

Choroby serca i naczyń są odpowiedzialne za połowę zgonów w Polsce, a choroba niedokrwienna serca (CNS) jest najczęstszą przyczyną zgonów. Jedną z lepiej poznanych jednostek chorobowych uwarunkowanych genetycznie prowadzących do choroby wieńcowej jest hipercholesterolemia dziedziczna w sposób autosomalny dominujący (ADH, *autosomal dominant hypercholesterolemia*). ADH jest chorobą jednogenną o autosomalnym dominującym (AD) sposobie dziedziczenia. Podłożem molekularnym tej choroby są mutacje genów receptora LDL, apolipoproteiny B-100 oraz *PCSK9*.

Gen *LDLR* zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 19. Dojrzały receptor LDL to glikoproteina przezłonowa złożona z 839 reszt aminokwasowych. Receptor LDL może wiązać się z dwoma ligandami: apolipoproteina B-100 oraz apolipoproteina E. Do chwili obecnej opisano ponad 1700 różnych wariantów genetycznych w obrębie genu *LDLR*. Obecność mutacji w genie *LDLR* zaburza budowę i/lub funkcję receptorów LDL, co prowadzi do obniżenia ich aktywności. W zależności od efektu fenotypowego, jaki wywierają na białko mutacje genu *LDLR* można podzielić na pięć głównych klas. Ze względu na ilość jak i różnorodność obserwowanych mutacji genu kodującego receptor LDL konieczne jest opracowanie i wykorzystanie metod, które pozwolą na efektywną analizę funkcjonalną różnych mutacji w obrębie genu. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wykazały, że wykorzystanie wektorów wprowadzanych do komórek pozwala zarówno na określenie poziomu ekspresji poszczególnych genów jak i określenie lokalizacji powstałego w komórce produktu białkowego. Dzięki tym eksperymentom możliwe jest stwierdzenie, czy różnice obserwowane na poziomie DNA pociągają za sobą istotne zmiany w budowie, aktywności lub ilości powstających produktów białkowych badanych genów. W przeciwieństwie do badań funkcjonalnych, stosowane dotychczas w większości przypadków metody *in silico* nie pozwoliły na uzyskanie jednoznacznych informacji.

Gen kodujący apolipoproteinę B zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 2. Obejmuje on około 43 kb i zawiera 29 eksonów. Na matrycy genu *APOB* powstają dwie formy apolipoproteiny B: syntetyzowana w jelicie APOB-48 oraz syntetyzowana w wątrobie APOB-100. APOB-100 jest najdłuższym z dotychczas poznanych pojedynczych łańcuchów polipeptydowych i składa się z 4536 aminokwasów. W przeciwieństwie do opublikowanych licznych mutacji genu *LDLR*, do chwili obecnej, poznano tylko nieliczne mutacje genu *APOB* związanych z rodzinnym defektem apolipoproteiny B-100 (FDB). Wszystkie powyższe zmiany stanowią mutacje punktowe typu *missense* i zlokalizowane są w obrębie eksonu 26 genu *APOB*. Wyniki ostatnich badań wykazały jednakże, że mutacje w innych eksonach genu *APOB* mogą stanowić podłoże genetyczne ADH. Do niedawna, ze względu na wielkość genu, przeprowadzenie analizy molekularnej całej sekwencji kodującej genu *APOB* było praktycznie niemożliwe.

Wyniki ostatnio opublikowanych badań, wykazały obecność mutacji genu *STAP1* u pacjentów z FH. Do dnia dzisiejszego mutacje tego genu opisano zaledwie u kilkunastu probantów z FH w Holandii i Niemczech. W zdecydowanej większości przypadków FH dziedziczona jest w sposób autosomalny dominujący. Jednakże w literaturze opisano również przypadki hipercholesterolemii rodzinnej dziedziczonej w sposób autosomalny recesywny (ARH). Jak dotąd mutacje prowadzące do ARH opisano wyłącznie w genie *LDLRAP1*.

W Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego od wielu lat prowadzone są badania molekularne mające na celu identyfikację mutacji w genach *LDLR*, *APOB* i *PCSK9* u pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną. Dotychczas analizę molekularną, również przy użyciu techniki sekwencjonowania kolejnej generacji (NGS), wykonano u około 2000 probantów oraz członków ich rodzin co pozwoliło na stworzenie jednego z największych na świecie Krajowego Centrum Diagnostyki i Leczenia Hipercholesterolemii Rodzinnej.

Celem niniejszego projektu jest:

1. analiza ekspresji i aktywności wybranych 20 wariantów genetycznych genu *LDLR* przy użyciu badań *in vitro*, a także porównanie uzyskanych wyników z danymi klinicznymi pacjentów,
2. poszukiwanie patogennych wariantów genetycznych w obrębie całej sekwencji kodującej genu *APOB* *STAP1* oraz *LDLRAP1* przy użyciu techniki NGS u 200 pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną, u których dotychczas nie stwierdzono mutacji w genie *LDLR*, *PCSK9* oraz fragmencie eksonu 26 genu *APOB*.

Przeprowadzenie zaplanowanych badań pozwoli na uzyskanie informacji o ewentualnym wpływie zmiany na poziomie DNA na ekspresję i aktywność receptora LDL, a także na ewentualną identyfikację dotychczas nieopisanych wariantów patogennych odpowiedzialnych za ADH. Wyniki uzyskane podczas realizacji tego projektu, oprócz poszerzenia wiedzy dotyczącej patogenezy ADH, wpłyną również na udoskonalenie algorytmu diagnostycznego oraz poradnictwa genetycznego oferowanego probantom oraz członkom ich rodzin.