

Molekulární genetika hypercholesterolemie

Lucie Schwarzová

III. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Souhrn

Práce shrnuje poznatky o molekulární podstatě dědičného onemocnění lipidového metabolismu způsobující zvýšení hladin LDL-cholesterolu. Familiární hypercholesterolemie je nejčastěji autosomálně dominantním onemocněním. Pro svého nositele přináší vysokou pravděpodobnost předčasného vzniku kardiovaskulárního onemocnění. Většina (85–90 %) případů je způsobena mutacemi snižujícími nebo zcela vyřazujícími funkčnost genu pro LDL receptor (LDLR). Menší množství případů (5–10 %) má příčinu v mutovaném genu pro apolipoprotein B (FDB mutace), který je ligandem LDL receptoru. Méně než 5 % případů je geneticky podloženo gain-of-function mutací v genu *PCSK9* zvyšující aktivitu tohoto proteinu při degradaci molekul LDLR. Známe ale i extrémně vzácnou autosomálně recesivní formu onemocnění, při níž hrají roli mutace v genu pro LDLR adaptorový protein.

Klíčová slova: *APOB* – familiární hypercholesterolemie – *LDLR* – *LDLRAP1* – *PCSK9*

Molecular genetics of hypercholesterolemia

Summary

The review focuses on the molecular background of an inborn error of lipid metabolism – familial hypercholesterolemia. FH describes a group of genetic defects resulting in severe elevations of blood cholesterol levels and increased risk of premature coronary heart disease. Most cases are due to the mutations decreasing and/or destroying the function of the LDL receptor (85–90 % of cases), smaller portion of cases is caused by defects in the gene encoding the ligand for LDL receptor – apolipoprotein B-100 (5–10 %). Less than 5 % of cases has gain-of-function mutation of the *PCSK9* gene that increases the rate of degradation of the LDL receptor molecules. Autosomal recessive form of the disease, caused by the mutations in LDLR adaptor protein 1 gene, is extremely rare.

Key words: *APOB* – familial hypercholesterolemia – *LDLR* – *LDLRAP1* – *PCSK9*

Úvod

Familiární hypercholesterolemie (FH) je geneticky podmíněný defekt metabolismu lipoproteinů, nejčastěji děděný autosomálně dominantně, známe však i jiné genetické formy tohoto onemocnění. Fenotypové projevy jsou u všech typů FH velmi podobné – kromě zvýšené hladiny LDL-cholesterolu (LDL-C) a s tím spojeného vysokého rizika předčasného nástupu kardiovaskulárního onemocnění u postižených osob nacházíme šlachové xantomy a arcus cornealis. Penetrance FH byla ve starších pramenech udávána jako 100 %, nyní se začíná stále častěji ukazovat, že v závislosti na přítomnosti nejrůznějších modifikačních faktorů tato hodnota může být nižší. Také frekvence mutací genů zodpovědných za FH v populaci jsou pravděpodobně ještě vyšší, než se doposud uvádělo, tj. odhadovaná frekvence homozygotů 1 : 1 000 000 a heterozygotů 1 : 500 [1]. Vyšší frekvence jsou zpravidla udávány pro specifické populace, u nichž k rozšíření mutované alely výrazně přispěl genetický drift (všudypřítomný fenomén, v lidských populacích pozorovatelný zejména v malých, geograficky izolovaných či od většinové populace endoga-

mickým chováním oddělených společnostech). Příkladem takových populací jsou libanonští křesťané [2], Afrikánci [3], aškenázští Židé žijící v jižní Africe [4], Frankokanadčané [5], Finové [6] a drúzové [7]. Prevalence onemocnění FH je v některých z těchto populací udávána až 1 : 67 [8]. Novější studie, jejímž předmětem byla dánská populace, však ukázala, že v této populaci je frekvence heterozygotů FH vyšší, než se pro obecnou bělošskou populaci předpokládalo, a dosahuje hodnot až 1 : 137 [9]. Přibližně 85–90 % případů je způsobeno mutací genu pro LDL receptor, 5–10 % případů má příčinu v mutovaném genu pro apolipoprotein (Apo) B (FDB mutace), méně než 5 % případů je geneticky podloženo gain-of-function mutací v genu *PCSK9*. Známe ale i extrémně vzácnou autosomálně recesivní formu onemocnění, u níž hrají roli mutace v genu pro *LDLR* adaptorový protein 1.

LDL receptor

Nejčastější příčinou FH jsou mutace v genu kódujícím receptor pro LDL částice. Po syntéze 120 kDa prekursorového proteinu a následné glykosylaci je receptor

umístěn na povrchu buňky v membránových prohlubních s klathrinovou výstelkou, kde na svou extracelulární doménu váže lipoproteinovou částici. Celý komplex je následně endocytózou pohlcen a kyselé prostředí endosomu konformační změnou uvolní LDL částici. Pak je receptor vrácen zpět na své místo na povrchu buňky, kde se po návratu do nativní konformace celý cyklus může opakovat s novou LDL částicí [10]. Gen pro LDL receptor (*LDLR*) se nachází na krátkém rameni chromosomu 19, obsahuje 18 exonů a kóduje protein sestávající z 839 aminokyselin. Tento protein obsahuje 6 funkčních domén kódovaných jednotlivými exony nebo skupinami exonů. Toto uspořádání nasvědčuje tomu, že LDL receptorový gen v průběhu evoluce vznikl shlukem kopií exonů pocházejících z různých genů, s nimiž dnes pozorujeme nápadnou sekvenční homologii [11,12]. Tomuto způsobu reorganizace exonů různého původu za vzniku nového genu říkáme exon shuffling [13].

Množství LDL receptorového proteinu na membráně buňky je regulováno složitým zpětnovazebným mechanismem, pomocí něhož je exprese *LDLR* genu řízena v závislosti na množství cholesterolu v buňce a jeho aktuální potřebě. Množství a rovnováhu poměru cholesterolu a mastných kyselin v membránových fosfolipidech v buňce zajišťují sterol regulační elementy vázající proteiny (sterol regulating elements-binding protein – SREBP). V případě potřeby jsou tyto proteiny aktivovány štěpením ve 2 místech, a tím jsou uvolněny z membrány endoplazmatického retikula. Vysoká koncentrace sterolů blokuje aktivitu prvního ze zúčastněných štěpných enzymů (Site-1 protein – S1P), a to blokuje aktivitu SREBP cleavage-activating proteinu (SCAP), nutného pro aktivaci S1P [14]. SREBP se váže i na regulační sekvenci v promotorové oblasti *LDLR* genu, která má podobu 16bp dlouhé repetice a obsahuje sterol-regulační element (SRE) a která zajišťuje zvýšení transkripce genu pro LDL receptor, když koncentrace cholesterolu v buňce poklesne [15]. Podobné repetice (Repeat 1 a 3) nesou vazebná místa pro transkripční faktor Sp1 (Specificity protein 1) a podílejí se na zajištění bazální exprese genu pro LDL receptor [16]. Všechny výše zmíněné regulační sekvence jsou lokalizovány v rozsahu přibližně 280 bp dlouhé proximální sekvence promotoru a mutace v této nekódující oblasti, které naruší expresi *LDLR*, mohou být příčinou onemocnění FH [17–19].

Sekvencí prvního exonu je kódován signální peptid o délce 21 aminokyselin a z proteinu je tato hydrofobní sekvence odstraňována při přenosu nezralého řetězce do endoplazmatického retikula [20]. V tomto úseku nejsou příliš často popisovány mutace způsobující onemocnění FH, přesto do dnešního dne známe 79 takových variant zde lokalizovaných [21].

2.–6. exon kóduje ligand vázající doménu, jež obsahuje 7 tandemových repetací, každou o délce 40 aminokyselin. Repetice obsahují vždy 6 zbytků aminokyseliny cysteinu, které mezi sebou vytvářejí 3 disulfidické vazby, C konec každé repetice je pak tvořen trojicí negativně nabitých aminokyselin Ser-Asp-Glu, důležitých pro vazbu ligandu,

jímž je buď ApoB-100, nebo ApoE. Přes svou vzájemnou sekvenční nepodobnost oba tyto apolipoproteiny obsahují krátké úseky, složené převážně z bazických aminokyselin, kterými se ligandy váží k negativně nabitým aminokyselinám receptoru [22]. Absence 3.–7. repetice vede k nemožnosti vázat LDL částici, avšak přítomnost 4. a 5. repetice je sama o sobě dostačující k navázání částice, která obsahuje ApoE [23]. Instabilita páté repetice v kyselém prostředí s limitovaným množstvím vápenatých iontů hraje důležitou roli v uvolnění LDL částice z receptoru v prostředí endosomu: konformační změna této oblasti proteinu brání pokračování vazby částice [24]. V části *LDLR* genu, kódující ligand vázající doménu, bylo doposud popsáno 708 mutací [21].

Následujícími 8 exony (exon 7–14) je kódována doména vykazující 33% homologii s lidským EGF – epidermálním růstovým faktorem [25]. Tato doména zahrnuje 411 aminokyselin. Jsou uspořádány do 3 repetací, bohatých na aminokyselinu cystein, každá o délce 40–50 aminokyselin. Prvé 2 repetice jsou od třetí odděleny 280 aminokyselin dlouhým úsekem, na kterém se přibližně po 40–50 aminokyselinách opakuje konzervativní motiv 4 aminokyselin. EGF doména je důležitá pro vyvázání LDL částic z receptoru a klathrinem vystlaných jamek v kyselém prostředí endosomu, aby mohl být receptor recyklován zpět na buněčnou membránu. Bez této domény není LDL receptor schopen vázat LDL částice pomocí ApoB-100, neztrácí však schopnost vazby na lipoproteinové částice, kde interakci zprostředkovává ApoE [26]. Na první z EGF repetací se váže PCSK9, která snižuje recyklaci molekul *LDLR* a zvyšuje míru jeho degradace [27]. Mutace v této funkčně velice důležité části genu jsou poměrně často u FH pacientů nacházeny, doposud jich bylo popsáno 811 [21].

15. exon kóduje doménu s nepříliš známou funkcí, na niž se navazují karbohydrátové řetězce vázané na kyslík. Doména je bohatá na aminokyseliny Ser a Thr a slouží nejspíše ke stabilizaci proteinu. Chybějící glykylace vede ke zvýšení obrátu LDL receptoru [28]. Popsaných mutací v této části genu je známo 41 [21].

Transmembránová doména, která následuje, je kromě exonu 16 kódována i částí exonu 17. Ukotvuje protein v cytoplazmatické membráně a obsahuje 22 hydrofobních aminokyselin. V této oblasti bylo doposud nalezeno okolo 40 mutací.

Cytoplazmatická doména o délce 50 aminokyselin je kódována zbylou částí exonu 17 a exonem 18. Obsahuje 2 signální sekvence zajišťující umístění proteinu na povrchu buňky v klathrinových jamkách [29]. Jedná se o evolučně velmi konzervativní doménu s 86% homologií a jen sporadicky jsou zde nalézány příčinné mutace pro FH.

Celkem bylo v *LDLR* receptorovém genu doposud popsáno 1 125 unikátních alelických variant, mezi kterými nejčastěji nalézáme substituce, delece a inserce, méně často pak duplikace (64 případů), indels (15) či inverze (2) [21].

Fenotypová variabilita a polygenní forma FH

Již dlouhou dobu je známa vysoká heterogenita fenotypu pacientů s onemocněním FH, a tento fenomén není

dán pouze charakterem a lokalizací mutace v rámci genu. Modifikační roli zde hraje, kromě faktorů jako životní styl, složení potravy apod, i genetické pozadí, tedy individuální kombinace variant v genech malého účinku, které společným působením ovlivňují výsledný fenotypový projev FH. V poslední době se výzkum genetické determinace FH soustředil na nalezení variant, které modulují celkové fenotypické projevy onemocnění, a byl vytvořen panel takových genetických variant, tzv. LDL skóre, které nejenže mohou různou měrou přispívat k výslednému fenotypu FH u monogenní formy onemocnění, ale u nositelů překračujících určitý hraniční počet těchto alel se rozvíjí polygenní forma FH [30]. Jediná mutace, kterou bychom mohli považovat za příčinnou, u těchto pacientů není nalezena a odhady rizika onemocnění v rodinách jsou pak velmi obtížné. Zpřesnit tuto analýzu může právě vyšetření 12 jednoduchých polymorfizmů (SNP) v genech *ABCG8*, *APOE* (2 varianty), *APOB*, *HFE*, *LDLR*, *LPA*, *MYLIP*, *NYN1RIN*, *PCSK9*, *SORT1* a *STGAL4*. Výsledné skóre predikuje hladinu LDL-cholesterolu u vyšetřovaných pacientů s vysokou statistickou průkazností [30].

Další geny spojené s FH Gen pro apolipoprotein B100

V roce 1986 bylo poprvé odhaleno, že příčinou FH může být nejen defektní receptor, ale i mutace v ligandu tohoto receptoru, jenž je součástí LDL částice – apolipoproteinu B-100 (ApoB-100) [31]. Gen pro ApoB-100 je lokalizován na krátkém rameni 2. chromosomu a kóduje 4 563 aminokyselin dlouhý protein. Jedinci postižení touto formou hypercholesterolemie mají hladiny LDL-C asi o čtvrtinu nižší než u klasické FH. U takových pacientů byla nejprve nalezena jedna specifická varianta, záměna Glu3500Arg s odhadovanou frekvencí 1 : 500 (FDB mutace) [32], později byly odhaleny ještě další mutace snižující afinitu ApoB k LDL receptoru, a to Glu3500Trp a Arg3531Cys [33]. Obě tyto mutace jsou spíše raritními variantami a jejich frekvence v populaci je nízká. Jiná varianta asociovaná s FH, His3543Tyr, byla však v německé populaci popsána se 4krát vyšší frekvencí než klasická FDB alela [34]. To lze s největší pravděpodobností připsat působení genetického driftu, stejně jako vysoké frekvence Glu3500Arg v oblasti střední Evropy. V současné době je zjišťováno, že skutečné populační frekvence nositelů FDB alely byly v odhadech, vypočítaných z počtu pacientů se zvýšenou hladinou cholesterolu, poněkud podhodnoceny a že existuje nemalé množství lidí s FDB alelou, kteří nejsou ve statistikách podchyceni a nosičství mutace u nich není spojeno s žádnými fenotypovými projevy [35].

Gen pro proprotein konvertázu subtilizin/kexin 9

Kromě mutací v receptoru a jeho ligandu je od roku 1999 známa ještě jedna forma autosomálně dominantně přenášené FH, a to v důsledku mutací v genu, který kóduje proprotein konvertázu subtilizin/kexin typu 9 [36]. Gen pro tento enzym (*PCSK9*) je lokalizován na krátkém rameni

chromosomu 1, tvoří ho 12 exonů a výsledný protein má délku 692 aminokyselin [37]. Aminokyseliny 1–30 tvoří signální sekvenci, za ní následuje prodoména (aminokyseliny 31–152) a katalytická doména, protein je zakončen C-terminální oblastí, zahrnující 243 aminokyselin a bohatou na cystein a histidin. Inaktivní *PCSK9* po syntéze obsahuje třídu aminokyselinových zbytků Asp-186, His-226 a Ser-386, nutnou pro katalytickou aktivitu. V endoplazmatickém retikulu podstupuje autokatalytické štěpení, jehož produktem je katalytický fragment o velikosti 60 kDa. Tento proces je nezbytný pro transport a sekreci *PCSK9*. Odštěpená prodoména zůstává ale asociována s katalytickou doménou, čímž blokuje aktivní místo. Po sekreci proběhne další štěpení za vzniku 53 kDa neaktivního fragmentu [37]. *PCSK9* hraje důležitou úlohu v regulaci množství LDL receptoru na buněčné membráně, a to vazbou na EGF repeat A, čímž je indukována degradace LDLR proteinu [38]. LDL receptor je *PCSK9* schopna degradovat nezávisle na své proteolytické aktivitě [39]. Interakce s EGF-A repeticí je zajištěna aminokyselinami Arg-194 a Asp-238. Zvýšená aktivita *PCSK9* vede k nedostatku receptoru na povrchu buňky, a tím ke zvýšení hladin LDL-C v krevní plazmě [40]. V genu se mohou objevit jak mutace zvyšující aktivitu enzymu (gain-of-function), které mohou být příčinou fenotypu FH, tak i mutace narušující částečně nebo zcela funkci proteinu, jejichž důsledkem je snížení hladiny LDL-C [41]. Doposud bylo popsáno několik gain-of-function mutací. Ser127Arg narušuje autokatalytické štěpení, nezbytné pro sekreci *PCSK9* z buňky. Záměna Asp374Tyr vede k tomu, že vazba mutovaného *PCSK9* na LDL receptor je 25krát pevnější než u standardního proteinu. Další mutace vedou k úplné nebo částečné neschopnosti štěpení proteinu invertázou C5/6A a furinem [37]. Mutace, působící ztrátu funkce u *PCSK9* jsou kupříkladu takové, které vedou k předčasnému vytvoření stop kodonu (Tyr142X), brání exportu proteinu z endoplazmatického retikula (Cys679X, Gly106Arg) či nevstupují do endosomů (Leu253Phe, Gln554Glu) [42].

Zajímavý je také vztah *PCSK9* a ApoB-100. U nositelů mutace Ser127Arg v genu pro *PCSK9* bylo pozorováno 3násobné zvýšení produkce apoB-100 ve srovnání s kontrolami nebo osobami s mutovaným genem pro LDL receptor. Dochází také k nadprodukci VLDL (3krát), IDL (3krát) a LDL částic (5krát) [43]. Podobný vzestup množství ApoB-100 byl popsán i u mutace Asp374Tyr [44]. Experimenty ukázaly stejný efekt i u transgenních myší a pomohly odhalit interakci *PCSK9* a ApoB, a tím jeho ochranu před degradací [37].

Dle LOVD databáze [21] byly do současnosti v *PCSK9* genu nalezeny 153 substituce, 8 inzercí a 2 delece, unikátních variant bylo doposud nalezeno 101. Nejvíce mutovaným exonem je exon 1 (34 variant), kódující signální doménu a prodoménu. Některé nalezené varianty jsou jen funkčně nevýznamnými polymorfizmy, některé však byly ověřeny jako gain-of-function příčinné mutace [45].

Autosomálně recesivní FH

Velmi raritní jsou případy autosomálně recesivní formy familiární hypercholesterolemie, jejíž genetická pod-

stata byla objevena na konci 90. let minulého století [46]. Gen zodpovědný za toto onemocnění (LDLR adaptorový protein 1 – LDLRAP1) byl lokalizován na krátkém rameni chromosomu 1 a je složen z 9 exonů. Produkt tohoto genu obsahuje 170 aminokyselin dlouhý motiv, vykazující sekvenční podobnost s fosfotyrozín vázajícími (PTB) doménami mnoha adaptorových proteinů [47]. Tyto domény se váží k sekvenci Asn-Pro-X-Tyr, typické pro cytoplazmatické části povrchových receptorů buňky. Následnou analýzou variant v tomto genu byly identifikovány příčinné mutace tohoto onemocnění u prvních 6 rodin [48]. Relativně vysoké frekvence nositelů mutovaných alel LDLRAP1 genu jsou popisovány u populace na Sardinii, kde opět pozorujeme silný dopad genetického driftu v izolované, inbrední populaci [49].

Pro LDLRAP1 gen uvádí LOVD databáze 30 substitucí, 7 inzercí a 3 delece, z těchto podchycených variant je jich 32 unikátních [21].

Závěr

Genetické spektrum bezprostřední příčiny a modulujících faktorů výsledného fenotypu onemocnění familiární hypercholesterolemie je velmi rozsáhlé a do budoucna není vyloučeno, že se podaří najít ještě další geny, které hrají důležitou úlohu v metabolickém procesu zpracování a transportu lipidů a jejichž vyšetření pomůže objasnit podstatu onemocnění u těch nemocných, u nichž zatím genetické analýzy provedené při současném stavu poznatků nepřinášejí žádoucí výsledek. V neposlední řadě stále rostoucí množství poznatků o molekulárních procesech souvisejících s lipidovým metabolismem přináší další podněty pro vývoj nových, pacientům individuálně přizpůsobených léků.

Poděkování: podpořeno grantem AZV 15–28277A a UNCE 204022.

Literatura

- Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2003; 111(12): 1795–803. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1172/JCI18925>>.
- Lehrman MA, Russell DW, Goldstein JL et al. Alu-Alu recombination deletes splice acceptor sites and produces secreted low density lipoprotein receptor in a subject with familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 1987; 262(7): 3354–3361.
- Kotze MJ, Langenhoven E, Warnich L et al. The molecular basis and diagnosis of familial hypercholesterolemia in South African Africans. *Ann Hum Genet* 1991; 55(Pt 2): 115–121.
- Meiner V, Landsberger D, Berkman N et al. A common Lithuanian mutation causing familial hypercholesterolemia in Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet* 1991; 49(2): 443–449.
- Leitersdorf E, Tobin EJ, Davignon J et. Common low-density lipoprotein receptor mutations in the French Canadian population. *J Clin Invest* 1990; 85(4): 1014–1023.
- Koivisto UM, Turtola H, Aalto-Setälä K et al. The familial hypercholesterolemia (FH)-North Karelia mutation of the low density lipoprotein receptor gene deletes seven nucleotides of exon 6 and is a common cause of FH in Finland. *J Clin Invest* 1992; 90(1): 219–228.
- Landsberger D, Meiner V, Reshef A et al. A nonsense mutation in the LDL receptor gene leads to familial hypercholesterolemia in the Druze sect. *Am J Hum Genet* 1992; 50(2): 427–433.
- Seftel HC, Baker SG, Jenkins T et al. Prevalence of familial hypercholesterolemia in Johannesburg Jews. *Am J Med Genet* 1989; 34(4): 545–547. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.1320340418>>.
- Benn M, Gerald F, Watts et al. Familial hypercholesterolemia in the Danish General Population: Prevalence, Coronary Artery Disease, and Cholesterol-Lowering Medication. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(11): 3956–3964. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2012-1563>>. Erratum in *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(12): 4758–4759.
- De Castro-Orós I, Pocoví M, Civeira F. The genetic basis of familial hypercholesterolemia: inheritance, linkage, and mutations. *Appl Clin Genet* 2010; 3: 53–64.
- Tolleshaug H, Goldstein JL, Schneider WJ et al. Posttranslational processing of the LDL receptor and its genetic disruption in familial hypercholesterolemia. *Cell* 1982; 30(3): 715–724.
- Sudhof TC, Goldstein JL, Brown MS et al. The LDL receptor gene: A mosaic of exons shared with different proteins. *Science* 1985; 228(4701): 815–822.
- Long M, Betran E, Thornton K et al. The origin of new genes: glimpses from the young and old. *Nat Rev Genet* 2003; 4(11): 865–875. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrg1204>>.
- Brown MS, Goldstein JL. 1999: A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells, and blood. *PNAS* 1999; 96(20): 11041–11048. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.20.11041>>.
- Jeon H, Meng W, Takagi J et al. Implications for familial hypercholesterolemia from the structure of the LDL receptor YWTD-EGF domain pair. *Nat Struct Biol* 2001; 8(6): 499–504.
- Dawson PA, Hofmann SL, van der Westhuyzen DR et al. Sterol-dependent repression of low density lipoprotein receptor promoter mediated by 16-base pair sequence adjacent to binding site for transcription factor Sp1. *J Biol Chem* 1988; 263(7): 3372–3379.
- Smith AJ, Ahmed F, Nair D et al. A functional mutation in the LDLR promoter (-139C → G) in a patient with familial hypercholesterolemia. *Eur J Hum Genet* 2007; 15(11): 1186–1189.
- Scholtz CL, Peeters AV, Hoogendijk CF et al. Mutation -59c → t in repeat 2 of the LDL receptor promoter: reduction in transcriptional activity and possible allelic interaction in a South African family with familial hypercholesterolemia. *Hum Mol Genet* 1999; 8(11): 2025–2030.
- Francová H, Trbusek M, Zapletalová P et al. New promoter mutations in the low-density lipoprotein receptor gene which induce familial hypercholesterolemia phenotype: molecular and functional analysis. *J Inher Metab Dis* 2004; 27(4): 523–528.
- Hobbs HH, Russell DW, Brown MS et al. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: Mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet* 1990; 24: 133–170.
- Fokkema IFAC, Den Dunnen JT, Taschner PEM. LOVD: easy creation of a locus-specific sequence variation database using an „LSDB-in-a-Box“ approach. *Hum Mutat* 2005; 26(2): 63–68. Dostupné z WWW: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/humu.20201/abstract>>.
- Mahley TW, Innerarity TL, Weisgraber KH et al. Cellular and molecular biology of lipoprotein metabolism: Characterization of lipoprotein receptor-ligand interaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; 51(Pt 2): 821–827.
- Fisher C, Abdul-Aziz D, Blacklow SC. A two-modulate region of the low-density lipoprotein receptor sufficient for formation of complexes with apolipoprotein E ligands. *Biochemistry* 2004; 43(4): 1037–1044.
- Arias-Moreno X, Velázquez-Campoy A, Rodríguez JC et al. Mechanism of low density lipoprotein (LDL) release in the Endosome. *J Biol Chem* 2008; 283(33): 22670–22679. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M802153200>>.
- Sudhof TC, Russell DW, Goldstein JL et al. Cassette of eight exons shared by genes LDL receptor and EGF precursor. *Science* 1985; 228(4701): 893–895.
- Brown MS, Herz J, Goldstein JL. Calcium cages, acid baths and recycling receptors. *Nature* 1997; 388(6643): 629–630.

27. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem* 2007; 282(28): 20502–20512.
28. May P, Bock HH, Nimpf J et al. Differential Glycosylation Regulates Processing of Lipoprotein Receptors by γ -Secretase. *J Biol Chem* 2003; 278(39): 37386–37392.
29. Yokode M, Pathak RK, Hammer RE et al. Cytoplasmic sequence required for basolateral targeting of LDL receptor in livers of transgenic mice. *J Cell Biol* 1992; 117(1): 39–46.
30. Talmud PJ, Shah S, Whittall R et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *Lancet* 2013; 381(9874): 1293–1301. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62127-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62127-8)>.
31. Vega GL, Grundy SM. In vivo evidence for reduced binding of low density lipoproteins to receptors as a cause of primary moderate hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1986; 78(5): 1410–1414.
32. Soria LF, Luewig EH, Clarke HR et al. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apoipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(2): 587–591.
33. Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE et al. Familial ligand defective apolipoprotein B: identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995; 95(3): 1225–1234.
34. Soufi M, Sattler AM, Maerz W et al. A new but frequent mutation of APOB-100-APOB His3543Tyr. *Atherosclerosis* 2004; 174(1): 11–16.
35. Schwarzová L, Hořínek A, Vrablík M et al. Effect of APOE genotype on LDL cholesterol levels in FH and FDB patients: Is there sex-specifically protective genotype? *Atherosclerosis* 2016; 252: e40. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.360>>.
36. Varret M, Rabès JP, Saint-Jore B et al. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am J Hum Genet* 1999; 64(5): 1378–1387.
37. Abifadel M, Elbitar S, El Khoury P et al. Living the PCSK9 adventure: from the identification of a new gene in familial hypercholesterolemia towards a potential new class of anticholesterol drugs. *Curr Atheroscl Rep* 2014; 16(9): 439. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11883-014-0439-8>>.
38. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem* 2007; 282(25): 18602–18612.
39. Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC et al. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(6): 1820–1825. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0712064105>>.
40. Abifadel M, Varret M, Rabès JP et al. Differential Glycosylation Regulates Processing of Lipoprotein Receptors by γ -Secretase. *J Biol Chem* 2003; 278(39): 37386–37392.
41. Steinberg D, Witztum JL. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(24): 9546–9547. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0904560106>>.
42. Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. *Nat Struct Mol Biol* 2007; 14(5): 413–419.
43. Ouguerram K, Chetiveaux M, Zair Y et al. Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal-dominant hypercholesterolemia related to mutations in PCSK9. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(8): 1448–1453.
44. Sun X-M, Eden ER, Tosi I et al. Evidence for effect of mutant PCSK9 on apolipoprotein B secretion as the cause of unusually severe dominant hypercholesterolaemia. *Hum Mol Genet* 2005; 14(9): 1161–1169.
45. Miyake Y, Kimura R, Kokubo Y et al. Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: Rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population. *Atherosclerosis* 2008; 196(1): 29–36.
46. Fellin R, Arca M, Zuliani G. The history of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH). From clinical observations to gene identification. *Gene* 2015; 555(1): 23–32.
47. Garcia CK, Wilund K, Arca M et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001; 292(5520): 1394–1398.
48. Wilund KR, Yi M, Campagna F et al. Molecular mechanisms of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Hum Mol Genet* 2002; 11(24): 3019–3030.
49. Calò CM, Melis A, Vona G et al. Sardinian population (Italy): a genetic review. *Int J Mod Anthropol* 2008; 1: 1–121. Dostupné z WWW: <<http://www.ajol.info/index.php/ijma/article/viewFile/60356/48592>>.

RNDr. Lucie Schwarzová, Ph.D.

✉ lucie.schwarzova@yahoo.com

III. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

www.vfn.cz

Doručeno do redakce 4. 11. 2016

Přijato po recenzi 15. 11. 2016