skaičius pasaulyje galėjo būti apie 25 mln. (13).

Prieš beveik penkiasdešimt metų Goldstein' o ir kolegų publikuotame darbe nurodyta, kad HeŠH paplitimas bendrojoje populiacijoje siekia 1:500 gyventojų (9). Tačiau naujesnės studijos leidžia manyti, jog HeŠH paplitimas yra didesnis nei manyta anksčiau ir kai kurių autorių teigimų, gali siekti 1:200-1:250, kitų – 1:311 bendrojoje populiacijoje (9,12,13). Tuo tarpu nors manyta, jog homozigotinės ŠH (HoŠH) paplitimas yra apie 1:1 000 000, tačiau šiuo metu manoma, kad jis galėtų siekti 1:160 000 – 1:300 000 (9).

Beheshti ir kolegų publikuotoje meta-analizėje teigiama, kad dar didesnis ŠH paplitimas stebimas populiacijose, kuriose pasireiškia pradininko efektas (*angl. founder effect*) arba dažnos giminingos santuokos. Šis fenomenas aiškinamas tuo, jog dėl genetinio dreifo (*angl. genetic drift*), pradininko efekto bei izoliacijos sustiprėja su liga susiję genetiniai variantai, sumažėja genetinė įvairovė bei su liga susijusios mutacijos išlieka minėtoje populiacijoje. Prie tokių populiacijų priskiriamos Kanados prancūzų, Libano krikščionių bei kai kurių Pietų Afrikos etninių-kultūrinių mažumų populiacijos, kuriose ŠH paplitimas gali siekti 1:67-69 (12,14).

2. Šeiminės hipercholesterolemijos genetika

ŠH (dar vadinama 2 tipo šeimine hiperlipoproteinemija arba 2a Frederiksono klasės hiperlipidemija) yra autosominiu dominantiniu būdu paveldima genetinė liga, kurios pagrindinė išraiška – itin padidėjusi MTL-Ch koncentracija kraujyje (15). Dažniausiai ŠH yra sukeliama mutacijų genuose, koduojančiuose MTL-R, ApoB ir PCSK9 – tai yra MTL metabolizmo veiksniai (16,17). Bendra mutacijų MTL-R, ApoB ir PCSK9 genuose pasekmė – sutrikęs MTL-Ch pašalinimas. Todėl sergantiesiems ŠH, stebimas tiek MTL-Ch, tiek bendro

cholesterolio kiekio padidėjimas (9). Gerokai rečiau aptinkama recesyvinė ligos forma, sukeliama mutacijos LDLRAP1 gene, labiau paplitusi regionuose, kuriuose dažnai giminingos santuokos (9,18).

Pagal genotipą, autosominė dominantinė ŠH gali būti tiek heterozigotinė (HeŠH), kai yra patogeniškas vienas geno alelis, tiek homozigotinė (HoŠH), kai abu geno aleliai yra patogeniški (17). Priklausomai nuo paveldėto patogeninių alelių skaičiaus, skiriasi sergančiųjų HeŠH ir HoŠH ligos forma klinikinis pasireiškimas bei ŠKL manifestacijos amžius (16). Heterozigotams bendra cholesterolio (Ch) koncentracija gali siekti 9-12 mmol/l, MTL-Ch koncentracija – 6-9 mmol/l (9). Tuo tarpu homozigotams MTL-Ch gali būti stebimos MTL-Ch koncentracijos viršijančios 13 mmol/l (9). Gyvenimo eigoje, sergantiesiems ŠH, nuolatinė padidėjusi MTL-Ch koncentracija labai pagreitina aterosklerozės progresavimą. Todėl ŠKL, ir ypač MI, homozigotams gali pasireikšti jau pirmajame gyvenimo dešimtmetyje, o heterozigotams – pasiekus antrąjį dešimtmetį (9).

2.2 Heterozigotinė šeimtinė hipercholesterolemija

HeŠH yra dažniausia monogeninė liga, >90% atvejų HeŠH yra sukeliama MTL-R funkcijos praradimo mutacijų, rečiau mutacijų ApoB-100 (~5% atvejų), kurios paveikia su ApoB-100 susijungimo su MTL-R vietą arba funkcijos įgijimo mutacijos PCSK9 gene. Taip pat ŠH gali būti sukeliama mutacijų apolipoproteiną E (ApoE) ir signalus perduodančių adaptorinių šeimos narį 1 (STAP1) koduojančiuose genuose, tačiau tikslus šių mutacijų paplitimas nėra žinomas (19).

2.3 Homozigotinė šeimtinė hipercholesterolemija

HoŠH – labai reta patologija, tačiau jos priežastis, kaip ir HeŠH atveju, yra MTL-R, ApoB-100 arba PCSK9, mutacijos, tačiau jų klinikinis pasireiškimas ryškesnis. Šiuo atveju bendrojo cholesterolio koncentracija gali viršyti 15 mmol/l, o klinikinė išraiška – fizinio ištyrimo metu stebimos ksantomos, jau vaikystėje prasidedanti vainikinių arterijų liga (VAL) ir aortos stenozę (17).

Daugumai pacientų, kuriems genetiniais tyrimais patvirtinta HoŠH, nustatomi du patogeniniai MTL-R koduojančio geno aleliai, o jų tėvams – HeŠH. Kaip ir heterozigotams, rečiau nustatomos mutacijos ApoB-100 ir PCSK9 koduojančiuose genuose. Itin retai HoŠH gali pasireikšti dėl recesyvinės mutacijos LDLRAP1 koduojančiame gene (20). Autosominė recesyvinė hipercholesterolemija yra itin reta. LDLRAP1 yra baltymas – adaptorius, dalyvaujantis komplekso, būtino MTL-R endocitozei vykti, sudaryme (21).

Pacientai gali būti tikrieji homozigotai, su ta pačia mutacija abiejuose to pačio geno aleliuose arba dažniau sudėtiniai heterozigotai su skirtingomis mutacijomis skirtinguose to paties geno aleliuose arba dvigubi heterozigotai su mutacijoms dviejuose skirtinguose genuose (pvz. ApoB-100 ir MTL-R) (19,20).

HoSH pacientams MTL-R aktyvumas yra visiškai arba beveik visiškai išnykęs (21). Būtent likutinis MTL-R kiekis ir aktyvumas turi didžiausią įtaką HoSH fenotipo klinikinio pasireiškimo sunkumui. Remiantis *in vitro* tyrimais fibroblastų kultūrose, HoSH pacientai klasifikuojami į receptorių negatyvius (< 2 % likutinis aktyvumas) arba receptorių defektyvius (2-25% likutinis aktyvumas). HoSH pacientai, kurie yra MTL-R negatyvūs turi didesnes MTL-Ch koncentracijas ir prastesnes klinikinės išeitis nei MTL-R defektyvūs pacientai. Likutinis MTL-R aktyvumas nėra sistemiškai iširtas pacientams, turintiems mutacijas ApoB-100 ir PCSK9 genuose. Tuo tarpu pacientams su LDLRAP1 mutacijomis, MTL-R receptorių aktyvumas fibroblastų kultūrose išlieka normalus, tačiau šio fenomeno priežastis nežinoma (20).

2.4 Poligeninė hipercholesterolemija

Dažniausiai SH sukelia monogeninės mutacijos MTL-R, APOB arba PCSK9 genuose, tačiau jos nustatomos tik apie 40-60% pacientų, atitinkančių klininius SH kriterijus. Nors tikėtina, kad dalis tokių pacientų gali būti dar nežinomos monogeninės mutacijos nešiotojai, tačiau manoma, jog daugumai tokių pacientų galima diagnozuoti poligeninę hipercholesterolemiją (PH) (22).

Tyrimų, nagrinėjančių poligeninę hipercholesterolemijos kilmę, būta dar XX a. pabaigoje, tačiau bene pirmą kartą PH terminą paminėjo Talmud ir kolegos (2013 m.) (9). Būtent pastarojo dešimtmečio mokslo pažanga genomikos srityje, suteikė galimybę aptikti ir nedidelės apimties pokyčius genuose, atsakinguose už konkretaus požymio išraišką, pvz. MTL-Ch koncentraciją. Viso genomo sekoskaitos tyrimai (*angl. Genome-Wide Association Studies, GWAS*) leidžia identifikuoti šimtus vieno nukleotido polimorfizmų (*angl. single nucleotide polymorphisms, SNPs*) (VNP) viename genome (23).

VNP – DNR grandinės variacijos, dažniausiai aptinkamos tuomet, kai gene viena nukleorūgšties azotinė bazė (adeninas-A, timinas-T, citozinas-C, guaninas-G), pakeičiama kita (24). Dažniausiai VNP reikšmingo poveikio sveikatos būklei neturi, tačiau vienam pacientui nustatius keletą VNP atsakingų už to paties požymio raišką, sudėtinis VNP poveikis gali nulemti ligą, pvz., PH (9,24). Pasaulinis lipidų genetikos konsorciumas (*angl. Global Lipid Genetic Consortium, GLGC*) identifikavo 95 lokusus (*angl. locus* – vieno geno vieta

chromosomoje), kuriuose esantys VNP turi įtakos MTL-Ch koncentracijai. Keletas VNP viename iš už MTL-Ch kiekio padidėjimą atsakingame geno alelyje, nulemia PH (25).

2013 m. Talmud ir kolegijos pasiūlė 12 APOE, SORT1, MTL-R, APOB, PCSK9, HFE, ABCG8, NYNRIN, MYLIP, SLC-22 ir ST3GAL4 genų VNP, nustatytą Pasauliniame Lipidų Genetikos Konsorciame naudoti nustatant PH. Šiuos VNP turinčių pacientų, vidutinis MTL-Ch yra gerokai didesnis nei bendros populiacijos (9). Atlikus šių VNP genotipavimą, jie yra suvedami į skaičiuoklę siekiant įvertinti jų kumuliacinį efektą lipidų koncentracijai konkrečiame individe. Gautas balas nurodo numanomą suminį VNP poveikį tiriamajam bei paskaičiuoja poligeninės rizikos balą (*angl. polygenic risk score*) (PRB), kuris gali būti naudojamas lyginant tiriamąjį su normolipidemine populiacijos dalimi. Tiriamasis, kurio PRB viršija 90 procentilę toje populiacijoje, būtų laikomas turinčiu polinkį kliniškai išreikštos dislipidemijos išsivystymui (25).

Vėliau, siekiant supaprasti poligeninės rizikos balo skaičiavimą ir pagerinti jo efektyvumą, Futema ir kolegų 2014 m. publikuotoje studijoje, vietoje 12 VNP balo, naudotas 6 VNP balas, kurio tikslumas nustatant PH, buvo panašus į 12-VNP balo. Į skaičiuoklę įtraukti VNP, esantys CELSR2, APOB, ABCG5/8, MTL-R ir APOE genuose (26).

2.5 Kopijų skaičiaus pokyčiai

Nors dažniausiai ŠH fenotipą nulemia misens (mutacijos koduojančioje dalyje, kai viena aminorūgštis pakeičiama kita; *angl. missens*), skaitymo rėmelio poslinkio (kai iš geno nukleotidų sekos iškrinta nesidalijančių iš trijų nukleotidų porų skaičius; *angl. frameshift*) arba splaisingo (intronų pašalinimo mutacijos; *angl. splicing*) tipo mutacijos, manoma, kad apie 10% genetiškai patvirtintų ŠH atvejų yra nulemti kopijų skaičiaus pokyčių (*angl. Copy numbers variations, CNVs*) (KSP) (27,28). Todėl siekiant išsiaiškinti tikslų ŠH genetinį pagrindą, būtina viso MTL-R mutacijų spektro analizė (29). KSP tai daugiau nei 1 kb ilgio genomo persitvarkymai apimantys inversijas, translokacijas, delecijas ir duplikacijas (30).

KSP aptinkami visame žmogaus genome ir manoma, kad sudaro 4,8-9,7% visos žmogaus DNR sekos. Priklausomai nuo dydžio ir lokacijos, KSP gali sukelti įvairių pasekmių – nuo neutralių iki turinčių teigiamą ar neigiamą poveikį individo sveikatai. Pastarąjį dešimtmetį nustatyta, kad KSP turi įtakos daugeliui žmonių ligų, pvz., autizmui, šizofrenijai ar Krono ligai. Tuo tarpu jų reikšmė dislipidemijų patogenezėje vis dar tyrinėjama (27).

Vieni iš pirmųjų aptiktų MTL-R KSP buvo pradininko efekto mutacijos, sudarančios didelę dalį ŠH specifinėse populiacijose, pvz. 15 kb delecijos promotoriaus ir 1 egzono srityje, stebimos 60% Kanados prancūzų su ŠH arba 9,5 kb delecija 16-18 egzonuose, matoma 30-

40% suomių su ŠH (31). 2018 m. nustatyta, jog MTL-R gene yra apie 56 unikalių delecijų ir 27 unikalių duplikacijų (27). MTL-R geno vieta chromosomoje yra linkusi įgyti KSP dėl jame esančios gausybės *Arthrobacter luteus* (Alu) sekų (tai labiausiai paplitęs pasikartojimas visame genome), todėl MTL-R genas yra itin linkęs į mutagenę dėl palankių sąlygų netaisyklingai DNR reparacijai, replikacijai arba rekombinacijai vykti. Toks polinkis į mutacijas evoliucijos eigoje galėjo būti naudingas – dėl galimybės keisti genomo segmentais ir taip formuoti naujiems funkcionaliems baltymams. Tačiau tuo pačiu, toks genetinis variabilumas padidina tikimybę žalingų KSP, nulemiančių funkcijos praradimą ir galinčių neigiamai paveikti metabolizmą, formavimuisi (31).

Iacocca ir kolegos, 2018 m. pirmą kartą aprašė viso geno duplikacinius KSP PCSK9 gene 2 nesusijusiuose ŠH atvejuose. Šio KSP nešiotojams nustatyta itin sunki ŠH fenotipinė išraiška: MTL-Ch koncentracijos siekiančios 11-15 mmol/l, atsparios intensyviai statinų terapijai, išreikšta ksantomatozė, ankstyvi kardiovaskuliniai įvykiai. Nors tokio dydžio MTL-Ch koncentracijos būdingesnės HoŠH, genetinio ištyrimo rezultatai parodė, kad aprašomais atvejais pokyčiai buvo heterozigotiniai. Šie radiniai itin pabrėžia tolimesnių tyrimų, nagrinėjančių KSP ŠH patogenezėje, būtinybę, dėl potencialios jų klinikinės reikšmės gydymo strategijos parinkimui bei prognozės nustatymui (32).

Apie 1990 m. PGR paremti metodai kartu su automatizuota Sangerio sekoskaita tapo pagrindine priemone identifikuoti DNR pokyčius. Šie tyrimai buvo optimizuoti smulkių pokyčių aptikimui, tačiau didelės apimties KSP taikant šiuos metodus nebuvo matomi, pvz., esant didelės apimties egzono delecijai arba duplikacijai viename MTL-R geno alelyje, būdavo nuskaitoma tik komplementari DNR grandinė, neturinti KSP. Tik apie 2003 m. šis trūkumas buvo iškeltas į viešumą, kai KSP nustatymui pradėta naudoti daugkartinė nuo ligacijos priklausoma amplifikacija (*angl. multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA*) (31). MLPA yra daugybine PGR pagrįstas metodas, leidžiantis išskirti kiekvieną egzoną atskirai, o tai itin tinka KSP nustatymui. Šis metodas labai svarbus atliekant įprastinę ŠH genetinę patikrą, siekiant aptikti visus galimus MTL-R pokyčių variantus bei išvengti klaidingai neigiamų rezultatų. Tačiau dėl didelių ekonominių kaštų daugelis laboratorijų neatlieka MLPA bei KSP yra praleidžiami (31).

Per pastaruosius keletą metų naujos kartos sekoskaitos tyrimai (*angl. next-generation sequencing, NGS*) įgyja vis didesnę reikšmę ŠH diagnostikai ir tyrimams. Šio tyrimo metu galima tiksliai analizuoti tiek konkretų genų rinkinį, tiek visas koduojančias sritis (visą egzomą) arba visą genomo seką. Kadangi šiuo metu dauguma laboratorijų taiko NGS ŠH

diagnostikai bei įtraukia MTL-R geną į tyrimų paneles, KSP ir jų reikšmės tyrinėjimas tapo labiau prieinamas (31).

3. Šeiminės hipercholesterolemijos patofiziologija ir genetinių mutacijų nulemti cholesterolio apykaitos pokyčiai

Žmogaus kūnas cholesterolio gauna su maistu bei vykdydamas *de novo* cholesterolio sintezę kepenyse bei plonajame žarnyne. Tačiau pagrindinė cholesterolio sintezės vieta yra kepenys (33). Kepenyse susidaręs cholesterolis yra pernešamas labai mažo tankio lipoproteinų sudėtyje (LMTL), o LMTL sudėtyje esančiam baltymui ApoB-100 sąveikaujant su mikrosominiu pernašos baltymu (*angl. microsomal triglyceride transfer protein*) prie LMTL prisijungia trigliceridai (TAG) (17). Į kraujotaką patekę LMTL, veikiami lipoproteinlipazės (LPL) netenka TAG ir virsta į tarpinio tankio lipoproteinus (TTL). Dalis TTL endocitozės būdu grįžta į kepenis, kur yra suskaidomi, o likę TTL yra veikiami kepenų lipazės (KL). Šis fermentas hidrolizuoja TTL esančius TAG ir taip nulemia MTL susidarymą (17). Susidariusiame MTL-Ch esantis ApoB-100 baltymas sąveikaudamas su MTL-R, esančiais periferinių audinių membranose, padeda ląstelėms endocituoti MTL-Ch (33,34). MTL-Ch yra sąlyginai mažos dalelės, turinčios daug cholesterolio bei kraujotakoje išlieka ilgiau nei kiti lipoproteinai, MTL gal infiltruoti arterijų sienelės ir nulemti aterosklerozės vystymąsi (17). Kadangi MTL-Ch yra vienas svarbiausių veiksnių aterogenezėje, sutrikus normaliai jo apykaitai dėl pasireiškia itin spartus ir agresyvus ŠKL vystymasis (35).

Didžiąją dalį ŠH atvejų (95%), sukelia MTL-R mutacijos (36,37). MTL-R – tai ląstelių paviršiuje esantis glikoproteinas itin svarbus MTL-Ch klirensui ir cholesterolio homeostazei palaikyti (34). Šie receptoriai skirstomi į specifinius ir nespecifinius, tačiau didžiausią reikšmę MTL sujungimui turi specifiniai MTL-R, kurie atpažįsta ApoB-100, kurio didžiausia koncentracija bendroje baltymų masėje iš visų lipoproteinų aptinkama būtent MTL. MTL-R turi dvi funkcines zonas, viena iš jų yra atsakinga už MTL sujungimą, kita – dalyvauja susijungusio MTL-R ir apolipoproteino invaginacijoje, todėl įvykus komplekso atpažinimui MTL endocituoja į ląstelę (34).

MTL-R mutacijos gali būti skirstomos į penkias klases (37,38). Pirmajai klasei ir priskiriamos mutacijos, kurių metu visiškai nevyksta MTL-R sintezė. Antrosios klasės mutacijų atveju, MTL-R yra sintetinami, tačiau visiškai arba dalinai nevyksta jų pernešimas iš sintezės vietos ir MTL-R nepasiekia ląstelių paviršiaus. Trečiajai klasei priskiriamos mutacijos, kurių metu susintetinti MTL-R pasiekia ląstelės paviršių, tačiau yra sutrikdomas MTL-R gebėjimas jungtis su ApoB-100, esančiu MTL sudėtyje. Įvykus ketvirtos klasės mutacijoms,

stebima neįprasta MTL-R lokalizacija ląstelės membranos paviršiuje ir taip sutrikdoma MTL-R/ MTL kompleksų endocitozė. Penktos klasės mutacijų atveju, MTL-R internalizacija yra nesutrikusi, tačiau receptoriai nesugeba paleisti prisijungusio MTL, po endocitozės (34,38,39). Pagrindinė visų šių mutacijų pasekmė – MTL nepatekimas į ląstelę, todėl cholesterolio gausios MTL dalelės lieka kraujotakoje. Vystosi cholesterolio stoka ląstelėje, nulemianti suintensyvėjusią Ch sintezę ir sekreciją ląstelėje, vystosi hipercholesterolemija (34). Išaugus cirkuliuojančio MTL-Ch kiekiui, kraujyje esantys makrofagai pradeda fagocituoti MTL-Ch, tapdami putliosiomis ląstelėmis ir pradeda formuotis riebalų ruoželiai, inicijuojama aterogenezės pradžia (40,41).

Gerokai rečiau (2-11 % ŠH atveju) pasitaiko mutacijos ApoB-100 koduojančiame gene (37). ApoB-100 yra pagrindinis ligandas, atsakingas už MTL endocitozę per MTL-R (19). Įvykus neteisingam aminorūgščių pasikeitimui – ApoB-100 koduojančiame gene glutaminas pakeičiamas argininu (42). Tokiu būdu pasikeitus erdvinei ApoB struktūrai, sumažėja ApoB-100 specifiškumas (*angl. affinity*) MTL-R, todėl sutrinka MTL patekimas į ląsteles (19,38,42). Dėl šių pokyčių, sumažėja MTL plazmos klirensas ir stebimi dideli MTL kiekiai serume (16). ŠH atvejais, sukelti ApoB-100 mutacijų, gali lemti lengvesnį klinikinį ligos pasireiškimą nei tais atvejais, kai liga sukeliama MTL-R mutacijų (36).

Mažiau kaip 1 % ŠH atveju yra nulemti proproteino konvertazės subtilizino/9 tipo heksino (PCSK9) funkcijos įgijimo mutacijų (37). PCSK9 baltymas dalyvauja MTL-R degradacijoje, todėl įvykus šio baltymo funkcijos įgijimo mutacijai, suintensyvėja MTL-R suardymas ir sumažėja MTL-R kiekis ląstelės paviršiuje, o tai nulemia ekstraceliulinio MTL koncentracijos padidėjimą (19).

Tačiau MTL-R gali būti išotinti. Tokiu atveju pradeda veikti nespecifinės endocitozės mechanizmas – MTL patenka į ląstelę nepriklausomai nuo ApoB, dalyvaujant valymo (*angl. scavenger*) receptoriams. Tokiu būdu besikaupiančio cholesterolio kiekis yra nekontroliuojamas. Būtent HoŠH atveju, kai stebimos mutacijos abiejuose, už MTL-R ekspresiją atsakinguose aleliuose, visas MTL patenka į ląstelę nespecifiniu būdu (34).

STAP1 koduojančio geno mutacija yra atsakinga už prijungiamojo baltymo arba BRDG1 (BCR downstream signaling-1) kodavimą. Žinoma, kad šis baltymas veikia TEC baltymo tirozino kinazės (TEC) B ląstelių antigeno receptorių, tačiau tikslus molekulinis mechanizmas, kuriuo STAP1 turėtų veikti cholesterolio homeostazę, kol kas neišaiškintas ir jo priežastinis ryšys sukeliant ŠH nepatvirtintas (43).

4. ŠH kliniškinis pasireiškimas

Didelis lipidų kiekio padidėjimas kraujyje ilgą laiką nemalonių pojūčių pacientui nesukelia (17). Pacientai, sergantys heterozigotine ligos forma, dažniausiai yra asimptominiai vaikystėje ir paauglystėje. Tokiems asmenims liga įprastai nustatoma atsitiktinai rutininių tyrimų metu. Tuo tarpu homozigotams arba sudėtiniais heterozigotams, liga gali manifestuoti sunkia kliniskine išraiška jau pirmaisiais gyvenimo metais (44). Ligos įtarimą apsunkina ir tai, jog ŠH pacientai neretai yra jauno amžiaus, normalaus kūno sudėjimo ir neturintys kitų įprastinių su padidėjusia kardiovaskuline rizika siejamų būklių, tokių kaip rūkymas, nekontroliuojama hipertenzija, cukrinis diabetas (45). Įprastai ŠH gali būti įtariama iš objektyvaus fizinio ištyrimo metu randamų duomenų, nuoseklaus šeiminės anamnezės surinkimo ir laboratorinių kraujo tyrimų (46).

Įtariant ŠH, itin svarbi šeiminė anamnezė, kadangi dažniausiai šiai ligai būdingas autosominis dominantinis paveldėjimo tipas (46). Didelį ŠH įtarimą turėti sukelti pirmos eilės giminaičiams nustatyta ankstyva KŠL arba ženkliai padidėjęs MTL-Ch kiekis (moterims, jaunesnėms nei 60 metų, ir vyrams, jaunesniems nei 55 metų) (47).

Objektyvios klinikinės apžiūros metu pacientams, turintiems persistuojančią hipercholesterolemiją gali būti stebimi geltonos spalvos cholesterolio depozitai odoje – ksantomos (46). Tai klasikinis patognomonis hipercholesterolemijos požymis, aptinkamas 20-40 % sergančiųjų (45). Dažniausiai stebimos sausgyslių, ypač Achilo ir rankos tiesiamųjų raumenų, ksantomos, tuberozinės ksantomos alkūnėse, subperiostinės – žemiau kelio ir virš alkūninės ataugos (34). Apžiūros metu, siekiant anksti aptikti ksantomas, būtina nepasikliauti tik paviršiniu ištyrimu, bet ir atlikti palpaciją, dažnesnėse sausgyslių ksantomų formavimosi vietoje, pvz., Achilo, dvigalvio ir trigalvio raumenų sausgyslių projekcijose (44). Homozigotams labiau būdingos plokščios ksantomos galūnių odoje, ypač tarpupirščiuose, heterozigotams tokio tipo ksantomos stebimos daug rečiau. HoŠH sergantiesiems taip pat būdingas ankstyvesnis ksantomų atsiradimas – jos gali išsivystyti jau pirmaisiais gyvenimo metais, tuo tarpu heterozigotams – įprastai vyresniame amžiuje (34).

Kiti radiniai objektyvaus fizinio ištyrimo metu tokie kaip ksanteliazmos arba lipoidinis ragenos žiedas yra dažni, tačiau ŠH nespecifiniai (45). Ksanteliazmos, arba cholesterolio depozitai ant vokų (46), labiau būdingos sergantiems heterozigotine ligos forma, tačiau gali būti aptinkamos ir sveikiems asmenims, kurių lipidų kiekis kraujyje yra normalus. Akyse galima stebėti ragenos lanką – žiedo formos lipidų kaupimosi zoną ragenoje, skleroje ir kitose akies dalyse. Šio simptomo pasireiškimo dažnumas gali didėti su amžiumi: ragenos lankas

aptinkamas apie dešimtadaliui heterozigotų iki 30 metų amžiaus ir apie pusei heterozigotų, vyresnių kaip 30 metų, tačiau gali būti ir sveikiems žmonėms (34).

Visgi, pagrindinė ŠH klinikinė išraiška yra didelis bendro ir MTL-Ch koncentracijos padidėjimas. TAG koncentracija serume įprastai būna nedaug arba vidutiniškai padidėjusi kai kuriems pacientams (45). Įprastai pacientų, sergančių HeŠH, kraujo plazmoje bendrojo ir MTL-Ch cholesterolio koncentracija yra 2 kartus didesnė nei to paties amžiaus sveikų žmonių vidurkis, o homozigotų – 2-3 kartus didesnė nei heterozigotų ir apie 6 kartus didesnė nei sveikų žmonių (34). Kitų lipoproteinų frakcijų koncentracijos įprastai yra normalios, arba nedaug padidėjusios (17). Ilgalakis ženklus MTL-Ch padidėjimas itin paspartina aterosklerozės progresavimą bei sukelia centrinių ir periferinių kraujagyslių pažeidimus, turi įtakos įgytų širdies ydų formavimuisi (44). Taip pat pacientams, sergantiems ŠH, dažniau nei bendrojoje populiacijoje stebima koronarinių arterijų kalcifikacija (KAK) ir aortos vožtuvo kalcifikacija (AoVK) (48). Tačiau šių patologijų paplitimas tarp homozigotų ir heterozigotų skiriasi. Homozigotams AoVK paplitimas gali siekti beveik 100%, tuo tarpu heterozigotų tarpe AoVK nustatoma rečiau, dažniau stebima subklinikinė forma (49).

5. Šeiminių hipercholesterolemijos diagnostika

Nors nėra visuotinio sutarimo dėl ŠH diagnostikos kriterijų, tačiau šiuo metu egzistuoja trys pagrindinės diagnostikos kriterijų sistemos (47,50). Tai JAV ankstyvosios diagnozės ankstyvosios mirties prevencijos kriterijai (*angl. Make Early Diagnosis to Prevent Early Death, MEDPED*), Jungtinės Karalystės Simon'o Broome kriterijai (*angl. UK FH Register criteria*), Olandų lipidų klinikų tinklo kriterijai (*angl. Dutch Lipid Clinic Network Criteria, DLCN*) ir Nacionalinės lipidų asociacijos ekspertų grupės rekomendacijos. Olandijos lipidų klinikų tinklo ir Simon'o Broome kriterijai išsiskiria tuo, kad į savo algoritmus įtraukia genetinių tyrimų rezultatus, tačiau skiriasi šių kriterijų reikalavimai neabejotinos ŠH diagnozei nustatyti. Pagal Simon'o Broome kriterijus, neabejotinos ŠH diagnozei pakanka ŠH sukeliančios mutacijos identifikacijos, tačiau taikant DLCN kriterijus, vien ŠH sukeliančios mutacijos aptikimo nepakanka neabejotinos ŠH diagnozavimui, reikia, jog būtų išpildytas ir bent vienas papildomas kriterijus, pvz., padidėjusi MTL-Ch koncentracija. Nepaisant šių kriterijų struktūros ir MTL-Ch koncentracijų ribinių verčių skirtumų, šių priemonių prognozinių vertės yra panašios (50).

Labiausiai visuotinai priimtinas įrankis klinicinei ŠH diagnozei nustatyti yra DLCN kriterijai, o genetinius tyrimus rekomenduojama atlikti asmenims, atitinkantiems konkrečius kriterijus, ypač tiems, kurie turi aiškių klinikinių požymių arba kurių šeimoje yra ankstyvų ŠKL

atvejų (7,51). Jei probandui nustatoma mutacija, genetiniai tyrimai turėtų būti siūlomi visiems pirmos eilės giminaičiams (7). Šiuo metu šie rodikliai Europos kardiologų draugijos gairėse rekomenduojami ŠH diagnostikai (52).

1 lentelė. Olandų Lipidų Klinikos diagnostiniai kriterijai šeiminei hipercholesterolemijai nustatyti (Pagal MedPad ir PSO) (52)

	Kriterijus	Balas
Šeiminė anamnezė	Pirmos eilės giminaitis (-ė) su nustatyta ankstyva VAL* ir/ arba pirmos eilės giminaitis (-ė), kurio (-ios) MTL-Ch* viršija 95 procentilę	1
	Pirmos eilės giminaitis (-ė) su nustatyta saugyslių ksantoma ir/ arba vaikas (iki 18 metų), kurio MTL-Ch koncentracija viršija 95 procentilę	2
Ligos anamnezė	Pacientui diagnozuota ankstyva VAL	2
	Pacientui diagnozuota ankstyva smegenų arba periferinių kraujagyslių liga	1
Fizinis ištyrimas	Saugyslių ksantoma	6
	Ragenos lankas (arcus cornealis) jaunesniems nei 45 metų pacientams	4
MTL-Ch	> 8,5 mmol/l	8
	6,5–8,4 mmol/l	5
	5,0–6,4 mmol/l	3
	4,0–4,9 mmol/l	1
DNR analizė	MTL-R*, ApoB-100* ar PCSK9* genų funkcinė mutacija	8
Neabejotina ŠH*		>8 balai
Tikėtina ŠH		6 – 8 balai
Neatmetama ŠH		3 – 5 balai
Atmetama ŠH		< 3 balų

*Ankstyva VAL arba ŠKL: vyrai, sergantys šiomis ligomis iki 55 metų, moterys – iki 60 metų. MTL-Ch mažo tankio lipoproteinų cholesterolis; B-Ch – bendro cholesterolio koncentracija; MTL-R – mažo tankio lipoproteinų receptoriai; ApoB-100 – apolipoproteinas B; PCSK9 - subtilizino 28 koksino 9 tipo proproteinkonvertazė; ŠH – šeiminė hipercholesterolemija.

Tuo tarpu Simon‘o Broome kriterijuose naudojama dvinarė ŠH klinikinės tikimybės sistema: „Neabejotina ŠH“ ir „Tikėtina ŠH“. Šie kriterijai atsižvelgia į padidėjusią cholesterolio koncentraciją, ankstyvo pasireiškimo KŠL bei hipercholesterolemiją artimiems giminaičiams bei objektyvius klinikinius ŠH radinius probandui ar jo pirmos eilės giminaičiams bei genetinių tyrimų rezultatus, t. y. ŠH sukeliančios mutacijos identifikaciją (53,54). Taip pat tik Simon‘o Broome kriterijai yra pritaikyti pediatriinių pacientų diagnostikai, dėl juose nurodytų konkrečių amžiui specifinių cholesterolio ribų (38,55).

2 lentelė. Simon'o Broome diagnostiniai kriterijai šeiminei hipercholesterolemijai nustatyti (56)

Kriterijaus apibūdinimas	Kriterijus
Suaugusiems: B-Ch* >7,5 mmol/l arba MTL-Ch* >4,9 mmol/l Jaunesniems nei 16 m. vaikams: B-Ch > 6,7 mmol/l arba MTL-Ch > 4,0 mmol/l.	a
Pacientui nustatoma sausgyslių ksantoma arba sausgyslių ksantoma nustatoma 1-os, arba 2-os eilės giminaičiui	b
Genetiniais tyrimais nustatoma MTL-R*, ApoB-100* ar PCSK9* genų mutacijos	c
Šeiminėje anamnezėje, MI* 1-os eilės giminaičiui < 60 m. arba 2-os eilės giminaičiui < 50 m.	d
Šeiminėje anamnezėje 1-os arba 2-os eilės giminaičiui suaugusiojo amžiuje nustatytas B-Ch > 7,5 mmol/l Šeiminėje anamnezėje tiriamojo vaikui, broliui arba seseriai < 16 m. nustatytas B-Ch > 6,7 mmol/l	e
Diagnozė	
Neabejotina ŠH*: a ir b arba c Tikėtina ŠH: a ir d arba a ir e	

*B-Ch – bendro cholesterolio koncentracija; MTL-Ch – mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija; MTL-R – mažo tankio lipoproteinų receptoriai; ApoB-100 – apolipoproteinas B; PCSK9 - subtilizino 28 keksino 9 tipo proproteinkonvertazė; MI – miokardo infarktas; ŠH – šeiminė hipercholesterolemija.

Priešingai nei Simon'o Broome arba DLCN kriterijuose, MEDPED kriterijuose ŠH apibrėžiama remiantis lipidų koncentracijomis, tačiau neįtraukia klinikinių ligos požymių ar genetinių tyrimų rezultatų (51,53).

3 lentelė. JAV ankstyvosios diagnozės ankstyvosios mirties prevencijos kriterijai (Make Early Diagnosis to Prevent Early Death, MEDPED) (57)

ŠH* diagnozuojama, jeigu B-Ch* koncentracija viršija šias ribines vertes mg/dl (mmol/l)				
Amžius (metais)	1-os eilės giminaičiui diagnozuota ŠH	2-os eilės giminaičiui diagnozuota ŠH	3-ios eilės giminaičiui diagnozuota ŠH	Bendrojoje populiacijoje
<20	220 (5,7)	230 (5,9)	240 (6,2)	270 (7,0)
20-29	240 (6,2)	250 (6,5)	260 (6,7)	290 (7,5)
30-39	270 (7,0)	280 (7,2)	290 (7,5)	340 (8,8)
≥40	290 (7,5)	300 (7,8)	310 (8,0)	360 (9,3)
B-Ch riba, nuo kurios nustatomas ŠH, priklauso nuo patvirtintų FH atvejų šeimoje. Jei šeimoje ŠH nenustatoma, tuomet diagnozės ribinė vertė yra tokia, kaip "bendroje populiacijoje".				

* ŠH – šeiminė hipercholesterolemija; B-Ch – bendro cholesterolio koncentracija.

Tačiau nors ir egzistuoja trys plačiai naudojamos ŠH diagnostikos kriterijų sistemos, daugumoje Europos šalių diagnozuojama tik mažiau nei 20 % ŠH atvejų. Manoma, kad tam įtakos gali turėti tai, jog į šiuo metu naudojamus ŠH diagnostikos kriterijus yra įtraukiami rodikliai, sunkiau pasiekiami pirminės sveikatos priežiūros grandies specialistams, taip pat dėl

to, jog objektyvaus pacientų ištyrimo metu neretai nepastebimi ir praleidžiami tokie radiniai kaip saugyslių ksantomos ar ragenos lankas. Siekdami pagerinti ŠH nustatymą bendroje populiacijoje, Weng ir kolegos, pasiūlė Šeiminės hipercholesterolemijos atvejų nustatymo priemonę (*angl. Familial Hypercholesterolemia Case Ascertainment Tool, FAMCAT*), skirtą nustatyti pacientus, kuriems bendrosios pirminės sveikatos priežiūros populiacijoje ŠH yra labiausiai tikėtina (58). Šis diagnostinis įrankis į savo kriterijus įtraukia lytį, amžių, didžiausią aptiktą B-Ch koncentraciją, TAG koncentraciją (fiksuotą vieno mėnesio laikotarpyje nuo didžiausios B-Ch koncentracijos užfiksavimo), taikytą antilipidinį gydymą, ŠH, miokardo infarktą (MI) bei hipercholesterolemiją šeiminėje anamnezėje (59). Kadangi šie duomenys pirminėje sveikatos priežiūros grandyje yra labiau prieinami nei kai kurie DLCN ir Simon'o Broome kriterijų rekomenduojami, pvz., išsami šeiminė anamnezė arba genetinių tyrimų duomenys. Taip pat, FAMCAT įtraukia antrines hipercholesterolemijos priežastis, tokias kaip kepenų ligos, cukrinis diabetas, hipotiroidizmas, inkstų ligos bei nefrozinis sindromas, kaip ŠH atmetimo kriterijus (58). Akyea ir kolegų publikuotame retrospektyviniame kohortiniame tyrime, nustatytas FAMCAT pranašumas identifikuojant pacientus su „tikėtina ŠH“, kuriems reikalingas tolimesnis ištyrimas, lyginant su DLCN, Simon'o Broome kriterijais (59).

6. Šeiminės hipercholesterolemijos patikros programos

Pagrindinis atrankinių patikros programų tikslas – ankstyvas rizikos veiksnių ar ligos nustatymas, siekiant didžiausios naudos visuomenei (60). Manoma, kad šiuo metu diagnozuojama ir gydoma tik 10-20 % visų ŠH sergančių pacientų (61). Toks sąlyginai didelis nediagnozuotų ŠH atvejų skaičius, pabrėžia patikros programų kūrimo bei diegimo būtinybę (7,58,62). 2018 m. Šeiminės Hipercholesterolemijos Fondas (*angl. Familial hypercholesterolemia foundation*) ir Pasaulio Širdies Federacija (*angl. World Heart Federation*) išleido atnaujintas ŠH diagnostikos, patikros ir gydymo gaires, kuriose ŠH atrankinės patikros programos įvardijamos kaip privalomas komponentas siekiant sumažinti sergamumą ir mirštamumą nuo kardiovaskulinių ligų, anksti diagnozuojant pacientus bei pradėdant efektyvų gydymą (63). Yra išskiriami trys pagrindiniai atrankinės patikros programų modeliai: kaskadinis, oportunistinis bei visuotinis (61,62). Šiuo metu kaskadinė atrankinė ŠH patikra laikoma efektyviausiu ir ekonomiškiausiu patikros metodu (64).

7. ŠH gydymas

Pagrindinis tikslas, gydant pacientus, sergančius ŠH yra MTL-Ch koncentracijos sumažinimas iki tikslinės, atsižvelgiant į paciento ŠKL riziką (17). Tokiems pacientams

medikamentinio bei nemedikamentinio gydymo siekis turėtų būti MTL-Ch sumažėjimas ≥ 50 % lyginant su pradiniu kiekiu ir $< 1,8$ mmol/l arba $< 2,6$ mmol/l pagal skirtingas pirminės prevencijos gaires ir $< 1,4$ mmol/l arba $< 1,8$ mmol/l pagal skirtingas antrinės prevencijos gaires arba labai didelės rizikos pacientams (65). Visgi, labiau nei konkreči MTL-Ch riba, svarbiau yra tikslinės MTL-Ch koncentracijos konkrečiam pacientui pasiekimas, kadangi manoma, jog kuo mažesnė MTL-Ch koncentracija, tuo mažesnė ŠKL rizika (17).

ŠH sergantiems suaugusiems pacientams pirmo pasirinkimo gydymas išlieka statinai (66). Pacientams, kuriems tikslinių MTL-Ch verčių pasiekti nepavyksta taikant statinų monoterapiją, arba pacientams, kurie netoleruoja gydymo statiniais arba didelių statinų dozių, turėtų būti taikomas gydymas vaistų kombinacijomis (įtraukiant į gydymo schemą tulžies rūgšties sekvestrantus arba cholesterolio absorbcijos inhibitorius) (52). Didelės rizikos pacientams, kuriems nepavyksta pasiekti tikslinės MTL-Ch koncentracijos vartojant didžiausias toleruojamas statinų ir ezetimino dozes arba pasireiškia statinų netoleravimas, galima skirti proproteino konvertazės subtilizino/ keksino 9 tipo inhibitorius (PCSK9i) (17). Didelės rizikos pacientams, kuriems kiti gydymo būdai nepadeda arba yra neveiksmingi (sergantiems HoŠH arba sunkia HeŠH forma) galima taikyti lipoproteinų aferezės (LA), tačiau šio gydymo metodo prieinamumą riboja ekonominiai kaštai (52,67). Esama ir medikamentinio gydymo galimybių HoŠH, pvz. lomitapidas arba mipomersenas (68,69).

Siekiant optimalių gydymo rezultatų pacientams, sergantiems ŠH, naudinga laikytis tų pačių mitybos ir gyvenimo būdo rekomendacijų kaip ir ŠH nesergantiems, tačiau didelė kardiovaskuline rizika pasižymintiems pacientams. Kardiovaskulines išėtis tokiems pacientams gerina mažai sočiųjų riebalų turinti dieta, įprastų ar elektroninių cigarečių rūkymo nutraukimas, reguliari fizinė veikla, normalaus kūno svorio palaikymas (50,70).

7. Kardiovaskulinės rizikos nustatymas šeiminės hipercholesterolemijos pacientams

Skaičiuojama, kad apie 50 % vyrų ir apie 15 % moterų, sergančių ŠH, mirs nuo ūmaus miokardo infarkto nesulaukę vidutinio amžiaus, jeigu laiku negaus gydymo. Tam, kad ŠH sergantiems pacientams laiku būtų galima užtikrinti gyvybę gelbstinčias intervencijas, labai svarbios yra rizikos vertinimo priemonės, pritaikytos koronarinės širdies ligos bei ūminio miokardo infarkto prognozei vertinti (11). O dėl nepriklausomų KŠL riziką didinančių veiksnių tokių kaip amžius, lytis, didelio tankio lipoproteinų cholesterolis (DTL-Ch), arterinė hipertenzija bei rūkymas, individuali kardiovaskulinių įvykių rizika, ŠH sergantiems pacientams, taip pat gali skirtis (71).

Tradicinės priemonės koronarinės širdies ligos rizikai vertinti, tokios kaip Framingam'o rizikos skalė, SCORE skalė, Reynold rizikos skalė, nėra pritaikytos ŠH sergantiems pacientams (11,71). Sergantiems ŠH sukurtas būtent į šią pacientų populiaciją orientuotas rizikos vertinimo įrankis – Monrealio-ŠH skalė (*angl. The Montreal-FH-SCORE*). Ši skalė į savo kriterijus įtraukia amžių, DTL-Ch, lytį, hipertenziją bei rūkymą ir kol kas yra patvirtina naudojimui tiems pacientams, kurių ŠH yra nulemta mutacijų MTL-R koduojančiame gene, tačiau jos pritaikomumas pacientams su mutacijomis ApoB-100 bei PCSK9 genuose dar turi būti patvirtintas. Tyrimų metu, nustatyta, jog Monrealio ŠH skalė, leidžia reikšmingai skirstyti ŠH pacientus į kardiovaskulinės rizikos grupes. Šioje skalėje, balas, didesnis nei 20 yra siejamas su 10,3 karto didesne kardiovaskulinių įvykių tikimybe (71).

TYRIMO METODIKA

1. Tiriamųjų atranka

Retrospektyvinė duomenų analizė atlikta gavus VUL SK pacientų konsultuotų dėl įtariamos ŠH nuasmenintus duomenis. Tyrimui atlikti panaudoti 154 pacientų duomenys. Tyrime dalyvavo 0-85 m. vyrai ir moterys, kuriems nustatyta MTL-Ch koncentracija didesnė nei 4,9 mmol/l (suaugusieji) ir >3,9 mmol/l (vaikai). Pacientai, gaunantys antilipidinių gydymą, įtraukti į tyrimą, jeigu jų MTL-Ch koncentracija plazmoje, nepaisant gydymo, išliko nepakankamai koreguota ir atitiko įtraukimo kriterijus.

Pagrindiniai įtraukimo į šį tyrimą kriterijai yra:

1. MTL-Ch koncentracija kraujo plazmoje didesnė nei norma ir atsižvelgiant į anamnezės duomenis bei Olandų Lipidų Klinikos kriterijus ŠH diagnozuoti, nustatoma: 1) neabejotina, 2) tikėtina, arba 3) neatmetama ŠH.
2. Tiriamiesiems nustatyta klinikinė ir/ ar genetinė heterozigotinės ar homozigotinės formos šeiminės hipercholesterolemijos diagnozė. Į tyrimą įtraukti ir tiriamieji, kuriems patvirtinta klinikinė šeiminės hipercholesterolemijos diagnozė, tačiau atliktas genetinis testas neįgiamas ir atvirkščiai.
3. Klinikinės diagnozės nustatymo atveju, įtraukti identifikuoto probando giminaičiai be patvirtintos šeiminės hipercholesterolemijos diagnozės rasti vykdant pakopinę ar kitą atranką.
4. Kontrolinė grupė atrenkama, nustačius MTL-Ch kraujo plazmoje didesnę nei norma ir atsižvelgiant į anamnezės duomenis ir Olandų Lipidų Klinikos kriterijus ŠH diagnozuoti, nustatoma 4) atmetama ŠH.

Tiriamųjų neįtraukimo kriterijai: tiriamieji sergantys terminalinės stadijos onkologinėmis arba somatinėmis ligomis, kliniškai išreikštomis cerebrovaskulinėmis ligomis, nėščiosios; kai tiriamiesiems nustatytos antrinės dislipidemijos priežastys, pvz., negydytas hipotiroidizmas, cholestazė, nefrozinis sindromas; kai duomenų rinkimas/ lyginimas neatitinka vietinių arba šalies mastu nustatytų standartų anoniminiams duomenims.

2. Tyrimo grupių sudarymas

Remiantis gautais nuasmenintais duomenimis bei vertinant bendrąsias pacientų charakteristikas, tiriamieji buvo suskirstyti į keturias grupes pagal Olandų Lipidų Klinikos diagnostinius kriterijus:

1. Neabejotina ŠH >8 balų
2. Tikėtina ŠH 6-8 balai
3. Neatmetama ŠH 3-5 balai
4. Atmetama ŠH <3 balų

Nepilnamečiai tiriamieji, kurių negalima skirstyti pagal Olandų lipidų klinikos grupes priskirti penktajai grupei:

5. Vaikai

Analizuojant tiriamiesiems aptiktas mutacijas, jos buvo suskirstytos į tris grupes pagal jų patogeniškumą:

1. Patogeninis variantas
2. Tikėtina patogeninis variantas
3. Neaiškios reikšmės variantai (angl. *variants of uncertain significance*, VUS)

Tiriamieji, kuriems mutacijos neaptikta, priskirti ketvirtai grupei:

4. Mutacijos nėra

Tiriamieji buvo suskirstyti į grupes, siekiant įvertinti amžiaus diagnozės metu, VAL pasireiškimo ar ankstyvos VAL pradžios, vidutinės MTL-Ch koncentracijos plazmoje skirtumus pacientams, priklausantiems skirtingoms ŠH tikimybės grupėms pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus.

3. Duomenų analizės metodai

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojantis Microsoft Excel 2016 programa bei R (v. 4.0.4) programa. Kintamųjų įvertinimui naudoti aprašomosios statistikos metodais.

Apskaičiuotas ir pateiktas kiekybinių kintamųjų vidurkis, standartinis nuokrypis (SN), bei turimas stebėjimų skaičius. Kategoriniai kintamieji išreikšti absoliučiais skaičiais (n) ir procentais (%). Neparametrinis Mann'o Whitney U testas naudotas atliekant kiekybinių kintamųjų palyginimą tarp dviejų grupių. Atliekant daugiau nei dviejų grupių kiekybinių kintamųjų palyginimą naudotas neparametrinis Kruskal-Wallis (Kruskal-Wallis test) testas. Normalumas buvo tikrinamas naudojant Šapiro-Vilkso (Shapiro-Wilks test) testą. Norint patikrinti hipotezes dėl kategorinių kintamųjų palyginimo tarp grupių, atitinkamai buvo naudojami Pirsono Chi-Square (Pearson's Chi-Square) arba Fišerio (Fisher 's exact tests) tikslieji testai. Hipotezės laikytos statistiškai reikšmingomis, kai apskaičiuotas reikšmingumo lygmuo buvo $p < 0,05$.

REZULTATAI

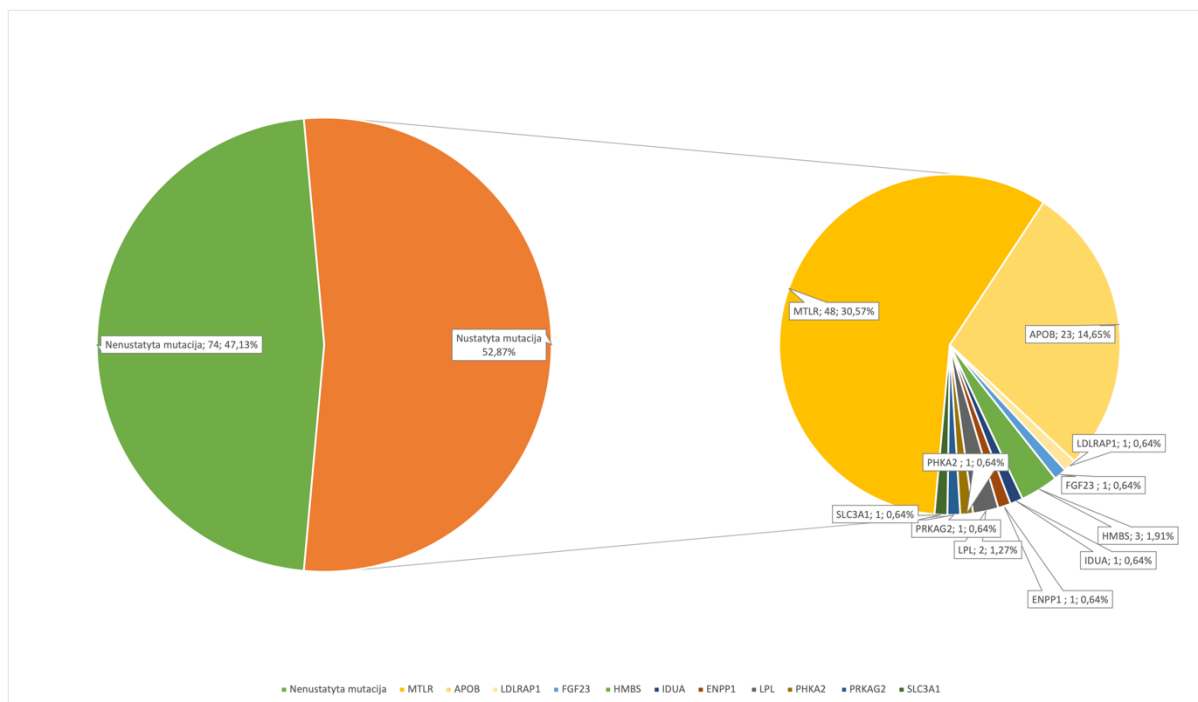
1. Bendra tiriamųjų charakteristika

Tyrimo dalyvavo 154 pacientai, iš kurių 70 (45,45 %) buvo vyrai ir 84 (54,55 %) moterys. 114 (74,03%) buvo suaugusieji, 40 (25,97%) – vaikai. Suaugusiųjų tiriamųjų amžiaus vidurkis $44,54 \pm 11,63$, vaikų amžiaus vidurkis $9,01 \pm 4,49$ metai .

Vidutinė tiriamųjų MTL-Ch koncentracija kraujo plazmoje $6,83 \pm 2,62$ mmol/l. Vidutinis vyrų MTL-Ch $6,75 \pm 2,99$ mmol/l, o moterų – $6,89 \pm 2,77$ mmol/l, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp vidutinių vyrų ir moterų MTL-Ch koncentracijų nenustatyta. Vidutinis vaikų MTL-Ch $5,6 \pm 3,8$ mmol/l. Berniukų ir mergaičių vidutinis MTL-Ch $6,92 \pm 4,93$ mmol/l ir $4,43 \pm 1,88$ mmol/l atitinkamai. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp berniukų ir mergaičių vidutinių MTL-Ch verčių nestebėta.

2. Tiriamiesiems aptiktos mutacijos ir jų variantai

Genetinės mutacijos aptiktos 52,87% (82) tiriamųjų. Kiek mažiau nei pusei (45,86%) pacientų aptiktos mutacijos su ŠH susijusiuose genuose: apie trečdaliui (30,57%, n=48) nustatytos MTL-R (*angl. LDLR*), kiek mažiau (14,65%, n=23) – APOB ir LDLRAP1 (0,64 %, n=1) mutacijos. Likusiems pacientams nustatytos mutacijos nesusijusios su ŠH (1 pav.).



1 pav. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal mutacijos aptikimą.

Tiriamiesiems aptiktų mutacijų variantų patogeniškumas analizuotas ClinVar ir Leiden Open Variation Database (LOVD3) duomenų bazėse (72,73). Nustatyti 23 patogeniniai mutacijų variantai, iš kurių 18 – MTL-R gene ir 5 – APOB gene. Dažniausiai nustatytas patogeninis MTL-R mutacijos variantas c.654_656del p.(Gly219del) (N=5) ir APOB variantas c.10580G>A p.(Arg3527Gln) (N=5). (1 lentelė).

1 lentelė. Tiriamiesiems aptikti patogeniniai mutacijų variantai.

Tiriamiesiems aptiktos patogeninės mutacijos			
Genas	Mutacijos variantas	Mutacijos tipas	Mutacijų skaičius
MTLR*	c.[1106del];[1106=]	Delecija	1
MTLR	c.[244T>C];[244=]	VNP**, misens	1
MTLR	c.[1013G>A];[1013=]	Misens	1
MTLR	c.[1775G>A];[1775=]	Misens	2
MTLR	c.910G>A p.(Asp304Asn)	VNP, misens	3
MTLR	7-14 egzonų delecija	KSP***	4
MTLR	c.654_656del p.(Gly219del)	Delecija	5
MTLR	c.[986G>A];[986=]	VNP, misens	1
APOB	c.10580G>A p.(Arg3527Gln)	VNP, misens	5

*MTLR – mažo tankio lipoproteinų receptorius koduojantis genas; **VNP – vieno nukleotido polimorfizmas; ***KSP – kopijų skaičiaus pokytis; ****APOB – apolipoproteiną B koduojantis genas.

Remiantis ClinVar, LOVD3 duomenų bazėmis, kaip tikėtina patogeniniai identifikuoti 16 mutacijų variantų. Visi aptikti variantai nustatyti MTLR gene. Dažniausiai (n=6) aptiktas tikėtina patogeninis mutacijos variantas MTLR c.[941-1_946del] (2 lentelė).

2 lentelė. *Tiriamiesiems aptikti tikėtina patogeniniai mutacijų variantai.*

Tiriamiesiems aptiktos tikėtina patogeninės mutacijos			
Genas	Mutacijos variantas	Mutacijos tipas	Mutacijų skaičius
MTLR*	c.1106del	Delecija	1
MTLR	c.[941-1_946del]	Delecija	6
MTLR	c.1183del p.(Val395Trpfs*18)	Skaitymo rėmelio poslinkio delecinė mutacija	2
MTLR	c.80dup/p.(Cys27Trpfs*25)	Skaitymo rėmelio poslinkio duplikacinė mutacija	1
MTLR	c.1210A>C p.(Thr404Pro)	VNP**, misens	1
MTLR	c.986G>A p.(Cys329Tyr)	VNP, misens	3
MTLR	c.1222G>A p.(Glu408Lys)	VNP, misens	1
MTLR	c.1027G>A p.(Gly343Ser)	VNP, misens	1
MTLR	c.1013G>A p.(Cys338Tyr)	VNP, misens	1
MTLR	c.418G>A p.(Glu140Lys)	VNP, misens	1
MTLR	c.149G>T p.(Gly50Val)	VNP, misens	1
MTLR	N/A***	N/A	1

*MTLR – mažo tankio lipoproteinų receptorius koduojantis genas; **VNP – vieno nukleotido polimorfizmas; ***N/A – duomenų nėra.

Nustatyti 24 neaiškios reikšmės mutacijų variantai (VUS) su ŠH siejamuose genuose. Daugiausiai jų aptikta APOB gene (n=18). Dažniausia iš jų mutacija APOB geno variante c.2630C>T p.(Pro877Leu) (n=4). Rečiau nustatyti VUS mutacijų variantai MTLR (n=5), LDLRAP1 (n=1) (3 lentelė).

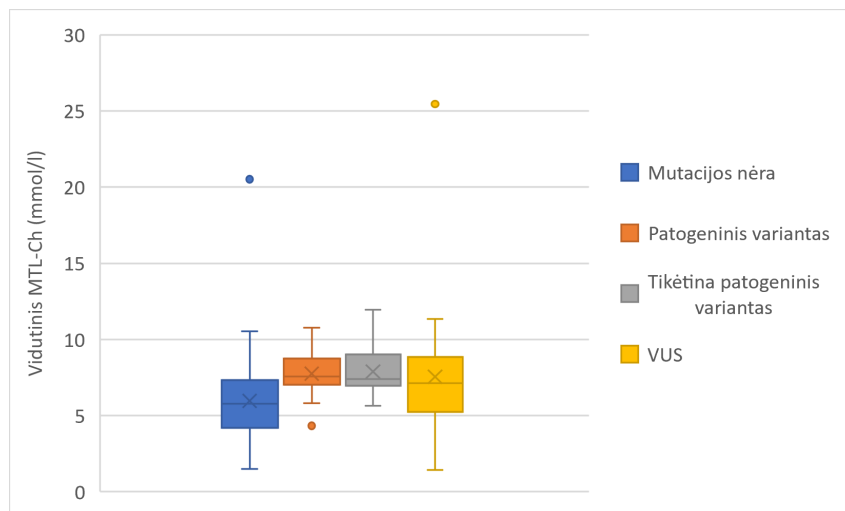
3 lentelė. *Tiriamiesiems aptikti neaiškios reikšmės mutacijų variantai.*

Tiriamiesiems aptiktos neaiškios reikšmės (VUS) mutacijos			
Genas	Mutacijos variantas	Mutacijos tipas	Mutacijų skaičius
MTLR*	c.1049G>C p.(Arg350Pro)	VNP**, misens	2
MTLR	c.949G>A p.(Glu317Lys)	VNP, misens	1
MTLR	c.1217G>A	VNP, misens	1
MTLR	N/A***	N/A	1
APOB****	c.2630C>T p.(Pro877Leu)	VNP, misens	4
APOB	c.4027C>T p.(Pro1343Ser)	VNP, misens	1
APOB	c.7615G>A p.(Val2539Ile)	VNP, misens	1
APOB	c.5066G>A p.(Arg1689His)	VNP, misens	3
APOB	c.7729A>C p.(Met2577Leu)	VNP, misens	1

APOB	c.7724A>T p.(Lys2575Ile)	VNP, misens	1
APOB	c.2450T>C p.(Ile817Thr)	VNP, misens	2
APOB	c.3383G>A p.(Arg1128His)	VNP, misens	2
APOB	N/A	N/A	3
LDLRAP1*****	c.488A>C (p.(Gln163Pro))	VNP, misens	1

*MCLR – mažo tankio lipoproteinų receptorių koduojantis genas; **VNP – vieno nukleotido polimorfizmas; ***N/A – duomenų nėra; ****APOB – apolipoproteiną B koduojantis genas; ***** LDLRAP1 – mažo tankio lipoproteinų receptorių adaptorinis baltymas 1 (angl. *Low-density lipoprotein receptor adapter protein 1, LDLRAP1*).

Tiriamųjų, kuriems nenustatyta patogeninių mutacijų vidutinė MTL-Ch koncentracija $5,96 \pm 2,60$, tuo tarpu turinčių patogeninius arba tikėtina patogeninius mutacijų variantus $7,63 \pm 1,61$ ir $7,94 \pm 1,61$ atitinkamai. Pacientams, kuriems nustatyti VUS mutacijų variantai, vidutinis MTL-Ch – $7,55 \pm 4,38$. Nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys ($p < 0,001$) tarp mutacijos varianto patogeniškumo ir vidutinės MTL-Ch koncentracijos (2 pav.).



2 pav. Vidutinės mažo tankio lipoproteinų cholesterolio (MTL-Ch) koncentracijos pasiskirstymas priklausomai nuo nustatyto varianto patogeniškumo visiems tiriamiesiems, nepriklausomai nuo amžiaus.

3. Tiriamųjų analizė pagal Olandų lipidų klinikos grupes

Lyginant Olandų lipidų kriterijų grupes ir VAL pasireiškimą, diagnozuotą ankstyvą VAL bei vidutinis MTL-Ch tarp skirtingų grupių. Statistiškai reikšmingo ryšio tarp amžiaus diagnozės metu, diagnozuotos VAL bei diagnozuotos ankstyvos VAL nenustatyta. Tačiau nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys ($p < 0,05$) tarp vidutinės MTL-Ch koncentracijos bei Olandų lipidų klinikos grupės. „Neabejotinos ŠH“, „Tikėtinos ŠH“, „Neatmetamos ŠH“ bei

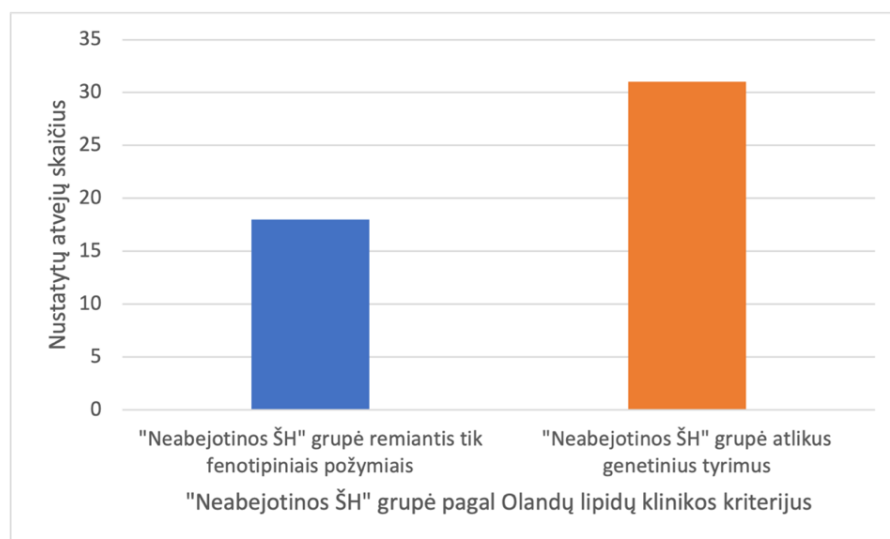
„Atmetamos ŠH“ grupėse vidutinė MTL-Ch koncentracija atitinkamai siekė 8,94±2,42 mmol/, 7,36±2,41 mmol/l, 6,71±2,84 mmol/l bei 3,41±2,66 mmol/l (4 lentelė).

4 lentelė. Tiriamųjų palyginimas pagal Olandų lipidų klinikos grupę ir nustatytą VAL, diagnozuotą ankstyvą VAL ir vidutinį MTL-Ch (n=110).

	Neabejotina ŠH* (>8 balai) (n=28)		Tikėtina ŠH (6 – 8 balai) (n=39)		Neatmetama ŠH (3 – 5 balai) (n=34)		Atmetama ŠH (< 3 balų) (9)		P vertė tarp keturių grupių
	Taip	Ne	Taip	Ne	Taip	Ne	Taip	Ne (n=9)	
Diagnozuota KŠL*	Taip (n=6)	Ne (n=22)	Taip (n=7)	Ne (n=32)	Taip (n=6)	Ne (n=28)	Taip (n=0)	Ne (n=9)	>0,05
Diagnozuota ankstyva KŠL	Taip (n=6)	Ne (n=22)	Taip (n=7)	Ne (n=32)	Taip (n=4)	Ne (n=30)	Taip (n=0)	Ne (n=9)	>0,05
MTL-Ch* (mmol/l)	8,94±2,42		7,36±2,41		6,71±2,84		3,41±2,66		0,001

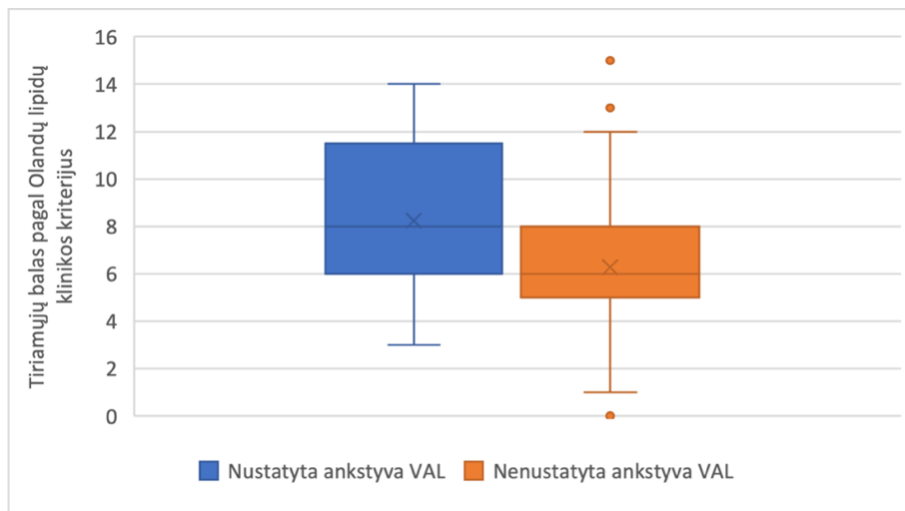
*ŠH – šeiminė hipercholesterolemija; KŠL – koronarinė širdies liga; MTL-Ch – mažo tankio lipoproteinų cholesterolis.

Tiriamuosius priskirtus „Neabejotinos ŠH“ grupei pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus atsižvelgiant tik į fenotipinius požymius, į „Neabejotinos ŠH“ įtraukta 18 tiriamųjų, tačiau atlikus genetinius tyrimus, į šią grupę gali būti įtraukiami dar 13 tiriamųjų (5 pav.).



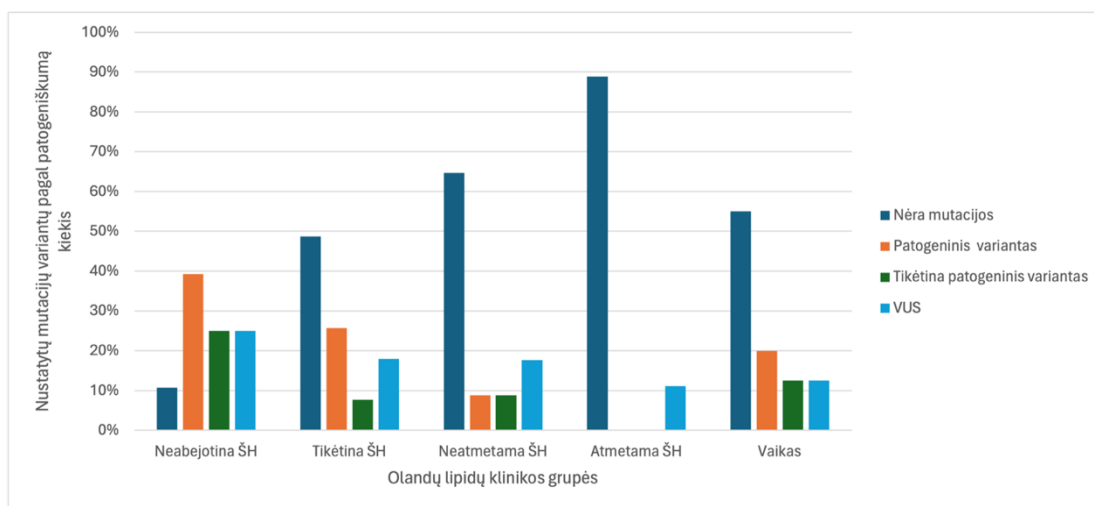
5 pav. „Neabejotinos ŠH“ grupei pagal Olandų lipidų klinikos priklausantys tiriamieji prieš ir po genetinių tyrimų.

Analizuojant tiriamuosius pagal jų Olandų lipidų klinikos kriterijų balą (neįtraukiant genetinių tyrimų rezultatų) bei ankstyvos VAL pasireiškimą, nustatytas silpnas statistiškai reikšmingas ryšys ($p=0,03392$) tarp didesnio balo pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus ir ankstyvos VAL pasireiškimo. Pacientų, kuriems diagnozuota ankstyva VAL balas pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus vidutiniškai siekė $8,24\pm 3,49$, o neturinčių ankstyvos VAL – $6,27\pm 2,89$ (6 pav.).



6 pav. *Tiriamųjų balų pagal Olandų lipidų klinikos pasiskirstymas priklausomai nuo ankstyvos VAL pasireiškimo.*

Analizuojant suaugusius tiriamuosius pagal Olandų lipidų klinikos grupes, nustatyta, kad daugiausiai patogeninių, tikėtina patogeninių ir VUS mutacijų aptinkama tiriamųjų, priklausančių „Neabejotinos ŠH“ grupei: 39%, 25% ir 25% atitinkamai. Kiek mažiau – 26% patogeninių, 8% tikėtina patogeninių ir 18% VUS nustatyta priklausantiems „Tikėtinos ŠH“ grupei. Daugiau nei pusei (65%) tiriamųjų, priklausančių „Neatmetamos ŠH“ grupei bei didžiąjai daliai (89%), priklausančių „Atmetamos ŠH“ grupei jokių mutacijų nenustatyta. Nors daugiau nei pusei (55%) vaikų jokių mutacijų neaptikta, penktadaliui (20%) identifikuotos patogeninės mutacijos bei kiek daugiau nei dešimtadaliui tikėtina patogeninės mutacijos (13%) arba VUS (13%) (7 pav.)



7 pav. Suaugusiems tiriamiesiems aptiktų mutacijų patogeniškumas pagal Olandų lipidų klinikos grupę bei tiriamiesiems vaikams aptiktų mutacijų patogeniškumas.

REZULTATŲ APITARIMAS

1. Tiriamiesiems aptiktų mutacijų ir jų variantų aptarimas

Šiame darbe aptiktų su ŠH susijusių mutacijų MTL-R, APOB ir LDLRAP1 koduojančiuose genuose paplitimas atitinka literatūroje aprašomą šių mutacijų paplitimą (20,37). Daugiau nei trečdalį visų mutacijų sudarė mutacijos MTL-R (30,57%), kiek mažiau APOB (14,65%) ir mažiausiai LDLRAP1 (0,64 %).

Tačiau aptikta ir kitų mutacijų genuose įprastai nesiejamuose su ŠH: LPL, HMBS, FGF23, IDUA, ENPP1, PHKA2, PRKAG2, SLC3A1. Gali būti keletas tokių radinių priežasčių. Aprašoma, kad mutacijos LPL gene gali lemti autosominiu dominantiniu būdu paveldimą šeiminę kombinuotą hiperlipidemiją (ŠKH). Kadangi ŠKH pacientų ligos fenotipas kliniškai gali priminti ŠH, ypač esant izoliuotai hipercholesterolemijai, be hipertrigliceridemijos, tikėtina, kad tiriamųjų atrankai naudojant Olandų lipidų klinikos kriterijus dėl tokio klinikinių ŠH ir ŠKH požymių persidengimo, buvo įtraukti ir pacientai turintys šią mutaciją (74). Mutacijos HMBS gene siejamos su porfirija, tačiau literatūroje esama duomenų, jog pacientams, sergantiems porfirija, gali būti aptinkamos padidėjusios bendro cholesterolio bei MTL-Ch koncentracijos (75). Mutacijos FGF23, ENPP1 genuose siejamos su hipofosfateminiu rachitu, tačiau aprašoma, jog padidėjusios cholesterolio koncentracijos tokiems pacientams nebūdingos (76,77). IDUA geno mutacijos siejamos su autosomine recesyvine mukopolisacharidoze, tačiau įprastai padidėjusios cholesterolio koncentracijos šiems pacientams nebūdingos (78). Mutacijos PHKA2 gene gali būti siejamos

su glikogeno kaupimo sutrikimu. Tokiems pacientams gali būti stebimos padidėjusios cholesterolio koncentracijos (79). PRKAG2 geno mutacijos siejamos su autosomine dominantine šeimine hipertrofine kardiomiopatija 6 tipo ir autosominiu dominantiniu Wolff-Parkinson-White sindromu (80). Mutacijos SLC3A1 gene siejamos su cistinurija (81). Atsižvelgiant į tai, jog literatūroje nėra duomenų, jog mutacijos šiuose genuose gali sukelti ŠH, šie radiniai galėtų būti laikomi atsitiktiniais, kurių dalis galėjo būti aptikti dėl klinikinių šių genų sukeltamų požymių bei ŠH būdingų požymių persidengimo.

Šio tyrimo metu iš viso aptikti 23 patogeniniai mutacijų variantai. Iš jų 18 aptikti MTLR koduojančiame gene bei 5 APOB koduojančiame gene. 11 iš aptiktų MTLR mutacijų yra žinomos ir aprašytos literatūroje. Viena jų – dažniausiai (n=5) tiriamųjų tarpe pasikartojusi mutacija MTLR c.654_656del p.(Gly219del). Literatūroje esama duomenų, jog ši mutacija gali būti siejama su lietuvių kilmės Aškenazi žydais (82). Kiek mažiau (n=4) patogeninių mutacijų sudarė 7-14 egzono delecija MTLR gene. Literatūroje aprašoma, jog tokio didelio genetinio persitvarkymo mutacijos gali sudaryti apie 5 % visų ŠH atvejų (83). Šiame tyrime 7-14 egzono delecijos MTLR gene, paplitimas tiriamųjų su ŠH tarpe siekė 1,25%. Tačiau Nissen ir kolegų publikuotame tyrime plačios apimties egzono delecijų mutacijos sudarė 3,1 % mutacijų Danijos populiacijose ir skiriasi nuo panašiuose tyrimuose Kanadoje bei Norvegijoje gautų rezultatų. Autorių teigimu, tokie skirtumai pabrėžia genetinių tyrimų būtinybę skirtingose populiacijose, siekiant išsiaiškinti nuoseklų ŠH genetinį spektrą (83). Dar 7 aptiktos mutacijos MTLR gene iki šiol nėra aprašytos literatūroje: c.[1106del];[1106=] (n=2), c.[244T>C];[244=] (n=1), c.[1775G>A];[1775=] (n=2), c.[1013G>A];[1013=] (n=1), c.[986G>A];[986=] (n=10). Dažniausia tyrimo metu aptikta mutacija APOB gene – c.10580G>A p.(Arg3527Gln). Esama duomenų, kad ši mutacija susijusi su pradininko efektu ir yra būdinga Amišų (angl. Amish) bendruomenei Lankasteryje, Pensilvanijoje. Šioje bendruomenėje šios mutacijos paplitimas viršija ŠH būdinga bendrojoje populiacijoje ir gali siekti iki 12 % (84).

Tyrimo metu aptikta 16 tikėtina patogeninių mutacijų ir visos jos MTLR gene. 6 iš jų – variante MTLR c.[941-1_946del], kuris mokslinėje literatūroje neaprašytas.

Tiriamiesiems aptiktos 24 VUS mutacijos su ŠH siejamuose genuose. Dažniausiai (n=4) pasikartojusi yra APOB c.2630C>T p.(Pro877Leu) mutacija, kuri šiuo metu ClinVar duomenų bazėje registruota vos vieną kartą, antroji pagal dažnumą (n=3) APOB c.5066G>A p.(Arg1689His) mutacija – tris kartus. Tai, jog šio tyrimo imtyje daugiausia aptiktų mutacijų variantų sudaro VUS, kurių daugelis literatūroje bei genetinių variantų duomenų bazėse registruotos vos keletą kartų, pabrėžia tolimesnių tyrimų svarbą, siekiant išsiaiškinti tikslų ŠH genetinį profilį.

Trys pacientai, kuriems nustatytos VUS mutacijos, yra sudėtiniai heterozigotai. Vienam tiriamajam nustatytos APOB c.7729A>C p.(Met2577Leu) ir APOB c.7724A>T p.(Lys2575Ile) VUS mutacijos. Kiti du sudėtinių heterozigotų atvejai nustatyti toje pačioje šeimoje. Abu tiriamieji turėjo tas pačias VUS mutacijas – APOB c.2450T>C p.(Ile817Thr) ir APOB c.3383G>A p.(Arg1128His). Atsižvelgiant į tai, kad visiems sudėtiniais heterozigotams tyrimo imtyje nustatyti VUS mutacijų variantai, naudinga būtų tolimesnė individuali šių pacientų klinikinė ir genetinė analizė. Ypač, tiriamojo su APOB c.7729A>C p.(Met2577Leu) ir APOB, c.7724A>T p.(Lys2575Ile) VUS mutacijomis, kuriam pasireiškė ankstyva VAL.

Vienas iš tiriamųjų buvo dvigubas heterozigotas, kuriam nustatyta patogeninė mutacija MTL-R gene c.910G>A p.(Asp304Asn) ir VUS mutacija APOB gene c.2630C>T p.(Pro877Leu). Manoma, kad dvigubų heterozigotų paplitimas siekia 1:140 000. Literatūroje aprašoma, kad tokių pacientų klinikinis ŠH pasireiškimas itin įvairus ir gali panašėti tiek į būdingą HeŠH, tiek į būdingą HoŠH (85).

Tiriamiesiems, kuriems nustatytos patogeninės ir tikėtina patogeninės mutacijos, taip pat aptiktos statistiškai reikšmingai didesnės MTL-Ch koncentracijos lyginant su bendra populiacija. Tikėtina patogeninių mutacijų nešiotųjų vidutinės MTL-Ch koncentracijos buvo net didesnės nei patogeninių. Statistiškai reikšmingai didesnės vidutinės MTL-Ch koncentracijos nustatytos ir VUS nešiotajams, lyginant su mutacijų neturinčiais tiriamaisiais. Todėl tikėtina, kad dalis aptiktų tikėtina patogeninių arba VUS variantų galėtų būti patogeniniai, atsižvelgiant į MTL-Ch koncentracijų pasiskirstymą šiose grupėse lyginant su bendra populiacija. Tačiau, tokių prielaidų patvirtinimui arba paneigimui reikalingas išsamesnis ištyrimas, įtraukiantis įvairesnius fenotipinius šių tiriamųjų požymius bei detalesnius genetinių tyrimų duomenis (86).

Lyginant tiriamuosius pagal nustatytų variantų patogeniškumą stebėta ir keletas žymesnių nuokrypių nuo atitinkamų grupių vidurkių, neatitinkantys normalus pasiskirstymo. Tiriamajam priskirtam grupei, kuriai mutacijų nenustatyta, išmatuotas MTL-Ch viršija 20 mmol/l (20,52 mmol/l), o taikant Olandų lipidų klinikos kriterijus šį atvejį būtų galima priskirti „Neabejotinos ŠH“ grupei. Visgi, tikėtina, jog šiuo atveju, tokia didelė MTL-Ch galėtų būti nulemta suminio įvairių aplinkos veiksnių poveikio, tradiciškai siejamo su hipercholesterolemija, pvz., nutukimo, žalingų įpročių turėjimo ir kt. (3,4). Tuo tarpu, tiriamajam, su nustatytu patogeninių mutacijos variantu, nustatyta sąlyginai žema MTL-Ch koncentracija, nukrypstanti nuo šios grupės vidurkio. Tikėtina, jog to priežastis galėtų būti tiriamojo itin jaunas amžius, t. y. tiriamasis yra vaikas, vienkartinai išmatuota mažesnė MTL-

Ch koncentracija arba tiriamojo vartojami antilipidiniai vaistai. Dar vienas žymus nuokrypis stebėtas VUS grupėje, kurioje vienam tiriamajam nustatyta itin didelė (25,45 mmol/l) MTL-Ch koncentracija. Šiam pacientui nustatyta VUS mutacija LDLRAP1 gene. Atlikus išsamų paciento ištyrimą, pacientui aptiktas homozigotinis variantas M_015627.2:c.488A>C, NP_056442.2:p.(Gln163Pro), sukeliantis autosominę recesyvinę hipercholesterolemiją (ARH), pirmą kartą literatūroje aprašytas Ž. Petrulionienės su kolegomis (87).

2. Tiriamųjų analizės pagal Olandų lipidų klinikos grupės aptarimas

Analizuojant tiriamuosius pagal Olandų lipidų klinikos grupes ir VAL pasireiškimą arba ankstyvą jos manifestaciją stebima tendencija, kad „Neabejotinos ŠH“ ir „Tikėtinos ŠH“ grupėse VAL pasireiškimas dažnesnis, bet statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nebuvo stebima. Tačiau nustatytas silpnas statistiškai reikšmingas ryšys tarp ryšys ($p=0,03392$) tarp didesnio balo pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus ir ankstyvo VAL pasireiškimo. Taigi, atsižvelgiant į sąlyginai mažą tyrimo imtį, tikėtina, jog didesnėje imtyje bei tiriamuosius stebint ilgesnį laiką, rezultatai galėtų kisti. Vis dėlto nustatytas reikšmingas ryšys tarp vidutinės MTL-Ch koncentracijos bei Olandų lipidų klinikos grupės. Tikėtina, kad statistiškai didesnė vidutinė MTL-Ch koncentracija „Tikėtinos ŠH“ ir „Neatmetamos ŠH“ grupėse lyginant su „Atmetama ŠH“, leistų daryti prielaidą, jog Olandų lipidų klinikos kriterijai gana patikimai leidžia atmesti klinikinį ŠH įtarimą ir lietuvių populiacijoje, tačiau kitos šių kriterijų grupės persidengia ir genetinis testavimas turėtų būti būtina sąlyga galutinei ŠH diagnozei. Naudojant tik Olandų lipidų klinikos kriterijus diagnozei nustatyti, į „Neabejotinos ŠH“ įtraukta 18 tiriamųjų, tačiau atlikus genetinius tyrimus, šiai grupei papildomai galima priskirti dar 13 tiriamųjų. Panašūs rezultatai stebimi ir 2022 metais Diboun ir kolegų publikuotame tyrime (8).

Nustatyta, kad pacientų su diagnozuota ankstyva VAL balas pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus buvo reikšmingai didesnis nei pacientų, kuriems VAL nepasireiškė. 2023 m. Catapano ir kolegų publikuotame tyrime, siekta įvertinti Olandų lipidų klinikos kriterijus kaip VAL prognostinio įrankio efektyvumą, tačiau statistiškai reikšmingų rezultatų negauta (88).

Tyrimo metu taip pat nustatyta, jog „Atmetamos ŠH“ grupei priklausančių tiriamųjų tarpe taip pat neaptikta jokių patogeninių arba tikėtina patogeninių mutacijų. Tai leidžia manyti, kad šio tyrimo imtyje, Olandų lipidų klinikų kriterijai gali būti gana patikimai naudojami ligos atmetimui. Tačiau idealiomis sąlygomis visi pacientai, galintys būti priskirti „Neabejotinos ŠH“, „Tikėtinos ŠH“ arba „Neatmetamos ŠH“ grupei turėtų būti tiriami, kadangi visose grupėse buvo aptikta patogeninių ŠH sukeliančių mutacijų.

IŠVADOS

1. Išanalizavus 154 tiriamuosius su klinikiu šeiminės hipercholesterolemijos įtarimu 30,57% nustatytos mutacijos MTLR, 14,65% – APOB ir 0,64 % – LDLRAP1 genuose.
2. Daliai pacientų su kliniškai įtariama šeimine hipercholesterolemija nustatytos mutacijos genuose, dabartinėje literatūroje nesiejamuose su šeimine hipercholesterolemija.
3. Šiame tyrime nustatyti 23 žinomi patogeniniai mutacijų variantai MTLR ir APOB genuose. Dažniausiai nustatytos mutacijos: MTLR c.654_656del p. (Gly219del) ir APOB c.10580G>A p.(Arg3527Gln), siejamos su pradininko efektu.
4. Aptiktų patogeninių mutacijų įvairovė pagal mutacijos tipą bei paveiktą geno vietą, atskleidžia šeiminės hipercholesterolemijos genetinį polimorfizmą ir pabrėžia genetinių tyrimų atlikimo būtinybę skirtingose populiacijose, siekiant išsiaiškinti tikslų šeiminės hipercholesterolemijos genetinį pagrindą.
5. Šiame tyrime aptiktų tikėtina patogeninių ir neaiškios reikšmės mutacijų nešiotojams būdingos statistiškai reikšmingai didesnės vidutinės mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos lyginant su bendrąja populiacija.
6. Nustatyta, kad pacientų su diagnozuota ankstyva vainikinių arterijų liga balas pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus buvo reikšmingai didesnis nei pacientų, kuriems vainikinių arterijų liga nepasireiškė.
7. Nustatyta, kad po genetinių tyrimų atlikimo, pacientų priskiriamų „Neabejotinos šeiminės hipercholesterolemijos“ grupei pagal Olandų lipidų klinikos kriterijus išaugo nuo 18 iki 31, t. y. aptiktų pacientų su neabejotina šeiminės hipercholesterolemijos diagnoze skaičius išaugo daugiau nei 70%.
8. Patogeninių arba tikėtina patogeninių mutacijų pacientams, priklausantiems „Atmetamos šeiminės hipercholesterolemijos“ grupei nenustatyta. Tačiau patogeninių mutacijų aptikta tiek „Neabejotinos šeiminės hipercholesterolemijos“, tiek „Tikėtinos šeiminės hipercholesterolemijos“, tiek „Neatmetamos šeiminės hipercholesterolemijos“ grupėse.

PASIŪLYMAI

1. Pacientams, kuriems ambulatoriškai arba stacionare nustatoma padidėjusi MTL-Ch koncentracija, atsižvelgiant į jų anamnezę bei kitus duomenis, turėtų būti paskaičiuojamas ir į ligos istoriją įrašomas Olandų Lipidų Klinikos kriterijų balas.
2. Siekiant geresnių ŠKL prevencinės programos rezultatų, būtų tikslinga Lietuvoje sukurti ŠH pacientų registrą arba įtraukti pacientus į tarptautinius registrus.

3. Remiantis registro duomenimis, pacientams ir jų šeimos nariams pagal kaskadinę atrankinės patikros programą būtų galima atlikti genetinius tyrimus, padėsiančius geriau suprasti ŠH genetinį spektrą Lietuvoje.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Murray CJL. The Global Burden of Disease Study at 30 years. *Nat Med*. 2022 Oct;28(10):2019–26.
2. Butnariu LI, Florea L, Badescu MC, Țarcă E, Costache II, Gorduza EV. Etiologic Puzzle of Coronary Artery Disease: How Important Is Genetic Component? *Life*. 2022 Jun 9;12(6):865.
3. Hill MF, Bordoni B. Hyperlipidemia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Mar 18]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559182/>
4. Noubiap JJ, Nyaga UF. Cardiovascular disease prevention should start in early life. *BMC Glob Public Health*. 2023 Sep 7;1(1):14.
5. V-913 Dėl Širdies ir kraujagyslių ligų prevencijos ir ankstyvosios diagnostikos programos patvirtinimo [Internet]. [cited 2024 Apr 27]. Available from: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.267675/asr>
6. Kalia I, Shope R, Reilly M, Schwartz L. Addressing the underdiagnosis of familial hypercholesterolemia: A mixed methods study exploring the knowledge and practice behaviors of cardiology healthcare providers. *J Clin Transl Sci*. 7(1):e92.
7. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013 Dec;34(45):3478–3490a.
8. Diboun I, Al-Sarraj Y, Toor SM, Mohammed S, Qureshi N, Al Hail MSH, et al. The Prevalence and Genetic Spectrum of Familial Hypercholesterolemia in Qatar Based on Whole Genome Sequencing of 14,000 Subjects. *Front Genet*. 2022;13:927504.
9. Vrablik M, Tichý L, Freiburger T, Blaha V, Satny M, Hubacek JA. Genetics of Familial Hypercholesterolemia: New Insights. *Front Genet*. 2020 Oct 7;11:574474.
10. Raal FJ, Hovingh GK, Catapano AL. Familial hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis*. 2018 Oct 1;277:483–92.
11. Chen YJ, Chen IC, Chen YM, Hsiao TH, Wei CY, Chuang HN, et al. Prevalence of genetically defined familial hypercholesterolemia and the impact on acute myocardial infarction in Taiwanese population: A hospital-based study. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Sep 12;9:994662.
12. Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2020 May 26;75(20):2553–66.
13. Hu P, Dharmayat KI, Stevens CAT, Sharabiani MTA, Jones RS, Watts GF, et al. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Among the General Population and Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation*. 2020 Jun 2;141(22):1742–59.

14. Durst R, Colombo R, Shpitzen S, Avi LB, Friedlander Y, Wexler R, et al. Recent Origin and Spread of a Common Lithuanian Mutation, G197del LDLR, Causing Familial Hypercholesterolemia: Positive Selection Is Not Always Necessary to Account for Disease Incidence among Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet.* 2001 May;68(5):1172–88.
15. Pejic RN. Familial Hypercholesterolemia. *Ochsner J.* 2014;14(4):669–72.
16. Vaezi Z, Amini A. Familial Hypercholesterolemia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Mar 15]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556009/>
17. Babarskienė RM, Bakšytė G, Bardauskienė L, Bidvienė J, Biesevičienė M, Čeponienė I, et al. Kardiologijos pagrindai : universiteto vadovėlis / [autoriai: Rūta Marija Babarskienė, Giedrė Bakšytė, Lina Bardauskienė, Jūratė Bidvienė, Monika Biesevičienė, Indrė Čeponienė, Eglė Ereminienė, Gintautas Gumbrevičius, Olivija Gustienė, Antanas Jankauskas, Edita Jankauskienė, Loreta Jankauskienė, Gediminas Jaruševičius, Regina Jonkaitienė, Renaldas Jurkevičius, Aušra Kavoliūnienė, Eglė Kazakauskaitė, Tomas Kazakevičius, Aušra Krivickienė, Raimondas Kubilius, Nora Kupstytė-Krištaponė, Tomas Lapinskas, Jolanta Laukaitienė, Valdas Liukaitis, Romaldas Mačiulaitis, Jolanta Elena Marcinkevičienė, Vaida Mizarienė, Albinas Naudžiūnas, Jurgita Plisienė, Aras Puodžiukynas, Diana Rinkūnienė, Eglė Rumbinaitė, Giedrė Stanaitienė, Neris Stoškutė, Gintarė Šakalytė, Rimvydas Šlapikas, Eglė Tamulevičiūtė-Prascienė, Ramūnas Unikas, Alvydas Unikauskas, Audronė Vaitiekienė, Jolanta Justina Vaškelytė, Vytautas Zabiela, Laura Zajančiauskienė, Diana Žaliaduonytė, Remigijus Žaliūnas, Rūta Žvirblytė; Sudarytojas Remigijus Žaliūnas; Mokslo redaktoriai: Aras Puodžiukynas, Rūta Marija Babarskienė; Recenzentai: Sigita Aidietienė, Asta Baranauskaitė]; Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Medicinos fakulteto Kardiologijos klinika [Internet]. Kaunas :: Kauno krašto kardiologų draugija,, 2019.; 2019 [cited 2024 Mar 15]. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/21971>
18. Abifadel M, Boileau C. Genetic and molecular architecture of familial hypercholesterolemia. *J Intern Med.* 2023;293(2):144–65.
19. Bruikman CS, Hovingh GK, Kastelein JJP. Molecular basis of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Cardiol.* 2017 May;32(3):262.
20. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2014 Aug 21;35(32):2146–57.
21. Nohara A, Tada H, Ogura M, Okazaki S, Ono K, Shimano H, et al. Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2021 Jul 1;28(7):665–78.
22. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep.* 2019;21(6):43.
23. Jarauta E, Bea-Sanz AM, Marco-Benedi V, Lamiquiz-Moneo I. Genetics of Hypercholesterolemia: Comparison Between Familial Hypercholesterolemia and Hypercholesterolemia Nonrelated to LDL Receptor. *Front Genet [Internet].* 2020 Dec 3

- [cited 2024 Apr 27];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2020.554931/full>
24. Maștaleru A, Cojocariu SA, Oancea A, Constantin MML, Roca M, Zota IM, et al. Genetic Polymorphisms in a Familial Hypercholesterolemia Population from North-Eastern Europe. *J Pers Med*. 2022 Mar 9;12(3):429.
 25. Narayanaswamy M, Anastasopoulou C, Sharma S. Polygenic Hypercholesterolemia. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Apr 27]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559143/>
 26. Futema M, Shah S, Cooper JA, Li K, Whittall RA, Sharifi M, et al. Refinement of variant selection for the LDL-C genetic risk score in the diagnosis of the polygenic form of clinical Familial Hypercholesterolemia and replication in samples from six countries. *Clin Chem*. 2015 Jan;61(1):231–8.
 27. Rutkowska L, Pinkier I, Sałacińska K, Kępczyński Ł, Salachna D, Lewek J, et al. Identification of New Copy Number Variation and the Evaluation of a CNV Detection Tool for NGS Panel Data in Polish Familial Hypercholesterolemia Patients. *Genes*. 2022 Aug 10;13(8):1424.
 28. genų mutacijos [Internet]. [cited 2024 Apr 28]. Available from: <https://www.vle.lt/straipsnis/genu-mutacijos/>
 29. Concolino P, De Paolis E, Moffa S, Onori ME, Soldovieri L, Ricciardi Tenore C, et al. Identification and Molecular Characterization of a Novel Large-Scale Variant (Exons 4_18 Loss) in the LDLR Gene as a Cause of Familial Hypercholesterolaemia in an Italian Family. *Genes*. 2023 Jun;14(6):1275.
 30. Liu M, Huang C, Dai R, Ren W, Li X, Wu X, et al. Copy Number Variations in the MICALL2 and MOGAT2 Genes Are Associated with Ashidan Yak Growth Traits. *Anim Open Access J MDPI*. 2022 Oct 14;12(20):2779.
 31. Iacocca M, Hegele R. Role of DNA copy number variation in dyslipidemias. *Curr Opin Lipidol*. 2018 Jan 4;29:1.
 32. Iacocca MA, Wang J, Sarkar S, Dron JS, Lagace T, McIntyre AD, et al. Whole-Gene Duplication of PCSK9 as a Novel Genetic Mechanism for Severe Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol*. 2018 Oct 1;34(10):1316–24.
 33. Craig M, Yarrarapu SNS, Dimri M. Biochemistry, Cholesterol. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Mar 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513326/>
 34. Kučinskienė, Aušrelė Z, 1948-, aut autorius. Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai / [Internet]. Vilniaus universiteto leidykla; 2008 [cited 2024 Mar 17]. Available from: https://kolekcijos.biblioteka.vu.lt/objects/VUB01_000354682
 35. Huff T, Boyd B, Jialal I. Physiology, Cholesterol. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Mar 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470561/>

36. Henderson R, O’Kane M, McGilligan V, Watterson S. The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *J Biomed Sci.* 2016 Apr 16;23:39.
37. Benn M, Watts GF, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur Heart J.* 2016 May 1;37(17):1384–94.
38. Di Taranto MD, Fortunato G. Genetic Heterogeneity of Familial Hypercholesterolemia: Repercussions for Molecular Diagnosis. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan;24(4):3224.
39. Schaefer JR, Kurt B, Sattler A, Klaus G, Soufi M. Pharmacogenetic aspects in familial hypercholesterolemia with the special focus on FHMarburg (FH p.W556R). *Clin Res Cardiol Suppl.* 2012 Jun;7(Suppl 1):2–6.
40. Gui Y, Zheng H, Cao RY. Foam Cells in Atherosclerosis: Novel Insights Into Its Origins, Consequences, and Molecular Mechanisms. *Front Cardiovasc Med* [Internet]. 2022 Apr 13 [cited 2024 Mar 17];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2022.845942>
41. Javadifar A, Rastgoo S, Banach M, Jamialahmadi T, Johnston TP, Sahebkar A. Foam Cells as Therapeutic Targets in Atherosclerosis with a Focus on the Regulatory Roles of Non-Coding RNAs. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 3;22(5):2529.
42. Vaseghi G, Malakoutikhah Z, Shafiee Z, Gharipour M, Shariati L, Sadeghian L, et al. Apolipoprotein B gene mutation related to familial hypercholesterolemia in an Iranian population: With or without hypothyroidism. *J Res Med Sci Off J Isfahan Univ Med Sci.* 2021 Oct 18;26:94.
43. Danyel M, Ott CE, Grenkowitz T, Salewsky B, Hicks AA, Fuchsberger C, et al. Evaluation of the role of STAP1 in Familial Hypercholesterolemia. *Sci Rep.* 2019 Aug 19;9:11995.
44. Varghese MJ. Familial hypercholesterolemia: A review. *Ann Pediatr Cardiol.* 2014;7(2):107–17.
45. Repas TB, Tanner JR. Preventing Early Cardiovascular Death in Patients With Familial Hypercholesterolemia. *J Osteopath Med.* 2014 Feb 1;114(2):99–108.
46. Sturm AC, Truty R, Callis TE, Aguilar S, Esplin ED, Garcia S, et al. Limited-Variant Screening vs Comprehensive Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia Diagnosis. *JAMA Cardiol.* 2021 Aug;6(8):902–9.
47. Familial Hypercholesterolemia - Symptoms, Causes, Treatment | NORD [Internet]. [cited 2024 Mar 17]. Available from: <https://rarediseases.org/rare-diseases/familial-hypercholesterolemia/>
48. Waluś-Miarka M, Polus A, Idzior-Waluś B. Aortic valve and arterial calcification in patients with familial hypercholesterolemia. *Pol Heart J Kardiologia Pol.* 2024;82(2):144–55.

49. Ten Kate GJR, Bos S, Dedic A, Neeffjes LA, Kurata A, Langendonk JG, et al. Increased Aortic Valve Calcification in Familial Hypercholesterolemia: Prevalence, Extent, and Associated Risk Factors. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Dec 22;66(24):2687–95.
50. McGowan MP, Hosseini Dehkordi SH, Moriarty PM, Duell PB. Diagnosis and Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *J Am Heart Assoc*. 2019 Dec 17;8(24):e013225.
51. Alonso R, Perez de Isla L, Muñoz-Grijalvo O, Mata P. Barriers to Early Diagnosis and Treatment of Familial Hypercholesterolemia: Current Perspectives on Improving Patient Care. *Vasc Health Risk Manag*. 2020 Jan 9;16:11–25.
52. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011 Jul;32(14):1769–818.
53. Abdul-Razak S, Rahmat R, Mohd Kasim A, Rahman TA, Muid S, Nasir NM, et al. Diagnostic performance of various familial hypercholesterolaemia diagnostic criteria compared to Dutch lipid clinic criteria in an Asian population. *BMC Cardiovasc Disord*. 2017 Oct 16;17:264.
54. Evidence review and recommendations: case-finding. In: *Familial hypercholesterolaemia: identification and management: Evidence reviews for case-finding, diagnosis and statin monotherapy* [Internet]. National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2017 [cited 2024 Mar 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK550190/>
55. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, Chapman MJ, Ginsberg HN, Cuchel M, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J*. 2015 Sep 21;36(36):2425–37.
56. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic Causes of Monogenic Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: A HuGE Prevalence Review. *Am J Epidemiol*. 2004 Sep 1;160(5):407–20.
57. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993 Jul 15;72(2):171–6.
58. Weng SF, Kai J, Neil HA, Humphries SE, Qureshi N. Improving identification of familial hypercholesterolaemia in primary care: Derivation and validation of the familial hypercholesterolaemia case ascertainment tool (FAMCAT). *Atherosclerosis*. 2015 Feb 1;238(2):336–43.
59. Akyea RK, Qureshi N, Kai J, de Lusignan S, Sherlock J, McGee C, et al. Evaluating a clinical tool (FAMCAT) for identifying familial hypercholesterolaemia in primary care: a retrospective cohort study. *BJGP Open*. 4(5):bjgpopen20X101114.
60. Principles, methods, applications and organisation of screening for early detection, prevention, treatment and control of disease | Health Knowledge [Internet]. [cited 2024 Mar

- 17]. Available from: <https://www.healthknowledge.org.uk/public-health-textbook/disease-causation-diagnostic/2c-diagnosis-screening/principles-methods-applications>
61. Jahn B, Santamaria J, Dieplinger H, Binder CJ, Ebenbichler C, Scholl-Bürgi S, et al. Familial hypercholesterolemia: A systematic review of modeling studies on screening interventions. *Atherosclerosis*. 2022 Aug 1;355:15–29.
 62. Medeiros AM, Bourbon M. Genetic Testing in Familial Hypercholesterolemia: Is It for Everyone? *Curr Atheroscler Rep*. 2023;25(4):127–32.
 63. Meng R, Wei Q, Zhou J, Zhang B, Li C, Shen M. A systematic review of cost-effectiveness analysis of different screening strategies for familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2023 Nov 6 [cited 2024 Mar 17];0(0). Available from: [https://www.lipidjournal.com/article/S1933-2874\(23\)00314-8/abstract](https://www.lipidjournal.com/article/S1933-2874(23)00314-8/abstract)
 64. Lee CJ, Yoon M, Kang HJ, Kim BJ, Choi SH, Jeong IK, et al. 2022 Consensus statement on the management of familial hypercholesterolemia in Korea. *Korean J Intern Med*. 2022 Sep;37(5):931–44.
 65. Watts GF, Gidding SS, Mata P, Pang J, Sullivan DR, Yamashita S, et al. Familial hypercholesterolaemia: evolving knowledge for designing adaptive models of care. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Jun;17(6):360–77.
 66. Rosenson RS. Existing and emerging therapies for the treatment of familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 2021;62:100060.
 67. Benito-Vicente A, Uribe KB, Jebari S, Galicia-Garcia U, Ostolaza H, Martin C. Familial Hypercholesterolemia: The Most Frequent Cholesterol Metabolism Disorder Caused Disease. *Int J Mol Sci*. 2018 Nov 1;19(11):3426.
 68. Kayikcioglu M, Tokgozoglu L. Current Treatment Options in Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Pharmaceuticals*. 2023 Jan;16(1):64.
 69. Docherty KF, Padmanabhan S. Genomics and pharmacogenomics of lipid-lowering therapies. In: Padmanabhan S, editor. London: Academic Press; 2014 [cited 2024 Mar 17]. p. 715–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386882-4.00031-1>
 70. Lui DTW, Lee ACH, Tan KCB. Management of Familial Hypercholesterolemia: Current Status and Future Perspectives. *J Endocr Soc*. 2021 Jan 1;5(1):bvaa122.
 71. Paquette M, Dufour R, Baass A. The Montreal-FH-SCORE: A new score to predict cardiovascular events in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017 Jan 1;11(1):80–6.
 72. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jan 4;46(Database issue):D1062–7.
 73. Fokkema IFAC, Kroon M, López Hernández JA, Asscheman D, Lugtenburg I, Hoogenboom J, et al. The LOVD3 platform: efficient genome-wide sharing of genetic variants. *Eur J Hum Genet*. 2021 Dec;29(12):1796–803.

74. Entry - #144250 - HYPERLIPIDEMIA, FAMILIAL COMBINED, 3; FCHL3 - OMIM [Internet]. [cited 2024 Apr 8]. Available from: <https://www.omim.org/entry/144250?search=Hyperlipidemia%2C%20familial%20combined%2C%20LPL%20related&highlight=%28related%7Crelatedness%29%2Ccombined%2Cfamilial%2Chyperlipidemia%2C1pl>
75. Fernández-Miranda C, De La Calle M, Larumbe S, Gómez-Izquierdo T, Porres A, Gómez-Gerique J, et al. Lipoprotein abnormalities in patients with asymptomatic acute porphyria. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2000 Apr;294(1–2):37–43.
76. Brener A, Lebenthal Y, Cleper R, Kapusta L, Zeitlin L. Body composition and cardiometabolic health of pediatric patients with X-linked hypophosphatemia (XLH) under burosumab therapy. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2021 Mar 16;12:20420188211001150.
77. Ralph D, Levine MA, Richard G, Morrow MM, Flynn EK, Uitto J, et al. Mutation update: Variants of the ENPP1 gene in pathologic calcification, hypophosphatemic rickets, and cutaneous hypopigmentation with punctate keratoderma. *Hum Mutat*. 2022 Sep;43(9):1183–200.
78. Stepien KM, Stewart FJ, Hendriksz CJ. The factors affecting lipid profile in adult patients with Mucopolysaccharidosis. *Mol Genet Metab Rep*. 2017 Sep 1;12:35–40.
79. Herbert M, Goldstein JL, Rehder C, Austin S, Kishnani PS, Bali DS. Phosphorylase Kinase Deficiency. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2024 Apr 8]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK55061/>
80. PRKAG2 protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 2 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2024 Apr 8]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51422>
81. SLC3A1 solute carrier family 3 member 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [cited 2024 Apr 8]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6519>
82. Meiner V, Landsberger D, Berkman N, Reshef A, Segal P, Seftel HC, et al. A common Lithuanian mutation causing familial hypercholesterolemia in Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet*. 1991 Aug;49(2):443–9.
83. Nissen PH, Damgaard D, Stenderup A, Nielsen GG, Larsen ML, Færgeman O. Genomic characterization of five deletions in the LDL receptor gene in Danish Familial Hypercholesterolemic subjects. *BMC Med Genet*. 2006 Jun 26;7:55.
84. Williams KB, Horst M, Young M, Pascua C, Puffenberger EG, Brigatti KW, et al. Clinical characterization of familial hypercholesterolemia due to an amish founder mutation in Apolipoprotein B. *BMC Cardiovasc Disord*. 2022 Mar 17;22(1):109.
85. Taylor A, Bayly G, Patel K, Yarram L, Williams M, Hamilton-Shield J, et al. A double heterozygote for familial hypercholesterolaemia and familial defective apolipoprotein B-100. *Ann Clin Biochem*. 2010 Sep 1;47(5):487–90.
86. Yield of Familial Hypercholesterolemia Genetic and Phenotypic Diagnoses After Electronic Health Record and Genomic Data Screening | *Journal of the American Heart*

Association [Internet]. [cited 2024 Apr 8]. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.123.030073#d1e4809>

87. Petrulioniene Z, Gargalskaite U, Mikstiene V, Norvilas R, Skiauteryte E, Utkus A. Autosomal recessive hypercholesterolemia: Case report. *J Clin Lipidol*. 2019 Nov 1;13(6):887–93.
88. Catapano F, Galea N, Pambianchi G, D’Erasmus L, Borrazzo C, Cundari G, et al. Effectiveness of clinical scores in predicting coronary artery disease in familial hypercholesterolemia: a coronary computed tomography angiography study. *Radiol Med (Torino)*. 2023;128(4):445.