LIPOPROTEIN LIPAZA – FIZIOLOŠKE I PATOFIZIOLOŠKE ULOGE TE GENSKE VARIJANTE U HRVATSKOJ POPULACIJI

LIPOPROTEIN LIPASE – PHYSIOLOGICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL ROLES OF THIS GENE VARIANT IN CROATIAN POPULATION

DARIA PAŠALIĆ, ANA STAVLJENIĆ-RUKAVINA*

Deskriptori: Lipoprotein lipaza – fiziologija, metabolizam, genetika; Genski polimorfizam; Mutacija; Populacijska genetika; Hrvatska

Sažetak. Lipoprotein lipaza je enzim koji ima važnu ulogu u hidrolizi triacilglicerola i izmjeni lipida između lipoproteina u cirkulaciji, a može biti neposredno ili posredno povezan s nekoliko patofizioloških stanja. Do danas je u literaturi opisano više od stotinu različitih genskih varijanti lipoprotein lipaze. Gen za lipoprotein lipazu uočen je kao jedan od čimbenika uključenih u patogenezu hipertrigliceridemije, koronarne bolesti srca te pankreatitisa. U hrvatskoj populaciji opisane su genske varijante -93T/G, D9N, V108V, N291S, S447X, Pvu II i Hind III. Vrlo važan doprinos nosi otkriće prve prave mutacije koja je bila uzrokom nasljedne obiteljske hipertrigliceridemije, W86R, što bi moglo usmjeriti u budućnosti molekularnu dijagnostiku hipertrigliceridemije, kao i otkriti potpuno nove mutacije. Literaturni podaci o učestalosti genskih varijanti u genu za lipoprotein lipazu, kao i njihov utjecaj na lipidni profil mogu unaprijediti diferencijalnu dijagnostiku hipertrigliceridemija, kao i medicinsku praksu u prevenciji i liječenju.

Descriptors: Lipoprotein lipase – physiology, metabolism, genetics; Polymorphysm, genetic; Mutation; Genetics, population; Croatia

Summary. Lipoprotein lipase is a key enzyme in hydrolysis of triglyceride and exchange of lipids between lipoproteins in circulation. It has also been found for lipoprotein lipase to play key roles in number of pathophysiological conditions. Over hundred different lipoprotein lipase gene variants have been described in the literature. Lipoprotein lipase gene has been observed as a key factor involved in the pathogenesis of hypertriglyceridemia, coronary heart disease and pancreatitis. In Croatian population the following gene variants have been described: -93T/G, D9N, V108V, N291S, S447X, Pvu II i Hind III. The most important finding was the first mutation W86R which caused familial hypertriglyceridemia. The investigation of mutations and polymorphisms may open the new directions for molecular diagnostics of hypertriglyceridemia and help us recognize the new mutations. Differential diagnosis of hypertriglyceridemia and medical practice involved in their prevention and treatment may be improved by knowing the frequency of lipoprotein lipase gene variants as well as their influence on lipid profile.

Liječ Vjesn 2007;129:32–38

Lipoprotein lipazu (LPL) otkrio je prije 60 godina Hahn[1] kada je primjenom injekcije heparina uočio smanjenje lipemije nakon obroka. Spoznajom takvog učinka pretpostavilo se kako postoji čimbenik-»čistač« koji se oslobađa s pomoću heparina te je stoga nazvan »čimbenik čistač lipaza«.[2] Aktivnost tog čimbenika otkrivena je u različitim ekstrahepatičkim tkivima, uključujući skeletne mišiće, srce, masno tkivo, pluća i mliječne žlijezde u laktaciji.[3] Kada je 1966. godine otkriveno da je apolipoprotein C-II (apo C-II) u sastavu lipoproteina velike (HDL) i lipoproteina vrlo male gustoće (VLDL) važan sučimbenik/aktivator za djelovanje enzima, »čimbenik čistač lipaza« preimenovan je u lipoprotein lipazu,[4] a prema međunarodnoj nomenklaturi Udruge za biokemiju i molekularnu biologiju EC 3.1.1.34; LPL.[5] Enzim ima važnu ulogu u prijenosu i metabolizmu lipida.

Posljednja dva desetljeća istraživanja LPL-a rasvijetlila su strukturu proteina, gensku osnovu, sintetske i regulacijske putove, ali i neke nove uloge tog proteina. Naime, sada je poznato da protein ima mogućnost istodobnog vezanja lipoproteina i staničnih receptora/proteoglikana, a to je zapravo nekatalitička uloga proteina koja mu omogućava nakupljanje i unos lipoproteina u stanicu.[6] Pokazalo se da LPL osim ključne uloge u različitim fiziološkim uvjetima pokazuje važnu ulogu i pri različitim patofizioloških stanjima, uključujući u to smanjen izražaj i funkciju enzima, aterogenezu, pretilost, dijabetes, hilomikronemiju, pankreatitis, Alzheimerovu bolest i kaheksiju.[6]

Glavna mjesta sinteze LPL-a su masno tkivo, srčani i skeletni mišić, ali se sinteza u manjoj mjeri zbiva i u makrofazima, zatim u stanicama koje sintetiziraju hormone u nadbubrežnoj žlijezdi i jajnicima, nekim živčanim stanicama, torakalnoj aorti, slezeni, testisima, plućima i bubrezima.[6] Za vrijeme fetalnog razvoja LPL sintetiziraju i jetrene stanice, međutim ubrzo nakon rođenja ova se sinteza zaustavlja.[7]

Na ljudskome genu za LPL do danas je otkriveno više od 100 različitih mutacija od kojih su neke vrlo rijetke, a neke imaju obilježje polimorfizma i učestale su u populaciji.[8] Sustavnim istraživanjem gena za LPL u Hrvatskoj ispitano je postojanje genskih varijanti u različitim kliničkim skupinama čime je dokazana učestalost poznatih mutacija, ali su se nastojale otkriti i nove.[9–12] Te su mutacije uspoređene s drugim europskim i svjetskim populacijama te je ispitan njihov učinak na razvoj nekih patofizioloških stanja kao što su koronarna bolest srca (KBS),[10,12] hiperlipidemije[9] i pankreatitis.[12] Polimorfizmi gena za lipoprotein lipazu nađeni i ispitivani u hrvatskoj populaciji jesu -93T/G, D9N, 108V,

* **Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu** (dr. sc. Daria Pašalić, dr. med.; prof. dr. sc. Ana Stavljenić-Rukavina, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. D. Pašalić, Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3, 10 000 Zagreb, e-mail: daria.pasalic@mef.hr

Primljeno 20. rujna 2005., prihvaćeno 5. srpnja 2006.

N291S, S447X, Pvu II i Hind III. Osim toga nađene su jedna prava mutacija W86R i jedna tiha mutacija V108V.[11]

Fiziološke uloge LPL-a i metabolizam lipoproteina

Temeljne fiziološke uloge LPL-a su egzogeni i endogeni metabolizam lipoproteina te povratni prijenos kolesterola. LPL je enzim koji ima važnu ulogu u hidrolizi triacilglicerola (TG) iz hilomikrona i VLDL-a u cirkulaciji, a također potiče izmjenu lipida između VLDL-a i HDL-a, tj. u prvom redu kolesterola i TG-a.[13] Hilomikroni su dobili naziv po izrazu »chyle« – mliječnoj tekućini sastavljenoj od limfe i masti, koja nastaje u tankom crijevu pri probavi masti. Sami hilomikroni nastaju u limfnom sustavu i odgovorni su samo za apsorpciju i prijenos lipida iz hrane u cirkulaciju. Većina VLDL-a plazme nastaje u jetrima i odgovorni su za transport TG-a iz jetara do perifernih tkiva. Postoje mnoge sličnosti u stvaranju, ali i u razgradnji hilomikrona i VLDL-a.[14]

Sinteza lipoproteina bogatih TG-om započinje sintezom apo B. Apo B (B-48 kod hilomikrona i B-100 kod VLDL-a) sintetizira se na ribosomima endoplazmatske mrežice i ulazi u sastav lipoproteina na glatkoj endoplazmatskoj mrežici, koji je glavno mjesto sinteze TG-a.[13,14] Prolaskom kroz Golgijev aparat lipoproteinima se dodaju šećerni ostaci. Hilomikroni i VLDL se oslobađaju iz crijevnih ili iz jetrenih stanica stapanjem sekrecijskih vakuola i stanične membrane. VLDL izlučuju se u krvnu cirkulaciju, dok hilomikroni zbog svoje veličine najprije ulaze u limfni sustav, a tek zatim u krv. Novosintetizirani hilomikroni i VLDL sadržavaju vrlo malo apo C-II, aktivatora LPL-a i apo E, liganda za jetrene receptore. Ušavši u cirkulaciju ovi lipoproteini primaju od HDL-a dovoljne količine apo C-II i apo E te tako postaju zrele čestice. Zrele čestice hilomikrona i VLDL vrlo brzo se uklanjaju iz cirkulacije, a metaboliziraju se uz pomoć LPL-a koji razgrađuje njihovu najzastupljeniju komponentu, TG. LPL je vezan uz stijenku krvnih kapilara preko negativno nabijenih lanaca proteoglikana heparan-sulfata. Kao sučimbenici za aktivnost lipoprotein lipaze služe fosfolipidi i apo C-II. Hidroliza TG-a zbiva se kada su lipoproteini vezani za enzim na endotelu. Pri tome nastaju 2-monoacilglicerol i slobodne masne kiseline. Slobodne masne kiseline izvor su energije za rad mišića ili se skladište u masnom tkivu i jetrima. Djelovanjem LPL-a gubi se gotovo 90% TG-a iz hilomikrona, dok se apo C-II potpuno vraća na HDL. Slične se promjene događaju na VLDL-česticama pa nastaju ostatni VLDL ili IDL (lipoproteini srednje gustoće). Ostatne čestice hilomikrona uklanjaju se u jetrima, a ostatni VLDL u jetrima ili se preko IDL prevodi u LDL (lipoproteine male gustoće). Ostatni hilomikroni ulaze u jetra endocitozom uz pomoć apo E-receptora gdje se preostali esteri kolesterola i TG-a hidroliziraju uz pomoć jetrene lipaze. Postoje dokazi koji upućuju na to da su i LDL-receptor (koji prepoznaje apo B-100 i apo E) i ostatni receptor specifičan za apo E odgovorni za unos ostatnih čestica.

HDL se sintetizira i luči iz jetara i tankog crijeva. Temeljna uloga HDL-a je prijenos dovoljnih količina apo E i apo C-II na hilomikrone i VLDL kako bi se omogućio njihov metabolizam. Novosintetizirani HDL sastoji se od diskoidalnoga fosfolipidnog dvosloja koji sadržava još apo A-I i slobodni kolesterol. Katalitičkim djelovanjem enzima LCAT (lecitin-kolesterol-acil-transferaza) prevode se površinski fosfolipidi i slobodni kolesterol u estere kolesterola i lizolecitin.[13] Nepolarni esteri kolesterola ulaze u hidrofobnu unutrašnjost lipidnog dvosloja, a lizolecitin se prenosi na albumine u plazmi. Premda još nije dokazano postojanje receptora za HDL- ili apo A-I na jetrima, činjenica je da su konačno mjesto razgradnje HDL-kolesterola upravo jetra. Uklanjanjem HDL-kolesterola u jetrima HDL postaju ponovo siromašnije esterima kolesterola (HDL_3). HDL_3 može ponovo preuzeti kolesterol od drugih čestica i esterificirati se te prijeći u HDL_2 koji uklanja veće količine estera kolesterola iz cirkulacije. Količina HDL-čestica se mijenja obrnuto razmjerno s koncentracijom triacilglicerola i izravno s aktivnošću LPL-a.[15] Tako LPL ima posredan učinak na povratni transport kolesterola jer će manjak LPL-aktivnosti zbog povećanja TG-a smanjiti količinu HDL-čestica.

LPL ima i nekatalitičku ulogu premošćivanja koju pokazuje pri istodobnom vezanju lipoproteina i specifičnih staničnih površinskih proteina kao što su heparan-sulfat proteoglikani, LDL-receptor, proteini slični LDL-receptoru, VLDL-receptor i apo E-receptor.[14,16,17] Ovakva međudjelovanja dovode do nakupljanja lipoproteina i njihova unosa u stanicu. Primjerice, pokazano je da LPL djeluje kao monocitni athezijski protein, stvarajući most između heparan-sulfat proteoglikana na površini monocita i endotelnih stanica arterija.[18] Osim toga, dokazano je da LPL potiče proliferaciju glatkih mišićnih stanica krvnih žila.[19] LPL uz to izravno potiče izražaj gena za tumorski nekrotični čimbenik α,[20] djeluje sinergistički s interferonom γ u potpori izražaja NO-sintaze iz makrofaga,[21] aktivira endotelnu NADPH-oksidazu[22] i reducira lučenje apo E.[23]

Patofiziološka uloga LPL-a

LPL kao središnji enzim u metabolizmu lipoproteina neposredno je ili posredno povezan s nekoliko patofizioloških stanja koja obuhvaćaju izraženu hipertrigliceridemiju, podrazumijevajući i hilomikronemiju, kaheksiju, neosjetljivost prema inzulinu i diabetes mellitus, pretilost te aterosklerozu.[6]

Temeljna osobina sindroma hilomikronemije važna je hipertrigliceridemija u stanju gladovanja (TG≥15 mmol/L).[24] Hilomikroni se pojavljuju u cirkulaciji kao odgovor na unos masti hranom, a uklanjaju se iz cirkulacije najviše 8–10 sati nakon obroka.[25] Prema Fredricksonovoj podjeli[26] poremećaji metabolizma lipoproteina svrstani su u pet skupina, na osnovi koncentracije i elektroforetskih profila lipoproteina plazme te njihova utjecaja na kliničku sliku. Tako je hilomikronemija prisutna kod tipa I i tipa V. Tip I je prema definiciji genski poremećaj koji nastaje kao posljedica manjka aktivnosti LPL-a zbog kojeg su u fazi gladovanja hilomikroni prevladavajuće lipoproteinske čestice (obiteljska hilomikronemija). Ovaj tip nastaje kao posljedica rijetkih nasljednih poremećaja koji dovode do manjka enzimske aktivnosti LPL-a, a uključuju mutacije gena za LPL ili gena za apo C II, aktivatora LPL-a.[24] Kod tipa V povećani su i endogeni i egzogeni TG, tj. i hilomikroni i VLDL kao posljedica genskih poremećaja, ali i brojnih drugih čimbenika (obiteljska kombinirana hipertrigliceridemija).[27] Hilomikronemija postaje složenija i zbog dodatnih simptoma bolesti kao što su abdominalna bol s pankreatitisom ili bez njega, lipemija rožnice i eruptivni ksantomi.[28]

Najčešći uzročnici akutnog pankreatitisa su žučni kamenci i alkoholizam, a znatno rjeđe hiperlipidemija, hiperkalcemija, virusne infekcije i ishemija.[29] Na koji način ti čimbenici aktiviraju enzime u tkivu pankreasa još nije razjašnjeno. Točan uzrok pojave pankreatitisa i ponavljane trbušne boli kod hipertrigliceridemije također je nepoznat, iako je vezan uz povišene vrijednosti TG.[26] Pretpostavlja se

da upala pankreasa može biti posljedica podražaja masnim kiselinama i lizolecitinima oslobođenim u većim količinama djelovanjem pankreasne lipaze na hilomikrone u krvnim kapilarama.[30] Takvu mogućnost potvrđuje činjenica o znatnom povišenju koncentracije lizofosfatidilkolina u plazmi ispitanika s hilomikronemijom.[31] Trudnoća može razotkriti do tada nepoznati nedostatak LPL-a i dovesti takve ispitanice u povećan rizik od pankreatitisa, osobito za vrijeme drugog i trećeg tromjesečja kada je povećan nastanak VLDL-a.[32] Oralni kontraceptivi, osobito estrogenski, kao i unos alkohola mogu također povećati rizik od pankreatitisa.[30,33] Česta pojava akutnog pankreatitisa može dovesti i do kroničnog oblika bolesti uz razvijanje malapsorpcije masti i diabetesa mellitusa.[34] Unatoč svim objašnjenjima teško je predvidjeti je li hipertrigliceridemija uzrok ili posljedica pankreatitisa[35] zato što se procjena hiperlipidemije najčešće provodi nakon akutne faze upale, gladovanja i već započetog liječenja.

Ateroskleroza je glavni uzrok srčanog i moždanog udara te bolesti perifernih krvnih žila i na prvom je mjestu kao uzrok smrtnosti i u većini svjetskih populacija[6] i u Hrvatskoj.[36] Bolest se može u osnovi opisati kao kronični upalni proces koji je potaknut nakupljanjem lipida u cirkulaciji.[37,38] Složene je etiopatogeneze koja uključuje više okolišnih i genskih čimbenika.[39,40] Sam proces ateroskleroze započinje oštećenjem endotelnih stanica arterija, čime se povećava njihovo prianjanje i lučenje čimbenika kemotaksije, a kao posljedica toga dolazi do infiltracije T-limfocita i monocita na mjestu oštećenja.[37,38] Monociti se zatim diferenciraju u makrofage te se prihvaćanjem lipoproteina prevode u tzv. pjenaste stanice koje stvaraju masne pruge uočene u ranim oštećenjima.[38] Vjerojatno je da LPL kao enzim koji ima važnu ulogu pri prijenosu i metabolizmu lipoproteina, može posredno pridonijeti patogenezi ateroskleroze.

Spoznaje o fiziološkim i patofiziološkim učincima LPL-a, u smislu uloge enzima u metabolizmu lipoproteina i aterogenezi, mogu se tumačiti na dva potpuno suprotna načina u smislu proaterogenskog i ateroprotektivnog učinka.[13] Teza proaterogenskog učinka je dosta ograničena, a potvrđuje ju činjenica da su neka klinička ispitivanja pokazala aterogenski učinak malih ostatnih hilomikrona i ostatnih VLDL-a,[41] što je potvrđeno istraživanjima na makrofagnom LPL-u.[42] Ova je teorija dosta složena jer uključuje i nekatalitičko djelovanje enzima na lipoproteine kao što je premošćivanje i probirni unos estera kolesterola. Tako je proaterogenska aktivnost makrofagnog LPL-a temeljena jedino na činjenici da uklanjanje gena za LPL u makrofazima dovodi do smanjenja aterosklerotskih oštećenja. S druge pak strane ateroprotektivna uloga LPL-a dobro je zabilježena i temelji se samo na katalitičkoj aktivnosti LPL-a. Temeljem danas dobro poznate zaštitne uloge HDL-čestica može se objasniti ateroprotektivni učinak LPL-a. Naime, kako LPL smanjuje koncentraciju triacilglicerola u cirkulaciji, ograničava se smanjenje HDL-kolesterola koje dovodi do porasta udjela triacilglicerola u HDL-u.[13] HDL obogaćen triacilglicerolom dobar je supstrat za jetrenu lipazu te se pojačano uklanja iz cirkulacije.[43]

Struktura enzima LPL-a

Protein LPL je glikozilirani dimer, uključen u različita molekularna međudjelovanja. To podrazumijeva međudjelovanje s lipidno-vodenim površinama, njegovim sučimbenikom apo C-II, heparan-sulfat-proteoglikanima, molekulama supstrata u aktivnom centru i specifičnim lipoproteinskim receptorima.[6,44]

Kako bi se procijenila trodimenzionalna struktura LPL-a korištene su koordinate trodimenzionalne strukture lipaze iz gušterače koja je otkrivena kristalografskom metodom.[45,46] To je istraživanje pokazalo da se LPL sastoji od dviju strukturnih domena, tj. veće pri aminokraju (aminokiselinski ostaci 1-312) i manje pri karboksikraju (aminokiselinski ostaci 313-448). Domena na C-kraju veže lipoproteinske supstrate, dok domena na N-kraju ima katalitičku ulogu. Funkcionalna mjesta LPL-a su: aminokiselinski slijed koji ima ulogu međudjelovanja s apo C II, mjesto za vezanje na membranski vezani heparan sulfat, katalitičko mjesto, mjesto koje potiče međudjelovanje s drugim glikoproteinima u svrhu stvaranja aktivnog dimera te površinsko vezno mjesto lipida.[47]

Struktura gena za LPL

LPL je član takozvane lipazne superporodice koju čine jetrena lipaza, lipaza iz gušterače i LPL.[24] Ljudski gen za LPL veličine je ~30 kilobaza, a nalazi se na kraćem kraku kromosoma 8. Sastoji se od 10 eksona. Ekson 1 predstavlja područje na 5'-kraju koje se ne prepisuje u aminokiselinski slijed te signalni peptid, dok ekson 10 predstavlja cjelokupno područje na 3'-kraju koje se ne prepisuje.[48,49] Prevođenjem genske upute nastaje protein od 475 aminokiselina. Prvih 27 aminokiselina čini signalni peptid. Zreli protein sadržava 448 aminokiselina.[48] Prve dvije aminokiseline zrelog proteina ujedno su i zadnje dvije koje kodira prvi ekson, a zaostaju nakon odcjepljivanja signalnog peptida (Ala^1 i Asp^2). Slijede redom: drugi ekson duljine 162 bp, kodira 54 aminokiseline (Gln^3 do Thr^{56}); treći ekson duljine 180 bp, kodira 60 aminokiselina (Val^{57} do Glu^{116}); četvrti ekson duljine 111 bp, kodira 37 aminokiselina (Glu^{117} do Thr^{153}); peti ekson duljine 234 bp, kodira 78 aminokiselina (Gly^{154} do Gly^{231}); šesti ekson duljine 243 bp, kodira 81 aminokiselinu (Asp^{232} do Lys^{312}); sedmi ekson duljine 120 bp, kodira 40 aminokiselina (Val^{313} do Thr^{352}); osmi ekson duljine 183 bp, kodira 61 aminokiselinu (Leu^{353} do Lys^{413}); deveti ekson duljine 105 bp, kodira 35 aminokiselina (Lys^{414} do Gly^{448}). Posljednji 449. je završni kodon (TGA). mRNA za LPL postoji u dva izooblika kod čovjeka (3,75 kb i 3,35 kb) jer postoje dva moguća završna poliadenilacijska mjesta na LPL mRNA. Uz jedno glavno mjesto za početak prepisivanja gena za LPL na 5'-kraju nalaze se dijelovi nukleotidnog slijeda odgovorni za učinak glukokortikoida, cAMP, Ca-iona i specifičnih pojačivačkih motiva masnih stanica.

Genske varijante LPL-a i njihova učestalost

Sve što u nukleotidnom slijedu nekoga gena odstupa od učestaloga nazivamo genskom varijantom. Slično kao i kod drugih gena uključenih u metabolizam lipida čovjeka, brojne su funkcionalne genske varijante LPL-a utvrđene kod pojedinaca s hiperlipidemijama, a povezuju se s prethodno navedenim patofiziološkim stanjima.[8,24,28] Na ljudskom genu za LPL do danas je otkriveno više od 100 različitih mutacija od kojih su neke vrlo rijetke mutacije, a neke imaju obilježje polimorfizma i učestale su u populaciji. Nemaju sve mutacije isti učinak na ulogu LPL-a. Katalitička aktivnost, lučenje ili vezanje heparina, mijenjaju se pojedinačno ili zajedno.[17] To je vjerojatno posljedica multifunkcionalne prirode proteina i raspodjele različitih funkcionalnih domena po različitim strukturnim domenama. Stoga se mutacije i polimorfizmi različito odražavaju na kliničku sliku bolesnika. Prema najnovijim preglednim podatcima[8] do danas je utvrđeno: 61 »missense« mutacija, 12 »nonsence« muta-

cija, 10 mutacija s pomakom okvira čitanja ili malih insercija/delecija, 3 velike mutacije, 8 mutacija povezanih s prekrajanjem mRNA i 4 promotorska polimorfizma. Genske varijante nukleotidnog slijeda koji se ne prepisuje u aminokiselinski slijed također mogu djelovati na kvalitetu mRNA i na kliničku sliku.[24] Stoga genske varijante na intronima mogu djelovati na sazrijevanje mRNA, njezinu veličinu ili mogućnost prevođenja, dok varijante na 5' i 3-kraju nukleotidnog slijeda koji se ne prepisuje u aminokiselinski slijed mogu utjecati na početak prepisivanja, poliadenilacijsko mjesto i druge regulacijske elemente.[24] Analizom cjelokupnoga nukleotidnog slijeda DNA za LPL, duljine 9,7 kb od 3'-kraja trećeg introna do 5'-kraja devetog introna pronađeno je 88 genskih varijanti, većinom u nukleotidnom slijedu koji se ne prepisuje u aminokiseline (njih 81), a od toga je 79 nukleotidnih supstitucija i 9 pomaka okvira čitanja.[50]

Obiteljski nedostatak aktivnosti LPL-a, nastao kao primarni genski poremećaj LPL, vrlo je rijetka bolest, a nasljeđuje se autosomno-recesivno.[51] Učestalost pojave homozigota u populaciji je 1 na milijun i nije spolno ovisna.[51] Pri tome treba naglasiti da postoje populacije u kojima je taj poremećaj, kao npr. kod Kanađana francuskog podrijetla, znatno učestaliji (1 na 40).[52] Međutim samo tri mutacije od svih do danas zabilježenih čine 97% slučajeva u francuskih Kanađana iz pokrajine Quebec, i to G188E (Gly188Glu), P207L (Pro207Leu) i D250N (Asp250Asn).[52] Heterozigotni nositelji LPL-mutacija su u pogledu hilomikronemije i drugih kliničkih simptoma najčešće asimptomatični i uglavnom se otkriju slučajno.[24]

Varijante gena za LPL u hrvatskoj populaciji i njihovo kliničko-biokemijsko značenje (slika 1)

Polimorfizmi ispitani na različitim kliničkim skupinama odabranim iz hrvatske populacije koji uključuju -93T/G, Pvu II i Hind III, nalaze se na nukleotidnom slijedu gena za LPL koji se ne prepisuje u aminokiselinski slijed. Genske varijante nukleotidnog slijeda koji se prepisuje u aminokiselinski slijed mogu se podijeliti na polimorfizme (oni čija je učestalost u općoj populaciji veća od 1%) i prave mutacije (učestalost manja od 1%). U hrvatskoj populaciji ispitani su sljedeći polimorfizmi: D9N, N291S i S447X. Pronađena je također jedna prava mutacija W86R te jedna tiha mutacija V108V.

Polimorfizam -93T/G

-93T/G jedna je od genskih varijanti nukleotidnog slijeda promotorskog područja gena za LPL. Pokazalo se da povećava promotorsku aktivnost.[53] Ispitivanja su pokazala da su u ispitanika s -93G-alelom TG nešto nižih vrijednosti.[54] Učestalost ovoga genskog lokusa u hrvatskoj populaciji iznosi 2%,[10] što je slično kao u većine bjelačkih populacija.[53,54] Nasuprot tomu utvrđeno je da se učestalost značajno razlikuje između različitih rasnih skupina ispitanika, tj. bijelaca, afričkih crnaca i Azijata.[53] Bijelci naime imaju najmanju, dok crnci imaju najveću učestalost ove mutacije. Nositelji -93 G-alela u hrvatskoj populaciji s KBS-om (N=464) imali su snižene koncentracije HDL_2-kolesterola i apolipoproteina A I.

Pvu II polimorfizam

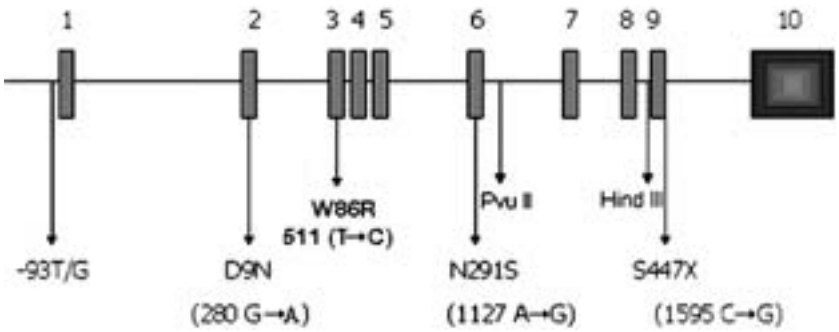
Pvu II također je jedna od genskih varijanti nukleotidnog slijeda u 6. intronu LPL-gena, a udaljena je 1,57 kb od prihvatnog mjesta izrezivanja.[55] Radi se o zamjeni nukleotida C→T. Takvom zamjenom veznog mjesta nastaje slijed koji prepoznaje i cijepa enzim restrikcijska endonukleaza Pvu II. Brojna su ispitivanja u različitim populacijama pokazala povezanost hipertrigliceridemije s Pvu II-polimorfizmom, a katkad i s KBS-om.[9,56] Pokazalo se da nositelji Pvu II-TT-genotipa imaju više vrijednosti koncentracije TG-a u hrvatskih ispitanika s hipertrigliceridemijom (N=116).[9] Učestalost ovog polimorfizma ne razlikuje se između zdravih ispitanika (N=98) i onih s KBS-om (N=132) ili pankreatitisom (N=73) u hrvatskoj populaciji.[12,57]

Hind III-polimorfizam

Hind III je genska varijanta u osmom intronu, udaljena 495 bp od davateljskog mjesta izrezivanja.[58] Zamjena nukleotida C→G omogućava cijepanje s pomoću restrikcijske endonukleaze Hind III te se povezuje s povišenim vrijednostima TG-a, sniženim vrijednostima HDL-kolesterola, povećanim rizikom od infarkta srčanog mišića, ali i populacijskim razlikama u pogledu kliničkih i biokemijskih parametara.[53] Ovaj se polimorfizam pokazao neovisnim čimbenikom rizika za KBS u ispitanika koji su podvrgnuti zahvatu premošćivanja srčanih arterija.[59] Istraživanje utjecaja ovog genotipa u hrvatskoj populaciji nije pokazalo značajne razlike učestalosti genotipova zdravih ispitanika (N=98) u odnosu na ispitanike s KBS (N=132) i pankreatitisom (N=73), kao ni utjecaj na lipidni profil u bilo kojoj od navedenih skupina ispitanika.[12,57]

D9N-polimorfizam (Asp9Asn)

D9N je genska varijanta 2. eksona gena za LPL. Homozigoti s ovom mutacijom nemaju hilomikronemiju jer se pokazalo da ova mutacija samo smanjuje enzimsku aktivnost LPL-a, i to za oko 20%.[60,61] Povezuje se s hipertrigliceridemijom, niskim HDL-kolesterolom te povećanim rizikom od KBS, osobito u kombinaciji s drugim čimbenicima rizika.[62–64] Analizom katalitičke uloge, transfekcijom na COS-stanicama, uočeno je da ova genska varijanta pokazuje značajno smanjenje katalitičke aktivnosti, ali samo kao posljedica smanjenog lučenja enzima, dok je homodimerni



Slika 1. *Shematski prikaz gena za lipoprotein lipazu i genske varijante nađene u hrvatskoj populaciji*
Figure 1. *Schematic presentation of gene for lipoprotein lipase and gene variants found in Croatian population*

oblik enzima stabilan.[60] LPL-D9N-polimorfizam je u gotovo potpunoj neravnotežnoj usporedivosti s -93T/G-polimorfizmom u različitih etničkih skupina,[53] dok se u našem istraživanju pacijenata s KBS-om pokazala potpuna neravnoteža usporedivosti tih dvaju polimorfizama.[10] Neke studije koje uključuju europsku i kanadsku populaciju s hipertrigliceridemijom pokazale su da je N-alel D9N genske varijante učestaliji kod ispitanika s hipertriglicetridemijom.[65] Ispitivanje na velikoj skupini američkih veterana pokazalo je da je N9-alel učestaliji u ispitanika koji boluju od KBS-a te imaju niske koncentracije HDL-kolesterola u odnosu na skupinu s normalnim HDL-kolesterolom i bez KBS-a.[66] U hrvatskih ispitanika s KBS-om (N=464) uočen je značajan utjecaj rjeđeg N9-alela na smanjenje koncentracije HDL_2-kolesterola i apolipoproteina A-I, kao i kod -93T/G polimorfizma zbog njihove neravnotežne usporedivosti.[10]

N291S-polimorfizam (Asn291Ser)

N291S je genska varijanta 6. eksona gena za LPL, koja može, obično u kombinaciji s drugim genskim varijantama, dovesti do hilomikronemije. Analizom katalitičke uloge uočeno je da ova varijanta smanjuje katalitičku aktivnost zbog smanjenog lučenja enzima, ali zadržava stabilnost aktivnog homodimernog oblika enzima.[60] Stoga može dovesti do povećanja TG-a i smanjenja HDL-kolesterola. Ispitivanje učinka N291S genske varijante multivarijantnom analizom na populaciji Nizozemaca s KBS-om (REGRESS studija) pokazalo je neovisan učinak na razinu triacilglicerola u krvi.[67] Premda u općoj populaciji ova mutacija ne utječe na razvoj KBS-a, pokazalo se da ispitanici s kombiniranom obiteljskom hiperlipoproteinemijom imaju povećan rizik od KBS-a više od 3 puta.[68] Iako ispitivanja na hrvatskoj populaciji nisu pokazala utjecaj ovog polimorfizma na promjene lipidnog profila ispitanika, rezultati su pokazali značajno veći rizik od KBS-a u ispitanika s 291S-alelom.[10]

S447X-polimorfizam (Ser447Ter)

S447X genska varijanta pokazuje normalnu katalitičku aktivnost i normalnu stabilnost homodimera.[60] Osim toga ova »kraća« varijanta pokazuje čak i više vrijednosti izlučene mase negoli kontrolni LPL. To se događa zahvaljujući povećanom lučenju monomernog oblika. Stoga su neke studije pokazale smanjenje koncentracije TG-a i povećanje HDL-kolesterola te smanjeni rizik od ishemijske srčane bolesti.[60,69] Ispitivanja na hrvatskoj populaciji dala su slične rezultate. Iako se učestalost genotipova polimorfizma S447X ne razlikuje značajno pri usporedbi ispitanika s KBS-om i onih iz zdrave populacije,[10] pokazalo se da ispitanici s KBS-om i povišenim koncentracijama triacilglicerola (N=132) imaju značajno manju učestalost 447X alela u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika (N=98).[11] Usporedbom učinka različitih genskih varijanti na lipidni profil uočeno je da S447X ima najizraženiji učinak.[70] Kako je niz kliničkih studija pokazao da 447X genska varijanta lipoprotein lipaze ima zaštitnu ulogu od ateroskleroze[71] te da snižava vrijednosti koncentracija triacilglicerola, ispitane su i mogućnosti genske terapije obiteljske hipertrigliceridemije.[72]

Mutacija W86R (Trp86R)

Ova genska varijanta prva je prava mutacija gena za LPL utvrđena u ispitanika iz hrvatske populacije.

U mutacije nukleotidnog slijeda, koji se prepisuje u aminokiselinski slijed, možemo uvrstiti niz mutacija koje značajno smanjuju enzimsku aktivnost i masu izlučenog enzima. Njihova je učestalost u općoj populaciji malena, ali su najčešće specifične i učestalije za neke manje populacije, kao što je slučaj s populacijom Kanađana francuskog podrijetla ili sjevernih Europljana.[24] Uočeno je da najučestalija G188E-mutacija povećava koncentraciju TG-a za 80% i znatno smanjuje HDL.[69] Iako su neka ispitivanja pokazala da ova mutacija povećava relativni rizik od KBS-a i do 5 puta, broj nositelja ove mutacije vrlo je nizak.[24,73] U hrvatskoj populaciji nađena je jedna prava mutacija na 3. eksonu gena za lipoprotein lipazu W86R, koja nastaje zbog promjene u kodonu TGG u CGG.[11] *In vitro* izražaj divljeg tipa i mutiranog LPL-a u COS-stanicama[74] pokazao je potpuni gubitak enzimske aktivnosti. Mutacija je pronađena nakon genske analize krvi obitelji petogodišnjeg dječaka kojemu je već u perinatalnoj dobi ustanovljena hilomikronemija, učestale boli u trbuhu i eruptivni ksantomi – simptomi koji se javljaju kod obiteljske hilomikronemije. Dječak je bio homozigot, a roditelji heterozigoti za W86R-mutaciju u genu za LPL. To je prema našim spoznajama jedini slučaj homozigota za mutaciju W86R do sada prikazan u znanstvenoj literaturi. Prethodno su naime otkrivena i opisana dva slučaja, ali samo u heterozigotnom obliku, na jednom engleskom[74] i jednom američkom ispitaniku.[75]

Tiha mutacija V108V

Ova tiha mutacija otkrivena je slučajno u oca obitelji s W86R-mutacijom prilikom analize nukleotidnog slijeda trećeg eksona gena za lipoprotein lipazu. V108V (GTG→GTA) tiha je mutacija koja je prvi put zabilježena u dvjema od 20 ispitanih obitelji s obiteljskom kombiniranom hiperlipoproteinemijom.[76] Do danas, prema našim spoznajama, postoje jedino podatci o učestalosti ove mutacije za bijelce hispanskog i nehispanskog podrijetla, koji iznose 5,16%, odnosno 9,85%.77 Učestalost ove mutacije nije ispitana na našoj populaciji jer dosadašnji literaturni podaci nisu pokazali povezanost s promjenama lipidnog profila u ispitanika ili značajnu povezanost ove mutacije s nekom od patobiokemijskih uloga lipoprotein lipaze.

Zaključak

Temeljne fiziološke uloge LPL-a su egzogeni i endogeni metabolizam lipoproteina te povratni transport kolesterola. Gen za lipoprotein lipazu uočen je kao jedan od čimbenika koji je uključen u patogenezu hipertrigliceridemije, koronarne bolesti srca te pankreatitisa. Slično kao i kod drugih gena djelatnih u metabolizmu lipida čovjeka, brojne su funkcionalne genske varijante LPL-a utvrđene kod pojedinaca s hiperlipidemijama, a povezuju se s navedenim patofiziološkim stanjima. Na ljudskom genu za LPL do danas je otkriveno više od 100 različitih mutacija od kojih su neke vrlo rijetke, a neke imaju obilježje polimorfizma i učestale su u populaciji. Nemaju sve mutacije isti učinak na ulogu LPL-a. Neke mijenjaju katalitičku aktivnost, lučenje ili vezanje heparina. Do danas je u literaturi opisano više od stotinu različitih genskih varijanti lipoprotein lipaze. Gen za lipoprotein lipazu uočen je kao jedan od čimbenika koji je uključen u patogenezu hipertrigliceridemije, koronarne bolesti srca te pankreatitisa. U hrvatskoj populaciji opisane su genske varijante -93T/G, D9N, V108V, N291S, S447X, Pvu II i Hind III. Vrlo važan doprinos nosi otkriće prve prave mutacija koja je bila uzrokom nasljedne obiteljske hipertrigliceridemije, W86R, što bi moglo usmjeriti u budućnosti molekularnu dijagnostiku hipertrigliceridemije, kao i otkriti pot-

puno nove mutacije. Literaturni podaci o učestalosti genskih varijanti u genu za lipoprotein lipazu, kao i njihov utjecaj na lipidni profil mogu unaprijediti diferencijalnu dijagnostiku hipertrigliceridemija i medicinsku praksu u prevenciji i liječenju.

LITERATURA

1. *Hahn PF.* Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. Science 1943;98:19–20.
2. *Afinsen CF, Boyle B, Brown RK.* The role of heparin in lipoprotein lipase metabolism. Science 1952;115:583–6.
3. *Borensztajn J.* Lipoprotein lipase. Chicago: Evener Publishers, Inc.; 1987.
4. *Scanu A.* Serum high-density lipoprotein: effect of change in structure on activity of chicken adipose tissue lipase. Science 1966;153:640–1.
5. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. London: Enzyme Nomenclature (NC-IUBMB). Dostupno na http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/index.html#class. Pristup 14. veljače 2007.
6. *Mead JR, Irvine SA, Ramji DP.* Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. J Mol Med 2002;80(12):753–69.
7. *Staels B, Auwerx J.* Perturbation of developmental gene expression in rat liver by fibric acid derivatives: lipoprotein lipase and alpha-fetoprotein as models. Development 1992;115(4):1035–43.
8. *Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ.* Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. J Lipid Res 2002;43(12):1997–2006.
9. *Pasalić D, Sertić J, Kunović B i sur.* Lipoprotein lipase gene polymorphism and lipid profile in patients with hypertriglyceridemia. Croat Med J 2001;42(5):517–22.
10. *Ferenčak G, Pasalić D, Grsković B i sur.* Lipoprotein lipase gene polymorphisms in Croatian patients with coronary artery disease. Clin Chem Lab Med 2003;41(4):541–6.
11. *Pasalic D, Jurcic Z, Stipancic i sur.* Missense mutation W86R in exon 3 of the lipoprotein lipase gene in a boy with chylomicronemia. Clin Chim Acta 2004;343(1–2):179–84.
12. *Pašalić D.* Polimorfizmi i mutacije gena za lipoprotein lipazu u diferencijalnoj dijagnostici hipertrigliceridemije (disertacija). Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu; 2004, str 52.
13. *Goldberg IJ.* Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. J Lipid Res 1996;37(4):693–707.
14. *Mayes PA.* Lipid transport and storage. U: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VW, ur. Harper's Biochemistry. New York: McGraw Hill; 2000, str. 268–84.
15. *Patsch JR, Prasad S, Gotto AM Jr, Patsch W.* High density lipoprotein2. Relationship of the plasma levels of this lipoprotein species to its composition, to the magnitude of postprandial lipemia, and to the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase. J Clin Invest 1987;80(2):341–7.
16. *Mead JR, Cryer A, Ramji DP.* Lipoprotein lipase, a key role in atherosclerosis? FEBS Lett 1999 26;462(1–2):1–6.
17. *Mead JR, Ramji DP.* The pivotal role of lipoprotein lipase in atherosclerosis. Cardiovasc Res 2002;55(2):261–9.
18. *Mamputu JC, Desfaits AC, Renier G.* Lipoprotein lipase enhances human monocyte adhesion to aortic endothelial cells. J Lipid Res 1997; 38(9):1722–9.
19. *Mamputu JC, Levesque L, Renier G.* Proliferative effect of lipoprotein lipase on human vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000;20:2212–9.
20. *Renier G, Skamene E, DeSanctis JB, Radzioch D.* Induction of tumor necrosis factor alpha gene expression by lipoprotein lipase. J Lipid Res 1994;35(2):271–8.
21. *Renier G, Lambert A.* Lipoprotein lipase synergizes with interferon gamma to induce macrophage nitric oxide synthetase mRNA expression and nitric oxide production. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995; 15(3):392–9.
22. *Esenabhalu VE, Cerimagic M, Malli R i sur.* Tissue-specific expression of human lipoprotein lipase in the vascular system affects vascular reactivity in transgenic mice. Br J Pharmacol 2002;135(1):143–54.
23. *Lucas M, Iverius PH, Strickland DK i sur.* J Lipoprotein lipase reduces secretion of apolipoprotein E from macrophages. Biol Chem 1997;272 (20):13000–5.
24. *Murthy V, Julien P, Gagne C.* Molecular pathobiology of the human lipoprotein lipase gene. Pharmacol Ther 1996;70(2):101–35.
25. *Cohen JC.* Chylomicron triglyceride clearance: comparison of three assessment methods. Am J Clin Nutr 1989;49(2):306–13.
26. *Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS.* Fat transport in lipoproteins – an integrated approach to mechanisms and disorders. N Engl J Med 1967; 276(1):34–42.
27. *Brunzell JD, Hazzard WR, Porte D Jr, Bierman EL.* Evidence for a common, saturable, triglyceride removal mechanism for chylomicrons and very low density lipoproteins in man. J Clin Invest 1973;52(7): 1578–85.
28. *Brunzell JD.* Familial lipoprotein lipase deficiency and other causes of the chylomicronemia syndrome. U: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, ValleD, ur. The Metabolic Basis of Inherited Disease. New York: McGraw Hill; 2001, str. 2789–816.
29. *Gamulin S.* Poremećaji egzokrine funkcije gušterače. U: Gamulin S, Marušić M, Kovač Z, ur. Patofiziologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2006, str. 981–3.
30. *Chait A, Brunzell JD.* Chylomicronemia syndrome. Adv Intern Med. 1992;37:249–73.
31. *Cantin B, Boudriau S, Bertrand M i sur.* Hemolysis in primary lipoprotein lipase deficiency. Metabolism 1995;44(5):652–8.
32. *Ma Y, Liu MS, Ginzinger D, Frohlich J, Brunzell JD, Hayden MR.* Gene-environment interaction in the conversion of a mild-to-severe phenotype in a patient homozygous for a Ser172—>Cys mutation in the lipoprotein lipase gene. J Clin Invest 1993;91(5):1953–8.
33. *Stuyt PM, Demacker PN, Stalenhoef AF.* Pancreatitis induced by oestrogen in a patient with type I hyperlipoproteinaemia. Br Med J 1986;293 (6549):734.
34. *Kraus RM, Levy RI.* Subclinical chronic pancreatitis in type I hyperlipoproteinemia. Am J Med 1977;62:144–9.
35. *Cameron JL, Capuzzi DM, Zuidema GD, Margolis S.* Acute pancreatitis with hyperlipemia: the incidence of lipid abnormalities in acute pancreatitis. Ann Surg 1973;177(4):483–9.
36. *Barić Lj.* Heart in the elderly (views and considerations at the turn of the centuries). Acta Med Croat 1999;53(4–5):171–8.
37. *Ross R.* Atherosclerosis – an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340(2):115–26.
38. *Glass CK, Witztum JL.* Atherosclerosis: the road ahead. Cell 2001;104 (4):503–16.
39. *Tiret L.* Gene-environment interaction: a central concept in multifactorial diseases. Proc Nutr Soc 2002;61(4):457–63.
40. *Stephens JW, Humphries SE.* The molecular genetics of cardiovascular disease: clinical implications. J Intern Med 2003;253(2):120–7.
41. *Zilversmit DB.* A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. Circ Res 1973;33(6):633–8.
42. *Stein Y, Stein O.* Lipoprotein lipase and atherosclerosis. Atherosclerosis 2003;170(1):1–9.
43. *Liang HQ, Rye KA, Barter PJ.* Dissociation of lipid-free apolipoprotein A-I from high density lipoproteins. J Lipid Res 1994;35(7):1187–99.
44. *Braun JE, Severson DL.* Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. Biochem J 1992;287 (Pt 2):337–47.
45. *van Tilbeurgh H, Roussel A, Lalouel JM, Cambillau C.* Lipoprotein lipase. Molecular model based on the pancreatic lipase x-ray structure: consequences for heparin binding and catalysis. J Biol Chem 1994; 269(6):4626–33.
46. *Winkler K, D'Arcy A, Hunzicker W.* Structure of human pancreatic lipase. Nature 1990;343:771.
47. Monsalve MV, Henderson H, Roederer G i sur. A missense mutation at codon 188 of the human lipoprotein lipase gene is a frequent cause of lipoprotein lipase deficiency in persons of different ancestries. J Clin Invest 1990;86(3):728–34.
48. *Deeb SS, Peng RL.* Structure of the human lipoprotein lipase gene. Biochemistry 1989;28(10):4131–5.
49. *Kirchgessner TG, Chuat JC, Heinzmann C i sur.* Organization of the human lipoprotein lipase gene and evolution of the lipase gene family. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86(24):9647–51.
50. *Nickerson DA, Taylor SL, Weiss KM i sur.* DNA sequence diversity in a 9.7-kb region of the human lipoprotein lipase gene. Nat Genet 1998; 19(3):233–40.
51. *Foubert L, Benlian P, Turpin G.* La lipoprotéine lipase: enzyme multifunctionnelle du métabolisme des lipoproteins. Presse Med 1996;25: 207–10.
52. *Foubert L, De Gennes JL, Lagarde JP i sur.* Assessment of French patients with LPL deficiency for French Canadian mutations. J Med Genet 1997;34(8):672–5.
53. *Hall S, Talmud PJ, Cook DG i sur.* Frequency and allelic association of common variants in the lipoprotein lipase gene in different ethnic groups: the Wandsworth Heart and Stroke Study. Genet Epidemiol 2000;18(3):203–16.
54. *Ehrenborg E, Clee SM, Pimstone SN i sur.* Ethnic variation and in vivo effects of the -93t—>g promoter variant in the lipoprotein lipase gene. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997;17(11):2672–8.
55. *Fisher KL, Fitzgerald GA, Lawn RM.* Two polymorphisms in the human lipoprotein lipase (LPL) gene. Nucleic Acids Res 1987;15(18): 7657.
56. *McDonnell MG, Young IS, Nicholls DP, Archbold GP, Graham CA.* Genetics of the lipoprotein lipase gene and hypertriglyceridaemia. Br J Biomed Sci 2003;60(2):84–8.
57. *Pašalić D, Bilić-Zulle L, Štimac D i sur.* Influence of the different lipoprotein lipase gene polymorphisms on developing pancreatitis of different etiology in Croatian patients. Period Biol 2006, *in press.*
58. *Heinzmann C, Ladias J, Antonarakis S, Kirchgessner T, Schotz M, Lusis AJ.* RFLP for the human lipoprotein lipase (LPL) gene: HindIII. Nucleic Acids Res 1987;15(16):6763.

59. *Taylor KD, Scheuner MT, Yang H i sur.* Lipoprotein lipase locus and progression of atherosclerosis in coronary-artery bypass grafts. Genet Med 2004;6(6):481–6.
60. *Zhang H, Henderson H, Gagne SE i sur.* Common sequence variants of lipoprotein lipase: standardized studies of in vitro expression and catalytic function. Biochim Biophys Acta 1996;1302(2):159–66.
61. *Mailly F, Tugrul Y, Reymer PW i sur.* A common variant in the gene for lipoprotein lipase (Asp9—>Asn). Functional implications and prevalence in normal and hyperlipidemic subjects. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15(4):468–78.
62. *Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R i sur.* Mutations in the lipoprotein lipase gene associated with ischemic heart disease in men. The Copenhagen city heart study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19(6):1535–40.
63. *Hokanson JE, Brunzell JD, Jarvik GP, Wijsman EM, Austin MA.* Linkage of low-density lipoprotein size to the lipoprotein lipase gene in heterozygous lipoprotein lipase deficiency. Am J Hum Genet 1999;64(2): 608–18.
64. *Wittekoek ME, Moll E, Pimstone SN i sur.* A frequent mutation in the lipoprotein lipase gene (D9N) deteriorates the biochemical and clinical phenotype of familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19(11):2708–13.
65. *Fisher RM, Humphries SE, Talmud PJ.* Common variation in the lipoprotein lipase gene: effects on plasma lipids and risk of atherosclerosis. Atherosclerosis 1997;135(2):145–59.
66. *Brousseau ME, Goldkamp AL, Collins D i sur.* Polymorphisms in the gene encoding lipoprotein lipase in men with low HDL-C and coronary heart disease: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. J Lipid Res 2004;45(10):1885–91.
67. *Souverein OW, Jukema JW, Boekholdt SM, Zwinderman AH, Tanck MW.* Polymorphisms in APOA1 and LPL genes are statistically independently associated with fasting TG in men with CAD. Eur J Hum Genet 2005;13(4):445–51.
68. *Hokanson JE.* Functional variants in the lipoprotein lipase gene and risk cardiovascular disease. Curr Opin Lipidol 1999;10(5):393–9.
69. *Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG.* Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. Circulation 1999 8;99(22):2901–7.
70. *Morabia A, Cayanis E, Costanza MC i sur.* Association between lipoprotein lipase (LPL) gene and blood lipids: a common variant for a common trait? Genet Epidemiol 2003;24(4):309–21.
71. *Rip J, Nierman MC, Ross CJ i sur.* Lipoprotein Lipase S447X. A Naturally Occurring Gain-of-Function Mutation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006, *in press*.
72. *Ross CJ, Twisk J, Meulenberg JM i sur.* Long-term correction of murine lipoprotein lipase deficiency with AAV1-mediated gene transfer of the naturally occurring LPL(S447X) beneficial mutation. Hum Gene Ther 2004;15(9):906–19.
73. *Minnich A, Baloukas J, Roederer G, Lussier-Cacan S, Davignon J, Genest J, Jr.* Lipoprotein lipase gene mutations in coronary artery disease. Can J Cardiol 1998;14(5):711–6.
74. *Ishimura-Oka K, Faustinella F, Kihara S, Smith LC, Oka K, Chan L.* A missense mutation (Trp86-Arg) in exon 3 of the lipoprotein lipase gene: a cause of familial chylomicronemia. Am J Hum Genet 1992;50(6): 1275–80.
75. *Reina M, Brunzell JD, Deeb SS.* Molecular basis of familial chylomicronemia: mutations in the lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II genes. J Lipid Res 1992;33(12):1823–32.
76. *Nevin DN, Brunzell JD, Deeb SS.* The LPL gene in individuals with familial combined hyperlipidemia and decreased LPL activity. Arterioscler Thromb 1994;14(6):869–73.
77. *Razzaghi H, Aston CE, Hamman RF, Kamboh MI.* Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations associated with high triglyceride/low HDL-cholesterol levels. Hum Genet 2000;107(3):257–67.

* * *

Vijesti
News

HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR
HRVATSKO DRUŠTVO ZA ATEROSKLEROZU

organizira

ŠESTI HRVATSKI KONGRES O ATEROSKLEROZI
s međunarodnim sudjelovanjem

u Rovinju od 9. do 12. svibnja 2007. godine

Glavne teme Kongresa:

• Epidemiologija koronarne i cerebrovaskularne bolesti • Hiperlipidemije i dislipidemije u odraslih i djece i njihovo liječenje • Šećerna bolest, pretilost i metabolički sindrom • Hipertenzija • Infekcija i ateroskleroza • Prehrana i rizik ateroskleroze • Način života i kardiovaskularne bolesti • Estrogeni, menopauza i hormonsko nadomjesno liječenje • Zatajenje srca • Angiografija, ultrazvuk, CT, MR u procjeni ateroskleroze • Nuklearna kardiologija • Perkutana angioplastika, stentovi itd. • Antiagregacijsko i trombolitičko liječenje • Kirurško liječenje ateroskleroze koronarnih arterija • Kirurško liječenje ateroskleroze perifernih žila • Ateroskleroza i cerebrovaskularna bolest

KRAJNJI ROK ZA PRIMITAK SAŽETAKA JE PRODUŽEN DO 28. VELJAČE 2007. GODINE

Sažeci se šalju na adresu: www.atherosclerosis-congress-croatia.org

Prijava i rezervacija hotela: TOPTOURS, 10000 Zagreb, Mesnička 3
tel. 01-4847-604, 01-4847-606, faks: 01-48-47-606
e-mail: top-tours@zg.t-com.hr

Sudjelovanje na Kongresu biti će vrednovano najvećim brojem bodova Hrvatske liječničke komore.