

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Sandra S. Singh Lukač

**POLIMORFIZMI U GENIMA LDLR, APOB,
PCSK9 KOD PACIJENATA SA FAMILIJARNOM
HIPERHOLESTEROLEMIJOM: ZNAČAJ ZA
DIJAGNOZU, KLINIČKE KARAKTERISTIKE I
PROGNOZU BOLESTI**

Doktorska disertacija

Beograd, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Sandra S. Singh Lukač

***POLYMORPHISMS IN THE LDLR, APOB, AND
PCSK9 GENES IN PATIENTS WITH FAMILIAL
HYPERCHOLESTEROLEMIA: IMPLICATIONS
FOR DIAGNOSIS, CLINICAL
CHARACTERISTICS, AND DISEASE
PROGNOSIS***

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026.

Mentor doktorske disertacije:

Prof Dr Katarina Lalić, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, UKCS

Članovi komisije:

1. *Prof Dr Aleksandra Jotić*

Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, UKCS

2. *Naučni savetnik Dr Sonja Pavlović*

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Univerzitet u Beogradu

3. *Prof Dr Aleksandar Đukić*

Medicinski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički centar Kragijevac

Datum odbrane:

Iskreno se zahvaljujem svojoj porodici na безусловnoj ljubavi, strpljenju i stalnoj podršci tokom svih godina školovanja i izrade ove doktorske disertacije.

*Posebnu i iskrenu zahvalnost dugujem svom mentoru, **Prof Dr Katarini Lalić**, na nesebičnoj podršci, stručnom vođenju, strpljenju i dragocenim savetima tokom svih faza izrade doktorske disertacije.*

Takođe se zahvaljujem kolegama i medicinskim osoblju na saradnji, stručnim savetima i prijatnoj radnoj atmosferi, koja je značajno doprinela kvalitetu istraživanja i uspešnoj realizaciji ove disertacije.

Zahvaljujem se kolegama i kolegamicama sa Instituta za molekularnu biologiju i genetički inženjering na pomoći i saradnji tokom izrade ove disertacije.

Zahvaljujem se svojim prijateljima na razumevanju, podršci i ohrabrenju tokom ovog dugog i zahtevnog puta.

Takođe se zahvaljujem koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze jer su učestvovali u:

1. Kreiranju koncepta teze: prof. dr Katarina Lalić;
1. Prikupljanju podataka: kl. asistent dr Iva Rasulić, docent dr Liljana Popović;
2. Formalnoj analizi: dr Vladimir Gašić; dr Jovana Komazec;
3. Istraživanju: dr Jovana Komazec, dr Ivana Grubiša; kl. asistent dr Iva Rasulić;
4. Metodologiji: dr Vladimir Gašić, dr Jovana Komazec, dr Ivana Grubiša;
5. Superviziji: naučni savetnik dr Sonja Pavlović;
6. Pisanju – originalni nacrt: prof. dr Katarina Lalić, naučni savetnik dr Sonja Pavlović;
7. Pisanju- recenzija i uređivanje: prof. dr Katarina Lalić, naučni savetnik dr Sonja Pavlović.

POLIMORFIZMI U GENIMA LDLR, APOB, PCSK9 KOD PACIJENATA SA FAMILIJARNOM HIPERHOLESTEROLEMIJOM: ZNAČAJ ZA DIJAGNOZU, KLINIČKE KARAKTERISTIKE I PROGNOZU BOLESTI

Sažetak

Uvod: Familijarna hiperholesterolemija (FH) je čest autosomno dominantni poremećaj metabolizma lipida, povezan sa trajno povišenim LDL-holesterolom i povećanim rizikom od prevremene aterosklerotske kardiovaskularne bolesti. Uprkos jasno definisanim kliničkim kriterijumima, FH je i dalje nedovoljno dijagnostikovana, a genetska heterogenost značajno utiče na kliničku prezentaciju i terapijski odgovor. Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita učestalost patogenih genetskih varijanti povezanih sa FH i njihov odnos sa kliničkim karakteristikama i ishodima.

Metode: U studiju je uključen 101 pacijent sa kliničkom sumnjom na FH. Kod svih ispitanika sprovedeno je genetsko testiranje varijanti u genima LDLR, APOB, PCSK9 i LDLRAP1. Analizirani su klinički podaci, lipidni profil pre i tokom terapije, kardiovaskularni događaji i komponente DLCN skora, kao i povezanost genetskog statusa sa fenotipom, terapijskim odgovorom i postizanjem ciljnih vrednosti LDL-holesterola.

Rezultati: Patogene varijante identifikovane su kod 43,6% ispitanika, najčešće u LDLR genu. Genetski pozitivni pacijenti imali su više vrednosti LDL-holesterola, ukupnog holesterola i apolipoproteina B pre terapije. Iako je relativno sniženje LDL-holesterola bilo veće, apsolutne postterapijske vrednosti LDL-holesterola ostale su više, uz ređe postizanje ciljeva. Pol je identifikovan kao jedini nezavisan prediktor kardiovaskularnih događaja.

Zaključak: Genetski potvrđena FH povezana je sa težim lipidnim fenotipom i slabijim postizanjem terapijskih ciljeva, uz prisutan rezidualni kardiovaskularni rizik. Rezultati ukazuju na značaj rutinskog genetskog testiranja, rane primene intenzivne i kombinovane terapije i personalizovanog pristupa u lečenju pacijenata sa FH.

Ključne reči: familijarna hiperholesterolemija; genetske mutacije; LDL-holesterol; LDL receptor; kardiovaskularni rizik; Dutch Lipid Clinic Network skor; PCSK9; personalizovana terapija

Naučna oblast: MEDICINA

Uža naučna oblast: ENDOKRINOLOGIJA

UDK broj: _____

POLYMORPHISMS IN THE LDLR, APOB, AND PCSK9 GENES IN PATIENTS WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA: IMPLICATIONS FOR DIAGNOSIS, CLINICAL CHARACTERISTICS, AND DISEASE PROGNOSIS

Abstract

Introduction: Familial hypercholesterolemia (FH) is a common autosomal dominant disorder of lipid metabolism, characterized by persistently elevated levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and an increased risk of premature atherosclerotic cardiovascular disease. Despite well-defined clinical criteria, FH remains underdiagnosed, and genetic heterogeneity significantly influences clinical presentation, therapeutic response, and risk assessment. The aim of this study was to investigate the prevalence of pathogenic genetic variants associated with FH and their relationship with clinical characteristics and outcomes.

Methods: The study included 101 patients with a clinical suspicion of FH. All participants underwent genetic testing for variants in the LDLR, APOB, PCSK9, and LDLRAP1 genes. Clinical data, lipid profiles before and during therapy, cardiovascular events, and components of the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) score were analyzed, along with the association between genetic status and phenotype, therapeutic response, and achievement of LDL-C target levels.

Results: Pathogenic variants were identified in 43.6% of patients, most commonly in the LDLR gene. Genetically positive patients had higher levels of LDL-C, total cholesterol, and apolipoprotein B prior to therapy. Although the relative reduction in LDL-C during treatment was greater in genetically positive patients, absolute post-treatment LDL-C levels remained higher, with a lower likelihood of achieving target values. Sex was identified as the only independent predictor of cardiovascular events.

Conclusion: Genetically confirmed FH is associated with a more severe lipid phenotype, poorer achievement of therapeutic targets, and persistent residual cardiovascular risk. These findings highlight the importance of routine genetic testing, early initiation of intensive and combination lipid-lowering therapy, and a personalized approach to the management of patients with FH.

Keywords: familial hypercholesterolemia; genetic mutations; LDL cholesterol; LDL receptor; cardiovascular risk; Dutch Lipid Clinic Network score; PCSK9; personalized therapy

Scientific field: MEDICINE

Narrow scientific field: ENDOCRINOLOGY

UDK number: _____

SADRŽAJ

1	UVOD	1
	1.1. Familijarna hiperholesterolemija	1
	1.2. Epidemiologija	2
	1.3. Kardiovaskularni rizik	2
	1.4. Patofiziologija	2
	1.4.1. Metabolizam holesterola	3
	1.4.2. Uzročni geni.....	3
	1.5. Dijagnoza i klinička slika FH.....	7
	1.5.1. Dijagnoza i diferencijalna dijagnoza	7
	1.5.2. Klinička slika	7
	1.5.3. Dijagnostičke alatke	8
	1.6. Principi lečenja familijarne hiperholesterolemije	9
	1.6.1. Terapijske smernice i preporuke.....	9
	1.6.2. Terapijske opcije lečenja FH	10
2	CILJ RADA	14
3	METODE	15
	3.1. Izbor ispitanika	15
	3.2. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje	15
	3.3. Klinička evaluacija.....	15
	3.4. Određivanje nivoa ukupnog holesterola (h), HDL-h, LDL-h i triglicerida u serumu.....	16
	3.5. Određivanje nivoa apolipoprotein A-I (ApoA-I), apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein(a) [Lp(a)] u serumu.....	16
	3.6. Genetska analiza	17
	3.7. Statistička analiza	17
	3.8. Etički aspekti.....	18
4	REZULTATI	19
	4.1. Osnovne karakteristike pacijenata	19
	4.2. Analiza postojanja načešćih genetskih mutacija odgovornih za nastanak FH kod pacijenata sa kliničkom dijagnozom FH	20
	4.2.1. Analiza postojanja patogene varijante u LDLR genu.....	20
	Tabela 4. Spektar patogenih varijanti u genima LDLR i APOB u kohorti	21
	4.2.2. Analiza postojanja patogene varijante u APOB genu	22
	4.2.3. Analiza postojanja patogene varijante u PCSK9 i LDLRAP1 genu.....	22

4.2.4. Analiza postojanja načešćih genetskih mutacija kod srodnika	23
4.3. Ispitavanje povezanosti određenih genskih mutacija sa kliničkim karakteristikama FH	23
4.3.1. Analiza povezanosti DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija	24
4.3.2. Analiza povezanosti pojedinačnih komponenta DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija	24
4.4. Analiza povezanosti određenih genetskih mutacija i nivoa lipida pre primene terapije..	30
4.4.1. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa LDL-h pre primene terapije	30
4.4.2. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa UH-h pre primene terapije	31
4.4.3. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa HDL-h pre primene terapije	31
4.4.4. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Tg pre primene terapije	32
4.4.5. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Lp(a) pre primene terapije	32
4.4.6. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Apo A1 I Apo B pre primene terapije	33
4.4.7. Poređenje kliničkih i biohemijskih parametara između LDLR-pozitivnih pacijenata sa i bez c.858C>A p.(Ser286Arg) varijante	34
4.5. Razlike u terapijskom odgovoru između genetski pozitivnih i negativnih pacijenata	35
4.5.1. Analiza povezanosti genetskih mutacija i efekata primenjene terapije na postizanje terapijskih ciljeva LDL-h	36
4.5.2. Analiza povezanost genetskog statusa sa postizanjem ciljne vrednosti LDL-h nakon terapije uz kontrolu starosti, pola, BMI i početnog LDL-a	36
5 DISKUSIJA.....	39
6 ZAKLJUČCI.....	50
7 LITERATURA	52

1 UVOD

Kardiovaskularne bolesti (KVB) predstavljaju jedan od najvećih javnozdravstvenih problema savremenog društva, sa vodećim udelom u morbiditetu i mortalitetu širom sveta (1). Uprkos značajnom napretku u dijagnostici, prevenciji i lečenju, aterosklerotske bolesti, posebno ishemijska bolest srca, ostaju glavni uzrok smrtnosti u većini razvijenih i mnogih zemalja u razvoju (2). Među brojnim faktorima rizika za nastanak ateroskleroze, povišene koncentracije lipoproteina niske gustine (LDL-holesterola) izdvajaju se kao ključni, nezavisni i najznačajniji etiološki činilac u razvoju aterosklerotskih promena (2,3). Postoji jasno dokazana linearna veza između nivoa LDL-holesterola i rizika od kardiovaskularnih događaja, pri čemu smanjenje LDL-holesterola dovodi do proporcionalnog smanjenja rizika za nastanak kardiovaskularnih događaja (3–5).

Hiperholesterolemija, kao najčešći poremećaj metabolizma lipida, i može biti posledica interakcije genetskih faktora i faktora životne sredine, ali može imati i čisto genetsku osnovu, kao što je slučaj kod familijarne hiperholesterolemije (6). Razumevanje genetske determinisanosti poremećaja lipoproteinskog metabolizma, kao i njihovog uticaja na aterogenezu, od suštinskog je značaja za unapređenje dijagnostike, prevencije i lečenja kardiovaskularnih bolesti (7). Poslednjih decenija dolazi do intenzivnog razvoja molekularne genetike i precizne medicine, što je omogućilo dublje sagledavanje genetskih mehanizama koji stoje u osnovi dislipidemija i njihovog kliničkog ispoljavanja (8). Ovo znanje posebno dobija na značaju kod monogenских formi hiperlipidemija, među kojima familijarna hiperholesterolemija (FH) zauzima centralno mesto zbog svoje učestalosti i ozbiljnosti kliničkih posledica (6,9).

1.1. Familijarna hiperholesterolemija

Familijarna hiperholesterolemija spada u najčešće nasledne metaboličke poremećaje kod ljudi, koja se može javiti kod pojedince iz svih etničkih grupa (10). Prvi put je u literaturi opisana krajem tridesetih godina prošlog veka od strane Karla Milera, norveškog lekar, koji je predložio da je pojava hiperholesterolemije i ksantoma na tetivama povezana sa kardiovaskularnim bolestima i da je ona genetski uslovljena (11). FH se karakteriše povišenim vrednostima ukupnog i LDL-holesterola (LDL-h) uz normalne vrednosti triglicerida. Ako se ne leči ovaj genetski poremećaj metabolizma holesterola dovodi do prevremene ateroskleroze, kardiovaskularnih bolest i često smrt u ranom životnom dobu. Posledica je mutacija u nekoliko gena koje vode smanjenom klirensu LDL čestica iz cirkulacije od strane jetre (10). U osnovi su to autozomno dominantne mutacije gena za LDL receptor (LDLR), apolipoproteina B100 (APOB), LDL receptorski ligand na LDL čestici i proprotein convertazu subtilizin/kexin tip 9 (PCSK9), koji se vezuje za LDLR i promoviše njegovu intracelularnu degradaciju (6). Većina osoba sa FH su heterozigoti za mutacije u jednom od ovih gena (tj. oni nose mutaciju u jedan od alela) i stoga imaju heterozigotnu formu familijarne hiperholesterolemije (HeFH). Retko, pojedinci mogu imati homozigotnu formu familijarne hiperholesterolemije (HoFH), sa mutacijom u oba alela (12). Drugi retki oblici koji mogu da se jave

su sjedinjeni heterozigoti (drugačija mutacija u svakom alelu) ili dvostruk heterozigoti (mutacije u dva alela dva različita gena) (12).

1.2. Epidemiologija

Familijarna hiperholesterolemija je najverovatnije najčešća genetska bolest kod ljudi (6,12,13). Prevalenca familijarne hiperholesterolemije često zavisi od dijagnostičkih kriterijuma koja se koristi, a koji su u mnogim zemljama neujednačeni. Ranije se smatralo da je učestalost heterozigotne forme 1:500 stanovnika, a homozigotne forme 1:1.000.000 (10). Današnji podaci koji su dobijeni putem standardizovanih dijagnostički kriterijuma sugerišu da je učestalost HeFH mnogo veća 1:300 stanovnika, dok je učestalost HoFH 1:300.000 stanovnika (12). Sve kliničke procene sugerišu da je familijarna hiperholesterolemija izuzetno učestao poremećaj u svetu, ali kliničko iskustvo ukazuje na to da većina slučajeva nije identifikovana (6,14).

1.3. Kardiovaskularni rizik

Skrining pacijenata mlađih od 50 godina koji su imali infarkt miokrada pokazao je da je oko 2% ovih pacijenata imalo dijagnozu familijarne hiperholesterolemije (15). Rana pojava infarkta miokarda, šloga i povećanog sveukupnog mortaliteta su kardinalne odlike svih oblika neležene FH (6,12,13). Uznapredovala starost, povišeni indeks telesne mase, dijabetes melitus tipa 2, visok krvni pritisak i prethodna upotreba duvana povećavaju rizik od KVB kod pacijenata sa heterozigotnom familijalnom hiperholesterolemijom (6,16). Nasuprot tome, deca sa homozigotnom familijalnom hiperholesterolemijom mogu razviti prevremenu KVB u odsustvu drugih faktora rizika (12,17). Dodatni KVB faktori rizika kod pojedinaca sa FH uključuju smanjen nivo lipoproteina velike gustine (high-density lipoproteins; HDL), povišene nivoe triglicerida (Tg), lipoproteina a [Lp (a)], kao i faktori životnog stila, pušenje, ishrana i vežbanje (6,13,16). Dijabetes melitus dodatno povećava rizik za KVB (16). Još jedan faktor koji treba uzeti u obzir kod žena sa FH je trudnoća. Holesterol se fiziološki u trudnoći povećava za oko 30-50%, dok je kod žena sa FH ovo povećanje još izraženije (18).

Glavni pokretači rizika za KVB uključuju prisustvo prethodnih kardiovaskularnih bolesti, kao i nivo povišenog LDL-holesterola. Osobe sa HoFH, koje od rođenja imaju izuzetno povišene vrednosti LDL holesterola, obično > 10 mmol/L imaju veoma visok rizika od KVB, u prvoj ili drugoj deceniji života. Kod njih se razvija simptomatska ateroskleroza koja zahvata koronarne, karotidne, periferne arterije i srčane valvule (6,12,19,20).

1.4. Patofiziologija

Molekularna osnova povišenog nivoa LDL-holesterola skoro se uvek odnosi na najmanje jedan od sledećih mehanizama: smanjen broj molekula LDLR ili smanjenu aktivnost LDLR u svim ćelijama, ali uglavnom hepatocitima, što rezultira smanjenim klirensom LDL-holesterola iz plazme; zatim defek apo B100 molekula u okviru LDL čestici koja se ne vezuje za LDLR; i prekomerne ekspresije PCSK9 ili hiperaktivnosti PCSK9, što rezultira brzom internalizacijom i degradacijom LDL receptora i smanjenjem broja samih receptora (21). Autozomno recesivna forma FH je povezan

sa mutacijom LDLR-adapter proteina, koja rezultira smanjenim transportom LDLR do plazma membrane (22). Gen za LDL receptor se nalazi na kratkom kraku hromozoma 19 i do sada je identifikovano više od 2000 mutacija ovog gena. Najveće vrednosti LDL-holesterola se javljaju kod pojedinaca sa mutacijom LDLR, dok osobe sa apoB ili PCSK9 mutacijama obično imaju nešto niže nivoje LDL holesterola (6,12). Zapaženo je da ja FH takođe povezana sa povećanim nivoima Lp (a) nepoznatim mehanizmom. Lp (a) nivoi su veći u HoFH nego HeFH. Poremećaj efluksa HDL holesterola može biti povezana sa niskim nivoom HDL holesterola koji se vidi u HoFH (23).

1.4.1. Metabolizam holesterola

Holesterol je glavna lipidna komponenta ćelijske membrane i prekursor je mnogih bioaktivnih molekula, uključujući steroidne hormone, vitamin D, oksisterole (oksidizovane derivate holesterola) i žučne kiseline (24). Otprilike jedna petina cirkulišućeg holesterola potiče iz hrane; dok ostatak holesterola potiče od hepatične sinteze (21), u kojoj 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG)-CoA reduktaza katalizuje reakciju de novo sinteze holesterola.

Lipoproteini sadrže jezgro koje se sastoji od hidrofobnih lipida (triglicerida i estara holesterola) okruženih hidrofилnim lipidima (fosfolipidi, neesterifikovani holesterol) i proteinima. U plazmi cirkuliše pet osnovnih klasa lipoproteina, podeljenih prema njihovoj gustini: hilomikroni, lipoproteini vrlo male gustine (very low-density lipoproteins; VLDL), lipoproteini srednje gustine (intermediate density lipoproteins; IDL), lipoproteini male gustine (low-density lipoproteins; LDL) i lipoproteini velike gustine (high-density lipoproteins; HDL). Unutar svake od navedenih klasa lipoproteina dodatno postoje i varijacije u gustini, veličini i sadržaju proteina (25,26). LDL čestice predstavlja najveću klasu lipoproteina koja nosi holesterol i njihova primarna funkciju je da transportuje holesterol do perifernih ćelija. Većina cirkulišućih LDL čestica je katabolizovana od strane jetre nakon internalizacije putem LDLR-a na hepatocitima (21,24). Uprkos kolokvijalnim izrazima kao što su "loš holesterol" i "dobar holesterol" za LDL i HDL holesterol, holesterol sadržan u ovim česticama je kvalitativno identičan. Umesto toga, 'loše' i 'dobro' odnose se na pravac transporta lipida - čestice LDL-a transportuju holesterol iz jetre ka periferiji, gde ponekad dovodi do patoloških promena na zidovima krvnih sudova, dok HDL čestice vraćaju holesterol sa periferije nazad u jetru, koja ga zatim eliminiše iz organizma (21,23).

Hronični prekomerni nivoi LDL čestica, kao što je slučaj kod familijarne hiperholesterolemije, imaju značajne patološke posledice. U ovom okruženju kompromitovan je normalan odgovor arterija na vazodilatatorni stimulans (27). Osim toga, čestice LDL-a koje nisu katabolizovane u jetri su podložne modifikaciji, uključujući oksidaciju i kao takve bivaju internalizovane od strane makrofaga, što indukuje zapaljensku reakciju na nivou arterijskog zida (28). Makrofagne ćelije postaju prezasićene holesterolom i pretvaraju se penaste ćelije koje doprinose stvaranju aterogenog plaka, koji raste i eventualno okludira krvni sud, što dovodi do ishemije tkiva (28).

1.4.2. Uzročni geni

1.4.2.1. LDLR

Gen za receptor za lipoproteine male gustine (LDLR) lociran je na kratkom kraku hromozoma 19 (19p13.2) i sastoji se od 18 egzona koji kodiraju transmembranski glikoprotein od 839 aminokiselina, ključan za klirens LDL čestica iz cirkulacije putem receptor-posredovane endocitoze (10,29). LDLR se primarno eksprimira u hepatocitima i predstavlja osnovni regulator homeostaze holesterola u plazmi(21). Procena je da 60–80% pacijenata sa heterozigotnom familijarnom hiperholesterolemijom (HeFH) nosi patogene varijante u LDLR genu (30). Do danas je identifikovano više od 2000 različitih mutacija LDLR koje su registrovane u međunarodnim bazama podataka (FH Database, ClinVar, LOVD) (31,32). Mutacije su visoko heterogene i variraju među populacijama zbog efekta osnivača (founder mutations), naročito u Francuskoj Kanadi, Libanu, Holandiji, Južnoj Africi i Severnoj Evropi (31).

Najčešći tipovi mutacija LDLR gena uključuju:

- Missense mutacije ($\approx 40\text{--}50\%$), koje menjaju jedan aminokiselinski ostatak i najčešće dovode do promene afiniteta vezivanja LDLR za apoB-100 ili uticaja na transport receptora (31,33).
- Nonsense mutacije ($\approx 12\text{--}15\%$), koje stvaraju prevremeni stop-kodon i skraćene, nefunkcionalne protein (34).
- Male insercije/delecije ($\approx 15\text{--}20\%$), koje remete čitanje okvira i sintezu receptora (33).
- Splajsing mutacije ($\approx 8\text{--}10\%$), koje utiču na uklanjanje introna ili obradu pre-mRNA (35).
- Velike genomske delecije/duplikacije ($\approx 8\text{--}10\%$), koje zahvataju jedan ili više egzona (36).

Patogene LDLR varijante klasifikuju se prema funkcionalnom uticaju na sintezu, transport ili funkciju receptora u šest klasa mutacija (10):

Klasa Funkcionalni defekt

Klasa 1 Nema sinteze receptora („*null alleles*“)

Klasa 2 Defekt transporta iz endoplazmatskog retikuluma

Klasa 3 Defekt vezivanja LDL čestica

Klasa 4 Defekt internalizacije LDL–LDLR kompleksa

Klasa 5 Defekt reciklaže receptora

Klasa 6 Defekt transporta na bazolateralnu membranu hepatocita

Klinički, mutacije klase 1 i 2 uglavnom dovode do težeg fenotipa bolesti, sa višim nivoima LDL-holesterola i ranijim razvojem ateroskleroze, dok mutacije klase 3–5 često dovode do blažih ili umerenih fenotipskih ispoljavanja (37). Prema funkcionalnom efektu, one se grupišu i u dve osnovne kliničke kategorije:

- Receptor-negativne mutacije (<2% rezidualne funkcije LDLR) – teška hiperholesterolemija, loš odgovor na terapiju statinima;

- Receptor-defektne mutacije (2–25% preostale funkcije) – umereno povišeni LDL- holesterola i bolji terapijski odgovor (38).

Stepen porasta LDL-holesterola snažno zavisi od vrste mutacije. Osobe sa receptor-negativnim mutacijama često imaju viši LDL-h $\geq 8-10$ mmol/L, dok osobe sa receptor-defektnim mutacijama imaju niže vrednosti (5–8 mmol/L) i kasniju pojavu aterosklerotske bolesti (12). Multicentrične studije pokazale su da genotipska klasifikacija kod LDLR mutacija ima prognostički značaj u predikciji vremena pojave koronarne bolesti i odgovora na hipolipemijsku terapiju (39,40)

1.4.2.2. ApoB i PCSK9

Pored mutacija u genu za LDL receptor, značajan broj slučajeva familijarne hiperholesterolemije posledica je patogenih varijanti u genima APOB i PCSK9, koji takođe učestvuju u regulaciji metabolizma lipoproteina male gustine. U porodicama sa kliničkom slikom tipičnom za HeFH, ali bez potvrđenih mutacija u LDLR genu, identifikovane su mutacije u genu za apolipoprotein B (APOB), koje remete vezivanje LDL čestica za LDL receptor (41). Ovaj oblik bolesti poznat je kao familijarna defektna apoB-100 varijanta (FDB) i predstavlja drugi najčešći monogeniski oblik FH (42). Najčešća patogena varijanta je c.10580G>A (p.Arg3527Gln), ranije označavana kao p.Arg3500Gln, koja se javlja sa visokom učestalošću u populacijama centralne i zapadne Evrope zbog efekta osnivača (founder effect) (41). FDB se u poređenju sa LDLR-posredovanom FH obično manifestuje blažim porastom LDL-holesterola, kasnijim razvojem aterosklerotske kardiovaskularne bolesti i boljim terapijskim odgovorom na statine (43). Prevalencija FDB u opštoj populaciji procenjuje se na 1:1000–1:5000, ali znatno varira među populacijama (38).

Treća grupa monogeniskih uzroka FH odnosi se na mutacije u PCSK9 genu (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9), koji kodira enzim uključen u razgradnju LDL receptora (44). *Gain-of-function* (GoF) mutacije u PCSK9 dovode do povećanog vezivanja PCSK9 za LDLR i ubrzane degradacije receptora u lizosomima, čime se smanjuje dostupnost LDLR na površini hepatocita i povećava nivo LDL-h u cirkulaciji (45). Ovaj oblik FH je redak i čini manje od 1% slučajeva heterozigotne FH. Najpoznatije patogene varijante uključuju p.Asp374Tyr, p.Ser127Arg i p.Phe216Leu, koje su identifikovane u porodicama iz Francuske, Japana i Sjedinjenih Američkih Država (46). Za razliku od mutacija LDLR i APOB, PCSK9 mutacije pokazuju značajnu genotipsko-fenotipsku heterogenost, a pojedini nosioci mutacija imaju izrazito visok rizik od prerane aterosklerotske bolesti i slab odgovor na terapiju statinima (44,45). Značaj PCSK9 u regulaciji metabolizma LDL čestica potvrđen je razvojem PCSK9 inhibitora (monoklonska antitela i male interferirajuće RNK) kao savremene terapije kod pacijenata sa FH i visokim kardiovaskularnim rizikom (4,47).

1.4.2.3 Retki geni

Kod značajnog broja pacijenata sa kliničkom slikom kompatibilnom sa familijarnom hiperholesterolemijom, ali bez detektovanih mutacija u najčešće zahvaćenim genima LDLR, APOB ili PCSK9, identifikovane su patogene ili potencijalno patogene varijante u drugim genima koji učestvuju u metabolizmu LDL holesterola i homeostazi lipida (31). Među njima se ističu mutacije u genu APOE (apolipoprotein E) koji je uključen u klirens trigliceridima bogatih lipoproteina preko interakcije sa LDL receptorom (48). Varijante APOE E2/E2 i retke varijante poput APOE (p.Leu167del) mogu klinički imitirati fenotip FH, ali obično dovode do blažeg i promenljivog fenotipa sa umerenim porastom LDL-h (49,50). Iako se nekada smatralo da mutacije u APOE genu uzrokuju „treći tip FH“, danas se ove varijante češće povezuju sa disbetalipoproteinemijom (HLP tip III) nego sa pravom monogenskom FH (51).

Germline varijante u genu STAP1 (*signal-transducing adaptor family member 1*) prvobitno su opisane kao potencijalni uzrok autosomno dominantne hiperholesterolemije, zbog prijavljenih varijanti p.Glu97Asp, p.Leu69Ser, p.Ile71Thr i p.Asp207Asn u porodicama sa fenotipom FH (52). Međutim, kasnije studije nisu potvrdile konzistentnu povezanost između STAP1 varijanti i povišenog LDL-holesterola, pa se smatra da STAP1 nema dokazanu patogenost u FH i da njegova uloga ostaje kontroverzna (53).

Mutacije u LDLRAP1 genu (*Low Density Lipoprotein Receptor Adaptor Protein 1*) uzrokuju autosomno recesivnu hiperholesterolemiju (ARH), retku formu teške porodične hiperholesterolemije (54). ARH je prvi put opisana kod porodica sa teškom hiperholesterolemijom i ksantomima, ali bez mutacija u genu LDLR (55). LDLRAP1 je adaptor protein neophodan za klatrin-zavisnu endocitozu LDL-LDLR kompleksa, pa njegove mutacije dovode do smanjene internalizacije LDL čestica i teške hiperholesterolemije. Fenotipski ARH podseća na homozigotnu FH, ali obično pokazuje bolji odgovor na terapiju statinima i ezetimibom (19,38). ARH je izuzetno redak poremećaj i ravnomerno je rasprostranjen globalno, ali je povećana prevalencija prijavljena u izolovanim populacijama kao što su Sardinija, Liban, Apeninsko poluostrvo i zajednice sa visokim stepenom konsangviniteta (56).

1.4.2.4. Poligenska hiperholesterolemija

Poligenska hiperholesterolemija (PH) predstavlja najčešći oblik primarne hiperholesterolemije i posledica je kumulativnog efekta brojnih čestih genetskih varijanti (SNP) koje utiču na metabolizam LDL-holesterola (57). Za razliku od monogenских formi FH, PH ima multifaktorsko nasleđivanje sa doprinosom genetskih i spoljašnjih faktora. Studije asocijacije na nivou genoma (GWAS) identifikovale su više lokusa uključenih u regulaciju LDL-h (SORT1, APOE, HMGCR, ABCG5/8, PCSK9) i ukazale da oko 30–60% pacijenata sa fenotipom FH bez mutacije u LDLR/APOB/PCSK9 genu zapravo ima poligensku osnovu (58). Klinički, PH se obično manifestuje umerenim povećanjem LDL-h, normalnim trigliceridima i odsustvom tetivnih ksantoma, uz niži kardiovaskularni rizik i bolji terapijski odgovor nego kod monogenske FH. Evropsko društvo za aterosklerozu (EAS) preporučuje upotrebu poligenškog rizik skora (PRS) u diferencijaciji PH od FH (31,39).

1.5. Dijagnoza i klinička slika FH

Ekspertska komisija za FH u vidu Nacionalne asocijacije za lipide (*National Lipid Association NLA*) preporučila je univerzalni skrining za povišene vrednosti holesterol u životnoj dobi od 9-11 godina. Skrining treba obaviti kod dece starije od 2 godine kod kojih postoji pozitivna porodična anamneza za FH ili prevremenu KVB u porodici. Nivoi lipida u detinjstvu su snažan prediktor za vrednosti holesterola kasnije u životu. Skrining kod dece mlađe od 2 godine se ne preporučuje jer se nivo lipida i lipoproteina povećavaju do oko druge godine, a zatim postaju stabilni(59).

1.5.1. Dijagnoza i diferencijalna dijagnoza

Klinički suspektna FH postoji kada je nivo LDL-h $>4,9$ mmol/L kod odraslih ili 4,1 mmol/L kod dece (uključujući adolescente do 18 godina). Prosečne vrednosti LDL i ukupnog holesterola kod nelečenih pacijenata sa HeFH su 5,7 mmol/L i 9,1-14,2 mmol/L. Dok se kod HoFH, ukupni nivo holesterola se kreće od 16,8 mmol/L do 25,9 mmol/L (60,61).

Diferencijalno dijagnostički važno je isključiti sekundarne uzroke povišenih vrednosti holesterola kao što su efekti dijete bogate zasićenim i trans mastima, hipotireoza, nefrotski sindrom i intrahepatičnaolestaza. Treba razmotrit i druge nasledne oblike hiperlipidemije kao što je sitosterolemija koja predstavlja autozomno recesivno oboljenje gde postoji akumulacija biljnih sterola u plazmi i cirkulišućim lipoproteinima uz pojavu ksantoma.

1.5.2. Klinička slika

Jasni fizički znaci za dijagnozu FH nisu uvek prisutni kod ovih pacijenata i treba ih tražiti. Fizikalnim pregledom se mogu videti ksantomi, koji predstavljaju promene nastale nakupljanjem holesterola u makrofagima kože najčešće u predelu ekstenzornih tetiva šaka, kolena, laktova i Ahilove tetive i na mestima izloženim pritisku. Pored navedenih kliničkih parametara, u pacijenata sa FH može se videti i arcus corneae i ksantelazme. Arcus corneae predstavlja sivo-beličasti prsten na rubu rožnjače, nastaje nakupljanjem lipida u ovom delu oka i ne ugrožava vid te ne zahteva poseban tretman izuzev lečenja hiperholesterolemije. Ksantelazme su histološki identične ksantomima, ali za razliku od njih nastaju uglavnom na očnim kapcima, imaju izgled žućkasto prebojenih plakova čija veličina varira. U većini slučajeva predstavljaju samo estetski problem, međutim u najtežim situacijama svojom veličinom mogu dovesti do ptoze kapka (62). Prisustvo ovakvih tetivnih ksantoma, ksantelazmi u bilo kom životnom dobu i arcus corneae kod pacijenata starijih od 45 godina treba da podstakne sumnju da se radi o FH.

1.5.3. Dijagnostičke alatke

Postoje tri poznate dijagnostičke alatke za dijagnostiku FH. U njih spada Američki MedPed program (Make Early Diagnosis To Prevent Early Death), Simon Broome Register group u Velikoj Britaniji (62) i Dutch Lipid Clinic Network (61). Kriterijumi Simon Broome grupe i Dutch MEDPED (Tabela 1) kriterijumi uzimaju u obzir porodičnu i ličnu anamnezu, fizikalni nalaz, nivo LDL holesterola i rezultate molekularnog genetskog testiranja. Oni klasifikuju pacijente u smislu postojanja vjerovatnoću za FH. Glavna razlika između ova dva kriterijuma je da Simon Broome kriterijumi prepoznaje DNK dokaz o mutaciji kao definitivni znak za postojanje FH, dok je za Dutch MEDPED kriterijume potreban još jedna pozitivan kriterijum pored molekularne potvrde za postavljanje definitivne dijagnoze FH (63).

Tabela 1. Dutch MEDPED (Dutch Lipid Clinic Network) klinički kriterijumi za dijagnozu heterozigotne FH

1. Porodična anamneza

Kriterijum	Poeni
Prvi rođaci sa preuranjenom* kardiovaskularnom bolešću	1
LDL-holesterol > 95. percentila (odrasli rođak)	1
LDL-holesterol > 95. percentila (rođak < 18 godina)	2
Ksantomi ili arcus cornealis kod rođaka	2

2. Lična anamneza

Kriterijum	Poeni
Preuranjena* koronarna bolest	2
Preuranjena* cerebralna ili periferna vaskularna bolest	1

3. Fizikalni pregled

Kriterijum	Poeni
Prisutni ksantomi	6
Arcus cornealis kod pacijenta < 45 godina	4

4. LDL-holesterol (mmol/L)

Kriterijum	Poeni
≥ 8.5	8
6.5 – 8.4	5
5.0 – 6.4	3
4.0 – 4.9	1

5. DNK analiza

Kriterijum	Poeni
Prisutna mutacija LDL receptora ili drugih FH relevantnih gena	8

Interpretacija ukupnih poena

Ukupni skor	Dijagnoza
≥ 8	Sigurna FH
6–7	Verovatna FH

* u osoba muškog pola mlađjih od 55 god i osoba ženskog pola mlađjih od 60 god

Adaptirano prema: Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, et al. European Heart Journal. 2013; 34:3478–3490.

Ometajući faktor u dijagnozi FH je istovremeno prisustvo povišenih vrednosti Lp(a) (64). Lp(a) čestice su varijanta LDL čestica koja takođe uključuju apolipoprotein (a). U okviru Lp(a) čestica, 20-30% mase čini holesterol, što je slično sadržaju LDL-holesterola. Nasuprot tome, Lp(a) čestice prvenstveno se ne katabolišu preko LDLR, već drugim slabo istraženim putem. Najčešće korišćena Fridvaldova formula za izračunavanje LDL-holesterola oduzima HDL holesterol od ukupnog holesterola. Na taj način holesterol povezan sa Lp(a) česticama ulazi u sklop LDL-holesterol. Kao rezultat toga, kod pacijenata sa visokim vrednostima Lp(a) dobijaju se značajno povišene vrednosti LDL holesterola koje se onda koriste za dijagnozu familijarne hiperholesterolemije. Podaci dobijeni opsrevacijom opšte danske populacije ukazuju na to da je kod 25% pacijenata dijagnoza postavljena na osnovu nerealno povišenih vrednosti do nje dobila LDL-holesterola na račun Lp (a) (64,65). Pokazano je da povišene vrednosti Lp(a) povećavaju rizik za nastajanje KVB u pacijenata sa FH, zbog čega je nepohodno barem jednom odrediti i vrednosti Lp(a).

1.6. Principi lečenja familijarne hiperholesterolemije

Osnovni cilj lečenja FH je smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti srca. Terapiju treba započeti što je pre moguće nakon dijagnoze kod svih odraslih osoba i dece starosti od 8 do 10 godina (17). Svi pacijenti sa FH, bilo da imaju heterozigotnu ili homozigotnu formu FH, treba da prođu sveobuhvatni program promene životnog stila. Ovaj program ima tri glavna cilja: promene u ishrani, sprovođenje fizičke aktivnosti i biheviorna terapija. Promene u ishrani podrazumevaju smanjenje unosa zasićenih masi, trans masti i holesterola. Pacijente treba uputiti kod nutricioniste, i dat savet o prestanku pušenja. Takođe jako je važno regulisati druge faktore rizika za KVB, kao što su hipertenzija, gojaznost i dijabetes (37).

1.6.1. Terapijske smernice i preporuke

Evropsko udruženje za aterosklerozu (EAS) i Evropsko kardiološko udruženje (ESC) naglašavaju da je snižavanje LDL-holesterola osnovni terapijski cilj u lečenju pacijenata sa hiperlipidemijom, s obzirom na to da je LDL-h ključni aterogeni faktor rizika. Terapijske preporuke se zasnivaju na proceni ukupnog kardiovaskularnog rizika i prilagođavaju ciljne vrednosti LDL-h prema kategoriji rizika svakog pacijenta. Kod dece i adolescenata sa heterozigotnom familijarnom hiperholesterolemijom (HeFH) preporučuje se postizanje vrednosti LDL-h < 3,5 mmol/L. Kod odraslih sa visokim kardiovaskularnim rizikom ciljna vrednost je LDL-h < 2,5 mmol/L, dok kod pacijenata sa veoma visokim rizikom, kao što su oni sa postojećom aterosklerotskom

kardiovaskularnom bolešću (ASCVD) ili šećernom bolešću sa organskim oštećenjem, cilj je LDL-h < 1,8 mmol/L. Posebna grupa su pacijenti sa ekstremno visokim rizikom, kod njih se preporučuje LDL-h < 1,4 mmol/L. Najzad, kod pacijenata koji pretrpe ponovljenje kardiovaskularne događaje, koji imaju polivaskularnu arterijsku bolest, preporučuje se još agresivniji pristup i postizanje LDL-h < 1,0 mmol/L. U svim kategorijama rizika preporučuje se smanjenje LDL-h za $\geq 50\%$ u odnosu na početne vrednosti, dok se terapija vodi principom „što niže – to bolje“ u pogledu LDL-h redukcije (40,66).

1.6.2. Terapijske opcije lečenja FH

Lečenje familijarne hiperholesterolemije zasniva se na intenzivnoj redukciji LDL-holesterola kako bi se smanjio rizik od prevremene aterosklerotske kardiovaskularne bolesti. Statini predstavljaju terapiju prvog reda i efikasno smanjuju LDL-holesterol inhibicijom HMG-CoA reduktaze, uz dodatno smanjenje rizika od kardiovaskularnih događaja (67). Kada ciljne vrednosti nisu postignute monoterapijom, preporučuje se kombinacija sa ezetimibom, inhibitorom apsorpcije holesterola u crevu (68). Pored standardne terapije statinima i ezetimibom, u novije vreme u lečenju familijarne hiperholesterolemije sve veću ulogu ima bempedoična kiselina, inhibitor ATP–citrata liaze, koja dodatno snižava LDL-holesterol kod pacijenata sa nedovoljnim terapijskim odgovorom ili intolerancijom na statine (69).

Kod pacijenata sa teškim fenotipom bolesti ili nedovoljnim terapijskim odgovorom, u heterozigotnoj FH (HeFH) i homozygotnoj FH (HoFH), uvodi se PCSK9 inhibitori, monoklonskih antitela evolokumab ili alirokumab, koji obezbeđuju dodatno smanjenje LDL-h i do 60% i značajno smanjuju kardiovaskularne događaje (4,70). Nova terapijska opcija je inclisiran, mali interferirajući RNK (siRNA) lek koji deluje na sintezu PCSK9 u hepatocitima, i održivo obara LDL-holesterol dvokratnom aplikacijom godišnje (47). Kod pacijenata sa najtežim oblicima FH ili u rezistentnim slučajevima, mogu se razmatrati lomitapid, mipomersen ili LDL afereza, mada su ove terapije rezervisane za specifične indikacije zbog ograničene dostupnosti i bezbednosnih pitanja (12,71). Savremeni terapijski pristup FH bazira se na principima personalizovane lipidološke terapije, uz obaveznu modifikaciju faktora rizika i praćenje adherencije.

1.6.2.1. Statini

Statini su terapija prvog izbora u FH i započinju se rano sa ciljem intenzivnog smanjenja LDL-C i kardiovaskularnog rizika (13,72). Smanjuju sintezu holesterola u jetri kompetitivnom inhibicijom enzima HMG-CoA reduktaze. Smanjenje koncentracije intracelularnog holesterola dovodi do povećane ekspresije LDLR na površini hepatocita, što dovodi do povećanog preuzimanja LDL holesterola iz krvi i smanjene koncentracije LDL holesterola i drugih lipoproteina koji sadrže apoB, uključujući i čestice bogate trigliceridima. Stepenn smanjenja LDL holesterola zavisi od doze i varira između različitih statina (73). Slab odgovor na terapiju u određenoj meri je uzrokovan lošom komplijansom leka, ali i genetskom varijacijom kako metabolizma holesterola, tako i samim preuzimanjem i metabolizmom statina u jetri (74).

Visokopotentni statini, atorvastatin 40–80 mg i rosuvastatin 20–40 mg, postižu sniženje LDL-h $\geq 50\%$, pri čemu rosuvastatin pokazuje najveću potentnost po miligramu (7,40,72). Najčešći neželjeni efekti su statin-asocirani mišićni simptomi (SAMS), koji se javljaju u realnoj praksi kod 5–10% pacijenata, dok je prava miopatija retka ($\sim 0,1\%$), a rabdomioliza izuzetno retka ($< 0,01\%$). Blago povišenje transaminaza javlja se u 0,5–2% slučajeva i najčešće je prolazno (75). Rizik od novonastalog dijabetesa postoji, posebno kod predisponiranih pacijenata, sa relativnim uvećanjem rizika od oko 9–12%, ali uz značajno veću apsolutnu kardiovaskularnu korist (76). Terapija se ne prekida kod blagih mišićnih bolova ili izolovanog porasta transaminaza. Privremeni prekid ili redukcija doze preporučuju se ako je CK $> 4\text{--}10 \times$ gornje granice normale uz simptome ili ako su transaminaze $> 3 \times$ gornje granice normale u dva uzastopna merenja (75). Nakon smirivanja simptoma preporučuje se re-introdukcija statina, smanjenje doze, prelazak na drugi statin (npr. rosuvastatin zbog dužeg poluvremena), doziranje svaki drugi dan ili kombinacija sa ezetimibom radi bolje podnošljivosti. Potpuni prekid terapije rezervisan je samo za dokumentovanu tešku netoleranciju ili ozbiljne neželjene reakcije, jer je u FH kontinuirana terapija ključna za prevenciju aterosklerotskih komplikacija (13).

1.6.2.2. Ezetimib

Ezetimib je selektivni inhibitor apsorpcije holesterola koji blokira njegovo preuzimanje. Ovaj inhibični efekat ne utiče na apsorpciju triglicerida i liposolubilnih vitamina (77). Inhibicija apsorpcije holesterola u crevima dovodi do smanjenog stvaranja i sekrecije hilomikrona, pored inhibicije reapsorpcije žuči. Zbir ovih efekata dovodi do smanjenog skladištenja holesterola u hepatocitima. Smanjen sadržaj holesterola u jetri favorizuje ekspresiju LDLR, kao i smanjeno stvaranje VLDL. Posledica ovih događaja je smanjen nivo LDL-h u plazmi (78). NICE i Evropsko društvo za ateroskleozu (EAS) preporučuje kombinovanje statina i ezetimiba. Ova dvostruka terapija može da dovede do smanjenja LDL-h za 60 do 70% (7,40). IMPROVE-IT studija je pokazala značajno smanjenje kardiovaskularne smrtnosti, koronarnog događaja i šloga za 6,4% u odnosu na monoterapiju samo preparatom statina (79).

1.6.2.3. Sekvestri žučnih kiselina

Ovi molekuli stvaraju nerastvorljive komplekse sa micelima žučne kiseline i holesterola. Micele ne preleze u enterocite, a posledica toga je njihovo izlučivanje. S obzirom da je transport holesterola između enterocita i jetre je delimično inhibiran, nivo holesterola u jetri je smanjen tako da se smanjuje sekrecija LDL i VLDL, a time i njihova koncentracija u krvotoku (80). Dokazano je da smanjuju i kardiovaskularne događaje, zbog čega se mogu dodati kao treći agens, posebno u grupi pacijenata sa tipom 2 dijabetesa ili LDL-h koji je veći od 1.8 mmol/L (81).

1.6.2.4. Niacin

Niacin (vitamin B3, nikotinska kiselina) bio je jedan od prvih lekova korišćenih u lečenju porodične hiperholesterolemije. Niacin smanjuje mobilizaciju slobodnih masnih kiselina iz masnog tkiva inhibiranjem hormonski-zavisne lipaze, što smanjuje dotok masnih kiselina u hepatocite i

posledično sintezu triglicerida i VLDL čestica. Kao rezultat, dolazi do smanjenja LDL-holesterola za oko 10–20%, smanjenja triglicerida za 20–50%, uz istovremeno povećanje HDL-holesterola za 15–35% (82,83). Uprkos povoljnim promenama lipidnog profila, velika randomizovana ispitivanja AIM-HIGH (2011) i HPS2-THRIVE (2014) nisu pokazala smanjenje kardiovaskularnih događaja kada je niacin dodat već optimalnoj statinskoj terapiji. U ovim studijama niacin je bio povezan sa češćim neželjenim efektima: izraženom vazodilatacijom (tzv. flushing), gastrointestinalnim smetnjama, povećanjem hepatičnih enzima, pogoršanjem glikoregulacije i većim rizikom od novonastalog dijabetesa (84,85). Zbog toga ga najnovije ESC/EAS i ACC/AHA smernice više ne preporučuju rutinski u lečenju hiperholesterolemije ili FH, osim u izuzetnim situacijama kada nije moguće koristiti druge terapijske opcije (7,40)

1.6.2.5. PCSK 9 monklonska antitela

PCSK9 monklonska antitela (evolokumab i alirokumab) predstavljaju savremenu terapiju za pacijente sa teškom hiperholesterolemijom, uključujući one sa porodičnom hiperholesterolemijom (FH), kod kojih maksimalno tolerisana terapija statinom uz ili bez ezetimiba ne obezbeđuje ciljne vrednosti LDL-h (7,40,86). Blokiranjem PCSK9 proteina sprečava se vezivanje i razgradnja LDL receptora u hepatocitima, čime se povećava broj funkcionalnih LDL receptora na površini ćelije i ubrzava eliminacija LDL čestica iz cirkulacije (87). Dodavanje PCSK9 inhibitora statinskoj terapiji dovodi do dodatnog smanjenja LDL-h za oko 50–65% u odnosu na prethodne vrednosti. Studije FOURIER (evolokumab) i ODYSSEY OUTCOMES (alirokumab) pokazale su značajno smanjenje velikih aterosklerotskih kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa već postojećom aterosklerotskom bolešću, uz posebno izražen efekat kod onih sa visokim polaznim LDL-h (4,70). Terapija se u većini slučajeva dobro podnosi, a najčešće neželjene reakcije su lokalne reakcije na mestu aplikacije i blage infekcije gornjih disajnih puteva (87). Najnovije ESC/EAS smernice i ACC/AHA putokaz preporučuju upotrebu PCSK9 inhibitora kao sledeći terapijski korak kod bolesnika sa visokim rizikom kada ciljne vrednosti LDL-holesterola nisu postignute uprkos maksimalnoj standardnoj terapiji (7,40).

1.6.2.6. Mala interferirajuća RNK

Inklisiran je mala interferirajuća RNK (siRNA) koji cilja hepatocitnu transkripciju genu za PCSK9 i dovodi do degradacije PCSK9 iRNK putem mehanizma RNK-interferencije, što smanjuje sintezu PCSK9 proteina i posredno povećava broj LDL-receptora na površini hepatocita pa se ubrzava čišćenje LDL-čestica iz cirkulacije (88). Inklisiran se daje subkutano u šemi: doza na dan 1, ponavljanje u 3. mesecu, a zatim svaka 6 meseci, što omogućava trajno potiskivanje PCSK9 nivoa i praktično održivo sniženje LDL-h (~45–52% u pivotalnim ORION studijama u poređenju s placebo) (19,47). Indikacije obuhvataju odrasle pacijente sa aterosklerotskom kardiovaskularnom bolešću koji zahtevaju dodatno sniženje LDL-h pored maksimalno podnošljive statinske terapije, kao i pacijente sa heterozigotnom porodičnom hiperholesterolemijom u kojima je potrebno dodatno sniženje LDL-h; regulatorna odobrenja (EMA, FDA i druge agencije) i lokalne smjernice definišu specifične indikacione okvire (89). Podaci o sigurnosti iz pooled analiza pokazuju da je inklisiran generalno dobro podnošen — najčešći neželjeni događaj su reakcije na mestu injekcije; sistemskih

toksiciteta nije bilo u frekventnoj stopi u odnosu na placebo u kratkoročnim studijama, ali praćenje ishodnih kardiovaskularnih događaja i dugoročna bezbednost prate se u većim ispitivanjima kao što su ORION-4. Evropske i međunarodne smernice i konsenzusi prepoznaju inkulisiran kao praktičnu, dvaput godišnje opciju za dodatno smanjenje LDL-h kada dutinske terapije nisu dovoljne, uz napomenu da konačni dokaz o smanjenju MACE dolazi iz očekivanih velikih ispitivanja ishoda (89,90).

1.6.2.7. Ostala terapija

Lomitapid je oralni inhibitor mikrozomalnog trigliceridnog transportnog proteina (MTP), koji sprečava sintezu i sekreciju lipoproteina koji sadrže apolipoprotein B (ApoB), čime značajno snižava nivo LDL-holesterola kod pacijenata sa homozigotnom familijarnom hiperholesterolemijom (HoFH) (91). Mipomersen je antisens oligonukleotid koji se specifično vezuje za informacionu RNK ApoB proteina i inhibira njegovu translaciju, što dovodi do smanjene produkcije aterogenih lipoproteina (92). Ovi lekovi predstavljaju dodatnu terapijsku opciju kod pacijenata sa HoFH koji ne postižu ciljne vrednosti LDL-holesterola uprkos standardnom lečenju maksimalno podnošljivim statinom, ezetimibom i/ili LDL-aferezom (3). FDA je odobrila upotrebu lomitapida i mipomersena isključivo za pacijente sa HoFH, zbog rizika od hepatotoksičnosti i potrebe za pažljivim praćenjem jetrenih enzima (7,40).

LDL-afereza predstavlja ekstrakorporalnu proceduru kojom se selektivno uklanja LDL-holesterol iz cirkulacije i koristi se kod pacijenata sa teškim oblicima HoFH, naročito kada ciljne vrednosti LDL-holesterola nije moguće postići farmakološkom terapijom (93). Jedan tretman LDL-afereze akutno smanjuje nivo LDL-holesterola za oko 55–75%, dok kontinuirana primena na nedeljnom ili dvonedeljnom nivou dovodi do održive redukcije LDL-holesterola za 60–80% (94). Pored toga, LDL-afereza može doprineti smanjenju nivoa lipoproteina(a), fibrinogena, poboljšanju reoloških svojstava krvi i endotelne funkcije. U kombinaciji sa savremenim hipolipemijskim lekovima, uključujući statine, ezetimib i PCSK9 inhibitore, kod određenog broja pacijenata moguće je postići ciljne vrednosti LDL-holesterola (93,95).

2 CILJ RADA

Polazeći od navedenih saznanja, cilj ovog rada je bio da se analiziraju

(a) najčešće genske mutacije odgovorne za nastanak FH u uzorku populacije pacijenata u Srbiji;

(b) korelacija uočenih genskih mutacija sa kliničkim karakteristikama FH i pojavom i/ili progresijom KVB tokom višegodišnjeg praćenja;

(c) povezanost genskih mutacija i efekata primenjene terapije na postizanje terapijskog cilja LDL-h.

Radi ostvarenja navedenog cilja u ovom radu su postavljeni sledeći zadaci:

- 1. analizirati postojanje najčešćih genskih mutacija odgovornih za nastanak FH kod pacijenata sa kliničkom dijagnozom FH;*
- 2. ispitati povezanost odredjenih genskih mutacija sa kliničkim karakteristikama FH;*
- 3. analizirati povezanost odredjenih genskih mutacija i nivoa LDL-h pre primene terapije kod pacijenata sa FH;*
- 4. proučiti povezanost odredjenih genetskih mutacija i efekat primenjene terapije na postizanje terapijskog cilja LDL-h tokom trogodišnjeg praćenja.*

3 METODE

3.1. Izbor ispitanika

Ova studija je sprovedena kao observaciona, retrospektivno-prospektivna analiza pacijenata sa kliničkom sumnjom na familijarnu hiperholesterolemiju, koji su bili upućeni i praćeni u Kabinetu za poremećaje lipida, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Univerzitetkog Kliničkog centra Srbije u Beogradu u period od 2015. do 2023. godine. U istraživanje je uključeno ukupno 101 ispitanik (94 nepovezana pacijenta i 7 srodnika) koji su ispunjavali kliničke kriterijume za moguću, verovatnu ili sigurnu FH, definisane prema Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) skoru, a koji prethodno nisu bili na terapiji (61).

3.2. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje

Uključeni su pacijenti sa kliničkom sumnjom na FH, zasnovanom na povišenim vrednostima LDL-holesterola, ličnom ili porodičnom anamnezom prevremene aterosklerotske kardiovaskularne bolesti, ili prisustvom fizičkih znakova karakterističnih za FH (tendonksantomi, ksantelazme, arcus cornealis).

Isključeni su pacijenti sa sekundarnim uzrocima hiperlipidemije (nekompenzovan dijabetes, hipotireoidizam, nefrotski sindrom, hronična bolest jetre, hronična bubrežna insuficijencija) i oni sa nepotpunim biohemijskim ili genetskim podacima.

3.3. Klinička evaluacija

Za svakog ispitanika prikupljeni su podaci o demografskim karakteristikama (pol, starost u godinama), antropometrijskim parametrima, kao i prisutnim komorbiditetima i fizičkim znacima familijarne hiperholesterolemije.

Telesna visina (TV) izražena je u metrima (m), a telesna težina (TT) u kilogramima (kg). Na osnovu ovih podataka izračunat je indeks telesne mase (ITM) prema standardnoj formuli:

$$\text{ITM (kg/m}^2\text{)} = \text{TT (kg)} / \text{TV (m)}^2$$

Kod svih ispitanika evidentirano je prisustvo ili odsustvo sledećih komorbiditeta: arterijska hipertenzija, šećerna bolest tipa 2 (DM2) i kardiovaskularna bolest (KVB). Prisustvo komorbiditeta je registrovano na osnovu medicinske dokumentacije i anamnestičkih podataka:

- Arterijska hipertenzija (AH) definisana je kao prethodno postavljena dijagnoza ili vrednosti krvnog pritiska $\geq 140/90$ mmHg pri najmanje dva merenja, ili korišćenje antihipertenzivne terapije u trenutku uključenja u studiju (96).
- Dijabetes melitus tip 2 (DM2) definisan je na osnovu anamneze ili laboratorijskih kriterijuma: glikemija natašte $\geq 7,0$ mmol/L, HbA1c $\geq 6,5\%$, ili primena antihiperglikemijske terapije (97).
- Kardiovaskularna bolest (KVB) obuhvatala je prethodno dokumentovan akutni koronarni sindrom, infarkt miokarda, perkutanu koronarnu intervenciju (PCI), aortokoronarnu bajpas operaciju (CABG), moždani udar ili perifernu arterijsku bolest (7).

Takođe su zabeleženi fizički znaci karakteristični za FH, kao što su ksantomi, ksantelazme i arcus cornealis.

Klinička klasifikacija familijarne hiperholesterolemije izvedena je prema Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) kriterijumima (61). Na osnovu ukupnog skora, pacijenti su svrstani u četiri kategorije:

- **Sigurna FH** (≥ 8 poena)
- **Verovatna FH** (6–8 poena)
- **Moguća FH** (3–5 poena)
- **Malo verovatna FH** (< 3 poena)

3.4. Određivanje nivoa ukupnog holesterola (h), HDL-h, LDL-h i triglicerida u serumu

Vrednost nivoa ukupnog holesterola, njegovih supfrakcija i triglicerida u serumu određena je našte, nakon 12h gladovanja. Analize su sprovedene na automatizovanom biohemijskom analizatoru (Roche Cobas 6000, Roche Diagnostics, Nemačka) korišćenjem enzimskih kolorimetrijskih metoda. Vrednosti su izražene u mmol/L

3.5. Određivanje nivoa apolipoprotein A-I (ApoA-I), apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein(a) [Lp(a)] u serumu

Vrednost nivoa apolipoprotein A-I (ApoA-I), apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein(a) [Lp(a)] u serumu određena je našte, nakon 12h gladovanja. Analize su sprovedene na automatizovanom biohemijskom analizatoru (Roche Cobas 6000, Roche Diagnostics, Nemačka) imunoturbidimetrijske metode. Vrednosti su izražene u mmol/L, osim za Lp(a) koji je izražen u g/L.

3.6. Genetska analiza

Genetsko testiranje je sprovedeno u saradnji sa Institutom za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo Univerziteta u Beogradu, u skladu sa važećim etičkim i laboratorijskim standardima. Genomska DNK je izolovana iz uzoraka periferne krvi korišćenjem standardizovanih protokola za ekstrakciju, čime je obezbeđen visok kvalitet i integritet genetskog materijala neophodan za dalju analizu. Kvantitet i čistoća izolovane DNK procenjavani su spektrofotometrijski i/ili fluorometrijski.

Ciljana analiza gena uključenih u metabolizam lipoproteina niske gustine (LDL), konkretno *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* i *LDLRAP1*, sprovedena je primenom tehnologije sekvenciranja nove generacije (next-generation sequencing, NGS). Biblioteke za sekvenciranje pripremljene su prema uputstvima proizvođača, uz prethodnu amplifikaciju ciljnih regiona gena, a sekvenciranje je izvršeno na platformi Illumina NextSeq 550DX. Dobijeni sirovi podaci podvrgnuti su bioinformatičkoj obradi koja je obuhvatala kontrolu kvaliteta, mapiranje sekvenci na referentni humani genom (GRCh37/hg19 ili GRCh38, u zavisnosti od protokola), detekciju varijanti i njihovu anotaciju korišćenjem relevantnih baza podataka (npr. ClinVar, dbSNP, gnomAD).

Identifikovane genetske varijante interpretirane su u skladu sa smernicama American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), uz primenu standardizovanih kriterijuma za procenu njihove kliničke značajnosti. Na osnovu dostupnih dokaza (frekvencija u populaciji, in silico predikcije, funkcionalni podaci, segregacija u porodici i literatura), varijante su klasifikovane u pet kategorija: patogene, verovatno patogene, varijante nepoznatog značaja (VUS), verovatno benigne i benigne. Kada je bilo potrebno, rezultati su dodatno potvrđeni Sanger sekvenciranjem kao referentnom metodom (98).

3.7. Statistička analiza

Statistička obrada podataka izvršena je korišćenjem programa IBM SPSS Statistics for Windows, verzija 30.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Normalnost raspodele podataka proverena je Shapiro–Wilk testom, koji je pokazao da većina varijabli ne prati normalnu raspodelu. Zbog toga su korišćeni neparametrijski testovi, uključujući: Mann–Whitney U-test za poređenje medijana između dve grupe, χ^2 test i Fisher-ov egzaktni test za analizu povezanosti kategorijalnih varijabli. Vrednosti su izražene kao medijana i interkvartilni raspon (IQR), a statistička značajnost je definisana za $p < 0.05$. Za ispitivanje nezavisnih prediktora genetski potvrđene FH, postizanja ciljne vrednosti LDL-holesterola i prisustva kardiovaskularnih događaja korišćena je multivarijantna logistička regresiona analiza. Rezultati su prikazani kao odnos šansi (odds ratio, OR) sa 95% intervalom pouzdanosti (CI). Statistička značajnost je određena na nivou $p < 0.05$.

3.8. Etički aspekti

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Univerzitetskog Kliničkog centra Srbije i sprovedeno u skladu sa Deklaracijom iz Helsinkija (2013). Svi učesnici (ili njihovi zakonski zastupnici) potpisali su informisani pristanak za učešće u studiji i genetsko testiranje.

4 REZULTATI

Prema postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja, a primenom navedenih metoda u radu su dobijeni sledeći rezultati:

4.1. Osnovne karakteristike pacijenata

U istraživanje je ukupno uključeno 101 ispitanik. Prosečna starost populacije iznosila je $55,1 \pm 15,8$ godina, a većinu su činile žene (56,4%). Nisu uočene značajne razlike u osnovnim demografskim i antropometrijskim parametrima između muškaraca i žena, osim u obimu struka, te su rezultati prikazani objedinjeno za celu grupu. Prosečan indeks telesne mase (ITM) ukazuje na prekomernu uhranjenost ispitanika ($25,0 \pm 3,7$ kg/m²). U pogledu biohemijskih parametara, ukupni i LDL-holesterol su bili povišeni, dok su prosečne vrednosti HDL-holesterola i triglicerida bile umereno promenjene u odnosu na referentne vrednosti. Dijabetes melitus je registrovan kod 14,9% pacijenata, a arterijska hipertenzija kod 32,7%. Fizički znaci karakteristični za familijarnu hiperholesterolemiju (ksantomi, ksantelazme, arcus corenalis) zabeleženi su kod 11 ispitanika (Tabela 2).

Tabela 2. Osnovne karakteristike ispitivanih pacijenata

Ukupan broj pacijenata	101
Prosečna starost (godine)	$55,1 \pm 15,8$
Pol % (žene/muškarci)	56,43%/43,57%
Indeks telesne mase (kg/m²)	$25 \pm 3,7$
Prosečna koncentracija triglicerida (TG) (mmol/L)	$1,9 \pm 1,1$
Prosečna koncentracija LDL-h (mmol/L)	$5,4 \pm 2,2$
Prosečna koncentracija HDL-h (mmol/L)	$1,3 \pm 0,34$
Prosečna koncentracija ukupnog holesterola (mmol/L)	$7,8 \pm 2,8$
Prosečna koncentracija Lp(a) (g/L)	0.31 ± 0.37
Dijabetes	14,9%
Hipertenzija	32,7%
Fizički znaci FH	11

4.2. Analiza postojanja načešćih genetskih mutacija odgovornih za nastanak FH kod pacijenata sa kliničkom dijagnozom FH

Genetska osnova FH najčešće je povezana sa mutacijama u genima koji učestvuju u regulaciji metabolizma LDL-holesterola, među kojima dominiraju patogene varijante u genu *LDLR*, a u manjem procentu u genima *APOB*, *PCSK9* i *LDLRAP1*. Iako je klinička dijagnoza važna početna tačka u prepoznavanju obolelih, genetska potvrda bolesti predstavlja zlatni standard za definitivnu dijagnozu, omogućava primenu kaskadnog testiranja kod srodnika i doprinosi proceni individualnog kardiovaskularnog rizika.

U nameri da se ispita postojanja načešćih genetskih mutacija odgovornih za nastanak FH kod pacijenata sa kliničkom dijagnozom FH u radu je sprovedeno genetsko testiranje na prisustvo patogenih varijanti u genima asociranim sa FH, i to na genima za *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* i *LDLRAP1*. Ispitivanje je obavljeno kod svih 101 pacijenata. Patogene varijante su identifikovane kod 44 od 101 pacijenta, što je rezultiralo ukupnom stopom detekcije od 43,6%.

4.2.1. Analiza postojanja patogene varijante u *LDLR* genu

Patogenu varijantu u *LDLR* genu imalo je 93,2% (41/44) pacijenata. Detektovano je trinaest različitih varijanti, a sve osim dve bile su heterozigotne. Samo jedan pacijent je imao homozigotnu varijantu, a drugi je imao dve heterozigotne varijante u *LDLR* genu. Najčešće primećena varijanta bila je c.858C>A p.(Ser286Arg), koja je bila prisutna kod 26% *LDLR*-pozitivnih pacijenata. Ova varijanta bila prisutna i kod jedinog pacijenta sa homozigotnom varijantom i kod jednog sa dve heterozigotne varijante. Druga najčešća varijanta bila je c.81C>G p.(Cys27Trp), koja je pronađena kod 17,1% *LDLR*-pozitivnih pacijenata (Tabela 3, Tabela 4).

Tabela 3. Genetske varijante u *LDLR* genu kod pacijenata (N = 44)

Varijanta (cDNA / Protein)	Broj pacijenata (n)	Procenat (%)	Tip varijante
c.858C>A p.(Ser286Arg)	11	26	Heterozigot / homozigot*
c.81C>G p.(Cys27Trp)	7	17,1	Heterozigot
Ostale 11 varijanti	23	52,3	Heterozigot (osim jednog)
Dve varijante kod istog pacijenta	1	2,3	Heterozigot
Homozigotna varijanta	1	2,3	Homozigot

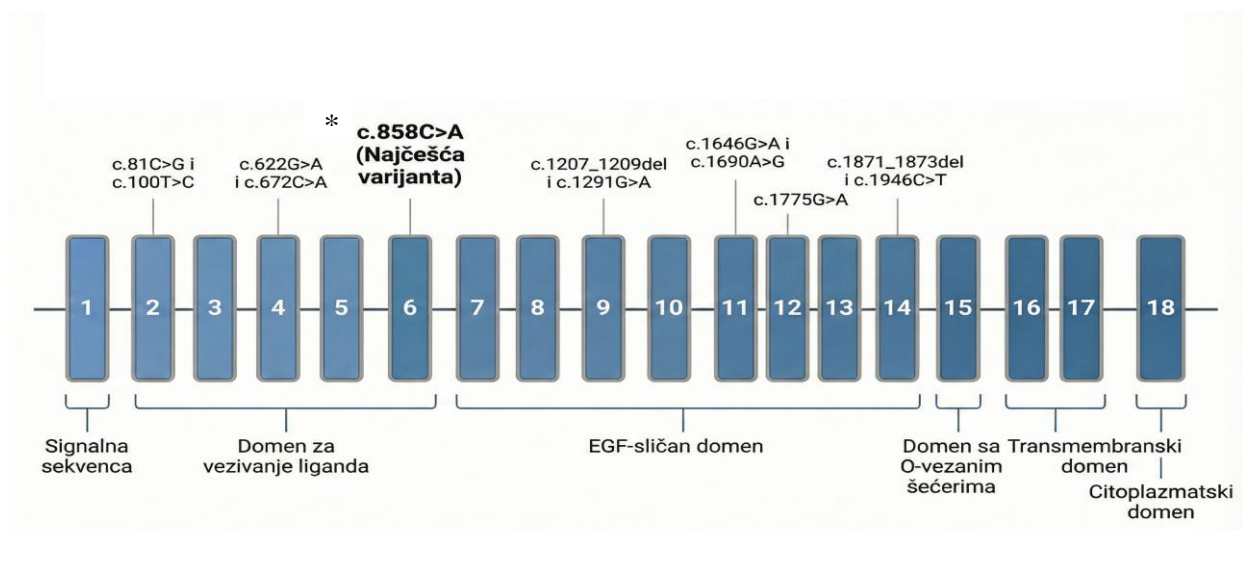
*Varijanta c.858C>A bila je prisutna i kod pacijenta sa homozigotnom varijantom i kod pacijenta sa dve heterozigotne varijante.

Tabela 4. Spektar patogenih varijanti u genima *LDLR* i *APOB* u kohorti

Br. pacijenta (N)	Egzon / intron	Gen	Zigotnost	Nukleotidna promena	Promena na proteinu	Tip varijante	ACMG klasifikacija	Prethodni opis
7	Egzon 2	LDLR	Heterozigot	c.81C>G	p.(Cys27 Trp)	ms	Patogena	ClinVar 226304
1	Egzon 2	LDLR	Heterozigot	c.100T>C	p.(Cys34 Arg)	ms	Patogena	ClinVar 251018, PMID: 33231818
2	Egzon 4	LDLR	Heterozigot	c.622G>A	p.(Glu208Lys)	ms	Patogena	ClinVar 251328
1	Egzon 4	LDLR	Heterozigot	c.672C>A	p.(Asp224Glu)	ms	Patogena	ClinVar 375790
11	Egzon 6	LDLR	Heterozigot	c.858C>A	p.(Ser286 Arg)	ms	Patogena	ClinVar 251488
1	Egzon 6	LDLR	Homozigot	c.858C>A	p.(Ser286 Arg)	ms	Patogena	ClinVar 251488
1	Egzon 6	LDLR	Komp. heterozigot	c.858C>A	p.(Ser286 Arg)	ms	Patogena	ClinVar 251488
4	–	LDLR	Heterozigot	c.622G>A	p.(Glu208Lys)	ms	Patogena	ClinVar 251328
2	Egzon 9	LDLR	Heterozigot	c.1207_1209del	p.(Phe403del)	ifd	Patogena	ClinVar 251731
1	Egzon 9	LDLR	Heterozigot	c.1291G>A	p.(Ala431 Thr)	ms	Patogena	ClinVar 3695
5	Egzon 11	LDLR	Heterozigot	c.1646G>A	p.(Gly549Asp)	ms	Patogena	ClinVar 3698
4	Egzon 11	LDLR	Heterozigot	c.1690A>G	p.(Asn564Asp)	ms	Patogena	ClinVar 251973
1	Intron 11	LDLR	Heterozigot	c.1706-1G>A	–	ss	Patogena	ClinVar 251992
1	Egzon 12	LDLR	Heterozigot	c.1775G>A	p.(Gly592Glu)	ms	Patogena	ClinVar 161271
1	Egzon 13	LDLR	Heterozigot	c.1871_1873del	p.(Ile624 del)	ifd	Patogena	ClinVar 250297
2	Egzon 13	LDLR	Heterozigot	c.1946C>T	p.(Pro649 Leu)	ms	Patogena	ClinVar 252122
3	Egzon 26	APOB	Heterozigot	c.10580G>A	p.(Arg3527Gln)	ms	Patogena	ClinVar 17890

Napomene: N – broj pacijenata koji nose datu varijantu, **Referentne sekvence gena:** LDLR – NM_000527.4; APOB – NM_000384.2, **ACMG klasifikacija:** sve varijanteklasifikovane kao **patogene**, **Tipovi varijanti:** ms-Missense, ifd-delecije u okviru čitanja (in-frame), ss-varijante mesta splajsinga

Varijante otkrivene u LDLR genu bile su raspoređene po skoro svim eksonima. Konkretno, pet varijanti mapirano je na eksonima 2–6, koji kodiraju domen koji vezuje ligand, dok je osam varijanti lokalizovano na eksonima 7–13, obuhvatajući domen sličan EGF-u (*Slika 1*).



Slika 1. Šematski prikaz *LDLR* gena sa označenim egzonima i intronima. Prikazane su detektovane varijante i njihove pozicije u genu. * označava pacijenta sa kompozitno heterozigotnim varijantama c.858C>A i c.622G>A;

4.2.2. Analiza postojanja patogene varijante u *APOB* genu

Analiza gena *APOB* otkrila je prisustvo jedne patogene varijante, c.10580G>A p. (Arg3527Gln), dobro poznate u literaturi kao najčešće mutacije povezane sa heterozigotnom porodičnom hiperholesterolemijom. Učestalost ove varijante u ispitivanoj kohorti prikazana je u *Tabeli 5*.

Tabela 5. Genetske varijante u *APOB* genu kod pacijenata (N = 44)

Varijanta (cDNA / Protein)	Broj pacijenata (n)	Procenat (%)	Tip varijante
c.10580G>Ap.(Arg3527Gln)	3	6,8	Heterozigot

4.2.3. Analiza postojanja patogene varijante u *PCSK9* i *LDLRAP1* genu

Nisu otkrivene patogene varijante u *PCSK9* ili *LDLRAP1* genima.

4.2.4. Analiza postojanja načešćih genetskih mutacija kod srodnika

Među sedam srodnih osoba uključenih u ovu studiju, koje potiču iz pet različitih porodica, uzročna varijanta je identifikovana u tri porodice (c.81C>G p.(Cys27Trp) je pronađena u dve porodice, a c.1646G>A p.(Gly549Asp) u jednoj porodici), dok u preostale dve porodice nije mogla biti otkrivena uzročna varijanta (Tabela 6).

Tabela 6. Uzročna varijanta u LDLR genu među sedam srodnih osoba iz pet porodica

Porodica	Broj srodnih osoba	Identifikovana varijanta (cDNA / Protein)	Status uzročnosti
Porodica 1	2	c.81C>G p.(Cys27Trp)	Uzročna
Porodica 2	1	c.81C>G p.(Cys27Trp)	Uzročna
Porodica 3	2	c.1646G>A p.(Gly549Asp)	Uzročna
Porodica 4	1	Nije identifikovana	Neodređeno
Porodica 5	1	Nije identifikovana	Neodređeno

4.3. Ispitavanje povezanosti određenih genskih mutacija sa kliničkim karakteristikama FH

Ispitavanje odnosa između genetskih varijanti i kliničkog fenotipa kod pacijenata sa FH predstavlja važan korak ka razumevanju heterogenosti ove bolesti. Poznato je da različite mutacije u genima uključenim u metabolizam lipoproteina, pre svega u *LDLR*, *APOB* i *PCSK9*, dovode do varijabilne ekspresije bolesti i različitog stepena kardiovaskularnog rizika (6,8,99). Dosadašnja istraživanja pokazala su da određene varijante ovih gena mogu biti povezane sa težim biohemijskim profilom, višim koncentracijama LDL-holesterola, ranijom pojavom simptoma i prisustvom kliničkih manifestacija kao što su ksantomi i prevremena ateroskleroza (37). Stoga analiza povezanosti genotipa i fenotipa ima ključnu ulogu u preciznijoj proceni rizika i individualizaciji terapijskog pristupa kod pacijenata sa FH.

Imajući to u vidu, cilj našeg istraživanja nije bio samo identifikacija patogenih varijanti u genima *LDLR* i *APOB*, već i procena njihove povezanosti sa kliničkom prezentacijom bolesti kroz primenu Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) skora. Ovakav pristup omogućava integraciju genotipa u procenu verovatnoće bolesti, što je od suštinske važnosti za pravovremeno postavljanje dijagnoze, procenu ukupnog kardiovaskularnog rizika i individualizaciju terapije.

4.3.1. Analiza povezanosti DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Analiza povezanosti DLCN skora i prisustva patogenih varijanti pokazala je očekivani trend – viši dijagnostički skor bio je povezan sa većom verovatnoćom genetske potvrde bolesti. Najveći udeo patogenih varijanti registrovan je među pacijentima sa kategorijom „sigurna FH“, dok je genetska potvrda bila ređa u grupama „verovatna“ i „moguća FH“. Značajan broj genetski pozitivnih slučajeva zabeležen je i među pacijentima sa nižim DLCN skorom, što ukazuje na ograničenu dijagnostičku preciznost kliničkih kriterijuma kada se koriste samostalno (Tabela 7).

Tabela 7. Distribucija genetski pozitivnih i negativnih pacijenata u odnosu na DLCN kategorije

DLCN kategorija	Genetski negativni (n)	Genetski pozitivni (n)	% genetski negativnih	% genetski pozitivnih
Sigurna FH (DLCN > 8)	4	26	13,3%	86,7%
Verovatna FH (DLCN 6–8)	8	2	80,0%	20,0%
Moguća FH (DLCN 3–5)	24	9	72,7%	27,3%
Malo verovatna FH (DLCN < 3)	21	7	75,0%	25,0%
Ukupno	57	44	56,4%	43,6%

Napomena: DLCN – Dutch Lipid Clinic Network skor za dijagnostiku familijarne hiperholesterolemije.

4.3.2. Analiza povezanosti pojedinačnih komponeneta DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) skor je najčešće korišćen alat za kliničku procenu verovatnoće postojanja familijarne hiperholesterolemije. Sastoji se od više komponenti koje obuhvataju porodičnu anamnezu, ličnu anamnezu kardiovaskularnih događaja, fizičke znake bolesti, nivoa lipida u serumu i genetske nalaze. Dosadašnja istraživanja pokazala su da pojedine komponente DLCN skora, naročito koncentracija LDL-holesterola i prisustvo fizičkih znakova poput ksantoma, imaju jaču povezanost sa verovatnoćom otkrivanja patogenih mutacija (6,37,99).

U ovom delu rada analizirana je povezanost svake od komponenti DLCN skora sa prisustvom genetski potvrđenih mutacija kod ispitanika, kako bi se identifikovale kliničke karakteristike koje najpouzdanije predviđaju genetski pozitivan status. 4.3.2.1. Analiza povezanosti porodične anamneze prematurne koronarne bolesti DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Analiza povezanosti porodične anamneze prevremene koronarne bolesti sa genetskim statusom pokazala je statistički značajnu vezu između ova dva parametra. Ispitanici sa pozitivnom porodičnom anamnezom češće su imali potvrđenu patogenu varijantu u poređenju sa onima bez takve anamneze ($p = 0.045$), što ukazuje da porodična anamneza predstavlja važan klinički prediktor genetski potvrđene bolesti (*Tabela 8*)

Tabela 8. Povezanost porodične anamneze premature koronarne bolesti sa prisustvom genskih mutacija

Porodična anamneza premature koronarne bolesti	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Prisustvo (1)	30 (52,6%) **	27 (47,4%)	57
Odsustvo (0)	14 (31,8%)	30 (65,9%)	44
Ukupno	44	57	101

** $p < 0.05$

4.3.2.2. Analiza povezanosti vrednosti LDL-h kod odraslog rođaka DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Analiza je pokazala da ispitanici koji imaju odraslog rođaka sa povišenim vrednostima LDL-holesterola značajno češće nose patogenu gensku varijantu u poređenju sa onima kod kojih takav podatak ne postoji. Prisustvo hiperholesterolemije kod člana porodice pokazalo se kao dobar klinički pokazatelj potencijalne monogenske etiologije, a statistička analiza je potvrdila postojanje značajne povezanosti između ovog porodičnog kriterijuma i pozitivnog genetskog nalaza ($p = 0,003$). Ovaj rezultat ukazuje da porodična anamneza, posebno u kontekstu visoke vrednosti LDL-holesterola kod odraslog rođaka, može biti koristan element u selekciji pacijenata za genetsko testiranje (*Tabela 9*).

Tabela 9. Povezanost povišenog LDL-h kod odraslog rođaka (>95. percentil) sa prisustvom genskih mutacija

LDL-h kod odraslog rođaka (>95. percentil)	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	13 (27,7%)	34 (72,3%)	47
Da (1)	31 (57,4%) **	23 (42,6%)	54
Ukupno	44	57	101

** $p < 0.01$

4.3.2.3. Analiza povezanosti vrednosti LDL-h kod rođaka mlađih od 18 godina DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Analiza podataka je pokazala da povišene vrednosti LDL-holesterola kod srodnika mlađih od 18 godina nisu bile značajno povezane sa prisustvom patogene genske varijante kod ispitanika. Iako je povišen LDL-h u mlađem životnom dobu važna komponenta kliničkih kriterijuma za dijagnozu FH, u našem uzorku ovaj parametar nije imao prediktivnu vrednost za genetski pozitivan status ($p = 0.869$) (Tabela 10).

Tabela 10. Povezanost povišenog LDL-h kod rođaka mlađih od 18 godina sa prisustvom genskih mutacija

LDL-h kod mlađih (<18 godina) (>95. percentil)	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	42 (43,8%)	54 (56,3%)	96
Da (1)	2 (40,0%)	3 (60,0%)	5
Ukupno	44	57	101

NS

4.3.2.4. Analiza povezanosti prisustvo ksantoma ili arcus cornealis kod rođaka DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Prisustvo ksantoma ili arcus cornealis kod srodnika prvog stepena pokazalo je značajnu povezanost sa genetskim statusom pacijenata sa sumnjom na porodičnu hiperholesterolemiju. U grupi ispitanika koji su u porodičnoj anamnezi imali ove kliničke znakove, genetski pozitivni rezultati bili su znatno češći u poređenju sa pacijentima koji nisu imali takav porodični podatak ($p < 0.05$). Ovaj nalaz ukazuje da prisustvo ksantoma ili arcus cornealis u porodici može predstavljati pouzdan fenotipski marker naslednog porekla bolesti i dodatno opravdava primenu kaskadnog genetskog skrininga kod srodnika obolelih (Tabela 11).

Tabela 11. Povezanost ksantoma ili arcus cornealis u srodnika sa prisustvom genskih mutacija

Ksantomi ili arcus cornealis	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	38 (40,43%)	56 (59,57%)	94
Da (1)	6 (85,7%) *	1 (14,3%)	7
Ukupno	44	57	101

* ($p < 0.05$)

4.3.2.5. Analiza povezanosti prisustvo prematurene koronarne bolesti DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Prisustvo lične anamneze prematurene koronarne bolesti pokazalo je značajnu povezanost sa genetskim statusom ispitanika. Pacijenti koji su imali zabeležene rane kardiovaskularne događaje, poput infarkta miokarda ili angine pektoris pre 55. godine kod muškaraca i pre 60. godine kod žena, češće su bili genetski pozitivni u poređenju sa osobama bez takve anamneze ($p = 0.008$). Ovaj nalaz je u skladu sa poznatom prirodnom istorijom porodične hiperholesterolemije, budući da produženo izlaganje povišenim vrednostima LDL-holesterola dovodi do ubrzane ateroskleroze i ranog razvoja koronarne bolesti (Tabela 12). Rezultati potvrđuju da prisustvo lične anamneze prematurene koronarne bolesti predstavlja važan klinički pokazatelj koji doprinosi prepoznavanju pacijenata sa genetski potvrđenom FH. Ovaj parametar, kao sastavni deo DLCN skora, pokazao se kao jedan od značajnijih prediktora za identifikaciju visokorizičnih pacijenata i može imati praktičnu vrednost u procesu ranog otkrivanja i ciljanog lečenja.

Tabela 12. Povezanost lične anamneze prematurene koronarne bolesti sa prisustvom genskih mutacija

Lična anamneza premiurene KVB	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	33 (39.3%)	52 (60.7%)	85
Da (1)	11 (68.8%) *	5 (31.2%)	16
Ukupno	44	57	101

* ($p < 0.05$)

4.3.2.6. Analiza povezanosti prisustvo cerebralne vaskularne bolesti ili periferne arterijske bolesti (CVB/PAB) DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Prisustvo lične anamneze prethodnog cerebralne vaskularne bolesti ili periferne arterijske bolesti (CVB/PAB) analizirano je kao potencijalni klinički prediktor genetski potvrđene porodične hiperholesterolemije. Iako se očekuje da dugotrajno izlaganje povišenim vrednostima LDL-holesterola može doprineti razvoju aterosklerotskih komplikacija, u ovom istraživanju nije potvrđena statistički značajna povezanost između postojanja ranog CVB/PAB i pozitivnog genetskog nalaza ($p = 0.455$). Ovaj nalaz ukazuje da prisustvo ovih manifestacija samo po sebi nije dovoljno senzitivno da predvidi genetski potvrđenu FH, posebno imajući u vidu da aterosklerotske komplikacije, poput periferne arterijske bolesti, mogu biti posledica i drugih metaboličkih poremećaja ili komorbiditeta. Stoga ova komponenta DLCN skora ima ograničenu diskriminatornu vrednost u izolovanom posmatranju i veći značaj dobija tek u kombinaciji sa drugim kliničkim i biohemijским parametrima (Tabela 13).

Tabela 13. Povezanost lične anamneze CVB/PAB sa prisustvom genskih mutacija

Lična anamneza CVB/PAB	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	38 (42.7%)	52 (57.3%)	90
Da (1)	6 (54.5%)	5 (45.5%)	11
Ukupno	44	57	101

NS

4.3.2.7. Analiza povezanosti prisustvo ksantoma i arcusa cornealis DLCN skora sa prisustvom genskih mutacija

Prisustvo tetivnih ksantoma, kao klasičnog kliničkog znaka porodične hiperholesterolemije, analizirano je kao potencijalni fenotipski marker za predikciju genetski potvrđene bolesti. Iako se ksantomi tradicionalno smatraju visoko specifičnim znakom FH, u ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna povezanost između njihovog prisustva i pozitivnog genetskog nalaza ($p = 0.202$). Ovakav rezultat može se objasniti činjenicom da se ksantomi najčešće javljaju kod nelečenih pacijenata sa dugogodišnjom, izrazito teškom hiperholesterolemijom, pa je njihova prevalenca opala u savremenim populacijama usled ranije dijagnostike i primene statinske terapije. Stoga, iako ksantomi predstavljaju važan klinički znak, njihovo odsustvo ne isključuje postojanje monogenske FH (Tabela 14).

Tabela 14. Povezanost prisustva ksantoma sa prisustvom genskih mutacija

Ksantomi	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	41 (42.7%)	56 (57.3%)	97
Da (1)	3 (75.0%)	1 (25.0%)	4
Ukupno	44	57	101

NS

Prisustvo arcus cornealis kod pacijenata mlađih od 45 godina pokazalo se kao značajan klinički marker povezan sa genetski potvrđenom familijarnom hiperholesterolemijom. U ovom istraživanju, svi pacijenti kod kojih je zabeležen arcus cornealis bili su genetski pozitivni, što je rezultovalo statistički značajnom povezanošću sa genetskim statusom ($p = 0.021$). Ovaj nalaz je u skladu sa ranijim istraživanjima koja su pokazala da prisustvo arcus cornealis u mlađem uzrastu

odražava dugotrajnu izloženost povišenim vrednostima LDL-holesterola i ubrzano taloženje lipida u rožnjači. Iako se arcus cornealis može javiti i kod starijih osoba bez FH, njegova pojava kod mlađih od 45 godina ima visoku dijagnostičku specifičnost za monogensku hiperholesterolemiju. Stoga se ovaj znak može smatrati klinički značajnim pokazateljem koji doprinosi proceni verovatnoće genetskog porekla bolesti (*Tabela 15*).

Tabela 15. Povezanost prisustva arcus cornealis kod pacijenata mlađih od 45 godina sa genetskim statusom

Arcus cornealis	Genetski status: Pozitivno n (%)	Genetski status: Negativno n (%)	Ukupno n
Ne (0)	40 (41.7%)	57 (58.3%)	97
Da (1)	4 (100%) *	0 (0%)	4
Ukupno	44	57	101

* ($p < 0.05$)

4.3.2.8. Analiza prediktora genetski potvrđene familijarne hiperholesterolemije

Radi procene kliničkih faktora koji doprinose verovatnoći otkrivanja patogenih genetskih varijanti, sprovedena je logistička regresiona analiza. Među analiziranim kliničkim parametrima, jedini nezavisni prediktor pozitivnog genetskog nalaza bio je povišen LDL-holesterol kod odraslog srodnika prvog stepena (LDL-h > 95. percentila), koji je pokazao statistički značajnu povezanost sa prisustvom monogenske forme FH ($p = 0.029$). Suprotno tome, ostali ispitivani klinički pokazatelji – uključujući porodičnu i ličnu anamnezu prevremene kardiovaskularne bolesti, povišen LDL-holesterol kod mlađih od 18 godina, prisustvo ksantoma ili arcus cornealis – nisu se izdvojili kao značajni prediktori genetski potvrđene bolesti ($p > 0.05$) (*Tabela 16*). Ovi nalazi ukazuju da porodični lipidni status, posebno prisustvo značajne hiperholesterolemije kod srodnika, ima veću dijagnostičku vrednost u predikciji FH od pojedinih kliničkih manifestacija bolesti u ovoj populaciji.

Tabela 16. Faktori povezani sa pozitivnim genetskim nalazom kod pacijenata sa FH

DLCN kriterijum	OR (Exp(B))	95% CI	p
Prematurna koronarna bolest u porodici	1,24	0,49 – 3,17	0,654
LDL-h > 95. percentila kod odraslog rođaka	2,86	1,11 – 7,32	0,029 *
LDL-h > 95. percentila kod mlađih od 18 godina	0,72	0,10 – 5,26	0,750
Ksantomi ili arcus cornealis u porodici	3,47	0,30 – 39,51	0,317
Lična anamneza prevremene koronarne bolesti	3,32	0,72 – 15,29	0,123
Lična anamneza CVB/PAB	0,63	0,11 – 3,65	0,604
Prisustvo ksantoma	3,84	0,26 – 56,05	0,325
Arcus cornealis < 45 god.	n/a*	–	

* $p < 0.05$ ** mali broj slučajeva

4.4. Analiza povezanosti određenih genetskih mutacija i nivoa lipida pre primene terapije

Analiza lipidnih parametara u odnosu na genetski status omogućava poređenje biohemijskih karakteristika između pacijenata sa genetski potvrđenom i onih sa klinički suspektom, ali genetski nepotvrđenom porodičnom hiperholesterolemijom. U ovom delu rada ispitana je povezanost prisustva patogenih mutacija sa vrednostima osnovnih komponenti lipidnog profila pre započinjanja terapije, uključujući ukupni holesterol, LDL-h, HDL-h, trigliceride, apolipoprotein A-I, apolipoprotein B i lipoprotein(a).

4.4.1. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa LDL-h pre primene terapije

Kod pacijenata sa genetski potvrđenom familijarnom hiperholesterolemijom utvrđene su značajno više vrednosti LDL-h pre započinjanja terapije u poređenju sa pacijentima bez identifikovane mutacije ($p < 0.001$). Ovaj rezultat ukazuje da prisustvo patogene varijante u genima povezanima sa FH prati teži lipidni fenotip i izraženiju hiperholesterolemiju još pre primene terapije (Tabeli 17).

Tabela 17. Poređenje vrednosti LDL-holesterola pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan LDL-h (mmol/L)	Z	p-vrednost	Grupa (genetika)
Bez mutacije	57	4.8	-4.551	<0.001*	Bez mutacije
Sa mutacijom	44	6.2			Sa mutacijom

N-broj ispitanika, Z –standardizovana vrednost test statistike, * $p < 0.05$

Ovaj nalaz potvrđuje da genetski potvrđena FH mutacija ima izražen uticaj na stepen hiperholesterolemije pre primene terapije, što ukazuje na značaj uključivanja genetskog testiranja u rutinsku dijagnostiku i procenu rizika kod pacijenata sa sumnjom na FH.

4.4.2. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa UH-h pre primene terapije

Pacijenti sa genetski potvrđenom porodičnom hiperholesterolemijom imali su značajno više vrednosti ukupnog holesterola pre započinjanja terapije u poređenju sa pacijentima bez identifikovane mutacije ($p < 0.001$). Ovaj nalaz potvrđuje da prisustvo patogenih varijanti u genima povezanim sa FH značajno doprinosi povišenju ukupnog holesterola, što odražava izraženiji lipidni disbalans kod genetski pozitivnih pacijenata (*Tabela 18*).

Tabela 18. Poređenje vrednosti ukupnog holesterola pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan UH (mmol/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	57	6.8	-4.387	<0.001
Sa mutacijom	44	8.9		

N-broj ispitanika, Z –standardizovana vrednost test statistike,* $p < 0.05$

4.4.3. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa HDL-h pre primene terapije

Ispitivanje vrednosti HDL-holesterola pre terapije nije pokazalo značajnu razliku između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije ($p = 0.350$). Ovaj rezultat ukazuje da prisustvo patogenih varijanti povezanih sa FH nije imalo značajan uticaj na vrednosti HDL-holesterola u ispitivanoj populaciji (*Tabela 19*).

Tabela 19. Poređenje vrednosti HDL-holesterola pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Srednja vrednost HDL-h (mmol/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	57	1.28	-0.935	0.350
Sa mutacijom	44	1.27		

N-broj ispitanika, SD – standardna devijacija, Z –standardizovana vrednost test statistike, NS- nije statistički značajno

4.4.4. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Tg pre primene terapije

Vrednosti triglicerida pre započinjanja terapije razlikovale su se između analiziranih grupa. Pacijenti bez genetski potvrđene mutacije imali su više vrednosti triglicerida u odnosu na pacijente sa prisutnom monogenomskom mutacijom, pri čemu je utvrđena statistički značajna razlika između grupa ($p < 0,001$). Ovakav nalaz je u skladu sa očekivanim fenotipskim obrascem, gde su više vrednosti triglicerida češće udružene sa poligenomskom ili metaboličkom etiologijom, dok su kod monogenomske FH dominantno povišene vrednosti LDL-holesterola (Tabela 20).

Tabela 20. Poređenje vrednosti triglicerida (Tg) pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan Tg (mmol/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	57	1.98	-3.380	<0.001
Sa mutacijom	44	1.41		

N – broj ispitanika; Z – standardizovana vrednost test statistike,* $p < 0.05$

4.4.5. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Lp(a) pre primene terapije

U analiziranoj populaciji vrednosti lipoproteina(a) [Lp(a)], poznatog nezavisnog kardiovaskularnog faktora rizika, nisu pokazale značajnu razliku između pacijenata sa genetski potvrđenom porodičnom hiperholesterolemijom i onih bez detektovanih mutacija ($p = 0.421$). Ovo ukazuje da koncentracija Lp(a) nije direktno zavisila od prisustva mutacija u genima *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* ili *LDLRAP1*. Dobijeni rezultat je u skladu sa činjenicom da je Lp(a) uglavnom pod snažnom genetskom kontrolom LPA gena, nezavisno od klasičnih FH mutacija, tako da povišene vrednosti mogu postojati i kod osoba bez monogenomske FH. Suprotno tome, kod određenog broja pacijenata sa genetski potvrđenom FH registrovane su visoke vrednosti Lp(a), što može doprineti dodatnom povećanju aterogenog rizika i objasniti varijabilnost kliničke slike među genetski pozitivnim pacijentima. Ovaj nalaz podržava preporuke da Lp(a) bude deo početne procene kardiovaskularnog rizika kod svih pacijenata sa sumnjom na FH, bez obzira na genetski status (Tabela 21).

Tabela 21. Poređenje vrednosti Lp(a) pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan Lp(a) (g/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	57	0.142	-0.805	0.421
Sa mutacijom	44	0.116		

N – broj ispitanika; Z – standardizovana vrednost test statistike, NS- nije statistički značajno

4.4.6. Analiza povezanosti genetskih mutacija i nivoa Apo A I Apo B pre primene terapije

U analizi povezanosti između genetskog statusa i nivoa apolipoproteina pre započinjanja terapije, nije uočena statistički značajna razlika u koncentracijama apolipoproteina A-I (ApoA-I) između pacijenata sa genetski potvrđenom FH i onih bez detektovane mutacije ($p = 0.413$). Ovo ukazuje da ApoA-I, kao marker HDL frakcije, nije bio značajno povezan sa prisustvom patogenih varijanti u analiziranoj kohorti (Tabeli 22).

Tabela 22. Poređenje vrednosti ApoA-I pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan Apo A (g/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	57	1.639	-0.819	0.413
Sa mutacijom	44	1.523		

N – broj ispitanika; Z – standardizovana vrednost test statistike, NS- nije statistički značajno

Nasuprot tome, vrednosti apolipoproteina B (ApoB) bile su značajno više kod pacijenata sa genetski potvrđenom FH u poređenju sa genetski negativnim ispitanicima ($p = 0.001$). Ovo je očekivano, imajući u vidu da ApoB predstavlja strukturnu komponentu svih aterogenih lipoproteinskih čestica (LDL, IDL, VLDL), te direktno odražava broj cirkulišućih aterogenih čestica u plazmi. Povišene vrednosti ApoB pre terapije kod genetski pozitivnih pacijenata potvrđuju izraženiji aterogeni lipidni profil u ovoj grupi (Tabeli 23).

Tabela 23. Poređenje vrednosti ApoB pre terapije između pacijenata sa i bez genetski potvrđene mutacije

Grupa (genetika)	N	Medijan Apo B (g/L)	Z	p-vrednost
Bez mutacije	52	1.221	-3.284	0.001*
Sa mutacijom	38	1.672		

N – broj ispitanika; Z – standardizovana vrednost test statistike,* $p < 0.05$

4.4.7. Poređenje kliničkih i biohemijskih parametara između LDLR-pozitivnih pacijenata sa i bez c.858C>A p.(Ser286Arg) varijante

U okviru grupe pacijenata sa potvrđenom patogenom varijantom u *LDLR* genu izvršena je dodatna analiza sa ciljem procene eventualnih fenotipskih razlika između nosilaca i nenosilaca varijante c.858C>A p.(Ser286Arg). Pacijenti sa ovom varijantom bili su prosečno nešto stariji u odnosu na LDLR-pozitivne pacijente bez nje, ali bez uočljive kliničke razlike. Vrednosti ukupnog holesterola i LDL-holesterola bile su nešto niže kod nosilaca c.858C>A varijante, dok su HDL-holesterol i trigliceridi bili gotovo identični između grupa. Sa druge strane, primećene su više vrednosti indeksa telesne mase u grupi nosilaca varijante, što ukazuje na potencijalni uticaj telesne mase na ukupni lipidni profil u ovoj podgrupi.

Iako razlike nisu bile statistički značajne, ovi nalazi mogu ukazivati na suptilne fenotipske razlike među LDLR-pozitivnim pacijentima u zavisnosti od prisustva specifične varijante c.858C>A (Tabela 24).

Tabela 24. Klinički i biohemijski parametri LDLR-pozitivnih pacijenata u zavisnosti od prisustva varijante c.858C>A p.(Ser286Arg)

Parametar	LDLR-pozitivni bez c.858C>A (n = 28)	LDLR-pozitivni sa c.858C>A (n = 13)
Godine (Mean ± SD)	47.8 ± 16.3	50.0 ± 9.26
UH (mmol/L)	9.7 ± 3.5	8.5 ± 2.4
LDL-h (mmol/L)	6.9 ± 2.4	6.2 ± 2.2
HDL-h (mmol/L)	1.4 ± 0.43	1.4 ± 0.39
TG (mmol/L)	1.7 ± 1.4	1.5 ± 0.75
ITM (kg/m ²)	24.0 ± 4.3	27.0 ± 4.90

NS- nije statistički značajno

4.5. Razlike u terapijskom odgovoru između genetski pozitivnih i negativnih pacijenata

Procena efekta hipolipemijske terapije pokazala je da su pacijenti sa genetski potvrđenom FH postigli veći relativni procenat sniženja LDL-holesterola u poređenju sa pacijentima bez detektovane mutacije ($p = 0.017$). Ovaj rezultat ukazuje da genetski pozitivni pacijenti, koji po pravilu imaju više početne vrednosti LDL-holesterola, ostvaruju izraženiji terapijski odgovor u smislu procentualnog smanjenja LDL-h (Tabela 25).

Tabela 25. Procenat sniženja LDL-holesterola u odnosu na genetski status

Genetski status	N	Srednji rang	p-vrednost
Bez mutacije	57	55,52	
Sa mutacijom	44	68,91	0,017*

N – broj ispitanika, * $p < 0,05$

Međutim, uprkos većem relativnom padu, apsolutne vrednosti LDL-holesterola nakon primene terapije ostale su značajno više u grupi genetski pozitivnih pacijenata ($p = 0.043$). Ovakav nalaz ukazuje na izraženiji rezidualni kardiovaskularni rizik kod ove grupe, što je očekivano s obzirom na teži poremećaj metabolizma lipoproteina koji prati monogensku FH. Dobijeni rezultati potvrđuju da konvencionalna terapija statinima, čak i u kombinaciji sa ezetimibom, često nije dovoljna da obezbedi postizanje ciljnih vrednosti LDL-holesterola kod pacijenata sa genetski potvrđenom bolešću, te da je u ovoj populaciji neophodno razmatrati intenzivniji terapijski pristup i ranije uključivanje kombinovane ili biološke terapije (Tabela 26).

Tabela 26. Postterapijske vrednosti LDL-holesterola i razlike prema genetskom statusu

Genetski status	N	Srednja vrednost \pm SD (mmol/L)	p-vrednost
Bez mutacije	57	3,45 \pm 1,42	
Sa mutacijom	44	4,02 \pm 1,53	0,043*

N – broj ispitanika, SD – standardna devijacija, * $p < 0,05$

4.5.1. Analiza povezanosti genetskih mutacija i efekata primenjene terapije na postizanje terapijskih ciljeva LDL-h

Postizanje ciljnih vrednosti LDL-holesterola nakon primene hipolipemijske terapije analizirano je u odnosu na genetski status ispitanika, pri čemu su ciljne vrednosti definisane prema kardiovaskularnom riziku. Za pacijente bez prethodnog kardiovaskularnog događaja cilj je bio LDL-h < 3,0 mmol/L, dok je za pacijente sa dokumentovanom aterosklerotskom kardiovaskularnom bolešću cilj bio LDL-h < 1,8 mmol/L, u skladu sa važećim preporukama Evropskog kardiološkog društva (ESC/EAS).

Rezultati su pokazali da je verovatnoća postizanja ciljnih vrednosti LDL-holesterola bila značajno niža kod pacijenata sa genetski potvrđenom FH u poređenju sa pacijentima bez identifikovane mutacije ($p = 0.004$). Ovaj nalaz ukazuje na to da genetski pozitivni pacijenti predstavljaju terapijski zahtevniju populaciju, kod koje standardni režimi lečenja često nisu dovoljni da obezbede adekvatnu kontrolu LDL-holesterola (Tabela 27).

Tabela 27. Ostvarivanje ciljnih vrednosti LDL-holesterola u zavisnosti od genetskog statusa

Genetski status	Postignuta ciljna vrednost LDL-h (n)	Nije postignuta ciljna vrednost LDL-h (n)	Ukupno (n)	p-vrednost
Bez mutacije	34	23	57	
Sa mutacijom	13	31	44	0,004*
Ukupno	47	54	101	

* $p < 0,05$

4.5.2. Analiza povezanost genetskog statusa sa postizanjem ciljne vrednosti LDL-h nakon terapije uz kontrolu starosti, pola, BMI i početnog LDL-a

Multivarijantna logistička regresija korišćena je u cilju procene nezavisnog uticaja genetskog statusa na verovatnoću postizanja ciljnih vrednosti LDL-holesterola nakon terapije, uz kontrolu potencijalnih kliničkih faktora (početni LDL-holesterol, starost, pol i indeks telesne mase). Rezultati su pokazali da je genetski status bio jedini značajan prediktor terapijskog uspeha, pri čemu su pacijenti sa genetski potvrđenom FH imali značajno manju verovatnoću da postignu ciljnu vrednost LDL-holesterola u poređenju sa genetski negativnim pacijentima ($p = 0.025$).

Nasuprot tome, početni nivo LDL-h, starost, pol i BMI nisu imali statistički značajan uticaj na postizanje terapijskog cilja u ovom modelu. Ovaj nalaz ukazuje da genetsko poreklo bolesti predstavlja ključni faktor koji otežava postizanje adekvatne kontrole LDL-holesterola uprkos primeni standardne terapije (Tabela 28).

Tabela 28. Logistička regresija – faktori povezani sa postizanjem ciljne vrednosti LDL-h

Varijabla	B koeficijent	Exp(B) (OR)	95% CI za OR	p-vrednost
Početni LDL-h (mmol/L)	-0.292	0.75	0.54 – 1.04	0.083
Starost (godine)	-0.035	0.97	0.93 – 1.00	0.073
Pol (1 = M, 2 = Ž)	0.087	1.09	0.81 – 1.47	0.565
ITM (kg/m ²)	0.020	1.02	0.88 – 1.19	0.796
Genetski status (mutacija prisutna)	-1.549	0.21	0.06 – 0.82	0.025*
Konstanta	2.027	7.59	-	0.412

OR – odds ratio (odnos šansi); CI – interval pouzdanosti, * $p < 0.0$

4.6. Analiza povezanosti kliničkih i genetskih faktora sa prisustvom kardiovaskularnih događaja

Kako bi se procenio doprinos genetskih i kliničkih faktora na pojavu kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa familijarnom hiperholesterolemijom, sprovedena je multivarijantna logistička regresiona analiza. U model su uključeni početni nivo LDL-holesterola, starost, pol, indeks telesne mase i genetski status. Rezultati su pokazali da je pol bio jedini statistički značajan prediktor prisustva kardiovaskularnog događaja ($p = 0.002$), pri čemu su muškarci imali manju verovatnoću za pojavu KVB u poređenju sa ženama, kada se kontrolišu ostali faktori. Genetski status je pokazao trend ka većoj verovatnoći kardiovaskularnih događaja ($p = 0.306$), ali taj efekat nije bio statistički značajan. Početni nivo LDL-holesterola, starost i ITM takođe nisu imali značajan uticaj na pojavu KVB ($p > 0.05$).

Ovi nalazi ukazuju da u okviru analizirane populacije pol predstavlja nezavisan prediktor prisustva kardiovaskularnih događaja, dok genetski status, iako povezan sa težim lipidnim profilom, sam po sebi nije bio dovoljan da značajno predvidi pojavu KVB (Tabela 29).

Tabela 29. Logistička regresija – prediktori kardiovaskularnih događaja

Varijabla	B koeficijent	Exp(B) (OR)	95% CI za OR	p-vrednost
Početni LDL-h (mmol/L)	0.289	1.34	0.99 – 1.80	0.056
Starost (godine)	0.031	1.03	0.98 – 1.09	0.219
Pol (1 = M, 2 = Ž)	-2.307	0.10	0.02 – 0.42	0.002*
ITM (kg/m ²)	0.060	1.06	0.92 – 1.23	0.415
Genetski status (mutacija prisutna)	0.780	2.18	0.49 – 9.72	0.306
Konstanta	-3.556	0.03	–	0.149

* $p < 0.05$, OR – odnos šansi (odds ratio); CI – interval pouzdanosti

5 DISKUSIJA

U ovom istraživanju sprovedeno je genetsko testiranje najčešćih monogenских uzroka familijarne hiperholesterolemije, analizom gena LDLR, APOB, PCSK9 i LDLRAP1 kod ukupno 101 ispitanika sa kliničkom dijagnozom FH. Patogene ili verovatno patogene varijante detektovane su kod 43,6% pacijenata, što predstavlja stopu detekcije uporedivu sa onom prijavljenom u ranijim studijama u Evropi i svetu, gde se dijagnostička efikasnost klinički usmerenog genetskog testiranja kreće u rasponu od 30% do 60% (14,31). Ovaj rezultat potvrđuje značaj i opravdanost genetske dijagnostike u evaluaciji pacijenata sa sumnjom na FH, posebno imajući u vidu da klinički kriterijumi sami po sebi nisu dovoljni za potvrdu bolesti i razlikovanje monogenских od poligenских oblika hiperholesterolemije. Dodatno, studije Khere i saradnika (100) kao i Benna i saradnika (43) ukazale su da se prisustvo patogenih varijanti u ovim genima povezuje sa značajno višim nivoima LDL-cholesterola i većim kardiovaskularnim rizikom u poređenju sa pacijentima bez potvrđene genetske mutacije, što naglašava važnost molekularne dijagnostike u preciznoj klasifikaciji i daljem terapijskom vođenju pacijenata sa FH.

U našem uzorku, LDLR je dominantni genetski uzrok FH: čak 93,2% (41/44) genetski potvrđenih slučajeva nosilo je patogenu/verovatno patogenu varijantu u LDLR genu. Ovakva dominacija LDLR-pozitivnih slučajeva u kohortama selektovanim po kliničkim kriterijumima u skladu je sa literaturom, u kojoj LDLR najčešće čini najveći udeo molekularno potvrđenih FH (često ≥ 60 –80%, a u pojedinim serijama i više kada je selekcija stroga) (101). Spektar od 13 različitih LDLR varijanti, sa pretežno heterozigotnim stanjem (samo jedan homozigot i jedan kombinovani heterozigot), tipičan je za visoku alelnu heterogenost FH i podudara se sa istorijskim i savremenim bazama podataka/serijama koje prikazuju stotine do hiljada jedinstvenih LDLR promena širom sveta (34,102).

Detektovane varijante u LDLR genu raspoređene duž gotovo celog receptora, ali uz jasno klasterisanje u funkcionalno značajnim domenima. Konkretno, pet varijanti locirano je u eksonima 2–6, koji kodiraju domen za vezivanje liganda (LDLR-A/LA) bogat cisteinskim ponavljanjima, dok je osam varijanti identifikovano u eksonima 7–13, koje obuhvataju EGF-slični domen i β -propeler regiju, odgovorne za reciklažu receptora. Ovakva distribucija u skladu je sa dosadašnjim nalazima u literature, prema kojima se patogene varijante najčešće grupišu upravo u ovim domenima zbog njihove ključne uloge u funkciji LDL receptora (103). Mutacije u LA domenu, naročito one koje menjaju cisteinske ostatke, remete formiranje disulfidnih veza i stabilnost strukture receptora, dok varijante u EGF-prekursor domenu narušavaju pH-zavisnu disocijaciju LDL–LDLR kompleksa i reciklažu receptora, što je dobro opisano u i klasičnim (104) i savremenijim funkcionalnim studijama (101).

U našoj studiji varijanta c.858C>A p.Ser286Arg u LDLR genu bila je najčešće identifikovana, prisutna kod 26% svih LDLR-pozitivnih pacijenata, uključujući i jedinog homozigotnog ispitanika kao i jednog kombinovanog heterozigota. Ovakva učestalost ukazuje da ova varijanta može imati poseban značaj u strukturi FH u našoj populaciji. Aminokiselinski položaj Ser286 nalazi se u eksonu 6, u okviru domena za vezivanje liganda (LDLR-A domen), što je

funkcionalno kritična regija bogata cisteinskim ponavljanjima i osetljiva na strukturne poremećaje. Prethodne studije su pokazale da promene u ovoj regiji često dovode do narušene sposobnosti LDL receptora da pravilno veže LDL čestice ili da se efikasno transportuje do ćelijske membrane, što podržava patogenost ove varijante (34,102). Pored toga, ponovljena detekcija iste varijante među nepovezanim pacijentima, kao u našem slučaju, može ukazivati na mogući „founder“ efekat u našoj populaciji, fenomen koji je ranije opisan i u drugim regionalnim FH kohortama (101). Dalje haplotipske analize bile bi opravdane kako bi se ispitao potencijalni zajednički genetski izvor ove varijante kod naših pacijenata.

Druga najčešće detektovana varijanta u našem istraživanju bila je c.81C>G p.(Cys27Trp) u LDLR genu, prisutna kod 17,1% LDLR-pozitivnih pacijenata. Ova varijanta menja konzervirani cisteinski ostatak u eksonu 2, koji je deo prvog ligand-vezujućeg domena (LA1) LDL receptora. Cisteinski ostaci u LA domenima imaju ključnu ulogu u formiranju disulfidnih veza koje stabilizuju terciarnu strukturu receptora, pa su upravo zamene cisteina među najčešće patogenim promenama u LDLR genu (34). Slično kao i prethodno diskutovana varijanta p.Ser286Arg, i p.Cys27Trp se nalazi u funkcionalno kritičnom regionu, a funkcionalne studije su pokazale da mutacije koje remete disulfidne veze dovode do pogrešnog savijanja receptora, zadržavanja u endoplazmatskom retikulumu i smanjene ekspresije na površini ćelije (21,105). Pored toga, ova varijanta je ranije prijavljena u više evropskih populacija sa FH i klasifikovana je kao patogena ili verovatno patogena u kliničkim bazama podataka (UCL LDLR, ClinVar), što dodatno potvrđuje njen doprinos fenotipu bolesti (106). Visoka učestalost ove varijante u našoj studiji može ukazivati na njen potencijalni epidemiološki značaj u našoj populaciji, što je važno za buduće genetsko profilisanje FH u regionu.

U našem istraživanju, patogena varijanta u APOB genu identifikovana je kod troje nepovezanih pacijenata (6,8%), pri čemu je u sva tri slučaja detektovana ista varijanta c.10580G>A p.(Arg3527Gln), poznata i kao p.Arg3500Gln prema starijoj numeraciji. Ovo je u skladu sa literaturom koja navodi da je upravo ova varijanta najčešći uzrok familijarne defektne apolipoprotein B-100 (FDB), monogenskog oblika FH koji se nasleđuje autosomno dominantno (41,107). Patogeni mehanizam ove varijante zasniva se na smanjenoj afinitetu ApoB-100 za LDL receptor, što dovodi do smanjene klirensa LDL čestica iz cirkulacije uprkos normalnoj sintezi ApoB (108). Naši rezultati dodatno potvrđuju da je ova mutacija prisutna i u našoj populaciji u udelu sličnom onom u drugim evropskim studijama, gde je FDB prijavljena u 2–10% molekularno potvrđenih FH slučajeva (109,110). Ujedno, uočen nedostatak porodične povezanosti među nosiocima ove varijante u našoj kohorti može ukazivati na sporadičnu distribuciju bez jasnog founder efekta, što se razlikuje od nalaza u srednjoj Evropi, gde je p.Arg3527Gln identifikovana kao osnivačka mutacija (49). Ovi podaci ukazuju na značaj uključivanja APOB analize u standardni FH genski panel, naročito zbog postojanja blažih i fenotipski zamaskiranih slučajeva FDB koji se mogu prevideti ako se dijagnostika zasniva samo na LDLR genu.

U našoj studiji nisu detektovane patogene varijante u genima PCSK9 ili LDLRAP1, što je u skladu sa podacima iz literature koji navode da su varijante u ova dva gena ređi uzrok FH u poređenju sa mutacijama u LDLR i APOB genima. Prema dostupnim genetskim studijama, PCSK9 gain-of-function mutacije odgovorne su za manje od 1–3% slučajeva heterozigotne FH, sa značajnim geografskim razlikama u učestalosti (111,112). Na primer, mutacije poput p.Asp374Tyr i p.Ser127Arg identifikovane su kao regionalno specifične u pojedinim populacijama, ali se retko sreću u opštoj evropskoj populaciji (113). Slično tome, mutacije u LDLRAP1 genu, koji se nasleđuje

autosomno recesivno, izuzetno su retke i opisane pre svega u populacijama sa visokim stepenom konsanguininiteta, uključujući Srednji istok i delove Mediterana (54,114,115). Stoga, odsustvo varijanti u PCSK9 i LDLRAP1 u našoj kohorti odražava očekivanu genetsku distribuciju FH u evropskim populacijama, gde LDLR ostaje dominantni genetski uzrok, dok su PCSK9 i LDLRAP1 zastupljeni tek sporadično.

Analiza porodičnih slučajeva u našoj studiji dodatno naglašava genetsku heterogenost FH u okviru populacije. Kod sedam srodnika iz pet različitih porodica, uzročna varijanta je potvrđena u tri porodice, pri čemu je varijanta c.81C>G p.(Cys27Trp) detektovana u dve nepovezane porodice, dok je c.1646G>A p.(Gly549Asp) identifikovana u jednoj porodici. Ovakav nalaz potvrđuje tipičan autosomno dominantni obrazac nasleđivanja FH, sa vertikalnim prenošenjem mutacije u više generacija, što je u skladu sa ranijim studijama koje su pokazale da većina patogenih varijanti LDLR ima porodičnu segregaciju koja prati fenotip hiperholesterolemije (22,102). Ipak, u dvema porodicama sa kliničkom slikom kompatibilnom sa FH nije identifikovana patogena varijanta u analiziranim genima, što može ukazivati na poligenisku osnovu bolesti, prisustvo mutacija u još neotkrivenim ili retkim genima, ili na strukturne varijante (npr. velike delecije/duplikacije) u LDLR genu koje nisu detektovane standardnim sekvenciranjem (116,117). Ovaj nalaz je u skladu sa rezultatima prethodnih genetskih studija koje su pokazale da se kod 20–40% pacijenata sa kliničkom slikom kompatibilnom sa FH ne može identifikovati monogenska mutacija u genima LDLR, APOB ili PCSK9 primenom standardnog sekvenciranja (116,118). Ovakvi slučajevi se najčešće objašnjavaju poligenском osnovom hiperholesterolemije, prisustvom mutacija u regulatornim ili nekodirajućim regijama, kao i mogućnošću postojanja velikih delecija i duplikacija u LDLR genu koje se ne mogu detektovati metodama sekvenciranja, već zahtevaju dodatnu analizu tehnikom MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) (119).

Naši nalazi stoga potvrđuju važnost porodičnog genetskog testiranja, kako za potvrdu dijagnoze kod asimptomatskih srodnika, tako i za diferencijalnu dijagnozu između monogenske i poligenске hiperholesterolemije, što ima praktične terapijske implikacije.

Rezultati naše studije pokazuju da postoji jasna povezanost između DLCN (Dutch Lipid Clinic Network) skorova i verovatnoće genetske potvrde FH, pri čemu je najveći udeo patogenih varijanti detektovan u grupi pacijenata koji su prema DLCN kriterijumima svrstani u kategoriju „sigurna FH“. Ovo je u skladu sa ranijim studijama koje su potvrdile da je DLCN sistem koristan kao inicijalni klinički alat za selekciju pacijenata za genetsko testiranje (30,61). Ipak, prisustvo genetski potvrđenih slučajeva i u grupama „verovatna“ i „moguća FH“ ukazuje da oslanjanje isključivo na kliničke kriterijume može rezultovati potcenjivanjem broja pacijenata sa monogenskom osnovom bolesti, posebno kod osoba sa blažim ili atipičnim fenotipskim izrazom.

Slična zapažanja opisana su i u drugim populacionim studijama, gde je čak 15–30% pacijenata sa genetski potvrđenom FH imalo samo umereno povišene LDL vrednosti i DLCN skor ispod praga za „sigurnu FH“ (120). Ova pojava se delom može objasniti genetskom heterogenošću bolesti, ali i uticajem modifikatora fenotipa, uključujući poligeniski rizik, faktore sredine i istovremeno prisustvo metaboličkih faktora poput gojaznosti i insulinske rezistencije. Rezultati naše studije takođe ukazuju da DLCN kriterijumi imaju ograničenu specifičnost, posebno u diferencijaciji

monogenske FH od poligenetskog fenotipa hiperholesterolemije, što je više puta istaknuto i u preporukama Evropskog udruženja za aterosklerozu (EAS).

Stoga naši nalazi potvrđuju da kombinacija kliničkih kriterijuma i genetskog testiranja predstavlja optimalan dijagnostički pristup, jer omogućava precizniju identifikaciju obolelih i njihovih srodnika, čime se unapređuje sprovođenje kaskadnog skrininga, kao i donose ciljane terapijske odluke. Posebno je važno naglasiti da deo pacijenata sa nižim DLCN skorom, ali potvrđenom mutacijom, spada u populaciju sa povećanim kardiovaskularnim rizikom, što opravdava njihovo rano uključivanje u hipolipemijsku terapiju i praćenje.

Porodična anamneza prevremene koronarne bolesti jedna je od osnovnih komponenti DLCN skora i odavno je prepoznata kao važan klinički marker u proceni rizika za postojanje familijarne hiperholesterolemije. Brojne studije pokazale su da prisustvo prevremenih aterosklerotskih događaja kod bliskih srodnika značajno povećava verovatnoću da pacijent nosi patogenu varijantu u jednom od FH-genskih lokusa, posebno u LDLR genu (104). Ovaj nalaz se tumači time što FH pokazuje autosomno dominantan obrazac nasleđivanja, pa se mutacija i klinička manifestacija često mogu pratiti kroz više generacija iste porodice.

Rezultati naše studije potvrđuju ovaj trend, jer je postojala statistički značajna povezanost između pozitivne porodične anamneze i prisustva genetski potvrđene FH ($p = 0.045$). Ovaj nalaz je u skladu sa ranijim istraživanjima u evropskim populacijama, gde je porodična anamneza opisana kao nezavisan prediktor mutacionog statusa, naročito u kombinaciji sa visokim LDL-holesterolom i prisustvom kliničkih znakova bolesti (61). Međutim, iako porodična anamneza ostaje koristan orijentir u inicijalnoj proceni pacijenata, njena dijagnostička tačnost može biti ograničena – posebno u slučajevima kada su podaci o srodnicima nepotpuni, kada je bolest subklinička, ili kada je prisutan poligeniski oblik hiperholesterolemije.

Naši rezultati potvrđuju da porodična anamneza prevremene KVB, u kombinaciji sa drugim komponentama DLCN skora, predstavlja važan klinički pokazatelj koji opravdava indikaciju za genetsko testiranje. Ipak, sama po sebi, ona nije dovoljna da diferencira monogensku od poligeneske forme hiperholesterolemije, te se njena dijagnostička vrednost povećava jedino u kontekstu integrisanog kliničko-genetskog pristupa (121).

Analiza povezanosti vrednosti LDL-h kod odraslih rođaka sa prisustvom patogenih varijanti od posebnog je značaja u dijagnostičkom pristvu FH, budući da bolest ima autosomno dominantan obrazac nasleđivanja i često se javlja u više generacija iste porodice. Naši rezultati pokazuju da je prisustvo povišenih vrednosti LDL-h kod odraslog srodnika bilo statistički značajno povezano sa verovatnoćom genetski potvrđene FH kod ispitanika ($p = 0.003$). Ovo je očekivan nalaz koji je u skladu sa prethodnim studijama, koje su pokazale da lipidni profil u rođaka, naročito povišen LDL-h kod prvostepenih srodnika, predstavlja jedan od ključnih kliničkih pokazatelja monogenetskog porekla bolesti (9).

Prethodne genetske studije su potvrdile da se u velikom broju porodica sa FH može pratiti vertikalna transmisija povišenih vrednosti LDL-h, često praćena ranim nastankom aterosklerotske kardiovaskularne bolesti (2). Umans-Eckenhause i saradnici su pokazali da je porodična distribucija hiperlipidemije jedan od najznačajnijih kriterijuma u otkrivanju novih slučajeva FH putem

kaskadnog skrininga (61). Slično tome, Damgaard i saradnici su istakli da prisustvo povišenih vrednosti LDL-h u porodici skraćuje dijagnostički put i povećava verovatnoću identifikacije patogenih mutacija, čak i kod osoba sa graničnim kliničkim fenotipom (120).

Naši nalazi podržavaju kliničku upotrebu podataka o vrednostima LDL-h u rođaka, koji doprinose boljem razgraničenju monogenske FH od poligenih ili sekundarnih dislipidemija. Ipak, treba naglasiti da oslanjanje isključivo na ove podatke ima svoja ograničenja, budući da su lipidni profili rođaka često nepoznati ili pod uticajem terapije ili faktora životne sredine, zbog čega je genetsko testiranje i dalje neophodan korak u potvrdi dijagnoze.

Povišene vrednosti LDL-h u detinjstvu predstavljaju važan rani pokazatelj mogućeg postojanja familijarne hiperholesterolemije i uključene su kao komponenta DLCN skora kako bi se podstaklo rano otkrivanje obolelih kroz porodični skrining. Međutim, rezultati naše studije pokazuju da povišene vrednosti LDL-h kod srodnika mlađih od 18 godina nisu bile značajno povezane sa prisustvom patogene genske varijante kod ispitanika. Ovo je u skladu sa nalazima nekih prethodnih studija koje su ukazale na značajnu fenotipsku varijabilnost u dečijem uzrastu, čak i kod nosilaca mutacija, kao i na potencijalno odloženo ispoljavanje lipidnog fenotipa (122).

Razlog za odsustvo statistički značajne povezanosti može se objasniti činjenicom da lipidni profil dece može biti pod uticajem brojnih faktora sredine, uključujući telesnu masu, ishranu i pubertetski status, što može da zamaskira genetski determinisan porast LDL holesterola. Takođe, dokazano je da kod nosilaca blažih ili receptor-defektnih mutacija u LDLR genu može doći do postepenog porasta LDL-h tokom adolescencije, što umanjuje dijagnostičku vrednost ovog kriterijuma u mlađem životnom dobu (123). Ovo potvrđuju i rezultati međunarodnih registara za FH kod dece, gde je istaknuto da se oslanjanje isključivo na lipidni profil u detinjstvu može dovesti do propuštanja dijagnoze kod značajnog broja nosilaca mutacija, dok genetsko testiranje povećava senzitivnost dijagnostike (17).

Stoga se naši rezultati uklapaju u sve veći broj dokaza koji ukazuju da skrining vrednosti LDL-h u detinjstvu ne bi trebalo koristiti izolovano, već u kombinaciji sa porodičnom anamnezom i, gde je moguće, genetskim testiranjem. Evropsko udruženje za aterosklerozu (EAS) zato naglašava važnost genetskog potvrđivanja FH u ranoj dobi kako bi se omogućilo blagovremeno započinjanje terapije i prevencija aterosklerotskih komplikacija.

Analiza naših podataka pokazala je da prisustvo ksantoma ili arcus cornealis kod srodnika prvog stepena ima značajnu povezanost sa genetski potvrđenim slučajevima FH, što je u skladu sa nalazima drugih studija koje ističu da su ovi fizički znaci važan fenotipski marker bolesti. Prema nedavno objavljenim rezultatima, prisustvo tendinoznih ksantoma i arcus cornealis značajno povećava verovatnoću otkrivanja patogene varijante u genima povezanim sa FH (124,125). Ovi nalazi potvrđuju da klinički znaci, posebno kada su prisutni u više članova porodice, mogu predstavljati pouzdan pokazatelj naslednog porekla bolesti i koristan kriterijum pri selekciji kandidata za genetsko testiranje. Ipak, treba naglasiti da odsustvo ovih manifestacija ne isključuje mogućnost postojanja mutacije, budući da fenotipska ekspresija može varirati u zavisnosti od tipa mutacije, dobi pacijenta i uticaja faktora okoline. Stoga kombinacija kliničkih podataka i genetske analize ostaje optimalni pristup za preciznu dijagnozu FH.

Rezultati ove studije potvrđuju da prisustvo premature koronarne bolesti predstavlja značajan klinički marker koji povećava verovatnoću identifikacije patogene varijante kod pacijenata sa sumnjom na FH. Ova povezanost je u skladu sa nalazima multicentričnih analiza koje su pokazale da su nosioci FH mutacija, posebno u genu *LDLR*, izloženi znatno većem riziku od ranog razvoja aterosklerotske bolesti, uključujući infarkt miokarda i anginu pectoris pre 55. godine kod muškaraca i pre 60. kod žena (50,57).

Savremene studije ukazuju da genetski potvrđeni FH pacijenti u proseku razvijaju koronarnu bolest 10–20 godina ranije od osoba sa poligenim ili sekundarnim oblicima dislipidemije, što dodatno potvrđuje važnost kliničkog praćenja ovog parametra kao dijagnostičkog i prognostičkog pokazatelja (30). U skladu s tim, najnovije evropske i japanske preporuke ističu potrebu da se anamneza premature KVB uvrsti među ključne kriterijume za trijažu pacijenata za genetsko testiranje i za procenu ukupnog kardiovaskularnog rizika kod FH (7).

U našem istraživanju nije nađena statistički značajna povezanost između prisustva periferne arterijske bolesti (PAB) i genetski potvrđene porodične hiperholesterolemije ($p = 0.455$). Ovaj nalaz je u saglasnosti sa prethodnim studijama koje ukazuju da je PAB znatno ređa manifestacija FH u poređenju sa koronarnom bolešću i da ima ograničenu dijagnostičku vrednost kao izolovani klinički kriterijum (126). Iako je poznato da produžena izloženost povišenom LDL-h dovodi do progresije ateroskleroze i mogućeg razvoja PAB, istraživanja pokazuju da je PAB češći pokazatelj težine aterosklerotske bolesti nego pouzdan indikator prisustva monogenske mutacije (50). Pored toga, razvoj PAB zavisi od brojnih drugih faktora – uključujući pušenje, dijabetes, hipertenziju i inflamatorne procese – koji mogu značajno doprineti njenom nastanku bez prisustva FH.

Stoga ovi rezultati potvrđuju da PAB, kao komponenta DLCN skora, nema dovoljnu diskriminatornu moć za predikciju genetski potvrđene FH kada se posmatra samostalno. Njena klinička vrednost je više prognostička nego dijagnostička, posebno u proceni ukupnog aterosklerotskog opterećenja i stratifikaciji kardiovaskularnog rizika kod već potvrđenih FH pacijenata.

Analiza povezanosti prisustva tetivnih ksantoma i arcus cornealis sa genetski potvrđenom FH u našem istraživanju ukazuje na različit dijagnostički značaj ova dva fenotipska markera. Tetivni ksantomi se tradicionalno smatraju specifičnim kliničkim znakom monogenske FH i ostaju sastavni deo savremenih dijagnostičkih algoritama kao što su Dutch Lipid Clinic Network (DLCN). Ipak, u našoj studiji nije potvrđena statistički značajna povezanost između prisustva ksantoma i patogene genetske varijante ($p = 0.202$), što je u skladu sa novijim istraživanjima koja ukazuju da je prevalencija ksantoma u savremenim FH populacijama značajno opala usled ranijeg postavljanja dijagnoze i široke upotrebe statina (50).

Nasuprot tome, prisustvo arcus cornealis kod osoba mlađih od 45 godina pokazalo je značajnu povezanost sa genetski potvrđenom FH ($p = 0.021$) u našem ispitivanju. Ovo je u skladu sa rezultatima novijih studija koje naglašavaju da rani arcus cornealis može biti vredan fenotipski indikator FH, naročito u populacijama u kojima su izraženi znaci kao što su tetivni ksantomi ređi (127). Smatra se da rana pojava arcus cornealis odražava dugotrajnu ekspoziciju povišenim vrednostima LDL-holesterola i ubrzano taloženje lipida u rožnjači, čak i kada drugi klinički znaci izostaju.

Ovi nalazi potvrđuju da odsustvo tetivnih ksantoma ne isključuje monogensku etiologiju bolesti i naglašavaju potrebu da se FH prepoznaje i u blažim fenotipskim oblicima. Istovremeno, prisustvo ranog arcus cornealis može imati praktičan klinički značaj, naročito u zemljama sa ograničenim pristupom genetskoj dijagnostici, jer može doprineti ranijoj identifikaciji kandidata za genetsko testiranje i kaskadni skrining u porodici.

Analiza naših rezultata pokazala je da su pacijenti sa genetski potvrđenom familijarnom hiperholesterolemijom imali značajno više vrednosti LDL-holesterola pre početka terapije u poređenju sa genetski negativnim pacijentima. Ovaj nalaz je očekivan i dosledan prirodnoj istoriji monogenske FH, gde prisustvo patogene varijante, posebno u LDLR genu, dovodi do trajno povišenih koncentracija LDL-holesterola od ranog detinjstva.

Slični rezultati zabeleženi su i u velikim međunarodnim registrima, gde je pokazano da mutacijom-pozitivni bolesnici sa FH imaju značajno više vrednosti LDL-holesterola u odnosu na pacijente sa kliničkom, ali genetski nepotvrđenom dijagnozom. Studije koje upoređuju monogensku i poligensku/sekundarnu hiperholesterolemiju dosledno pokazuju da nosioci patogenih varijanti u genima LDLR, APOB ili PCSK9 imaju više bazalne nivoe LDL-h u proseku za oko 1,5–2,5 mmol/L u odnosu na osobe sa poligenskom ili metabolički uslovljenom hiperholesterolemijom. Noviji podaci dodatno ukazuju da genetski status utiče ne samo na nivo LDL-holesterola, već i na težinu kliničkog fenotipa i rizik od prevremenih aterosklerotskih komplikacija, pri čemu mutacijom-pozitivni bolesnici imaju višu doživotnu ekspoziciju LDL-h i višestruko veći rizik za ranu koronarnu bolest u poređenju sa genetski negativnim osobama sa sličnim vrednostima LDL-h (8,128–130).

Naši nalazi ukazuju da određivanje LDL-h pre terapije može doprineti razlikovanju monogenske od poligenske hiperholesterolemije i ima važnu kliničku vrednost u selekciji kandidata za genetsko testiranje. U skladu sa preporukama Evropskog udruženja za aterosklozu, integrisanje genetskog testiranja u dijagnostički algoritam može doprineti boljoj stratifikaciji rizika, personalizaciji terapije i ranijem uključivanju članova porodice u kaskadni skrining (40,66)

Naši rezultati dodatno potvrđuju da genetski pozitivni pacijenti imaju znatno izraženiji aterogeni lipidni profil, što je jasno vidljivo kroz značajno više vrednosti ukupnog holesterola u poređenju sa genetski negativnim ispitanicima. Ovaj nalaz je u skladu sa prethodno diskutovanim rezultatima o razlikama u vrednostima LDL-holesterola, budući da je LDL-holesterol dominantna frakcija ukupnog holesterola i ključni patofiziološki faktor u razvoju ateroskleroze kod FH. Prisustvo patogenih varijanti, posebno u LDLR genu, dovodi do kompromitovanog klirensa LDL čestica iz cirkulacije, što rezultuje progresivnim nakupljanjem holesterola u plazmi i njegovom akumulacijom u vaskularnom endotelu (31).

Ovakav nalaz ima i klinički značaj, jer ukazuje da ukupni holesterol, iako manje specifičan marker od LDL-holesterola, zadržava prognostičku vrednost u razlikovanju monogenske FH od drugih oblika dislipidemije. Studije sprovedene u okviru međunarodnih registara, kao što je SAFEHEART, pokazale su da su pacijenti sa genetski potvrđenom FH imali više bazalne vrednosti ukupnog i LDL-holesterola, kao i veći aterosklerotski rizik u poređenju sa genetski negativnim osobama sa sličnim kliničkim fenotipom (131,132). Time se potvrđuje da vrednosti ukupnog holesterola pre terapije, zajedno sa LDL-holesterolom, predstavljaju indikator težine poremećaja i

doprinosu ranoj identifikaciji visokorizičnih pacijenata koji zahtevaju agresivniju terapijsku strategiju i uključivanje članova porodice u kaskadni skrining.

U kontekstu naše studije, ovi rezultati dodatno naglašavaju značaj integracije biohemijskih markera sa genetskom analizom kako bi se postigla preciznija dijagnostika i efikasnija stratifikacija rizika kod pacijenata sa sumnjom na FH.

Rezultati naše studije pokazali su da vrednosti HDL-h pre započinjanja terapije nisu bile značajno različite između pacijenata sa genetski potvrđenom porodičnom hiperholesterolemijom i onih bez identifikovane mutacije ($p = 0.350$). Ovaj nalaz je u skladu sa prethodnim studijama koje su ukazale da HDL-holesterol nema značajnu dijagnostičku niti diferencijalnu vrednost u razgraničenju monogenske FH od drugih oblika dislipidemije, jer FH primarno zahvata LDL receptor–posredovani metabolizam, a ne HDL put holesterola (31,57). Genetski pozitivni pacijenti često imaju normalne ili blago snižene vrednosti HDL-h, pri čemu se HDL-h ne smatra metaboličkim obeležjem FH i zato nije uključen u kriterijume za dijagnozu bolesti prema EAS ili DLCN preporukama (7,40).

Vrednosti triglicerida pre započinjanja terapije u našem uzorku bile su značajno više kod pacijenata bez genetski potvrđene mutacije u odnosu na one sa monogenomskom FH, što je u skladu sa očekivanim fenotipskim razlikama između poligeneske/metaboličke i monogenske dislipidemije. Poligeneska ili metabolička hiperholesterolemija često je udružena sa insulinskom rezistencijom, gojaznošću, metaboličkim sindromom i drugim faktorima koji doprinose hipertrigliceridemiji, dok je za monogenomsku FH karakteristično dominantno i izolovanije povišenje LDL-holesterola uz relativno normalne ili samo blago povišene trigliceride. Ovakav obrazac podržavaju i studije koje ukazuju da poligeneska predispozicija za hiperholesterolemiju ili hipertrigliceridemiju u kombinaciji sa metaboličkim faktorima vodi ka fenotipu mešane dislipidemije, uz više vrednosti triglicerida nego kod klasične monogenske FH (133,133,134).

Naši nalazi stoga sugerišu da viši trigliceridi u genetski-negativnoj grupi odražavaju verovatniji poligeneski ili sekundarni (metabolički) mehanizam dislipidemije, dok je u genetski-pozitivnoj grupi primarni patofiziološki supstrat trajno povišen LDL-holesterol usled poremećaja LDL receptora, u skladu sa dosadašnjim opisom monogenskog FH fenotipa. Ovakva diferencijacija ima praktični značaj u kliničkoj praksi, jer ukazuje da kod PV-negativnih bolesnika akcent terapije, pored snižavanja LDL-C, treba snažnije usmeriti na korekciju kardiometaboličkih faktora i redukciju triglicerida, dok se kod monogenske FH prioritetno cilja agresivno sniženje LDL-holesterola visokointenzivnom i kombinovanom hipolipemijskom terapijom (135,136).

Rezultati ove studije pokazali su da vrednosti lipoproteina(a) [Lp(a)] nisu bile statistički značajno različite između pacijenata sa genetski potvrđenom porodičnom hiperholesterolemijom i onih bez detektovanih mutacija ($p = 0.421$). Ovaj nalaz je u skladu sa aktuelnim saznanjima da je koncentracija Lp(a) uglavnom određena varijantama u LPA genu i da je njen nivo nezavisan od mutacija u genima LDLR, APOB, PCSK9 ili LDLRAP1 koje uzrokuju monogenomsku FH (137,138). Zbog toga je moguće da osobe bez monogenske FH imaju povišene koncentracije Lp(a), kao i da genetski pozitivni FH pacijenti imaju normalne ili granične vrednosti Lp(a), što objašnjava odsustvo razlike između grupa u našoj analizi.

Ipak, primećeno je da deo pacijenata sa genetski potvrđenom FH ima povišene vrednosti Lp(a), što je u skladu sa ranijim studijama koje ukazuju da zajedničko prisustvo FH i visokog Lp(a) značajno povećava rizik od prevremene aterosklerotske kardiovaskularne bolesti (65). Smatra se da Lp(a) deluje sinergistički sa LDL-holesterolom, doprinoseći jačem proaterogenom i proinflamatornom efektu, što može objasniti fenotipsku varijabilnost i razlike u kliničkoj ekspresiji bolesti među FH pacijentima sa istim mutacijama.

Na osnovu ovih nalaza, naši rezultati podržavaju aktuelne preporuke Evropskog udruženja za aterosklerozu (EAS) i Evropskog kardiološkog udruženja (ESC), prema kojima se merenje Lp(a) preporučuje kao deo početne procene ukupnog kardiovaskularnog rizika kod svih pacijenata sa sumnjom na FH, bez obzira na genetski status (7,40)

Analiza nivoa apolipoproteina pre započinjanja terapije u našoj studiji pokazala je da koncentracija apolipoproteina A-I (ApoA-I) nije bila značajno povezana sa genetskim statusom pacijenata, što je u skladu sa činjenicom da ApoA-I odražava HDL frakciju, koja u patofiziologiji porodične hiperholesterolemije ima ograničen dijagnostički značaj. Slični rezultati zabeleženi su i u drugim studijama koje su pokazale da se vrednosti HDL-holesterola i ApoA-I ne razlikuju značajno između monogenske i poligeneske hiperholesterolemije, niti predstavljaju diskriminatorni marker za genetsku potvrdu bolesti (57,139).

Za razliku od ApoA-I, vrednosti apolipoproteina B (ApoB) bile su značajno više kod pacijenata sa genetski potvrđenom FH, što je u skladu sa prirodom bolesti. ApoB se nalazi u jednoj kopiji na svakoj aterogenoj lipoproteinskoj čestici, uključujući LDL, IDL i VLDL, pa njegova koncentracija predstavlja direktan pokazatelj ukupnog broja aterogenih čestica u cirkulaciji. Zbog toga se smatra preciznijim markerom aterogenog rizika od samog LDL-holesterola (140). Apolipoprotein B odražava broj aterogenih lipoproteinskih čestica i često je povišen kod FH, pa može pružiti dodatnu informaciju u proceni rizika i fenotipa, iznad LDL-holesterola. Smernice i konsenzus dokumenti sve češće preporučuju merenje ApoB kao dopunski ili alternativni cilj terapije, posebno kada postoji diskordansa između LDL-h i broja čestica (140–142).

Ovi nalazi dodatno potvrđuju važnost merenja ApoB u inicijalnoj proceni pacijenata sa sumnjom na FH, imajući u vidu da Evropsko udruženje za aterosklerozu (EAS) i najnovije ESC smernice preporučuju ApoB kao dodatni parametar za procenu rezidualnog aterogenog rizika i optimizaciju terapije (7,40).

Naši rezultati ukazuju da pacijenti sa genetski potvrđenom familijarnom hiperholesterolemijom ostvaruju veći relativni procenat sniženja LDL-holesterola tokom hipolipemijske terapije u odnosu na osobe bez detektovane patogene varijante, iako apsolutne vrednosti LDL-h nakon lečenja ostaju značajno više kod genetski pozitivnih bolesnika. Ovakav nalaz ukazuje na postojanje značajnog rezidualnog kardiovaskularnog rizika u PV-pozitivnoj grupi i potrebu za intenzivnijim, često kombinovanim terapijskim pristupom. Sličan obrazac je opisan u studiji GENRE-FH, u kojoj je pokazano da je prilagođeni odgovor na hipolipemijsku terapiju (postignuti procenat očekivanog sniženja LDL-h) bio niži kod nosilaca patogenih varijanti nego kod genetski-negativnih pacijenata,

a da su genetski-pozitivni bolesnici imali viši rezidualni LDL-h i viši kardiovaskularni rizik (143,144).

Među relevantnim studijama, Kim i saradnici su analizirali kohortu korejskih pacijenata sa FH i pokazali da genetski pozitivni bolesnici imaju više bazalne vrednosti LDL-holesterola u odnosu na pacijente bez identifikovanih patogenih varijanti, kao i da je postignuta redukcija LDL-h nakon intenzivne hipolipemijske terapije bila izraženija kod genetski-negativnih u odnosu na genetski-pozitivne bolesnike (143). Slično tome, pregledna analiza Jarauta i saradnika ukazuje da prisustvo patogene varijante u genima LDLR, APOB ili PCSK9 samo po sebi predstavlja marker težeg lipidnog fenotipa, slabijeg odgovora na standardnu terapiju i većeg rezidualnog kardiovaskularnog rizika usled trajnog poremećaja funkcije LDL receptora (145).

Na osnovu navedenog, naši nalazi potvrđuju da standardna terapija (statin ± ezetimib) često nije dovoljna kod genetski pozitivnih FH pacijenata i da je kod njih neophodno razmotriti ranije uključivanje kombinovanih ili bioloških terapija poput inhibitora PCSK9 ili siRNA pristupa, kako bi se smanjio rezidualni LDL-h i kardiovaskularni rizik.

Naši rezultati pokazuju da je verovatnoća postizanja ciljnih vrednosti LDL-h značajno niža kod pacijenata sa genetski potvrđenom FH nego kod genetski negativnih, uprkos primeni standardne hipolipemijske terapije. Ovakav nalaz je u skladu sa real-world podacima iz SAFEHEART registra, gde je pokazano da i uz visoko-intenzivne statine i dodatak ezetimiba značajan deo bolesnika ne dostiže preporučene ciljeve, posebno oni sa većim početnim LDL-h i genetski potvrđenom bolešću (16). Slično, GENRE-FH studija je pokazala da prisustvo patogene varijante u FH genima prati slabije „ostvarenje očekivane“ redukcije LDL-h i manju verovatnoću dostizanja ciljeva u odnosu na genetski negativne pacijente, i pored višeg intenziteta terapije (143). Ovi nalazi odražavaju temeljni patofiziološki problem monogenske FH – trajno kompromitovan klirens LDL čestica – zbog čega standardni režimi (statin ± ezetimib) često nisu dovoljni za ciljnu kontrolu LDL-h, naročito u sekundarnoj prevenciji gde su ciljevi stroži prema ESC/EAS preporukama (7,40).

Randomizovane studije kod pacijenata sa heterozigotnom familijarnom hiperholesterolemijom pokazale su da dodatak PCSK9 inhibitora standardnoj terapiji značajno poboljšava terapijski odgovor. U studiji RUTHERFORD-2, evolokumab je doveo do približno 60% većeg sniženja LDL-holesterola u odnosu na placebo i većeg procenta bolesnika koji su dostigli ciljne vrednosti LDL-h. U studijama ODYSSEY FH I/II, alirokumab je obezbedio oko 50–60% redukcije LDL-h i značajno višu stopu dostizanja cilja LDL-h (<1,8 mmol/L) u poređenju sa standardnom terapijom (146,147).

Za pacijente kod kojih je potrebno dugoročno održavanje snižavanja LDL-h uz rede doziranje, terapija inklisiranom (siRNA koja inhibira sintezu PCSK9) pokazala je značajne i postojane efekte. U multicentričnoj, randomizovanoj, dvostruko slepoj studiji ORION-9, koja je obuhvatila odrasle pacijente sa heterozigotnom porodičnom hiperholesterolemijom, inklisiran je primenjivan potkožno (300 mg prvog dana, 90. dana, a zatim na svakih 6 meseci), što je dovelo do smanjenja LDL-holesterola za 39,7% u poređenju sa porastom od 8,2% u placebo grupi nakon 510 dana praćenja ($p < 0,001$)(148). Ovi rezultati potvrđuju da inhibicija PCSK9 sinteze putem siRNA tehnologije omogućava dugotrajnu kontrolu LDL-holesterola sa svega dva davanja godišnje, što predstavlja važnu terapijsku opciju za pacijente sa genetski potvrđenom FH koji ne dostižu ciljne vrednosti uprkos optimalnoj terapiji statinom i ezetimibom.

Sveukupno, rezultati dostupnih kliničkih studija podržavaju strategiju rane terapijske eskalacije kod genetski potvrđene FH – kombinovanjem statina, ezetimiba i PCSK9-usmerenih lekova – kako bi se smanjio rezidualni LDL-holesterol i povećala verovatnoća postizanja preporučenih ciljnih vrednosti, čime se dugoročno smanjuje aterosklerotski rizika.

Naši rezultati multivarijantne logističke regresije pokazali su da je pol bio jedini statistički značajan prediktor pojave kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa sumnjom na FH, dok genetski status, početni nivo LDL-holesterola, starost i indeks telesne mase nisu imali nezavisan uticaj. Ovakav nalaz ukazuje da u posmatranoj populaciji analizirani klinički i genetski parametri nisu dovoljni da samostalno objasne ukupni kardiovaskularni rizik, već da na manifestaciju bolesti značajno utiču dodatni faktori, poput kardiometaboličkih komorbiditeta, životnih navika i potencijalnih genetskih modifikatora. Ovi rezultati su u skladu sa podacima iz velikih FH registara, koji pokazuju da je rizik od aterosklerotskih kardiovaskularnih događaja heterogen i da muški pol, zajedno sa klasičnim faktorima rizika (hipertenzija, dijabetes, pušenje), predstavlja jedan od ključnih determinanti nepovoljnog ishoda kod bolesnika sa FH (149,150).

Literatura potvrđuje da pacijenti sa FH imaju heterogen rizik od aterosklerotskih događaja čak i kod sličnih LDL-h vrednosti, te da identifikacija mutacije povećava rizik, ali da taj efekat nije uniformno prediktivan u svim populacijama. Na primer, Séguro i saradnici (2018) ukazali su da pacijenti sa identifikovanom mutacijom imaju viši rizik ali da postoje velike razlike među studijama (129). Takođe, klinički pregled Berta i sar. (2022) ističe da faktori poput pol, hipertenzije, dijabetesa i pušenja značajno modulišu rizik kod FH, ponekad nadjačavajući samotnu ulogu genetskog statusa (151).

Naša studija je zanimljiva u tome što je u modelu pol, a ne genetski status, bio jedini značajan prediktor — što može ukazivati na specifičnosti naše populacije (etnička struktura, tretman, pritisak nadzornih programa) ili na mogućnost da su klinički faktori i terapijski pristup već smanjili razliku između mutiranih i nemutiranih pacijenata. Ovaj nalaz naglašava potrebu za dodatnim istraživanjima koja bi integrisala genetske, biohemijske, kliničke i životno-stilne informacije u modelima predikcije KVB za FH populaciju.

Za praktičnu kliničku implikaciju, rezultat sugerše da se kod pacijenata sa sumnjom na FH pažnja ne sme usmeriti isključivo na genetski status, već i na sistemsku procenu rizika (uključujući pol, arterijsku hipertenziju, dijabetes, pušenje) i da su personalizovane strategije nadzora i terapije neophodne.

6 ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1. Genetsko testiranje kod pacijenata sa kliničkom dijagnozom familijarne hiperholesterolemije omogućava identifikaciju patogenih varijanti u genima LDLR i APOB, čime se potvrđuje ključna dijagnostička i prognostička uloga molekularne analize u ovoj bolesti.
2. Najveći broj patogenih varijanti nalazi se u LDLR genu, dok su mutacije u APOB genu retke, a promene u PCSK9 i LDLRAP1 genu u našoj kohorti nisu zabeležene.
3. Uzročne genetske varijante mogu se identifikovati i kod srodnika obolelih, što potvrđuje značaj kaskadnog testiranja za prevenciju i ranu dijagnostiku u porodici.
4. Povezanost genetskih varijanti sa Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) skorom pokazuje da viši skor prati veću verovatnoću genetske potvrde FH, ali ističe i ograničenu senzitivnost samih kliničkih kriterijuma bez genetskog testiranja.
5. Najvažniji klinički pokazatelji prisustva patogenih mutacija su povišene vrednosti LDL-holesterola kod odraslog srodnika, pozitivna porodična anamneza prevremene koronarne bolesti i prisustvo fizičkih znakova poput ksantoma ili arcus cornealis kod rođaka.
6. Arcus cornealis kod osoba mlađih od 45 godina pokazuje visoku dijagnostičku specifičnost za monogensku FH, dok tetivni ksantomi, zbog uticaja savremene hipolipemijske terapije, sami po sebi nisu dovoljan prediktor bolesti.
7. Povišen LDL-holesterol kod odraslog srodnika izdvojio se kao nezavisan klinički prediktor monogenske FH, naglašavajući veću dijagnostičku vrednost porodičnog lipidnog statusa u odnosu na pojedinačne kliničke manifestacije.
8. Nosioци patogenih mutacija imaju značajno veće vrednosti LDL-holesterola i ukupnog holesterola pre početka terapije, dok vrednosti HDL-holesterola i lipoproteina(a) ne zavise značajno od genetskog statusa.
9. Pacijenti bez potvrđenih monogenih mutacija češće imaju povišene trigliceride, što upućuje na poligenusku ili metaboličku pozadinu hiperholesterolemije u ovoj podgrupi.
10. Vrednosti apolipoproteina B su više kod genetski pozitivnih pacijenata, što odražava izraženiji aterogeni lipidni profil, dok koncentracije apolipoproteina A-I ne pokazuju vezu sa genetskim statusom.

11. Razlike između LDLR-pozitivnih pacijenata sa i bez varijante c.858C>A p.(Ser286Arg) uglavnom su suptilne i bez jasnih kliničkih implikacija, osim tendencije ka većem indeksu telesne mase kod nosilaca ove varijante.
12. Genetski pozitivni pacijenti postižu veći relativni pad LDL-holesterola tokom terapije, ali često ne dostižu ciljnu vrednost LDL-holesterola, te ostaju u grupi sa visokim rezidualnim kardiovaskularnim rizikom.
13. Genetski status predstavlja ključni prediktor uspešnosti postizanja terapijskih ciljeva LDL-holesterola, što ukazuje na potrebu za individualizovanim, intenzivnijim terapijskim pristupom kod genetski pozitivnih bolesnika.
14. Multivarijantna analiza pokazuje da je pol jedini nezavisni prediktor prisustva kardiovaskularnih događaja u ispitivanoj populaciji, dok genetski status, početni LDL-holesterol, starost i indeks telesne mase ne ostvaruju samostalan značajan uticaj na pojavu kardiovaskularnih komplikacija.

U celini nalazi ovog istraživanja imaju značajne implikacije za kliničku praksu u dijagnostici, proceni rizika i lečenju pacijenata sa familijarnom hiperholesterolemijom. Genetski status ima ključnu ulogu u definisanju lipidnog fenotipa i terapijskog odgovora, pri čemu genetski pozitivni pacijenti predstavljaju posebno rizičnu grupu sa trajno višim vrednostima LDL-h i apolipoproteina B uprkos adekvatnoj terapiji. Ovi nalazi snažno podržavaju uvođenje genetskog testiranja kao standardnog dijagnostičkog alata u evaluaciji pacijenata sa sumnjom na FH, radi tačnije klasifikacije bolesti, identifikacije nosilaca mutacija i planiranja ciljane terapije.

7 LITERATURA

1. Martin SS, Aday AW, Allen NB, Almarzooq ZI, Anderson CAM, Arora P, et al. 2025 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*. 2025 Feb 25;151(8):e41–660.
2. Goldstein JL, Brown MS. A Century of Cholesterol and Coronaries: From Plaques to Genes to Statins. *Cell*. 2015 Mar;161(1):161–72.
3. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017 Aug 21;38(32):2459–72.
4. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017 May 4;376(18):1713–22.
5. Cholesterol Treatment Trialists' (Ctt) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *The Lancet*. 2010 Nov;376(9753):1670–81.
6. 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 1;34(45):3478–90.
7. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020 Jan 1;41(1):111–88.
8. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed CD, Ballantyne CM, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Aug;72(6):662–80.
9. Cuchel M, Raal FJ, Hegele RA, Al-Rasadi K, Arca M, Averna M, et al. 2023 Update on European Atherosclerosis Society Consensus Statement on Homozygous Familial Hypercholesterolaemia: new treatments and clinical guidance. *Eur Heart J*. 2023 July 1;44(25):2277–91.

10. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat.* 1992;1(6):445–66.
11. Muller C. ANGINA PECTORIS IN HEREDITARY XANTHOMATOSIS. *Nutr Rev.* 2009 Apr 27;45(6):113–5.
12. 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 2;35(32):2146–57.
13. Gidding SS, Ann Champagne M, De Ferranti SD, Defesche J, Ito MK, Knowles JW, et al. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2015 Dec;132(22):2167–92.
14. Nordestgaard BG, Benn M. Genetic testing for familial hypercholesterolaemia is essential in individuals with high LDL cholesterol: who does it in the world? *Eur Heart J.* 2017 May 21;38(20):1580–3.
15. NHLBI Exome Sequencing Project, Do R, Stitzel NO, Won HH, Jørgensen AB, Duga S, et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature.* 2015 Feb;518(7537):102–6.
16. Pérez De Isla L, Alonso R, Mata N, Saltijeral A, Muñoz O, Rubio-Marin P, et al. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolaemia: Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolaemia Cohort Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016 Sept;36(9):2004–10.
17. 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 Sept 21;36(36):2425–37.
18. Eapen DJ, Valiani K, Reddy S, Sperling L. Management of familial hypercholesterolemia during pregnancy: Case series and discussion. *J Clin Lipidol.* 2012 Jan;6(1):88–91.
19. Raal FJ, Pilcher GJ, Panz VR, Van Deventer HE, Brice BC, Blom DJ, et al. Reduction in Mortality in Subjects With Homozygous Familial Hypercholesterolemia Associated With Advances in Lipid-Lowering Therapy. *Circulation.* 2011 Nov 15;124(20):2202–7.
20. Raal F, Durst R, Bi R, Talloczy Z, Maheux P, Lesogor A, et al. Efficacy, Safety, and Tolerability of Inclisiran in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia: Results From the ORION-5 Randomized Clinical Trial. *Circulation.* 2024 Jan 30;149(5):354–62.
21. Goldstein JL, Brown MS. The LDL Receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 Apr;29(4):431–8.

22. Austin MA. Genetic Causes of Monogenic Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: A HuGE Prevalence Review. *Am J Epidemiol*. 2004 Sept 1;160(5):407–20.
23. Kontush A, Chapman MJ. Functionally Defective High-Density Lipoprotein: A New Therapeutic Target at the Crossroads of Dyslipidemia, Inflammation, and Atherosclerosis. *Pharmacol Rev*. 2006 Sept;58(3):342–74.
24. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat Rev Genet*. 2009 Feb;10(2):109–21.
25. Das P, Ingole N. Lipoproteins and Their Effects on the Cardiovascular System. *Cureus* [Internet]. 2023 Nov 15 [cited 2025 Oct 26]; Available from: <https://www.cureus.com/articles/177395-lipoproteins-and-their-effects-on-the-cardiovascular-system>
26. Bhargava S, De La Puente-Secades S, Schurgers L, Jankowski J. Lipids and lipoproteins in cardiovascular diseases: a classification. *Trends Endocrinol Metab*. 2022 June;33(6):409–23.
27. Stroes ESG, Koomans HA, Rabelink TJ, De Bruin TWA. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication. *The Lancet*. 1995 Aug;346(8973):467–71.
28. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature*. 2000 Sept;407(6801):233–41.
29. Südhof TC, Goldstein JL, Brown MS, Russell DW. The LDL Receptor Gene: A Mosaic of Exons Shared with Different Proteins. *Science*. 1985 May 17;228(4701):815–22.
30. 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 1;34(45):3478–90.
31. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed CD, Ballantyne CM, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Aug;72(6):662–80.
32. Safarova MS, Klee EW, Baudhuin LM, Winkler EM, Kluge ML, Bielinski SJ, et al. Variability in assigning pathogenicity to incidental findings: insights from LDLR sequence linked to the electronic health record in 1013 individuals. *Eur J Hum Genet*. 2017 Apr;25(4):410–5.
33. Varret M. LDLR Database (second edition): new additions to the database and the software, and results of the first molecular analysis. *Nucleic Acids Res*. 1998 Jan 1;26(1):248–52.
34. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat*. 1992;1(6):445–66.
35. Webb J. Genetic variation at a splicing branch point in intron 9 of the low density lipoprotein (LDL)-receptor gene: a rare mutation that disrupts mRNA splicing in a patient with familial hypercholesterolaemia and a common polymorphism. *Hum Mol Genet*. 1996 Sept 1;5(9):1325–31.

36. Goldmann R, Tichý L, Freiburger T, Zapletalová P, Letocha O, Soška V, et al. Genomic characterization of large rearrangements of the LDLR gene in Czech patients with familial hypercholesterolemia. *BMC Med Genet.* 2010 Dec;11(1):115.
37. Santos RD, Gidding SS, Hegele RA, Cuchel MA, Barter PJ, Watts GF, et al. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016 Oct;4(10):850–61.
38. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of Disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007 Apr;4(4):214–25.
39. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2017 Aug 21;38(32):2459–72.
40. Mach F, Koskinas KC, Roeters Van Lennep JE, Tokgözoğlu L, Badimon L, Baigent C, et al. 2025 Focused Update of the 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J.* 2025 Aug 29;ehaf190.
41. Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci.* 1989 Jan;86(2):587–91.
42. Myant N. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 1993 Dec;104(1–2):1–18.
43. 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.
44. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003 June;34(2):154–6.
45. Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJP, Hovingh GK. The PCSK9 decade. *J Lipid Res.* 2012 Dec;53(12):2515–24.
46. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence Variations in *PCSK9*, Low LDL, and Protection against Coronary Heart Disease. *N Engl J Med.* 2006 Mar 23;354(12):1264–72.
47. Ray KK, Raal FJ, Kallend DG, Jaros MJ, Koenig W, Leiter LA, et al. Inclisiran and cardiovascular events: a patient-level analysis of phase III trials. *Eur Heart J.* 2023 Jan 7;44(2):129–38.
48. Mahley RW. Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. *J Mol Med.* 2016 July;94(7):739–46.

49. Fouchier SW, Defesche JC, Umans-Eckenhausen MA, Kastelein JJ. The molecular basis of familial hypercholesterolemia in The Netherlands. *Hum Genet.* 2001 Dec;109(6):602–15.
50. Tada H, Kawashiri M aki, Nomura A, Teramoto R, Hosomichi K, Nohara A, et al. Oligogenic familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, and coronary artery disease. *J Clin Lipidol.* 2018 Nov;12(6):1436–44.
51. Mahley RW, Rall SC. Apolipoprotein E: Far More Than a Lipid Transport Protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000 Sept;1(1):507–37.
52. Fouchier SW, Dallinga-Thie GM, Meijers JCM, Zelcer N, Kastelein JJP, Defesche JC, et al. Mutations in *STAP1* Are Associated With Autosomal Dominant Hypercholesterolemia. *Circ Res.* 2014 Aug 29;115(6):552–5.
53. Loaiza N, Hartgers ML, Reeskamp LF, Balder JW, Rimbert A, Bazioti V, et al. Taking One Step Back in Familial Hypercholesterolemia: *STAP1* Does Not Alter Plasma LDL (Low-Density Lipoprotein) Cholesterol in Mice and Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020 Apr;40(4):973–85.
54. Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal Recessive Hypercholesterolemia Caused by Mutations in a Putative LDL Receptor Adaptor Protein. *Science.* 2001 May 18;292(5520):1394–8.
55. Khachadurian AK. The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964 Sept;37(3):402–7.
56. Arca M, Zuliani G, Wilund K, Campagna F, Fellin R, Bertolini S, et al. Autosomal recessive hypercholesterolaemia in Sardinia, Italy, and mutations in *ARH*: a clinical and molecular genetic analysis. *The Lancet.* 2002 Mar;359(9309):841–7.
57. Trinder M, Francis GA, Brunham LR. Association of Monogenic vs Polygenic Hypercholesterolemia With Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *JAMA Cardiol.* 2020 Apr 1;5(4):390.
58. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2016 June;67(22):2578–89.
59. Daniels SR, Gidding SS, De Ferranti SD. Pediatric aspects of Familial Hypercholesterolemias: Recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2011 June;5(3):S30–7.
60. Kwiterovich PO. Recognition and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Nov;93(11):4200–9.
61. Umans-Eckenhausen MA, Defesche JC, Sijbrands EJ, Scheerder RL, Kastelein JJ. Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolaemia in the Netherlands. *The Lancet.* 2001 Jan;357(9251):165–8.

62. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ*. 1991 Oct 12;303(6807):893–6.
63. Najam O, Ray KK. Familial Hypercholesterolemia: a Review of the Natural History, Diagnosis, and Management. *Cardiol Ther*. 2015 June;4(1):25–38.
64. Santos RD. Familial hypercholesterolaemia: beware of lipoprotein(a). *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016 July;4(7):553–5.
65. Langsted A, Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. High lipoprotein(a) as a possible cause of clinical familial hypercholesterolaemia: a prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016 July;4(7):577–87.
66. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020 Jan 1;41(1):111–88.
67. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90 056 participants in 14 randomised trials of statins. *The Lancet*. 2005 Oct;366(9493):1267–78.
68. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015 June 18;372(25):2387–97.
69. Nissen SE, Lincoff AM, Brennan D, Ray KK, Mason D, Kastelein JJP, et al. Bempedoic Acid and Cardiovascular Outcomes in Statin-Intolerant Patients. *N Engl J Med*. 2023 Apr 13;388(15):1353–64.
70. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med*. 2018 Nov 29;379(22):2097–107.
71. Raal FJ, Santos RD. Homozygous familial hypercholesterolemia: Current perspectives on diagnosis and treatment. *Atherosclerosis*. 2012 Aug;223(2):262–8.
72. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol. *J Am Coll Cardiol*. 2019 June;73(24):e285–350.
73. Weng TC, Yang YHK, Lin SJ, Tai SH. A systematic review and meta-analysis on the therapeutic equivalence of statins: *Therapeutic equivalence of statins*. *J Clin Pharm Ther*. 2010 Apr;35(2):139–51.
74. Reiner Ž. Resistance and intolerance to statins. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014 Oct;24(10):1057–66.

75. Thompson PD, Panza G, Zaleski A, Taylor B. Statin-Associated Side Effects. *J Am Coll Cardiol*. 2016 May;67(20):2395–410.
76. Laakso M, Fernandes Silva L. Statins and risk of type 2 diabetes: mechanism and clinical implications. *Front Endocrinol*. 2023 Sept 19;14:1239335.
77. Altmann SW, Davis HR, Zhu L ji, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 Protein Is Critical for Intestinal Cholesterol Absorption. *Science*. 2004 Feb 20;303(5661):1201–4.
78. Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, Hawes BE, Burnett DA, Braun MP, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci*. 2005 June 7;102(23):8132–7.
79. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015 June 18;372(25):2387–97.
80. Chang Y, Robidoux J. Dyslipidemia management update. *Curr Opin Pharmacol*. 2017 Apr;33:47–55.
81. Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, Ponziani FR, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Use and indications of cholestyramine and bile acid sequestrants. *Intern Emerg Med*. 2013 Apr;8(3):205–10.
82. Liu D, Wang X, Kong L, Chen Z. Nicotinic Acid Regulates Glucose and Lipid Metabolism Through Lipid-independent Pathways. *Curr Pharm Biotechnol*. 2015 Jan 5;16(1):3–10.
83. Kamanna VS, Kashyap ML. Mechanism of action of niacin on lipoprotein metabolism. *Curr Atheroscler Rep*. 2000 Dec;2(1):36–46.
84. The HPS2-THRIVE Collaborative Group. Effects of Extended-Release Niacin with Laropiprant in High-Risk Patients. *N Engl J Med*. 2014 July 17;371(3):203–12.
85. The AIM-HIGH Investigators. Niacin in Patients with Low HDL Cholesterol Levels Receiving Intensive Statin Therapy. *N Engl J Med*. 2011 Dec 15;365(24):2255–67.
86. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, Birtcher KK, Covington AM, DePalma SM, et al. 2022 ACC Expert Consensus Decision Pathway on the Role of Nonstatin Therapies for LDL-Cholesterol Lowering in the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk. *J Am Coll Cardiol*. 2022 Oct;80(14):1366–418.
87. Schonck WAM, Stroes ESG, Hovingh GK, Reeskamp LF. Long-Term Efficacy and Tolerability of PCSK9 Targeted Therapy: A Review of the Literature. *Drugs*. 2024 Feb;84(2):165–78.
88. Zhang Y, Chen H, Hong L, Wang H, Li B, Zhang M, et al. Inclisiran: a new generation of lipid-lowering siRNA therapeutic. *Front Pharmacol*. 2023 Oct 13;14:1260921.

89. Marrs JC, Anderson SL. Inclisiran for the treatment of hypercholesterolaemia. *Drugs Context*. 2024 Nov 28;13:1–9.
90. Wright RS, Koenig W, Landmesser U, Leiter LA, Raal FJ, Schwartz GG, et al. Safety and Tolerability of Inclisiran for Treatment of Hypercholesterolemia in 7 Clinical Trials. *J Am Coll Cardiol*. 2023 Dec;82(24):2251–61.
91. Cuchel M, Meagher EA, Du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2013 Jan;381(9860):40–6.
92. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Charng MJ, Cromwell WC, et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2010 Mar;375(9719):998–1006.
93. Thompson GR. LDL apheresis. *Atherosclerosis*. 2003 Mar;167(1):1–13.
94. Raal FJ, Hovingh GK, Catapano AL. Familial hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis*. 2018 Oct;277:483–92.
95. Víšek J, Bláha M, Bláha V, Lášticová M, Lánska M, Andrys C, et al. Monitoring of up to 15 years effects of lipoprotein apheresis on lipids, biomarkers of inflammation, and soluble endoglin in familial hypercholesterolemia patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2021 Dec;16(1):110.
96. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018 Sept 1;39(33):3021–104.
97. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 16. Diabetes Care in the Hospital: *Standards of Care in Diabetes—2023*. *Diabetes Care*. 2023 Jan 1;46(Supplement_1):S267–78.
98. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–24.
99. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Genetic Architecture of Familial Hypercholesterolaemia. *Curr Cardiol Rep*. 2017 May;19(5):44.
100. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016 June;67(22):2578–89.
101. Varret M, Abifadel M, Rabès J, Boileau C. Genetic heterogeneity of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet*. 2008 Jan;73(1):1–13.

102. Leigh SEA, Foster AH, Whittall RA, Hubbart CS, Humphries SE. Update and Analysis of the University College London Low Density Lipoprotein Receptor Familial Hypercholesterolemia Database. *Ann Hum Genet.* 2008 July;72(4):485–98.
103. Leitersdorf E, Hobbs HH, Fourie AM, Jacobs M, Van Der Westhuyzen DR, Coetzee GA. Deletion in the first cysteine-rich repeat of low density lipoprotein receptor impairs its transport but not lipoprotein binding in fibroblasts from a subject with familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci.* 1988 Nov;85(21):7912–6.
104. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ. Familial Hypercholesterolemias: Prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2011 June;5(3):S9–17.
105. Jeon H, Blacklow SC. STRUCTURE AND PHYSIOLOGIC FUNCTION OF THE LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR. *Annu Rev Biochem.* 2005 June 1;74(1):535–62.
106. 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(D1):D1062–7.
107. Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, Mahley RW, Krauss RM, Vega GL, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci.* 1987 Oct;84(19):6919–23.
108. Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest.* 1995 Mar 1;95(3):1225–34.
109. Gašparovič J, Bašistová Z, Fábryová L, Wsóllová L, Vohnout B, Rašlová K. Familial defective apolipoprotein B-100 in Slovakia. *Atherosclerosis.* 2007 Oct;194(2):e95–107.
110. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalù AB, Noto D, Fasano T, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis.* 2013 Apr;227(2):342–8.
111. Abul-Husn NS, Manickam K, Jones LK, Wright EA, Hartzel DN, Gonzaga-Jauregui C, et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system. *Science.* 2016 Dec 23;354(6319):aaf7000.
112. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003 June;34(2):154–6.
113. Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, Cooper RS, Vega GL, Cohen JC, et al. A Spectrum of PCSK9 Alleles Contributes to Plasma Levels of Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Am J Hum Genet.* 2006 Mar;78(3):410–22.

114. Abifadel M, RabÃ©s JP, Jambart S, Halaby G, GannagÃ©-Yared MH, Sarkis A, et al. The molecular basis of familial hypercholesterolemia in Lebanon: Spectrum of *LDLR* mutations and role of *PCSK9* as a modifier gene. *Hum Mutat.* 2009 July;30(7):E682–91.
115. Pisciotta L, Oliva CP, Cefalù AB, Noto D, Bellocchio A, Fresa R, et al. Additive effect of mutations in *LDLR* and *PCSK9* genes on the phenotype of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2006 June;186(2):433–40.
116. Futema M, Plagnol V, Whittall RA, Neil HAW, Humphries SE. Use of targeted exome sequencing as a diagnostic tool for Familial Hypercholesterolaemia. *J Med Genet.* 2012 Oct;49(10):644–9.
117. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalù AB, Noto D, Fasano T, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis.* 2013 Apr;227(2):342–8.
118. Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *The Lancet.* 2013 Apr;381(9874):1293–301.
119. Wang J, Ban MR, Hegele RA. Multiplex ligation-dependent probe amplification of *LDLR* enhances molecular diagnosis of familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2005 Feb;46(2):366–72.
120. Damgaard D, Larsen ML, Nissen PH, Jensen JM, Jensen HK, Soerensen VR, et al. The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis.* 2005 May;180(1):155–60.
121. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial Hypercholesterolemia in the Danish General Population: Prevalence, Coronary Artery Disease, and Cholesterol-Lowering Medication. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Nov 1;97(11):3956–64.
122. Groselj U, Kovac J, Sustar U, Mlinaric M, Fras Z, Podkrajsek KT, et al. Universal screening for familial hypercholesterolemia in children: The Slovenian model and literature review. *Atherosclerosis.* 2018 Oct;277:383–91.
123. Huijgen R, Kindt I, Defesche JC, Kastelein JJP. Cardiovascular risk in relation to functionality of sequence variants in the gene coding for the low-density lipoprotein receptor: a study among 29 365 individuals tested for 64 specific low-density lipoprotein-receptor sequence variants. *Eur Heart J.* 2012 Sept;33(18):2325–30.
124. Tada H, Hori M, Matsuki K, Ogura M, Nohara A, Kawashiri M aki, et al. Achilles Tendon Thickness Assessed by X-ray Predicting a Pathogenic Mutation in Familial Hypercholesterolemia Gene. *J Atheroscler Thromb.* 2022 June 1;29(6):816–24.
125. Liu MM, Peng J, Guo YL, Zhu CG, Wu NQ, Xu RX, et al. Relations of physical signs to genotype, lipid and inflammatory markers, coronary stenosis or calcification, and outcomes in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Transl Med.* 2021 Dec;19(1):498.

126. Acitelli E, Guedon AF, De Liguori S, Gallo A, Maranghi M. Peripheral artery disease: an underdiagnosed condition in familial hypercholesterolemia? A systematic review. *Endocrine*. 2024 Mar 8;85(1):122–33.
127. Bou Ghannam A, Istambouli R, Hamam MS, Chalhoub JM, Fahed AC, Hamam RN. Ocular manifestations of severe familial hypercholesterolemia. *Heliyon*. 2024 May;10(9):e30487.
128. Saadatagah S, Jose M, Dikilitas O, Alhalabi L, Miller AA, Fan X, et al. Genetic basis of hypercholesterolemia in adults. *Npj Genomic Med*. 2021 Apr 14;6(1):28.
129. Séguro F, Rabès J, Taraszkievicz D, Ruidavets J, Bongard V, Ferrières J. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia is associated with a premature and high coronary heart disease risk. *Clin Cardiol*. 2018 Mar;41(3):385–91.
130. Pérez De Isla L, Alonso R, Mata N, Fernández-Pérez C, Muñoz O, Díaz-Díaz JL, et al. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study). *Circulation*. 2017 May 30;135(22):2133–44.
131. Pérez De Isla L, Alonso R, Mata N, Fernández-Pérez C, Muñoz O, Díaz-Díaz JL, et al. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study). *Circulation*. 2017 May 30;135(22):2133–44.
132. Amor-Salamanca A, Castillo S, Gonzalez-Vioque E, Dominguez F, Quintana L, Lluís-Ganella C, et al. Genetically Confirmed Familial Hypercholesterolemia in Patients With Acute Coronary Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Oct;70(14):1732–40.
133. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Averna M, et al. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Aug;2(8):655–66.
134. Mariano C, Alves AC, Medeiros AM, Chora JR, Antunes M, Futema M, et al. The familial hypercholesterolaemia phenotype: Monogenic familial hypercholesterolaemia, polygenic hypercholesterolaemia and other causes. *Clin Genet*. 2020 Mar;97(3):457–66.
135. Mariano C, Alves AC, Medeiros AM, Chora JR, Antunes M, Futema M, et al. The familial hypercholesterolaemia phenotype: Monogenic familial hypercholesterolaemia, polygenic hypercholesterolaemia and other causes. *Clin Genet*. 2020 Mar;97(3):457–66.
136. D’Erasmus L, Minicocci I, Di Costanzo A, Pigna G, Commodari D, Ceci F, et al. Clinical Implications of Monogenic Versus Polygenic Hypercholesterolemia: Long- Term Response to Treatment, Coronary Atherosclerosis Burden, and Cardiovascular Events. *J Am Heart Assoc*. 2021 May 4;10(9):e018932.
137. Tsimikas S. A Test in Context: Lipoprotein(a). *J Am Coll Cardiol*. 2017 Feb;69(6):692–711.
138. Kronenberg F, Mora S, Stroses ESG, Ference BA, Arsenault BJ, Berglund L, et al. Lipoprotein(a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement. *Eur Heart J*. 2022 Oct 14;43(39):3925–46.

139. Dharmayat KI, Vallejo-Vaz AJ, Stevens CAT, Brandts JM, Lyons ARM, Groselj U, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents from 48 countries: a cross-sectional study. *The Lancet*. 2024 Jan;403(10421):55–66.
140. Sniderman AD, Thanassoulis G, Glavinovic T, Navar AM, Pencina M, Catapano A, et al. Apolipoprotein B Particles and Cardiovascular Disease: A Narrative Review. *JAMA Cardiol*. 2019 Dec 1;4(12):1287.
141. De Oliveira-Gomes D, Joshi PH, Peterson ED, Rohatgi A, Khera A, Navar AM. Apolipoprotein B: Bridging the Gap Between Evidence and Clinical Practice. *Circulation*. 2024 July 2;150(1):62–79.
142. Sniderman AD, Dufresne L, Pencina KM, Bilgic S, Thanassoulis G, Pencina MJ. Discordance among apoB, non-high-density lipoprotein cholesterol, and triglycerides: implications for cardiovascular prevention. *Eur Heart J*. 2024 July 12;45(27):2410–8.
143. Kim H, Lee CJ, Pak H, Kim DI, Rhee MY, Lee BK, et al. GENetic characteristics and REsponse to lipid-lowering therapy in familial hypercholesterolemia: GENRE-FH study. *Sci Rep*. 2020 Nov 9;10(1):19336.
144. Tada H, Kojima N, Yamagami K, Nomura A, Nohara A, Usui S, et al. Effects of Different Types of Pathogenic Variants on Phenotypes of Familial Hypercholesterolemia. *Front Genet*. 2022 Apr 11;13:872056.
145. 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*. 2020 Dec 3;11:554931.
146. Raal FJ, Stein EA, Dufour R, Turner T, Civeira F, Burgess L, et al. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2015 Jan;385(9965):331–40.
147. Kastelein JJP, Ginsberg HN, Langslet G, Hovingh GK, Ceska R, Dufour R, et al. ODYSSEY FH I and FH II: 78 week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*. 2015 Sept 1;ehv370.
148. Raal FJ, Kallend D, Ray KK, Turner T, Koenig W, Wright RS, et al. Inclisiran for the Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2020 Apr 16;382(16):1520–30.
149. Khoury E, Brisson D, Roy N, Tremblay G, Gaudet D. Identifying Markers of Cardiovascular Event-Free Survival in Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Med*. 2020 Dec 27;10(1):64.
150. Iatan I, Akiyamen LE, Ruel I, Guerin A, Hales L, Coutinho T, et al. Sex differences in treatment of familial hypercholesterolaemia: a meta-analysis. *Eur Heart J*. 2024 Sept 14;45(35):3231–50.
151. Berta E, Zsíros N, Bodor M, Balogh I, Lőrincz H, Paragh G, et al. Clinical Aspects of Genetic and Non-Genetic Cardiovascular Risk Factors in Familial Hypercholesterolemia. *Genes*. 2022 June 27;13(7):1158.

Publikovani radovi iz teze:

1. Lukac SS, Gasic V, Komazec J, et al. Role of Next-Generation Sequencing in Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia in Serbia. *Diagnostics (Basel)*. 2025;15(10):1212. Published 2025 May 12. doi:10.3390/diagnostics15101212
2. Lukac SS, Lalić K, Familial hypercholesterolemia in the genomic era: genetics, DLCN classification and diagnostic pitfalls. *Medicinski podmladak*. Vol. 80 Br. 6 (2029) doi: 10.5937/mp80-63517

Spisak skraćenica

FH	Familijarna hiperholesterolemija
LDLR	Receptor za lipoprotein niske gustine
APOB	Apolipoprotein B
PCSK9	Protein konvertaza subtilizin/kexin tip 9
LDLRAP1	Adaptor protein 1 LDL receptora
LPA	Gen za lipoprotein(a)
FDB	Familijarna defektna ApoB-100
LDL-h	Lipoprotein male gustine / LDL-holesterol
HDL-h	Lipoprotein velike gustine / HDL-holesterol
VLDL	Lipoprotein vrlo male gustine
IDL	Lipoprotein srednje gustine
Lp(a)	Lipoprotein(a)
ApoB	Apolipoprotein B
ApoA-I	Apolipoprotein A-I
TG	Trigliceridi
UH	Ukupni holesterol
KV	Kardiovaskularni
KVB	Kardiovaskularna bolest
ASCVD	Aterosklerotska kardiovaskularna bolest
ASKVB	Aterosklerotska kardiovaskularna bolest
ACS	Akutni koronarni sindrom
IM	Infarkt miokarda
PCI	Perkutana koronarna intervencija
CABG	Aortokoronarno premošćavanje
CVB	Cerebrovaskularna bolest
PAB	Periferna arterijska bolest
HTA / AH	Hipertenzivna bolest / Arterijska hipertenzija
DM / DM2	Dijabetes melitus / Dijabetes melitus tip 2

DLCN	Dutch Lipid Clinic Network
MEDPED	Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths
siRNA	Small interfering RNA/mala interferirajuća RNK
EAS	European Atherosclerosis Society
ESC	European Society of Cardiology
ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
GenRE-FH	Genetic Registry FH
DNK	Dezoksiribonukleinska kiselina
NGS	Sekvenciranje nove generacije
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
PV	Patogena varijanta
VPV	Verovatno patogena varijanta
VUS	Varijanta nejasnog značaja
EGF	Epidermal Growth Factor domen LDLR
LA / LA1	Ligand-binding domen / LA1 region LDL receptora
LB	Vezivanje liganda
ITM / BMI	Indeks telesne mase / Body Mass Index
TT	Telesna težina
TV	Telesna visina
TA	Krvni pritisak
ATP	Adenozin trifosfat

BIOGRAFIJA

Sandra Singh Lukač rođena je 22. aprila 1979. godine u Beogradu, gde je završila osnovno i srednje obrazovanje. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1998. godine, a diplomirala 31. marta 2005. godine sa prosečnom ocenom 9,46, stekavši zvanje doktora medicine.

Nakon diplomiranja obavila je klinički staž u Kliničkom centru Srbije u periodu od 2005. do 2006. godine, a državni stručni ispit položila je 26. juna 2006. godine pri Ministarstvu zdravlja Republike Srbije. U periodu od 2006. do 2008. godine pohađala je akademsku specijalizaciju iz neurologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, sa temom „Potencijalna uloga statina u terapiji multiple skleroze“.

Specijalizaciju iz interne medicine započela je 1. oktobra 2008. godine i završila 30. januara 2013. godine. Paralelno sa specijalističkim usavršavanjem, u novembru 2009. godine upisala je doktorske studije iz oblasti endokrinologije, koje je završila u novembru 2021. godine. Subspecijalizaciju iz endokrinologije upisala je januara 2015. godine, sa uspešno odbranjenim završnim radom.

Profesionalnu karijeru započela je oktobra 2006. godine kao klinički lekar na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije, gde je radila do januara 2013. godine. Od januara 2013. godine zaposlena je kao specijalista interne medicine na istoj klinici, gde i danas aktivno učestvuje u dijagnostici, lečenju i praćenju bolesnika sa endokrinološkim, metaboličkim i dijabetološkim oboljenjima.

Od februara 2018. godine angažovana je kao klinički asistent na predmetu Interna medicina na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, gde učestvuje u nastavnom i edukativnom radu sa studentima medicine.

Tokom dosadašnje karijere bila je aktivni učesnik brojnih nacionalnih i međunarodnih stručnih i naučnih skupova, autor i koautor više naučnih radova, kao i polaznik brojnih domaćih i međunarodnih stručnih kurseva i edukacija iz oblasti interne medicine, endokrinologije i dijabetologije.

IZJAVE

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора SANDRA SINGH LUKAČ

Број индекса 5111/2016

Изјављујем

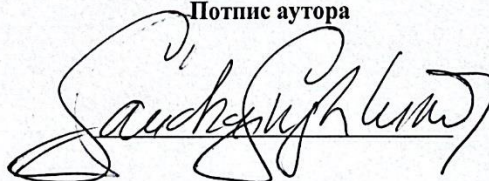
да је докторска дисертација под насловом

POLIMORFIZMI U GENIMA LDLR, APOB, PCSK9 KOD PACIJENATA SA FAMILIJARNOM HIPERHOLESTEROLEMIJOM: ZNAČAJ ZA DIJAGNOZU, KLINIČKE KARATKTERISTIKE I PROGNOZU BOLESTI

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду, 04.02.2026.

Потпис аутора



Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора SANDRA SINGH LUKAČ

Број индекса 5111/2016

Студијски програм ENDOKRINOLOGIJA

Наслов рада POLIMORFIZMI U GENIMA LDLR, APOB, PCSK9 KOD PACIJENATA SA FAMILIJARNOM HIPERHOLESTEROLEMIJOM: ZNAČAJ ZA DIJAGNOZU, KLINIČKE KARAKTERISTIKE I PROGNOZU BOLESTI

Ментор PROF DR KATARINA LALIĆ

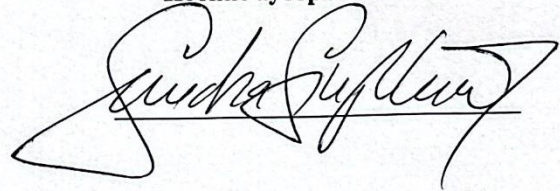
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 04.02.2026.

Потпис аутора

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sandra Singh Lukac', written over a horizontal line.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

POLIMORFIZMI U GENIMA LDLR, APOB, PCSK9 KOD PACIJENATA SA FAMILIJARNOM HIPERHOLESTEROLEMIJOM: ZNAČAJ ZA DIJAGNOZU, KLINIČKE KARAKTERISTIKE I PROGNOZU BOLESTI

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

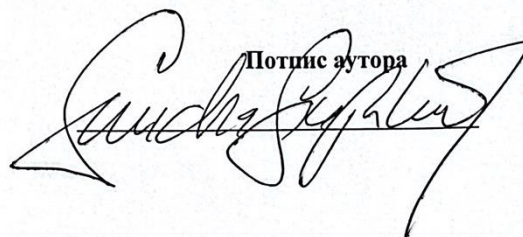
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 04.02.2026.

Потпис аутора


1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.