

Rodzinna heterozygotyczna hipercholesterolemia (HeFH) jest najczęstszą autosomalną dominującą chorobą genetyczną z częstością występowania 1 na 250 osób, charakteryzuje się podwyższonym poziomem cholesterolu LDL prowadzącym do przedwczesnej miażdżycy. Ryzyko choroby sercowo-naczyniowej (CVD) wzrasta co najmniej 10-krotnie u pacjentów z FH. Dlatego niezwykle ważna jest skuteczna terapia hipolipemizująca. Leczenie inhibitorami konwertazy proproteinowej subtylizyny/keksyny typu 9 (PCSK9i) jest zalecane u pacjentów z HeFH bardzo wysokiego ryzyka, jeśli cel leczenia nie został osiągnięty przy zastosowaniu maksymalnej tolerowanej dawki statyny z ezetymibem. Badania wykazały, że zastosowanie PCSK9i skutkowało zmniejszoną śmiertelnością z jakiegokolwiek przyczyny, co może wskazywać, że leki te wykazują właściwości plejotropowe, związane nie tylko ze zmniejszeniem poziomów LDL-C. Najnowsze dane literaturowe dowodzą, że mechanizmy epigenetyczne (czyli takie, które odpowiedzialne są za aktywowanie/wyciszenie ekspresji genów, przy czym zmiany te nie wynikają bezpośrednio z sekwencji DNA), mogą być zaangażowane w zmiany poziomów lipidów, a tym samym mogą wpływać na profil ryzyka sercowo-naczyniowego. Ponadto, na te procesy wpływa również stres oksydacyjny, który jest bardzo niekorzystny dla zdrowia każdego człowieka. Przypuszczamy, że kilka procesów regulujących poziom lipidów jest kontrolowanych właśnie przez mechanizmy epigenetyczne.

Realizacja tego projektu ma na celu identyfikację i weryfikację plejotropowych właściwości PCSK9i związanych z ich wpływem na genom i epigenom człowieka. Głównym celem projektu jest ocena, czy PCSK9i przywracają równowagę epigenomu i zmniejszają uszkodzenia DNA u pacjentów z HeFH. Grupa badana będzie składać się z 40 pacjentów z genetycznym lub klinicznym rozpoznaniem HeFH oraz 40 pacjentów z niskim ryzykiem sercowo-naczyniowym i stężeniem LDL-C (<100 mg/dl). Badania w grupie kontrolnej i badawczej obejmą izolację komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMCs), osocza i surowicy z pełnej krwi obwodowej pacjentów z HeFH (przed i po 6-miesięcznej terapii PCSK9i). Planujemy wykonanie następujących badań na poziomie DNA, RNA i białek wraz z oceną PCSK9i dla tych procesów u pacjentów z HeFH: (1) globalny poziom metylacji DNA (5mC), (2) poziom metylacji oraz (3) oznaczenie ekspresji genów związanych z procesem: metylacji (*DNMT1*, *DNMT3A*), demetylacji (*TET2*, *TET3*) i modyfikacji histonów (*EHMT1*, *EHMT2*, *HDAC3*, *HDAC5*) oraz genów związanych ze stresem oksydacyjnym i poziomem LDL-C (*LOX-1*, *NOS3*, *GSTT1* i *PRDM16*), (4) oznaczenie ekspresji wybranych elementów epigenomu na poziomie białka szczególnie związanej z acetylacją i metylacją histonów (H3ac, H3K4/K9me3, H3K27me3).

Pacjenci z HeFH są od urodzenia narażeni na podwyższone poziomy LDL-C, a ox-LDL może indukować inne szlaki utleniania prowadzące do miażdżycy i zaburzeń sercowo-naczyniowych, jednak poziom uszkodzenia DNA u pacjentów z HeFH nie został jeszcze określony. Nasze wstępne badania wykazały, że uszkodzenia DNA występują u pacjentów z HeFH na poziomie około 20%, a 6-miesięczna terapia hipolipemizująca z PCSK9i zmniejsza uszkodzenia do 12%. Realizacja tego projektu pozwoli na kontynuację badań nad dokładniejszym określeniem poziomu uszkodzeń DNA, w tym uszkodzeń oksydacyjnych puryn i pirymidyn, a także pozwoli na ocenę wpływu PCSK9i na redukcję uszkodzeń DNA. Szczegółowe cele projektu obejmują ocenę następujących parametrów i procesów u pacjentów HeFH oraz wpływu PCSK9i na te procesy: (5) określenie pęknięć pojedynczej/podwójnej nici DNA, (6) oksydacyjne uszkodzenia puryn i pirymidyn, (7) detekcja 8-OHdG, (8) analiza całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza i (9) markerów peroksydacji lipidów takich jak: antyox-LDL, ox-LDL i *PONI*.

Wyniki naszych badań pozwolą zidentyfikować nowe potencjalne właściwości plejotropowe PCSK9i. Biorąc pod uwagę wybraną do badań jednostkę chorobową, nowoczesną terapię hipolipemizującą, analizę uszkodzeń DNA i mechanizmów epigenetycznych oraz innowacyjny charakter badań, nie ulega wątpliwości, że realizacja tego projektu pozwoli na zdobycie nowej wiedzy w zakresie: farmakologii, medycyny, epigenetyki i biologii molekularnej.