

HYPERLIPOPROTEINEMIE EN ATHEROSCLEROSE IN TRANSGENE MUIZEN; PREVENTIE MIDDELS SOMATISCHE GENTHERAPIE

2859.

Ko Willems van Dijk, Marten H. Hofker, Louis M. Havekes en Rune R. Frants¹

De recente ontwikkelingen in de moleculaire biologie hebben er toe geleid dat op velerlei vakgebieden de mogelijkheden van gentherapie voor de behandeling van erfelijke en niet-erfelijke ziekten onderzocht wordt. De beschikbaarheid van een klein proefdiermodel is hierbij van cruciaal belang gebleken. In dit opzicht zijn muizen ideaal, omdat de technologie bestaat om in dit model specifiek genetische veranderingen aan te brengen welke de uiteindelijke humane situatie zeer dicht benaderen. Ook in het onderzoek naar hart- en vaatziekten hebben muizen inmiddels een vaste plaats ingenomen. Een groot aantal zogenaamde transgene muizenstammen zijn inmiddels beschikbaar die, doordat ze een specifiek eiwit missen of al dan niet in mutante vorm tot overexpressie brengen, uitermate geschikt zijn voor het onderzoek naar de ontwikkeling van atherosclerose en de preventie hiervan.

In het onderstaande zal een beknopt overzicht gegeven worden van een tweetal muizenmodellen voor de bestudering van het lipoproteïne metabolisme en atherosclerose. Vervolgens zal ik aan de hand van een van deze modellen gentherapeutische strategieën behandelen, gebaseerd op de directe beïnvloeding van de genen die betrokken zijn bij de ontwikkeling van hyperlipoproteïnemie en atherosclerose.

Familiaire dysbetalipoproteïnemie

In Leiden wordt al een groot aantal jaren gewerkt aan familiair dysbetalipoproteïnemie (FD). FD-patiënten hebben een sterk verhoogd plasma cholesterol en triglyceride niveau veroorzaakt door een verstoorde klaring van chylomicron- en VLDL-remnant deeltjes. Dit gaat samen met een sterk verhoogde kans op hart- en vaat-ziekten. De lever is het centrale orgaan wat betrokken is bij de klaring van chylomicron en VLDL-remnant deeltjes. Specifieke receptoren op de lever herkennen deze deeltjes aan het apolipoproteïne E eiwit (apoE).

Het apoE komt in een aantal genetisch bepaalde isoformen voor in de humane populatie. De drie allelen APOE2, APOE3 en APOE4 zijn verantwoordelijk voor het grootste deel van de genetische variatie. Omdat ieder individu 2 APOE allelen bezit zijn 6 verschillende genotypes mogelijk. De FD-patiënten populatie bestaat voor het overgrote deel uit individuen met een E2E2 genotype (E2 homozygoten), terwijl dit genotype in slechts 1% van de gewone populatie voorkomt. Ondanks de grote prevalentie van APOE2 homozygoten onder de FD patiënten, ontwikkeld uiteindelijk slechts

4% van alle APOE2 homozygoten FD. Deze discrepantie kan alleen verklaard worden door aan te nemen dat voor de ontwikkeling van FD, naast E2 homozygotie, additionele genetische en/of omgevingsfactoren een belangrijke rol spelen.

Naast homozygoten voor E2 zijn ook FD patiënten geïdentificeerd welke heterozyoot zijn voor bepaalde zeldzame apoE varianten, zoals apoE2(lys146-gln) en apoE3-Leiden. Uit familie-onderzoek blijkt verder dat vrijwel alle personen met deze zeldzame apoE varianten FD ontwikkelen (de Knijff *et al.*, 1991, 1994). ApoE2(lys146-gln) en apoE3-Leiden worden dus als dominante eigenschappen overgeërfd met een hoge penetrantie voor FD. Ondanks deze hoge penetrantie wordt het uiteindelijke klinische beeld sterk beïnvloed door leeftijd en dieet.

De muis als model

Het gebruik van muizen om het metabolisme van atherogene remnant-deeltjes in kaart te brengen en therapeutische strategieën te ontwikkelen heeft een aantal onmiskenbare voordelen ten opzichte van de mens.

Hiervan zijn de belangrijkste:

- 1 doordat ingeteelde stammen worden gebruikt is de genetische achtergrond volledig homogeen
- 2 omgevingscondities als dieet, leeftijd etc. kunnen relatief eenvoudig constant gehouden worden
- 3 door de korte generatietijd kunnen veel muizen worden bestudeerd en
- 4 kunnen mede hierdoor combinaties van verschillende genetische varianten gemakkelijk verkregen worden.

De mogelijkheid om muizen met specifieke genetische veranderingen te genereren heeft recentelijk een grote vlucht genomen. Globaal vallen twee methodes te onderscheiden: 1) injectie van DNA in bevruchte eicellen en 2) het aanbrengen van genetische veranderingen in zogenaamde embryonale stamcellen.

- 1) Na injectie van DNA in bevruchte eicellen zal dit DNA zich op een willekeurige plek in het muizen-genoom integreren. Na het terugplaatsen van deze eicel in een draagmoedermuis kunnen de hieruit geboren muizen worden gescreend op aanwezigheid en expressie van het transgen. De zo ontstane transgene muizen zullen deze nieuwe eigenschap aan hun nakomelingen doorgeven. Op deze wijze zijn transgene muizen gemaakt welke het mutante humane APOE3-Leiden gen tot expressie brengen.

- 2) Naast het willekeurig toevoegen van genetische informatie is ook het uitschakelen van het endogene muizengen bijzonder informatief. Vooral voor het ontwikkelen van gen-therapeuti-

sche benaderingen is een deficiënt muizenmodel onontbeerlijk. Immers de meest eenvoudige gentherapie bestaat uit het toevoegen van genetische informatie aan een organisme. Uitschakeling van een gen gebeurt in onnipotente embryonale stam-(ES)-cellen. Deze ES-cellen kunnen *in vitro* gepropageerd en gemanipuleerd worden. Na injectie in een blastocyst kunnen de ES-cellen een belangrijke bijdrage leveren aan de vervolgens geboren muis. Een muis met een hoge ES-cel bijdrage zal dus het genotype doorgeven van de genetisch veranderde ES-cel. Op deze wijze zijn apoE-deficiënte muizen gemaakt.

APOE3-Leiden transgene muizen

Drie verschillende muizenlijnen zijn ontwikkeld welke allen een verschillend aantal kopieën van het APOE3-Leiden gen ergens in hun genoom hebben opgenomen (van den Maagdenberg *et al.*, 1993). De voornaamste eigenschappen van deze muizen op een standaard muizendieet (geen cholesterol of vet) staan weergegeven in tabel I. Hieruit blijkt dat lijn #2 en #181 een verhoogd plasma en triglyceride niveau hebben terwijl lijn #195 slechts een milde hyperlipidemie vertoont. De plasma lipiden waarden correleren direct met het plasma niveau van het apoE3-Leiden eiwit (= de expressie van het APOE3-Leiden transgen).

Tabel I. Plasma cholesterol en triglyceride niveaus in controle en humane APOE3-Leiden muizen op een standaard muizendieet.

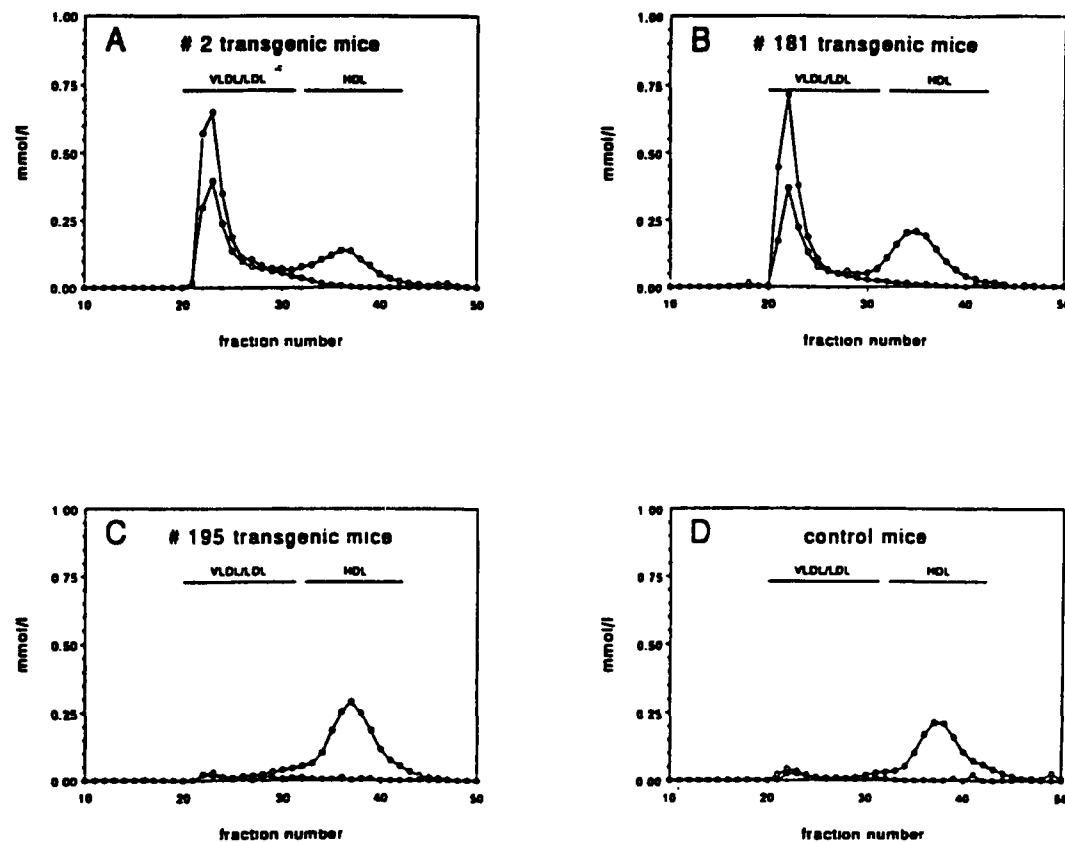
muizen lijn	Plasma niveau (gem. $\pm$ S.D.)		
	cholesterol	triglyceride	humane apoE
	mmol/l	mmol/l	mg/l
#2	4.65 $\pm$ 2.16	2.76 $\pm$ 1.4	15 $\pm$ 3
#181	4.27 $\pm$ 1.16	2.06 $\pm$ 1.16	71 $\pm$ 29
#195	3.42 $\pm$ 0.27	1.01 $\pm$ 0.45	3 $\pm$ 1
controle	2.46 $\pm$ 0.43	0.59 $\pm$ 0.29	---

Waarden vertegenwoordigen het gemiddelde $\pm$ S.D. van 6 muizen per groep. Alle waarden van lijn #2 en #181 muizen verschillen significant ($p < 0.001$) van lijn #195 en controle muizen.

Na scheiding van het plasma op deeltjesgrootte is duidelijk te zien dat de verhoging van het cholesterol en triglyceride niveau van de lijnen #2 en #181 zich in de atherogene VLDL/LDL fractie bevindt. Dit is dezelfde fractie die is verhoogd in FD patiënten (figuur 1).

Figuur 1. Plasma lipoproteïne profielen van controle en humane APOE3-leiden muizen op een standaard muizendieet.

Ongeveer 200 μ l gepoold muizenplasma wordt op een Superose 6B (Pharmacia) kolom gebracht en geëluëerd met 0.5 ml/minuut. Gesloten cirkels vertegenwoordigen triglyceride, gesloten cirkels cholesterol.



De voor de hand liggende vraag was uiteraard of de APOE3-Leiden transgene muizen atherosclerose ontwikkelen, al dan niet na toediening van cholesterol aan het voer. Dit is getest door de drie verschillende transgene muizenlijnen en controles gedurende 12 weken op de diëten uit tabel II te zetten.

Tabel II. De samenstelling van de verschillende dieten

dieet	toegevoegde stof (volume %)			
	cacao boter	cholaat	cholesterol	sucrose
SRM	0	0	0	0
J	0	0	0	50
P	15	0.1	1.0	50
N	15	0.5	1.0	50

SRM komt overeen met standaard muizenvoer.

Zoals blijkt uit tabel III ontwikkelen de APOE3-Leiden muizen van lijn #2 en #181 na 12 weken op de hoog cholesterol dieten atherosclerotische laesies. In de lijn #195 muizen kan echter geen atherosclerose gedetecteerd worden. De mate van vorming van atherosclerotische laesies is evenredig met de expressie van het apoE3-Leiden eiwit en de hoeveelheid cholesterol en cholaat in het dieet (lijn #181 > #2 >> #195 en dieet N > P >> J, SRM).

Tabel III. Atherosclerose in de aorta en de a. carotis na 12 weken op verschillende dieten

Dieet	Muizenlijn			
	controle	#195	#2	#181
SRM	-	-	-	-
J	-	-	-	-
P	-	-	++	+++
N	-	-	+++	+++

Uit het voorgaande blijkt dat met de ontwikkeling van de APOE3-Leiden transgene muizen een uitstekend model is ontstaan voor humane FD. De APOE3-Leiden muizen hebben verhoogde plasma triglyceride en cholesterol niveaus in dezelfde fracties als FD patiënten (chylomicron- en VLDL-remants). Bovendien zijn de plasma triglyceride en cholesterol niveaus manipuleerbaar

door middel van het dieet. Ook de ontwikkeling van atherosclerose in deze muizen is vergelijkbaar met de ontwikkeling van hart- en vaat-ziekten in FD patiënten.

ApoE-deficiënte muizen

Zogenaamde apoE 'knock-out' muizen zijn op drie verschillende laboratoria gemaakt, waaronder ook Leiden (van Ree *et al.*, 1994). De belangrijkste lipiden parameters van homozygote, heterozygote apoE-deficiënte en wild-type muizen op verschillende dieten staan weergegeven in tabel IV. Het is duidelijk dat homozygoot apoE-deficiënte muizen onder alle dieet omstandigheden een dramatisch verhoogd plasma cholesterol vertonen. Uit deze tabel blijkt tevens dat ook heterozygoot apoE-deficiënte muizen onder extreme dieet-omstandigheden een significant verhoogd serum cholesterol hebben (10.1 ± 4.5 mM vs 4.7 ± 0.8 mM). Dit geeft aan dat de hoeveelheid gesynthetiseerd APOE een belangrijke factor is in de plasma respons op cholesterol in het dieet.

Tabel IV. Plasma cholesterol en triglyceride niveaus in apoE-deficiënte muizen na 6 weken verschillende dieten

muis	aantal	dieet	triglyceride mmol/l	cholesterol mmol/l
+/+	47	SRM	0.3 ± 0.2	3.1 ± 0.6
+/-	53	SRM	$0.4 \pm 0.2^*$	2.7 ± 0.7
-/-	47	SRM	$0.4 \pm 0.2^*$	$19.3 \pm 5.5^*$
+/+	9	J	0.3 ± 0.1	3.9 ± 0.9
+/-	16	J	0.3 ± 0.2	3.5 ± 0.9
-/-	7	J	0.4 ± 0.1	$18.7 \pm 4.8^*$
+/+	9	N	ND	4.7 ± 0.8
+/-	32	N	ND	$10.1 \pm 4.5^*$
-/-	7	N	ND	$102.4 \pm 26.3^*$

Waarden vertegenwoordigen het gemiddelde $\pm$ S.D.; +/+ controle muizen; +/- heterozygoot apoE-deficiënte muizen; -/- homozygoot apoE-deficiënte muizen; ND niet detecteerbaar; * significant verschil ($p < 0.05$) met +/+ muizen op hetzelfde dieet.

De verhoging van de hoeveelheid plasma cholesterol doet zich voornamelijk voor in de VLDL/ LDL fractie en net als de APOE3-Leiden transgene muizen zijn apoE-deficiënte muizen zeer gevoelig voor atherosclerose. Uitgebreid onderzoek aan de atherosclerotische laesies in de diverse stadia in de apoE-deficiënte muizen heeft aangetoond dat de histopathologie zeer sterk overeenkomt met humane laesies (Nakashima *et al.*, 1994).

Somatische gentherapie

In vergelijking met apoE-deficiënte muizen zijn APOE3-Leiden muizen een fysiologisch meer relevant model voor de bestudering van het chylomicron- en VLDL-remnant metabolisme. Dit vooral door het milder en middels dieet instelbare fenotype van APOE3-Leiden muizen. Echter voor de ontwikkeling van gentherapie zijn de apoE-deficiënte muizen het te prefereren model. Door het apoE-gen op de juiste wijze toe te dienen zal het fenotype gecorrigeerd worden. Hierbij is de verlaging van het sterk verhoogde plasma cholesterol niveau in apoE-deficiënte muizen een gevoelige graadmeter voor succes.

Gentherapeutische benadering kunnen globaal in twee categorieën worden onderverdeeld: de *ex vivo* en de *in vivo* aanpak. Deze verschillen op het punt van toediening van de genetische informatie. Bij de *ex vivo* aanpak wordt de genetische informatie buiten het lichaam aan cellen of weefsels toegediend en worden deze cellen of weefsels met het therapeutisch gen vervolgens teruggeplaatst in het lichaam. Hierbij wordt dus altijd gebruik gemaakt van een of andere vorm van transplantatie of implantatie. Bij de *in vivo* aanpak wordt het genetisch materiaal direct in het lichaam gebracht. De wijze waarop het genetisch materiaal wordt toegediend aan de cellen is in de beide aanpakken sterk overlappend, maar kan globaal worden verdeeld in virale en niet-virale methodes.

In het onderstaande zal ik de *ex vivo* en *in vivo* aanpak toelichten en enkele reeds toegepaste en in de toekomst mogelijke therapieën voor het apoE-deficiënte muizenmodel bespreken. Vervolgens zal ik een beknopt overzicht geven van de diverse methodes om DNA in cellen te krijgen en hierbij de voor- en nadelen en limitaties bespreken.

Ex vivo somatische gentherapie

Beenmerg transplantatie van een gezond individu naar een patiënt met een genetische afwijking leidt in sommige gevallen tot een klinische verbetering. Nadelen van deze procedure zijn voornamelijk de schaarste aan geschikte beenmerg donoren en de mogelijke immunologische problemen die voortvloeien uit de transplantatie procedure. Wanneer nu het autologe beenmerg zelf, na *ex vivo* toevoeging van het correcte gen, wordt teruggegeven aan de patiënt dan zal dit naast effectieve therapie zeker een reductie in de immunologische problemen geven.

Uit de experimenten van Linton *et al.* (1995) blijkt dat beenmerg transplantatie voor apoE-deficiënte muizen in principe ook een afdoende therapeutische behandeling is. Het beenmerg van een wild-type muis getransplanteerd naar een van beenmerg gedepleteerde apoE-deficiënte muis gaf fenotypische correctie. Van wild-type beenmerg afkomstige cellen zijn verantwoordelijk voor

een plasma apoE concentratie van ongeveer 10% van de normale hoeveelheid. Deze experimenten zouden kunnen worden vertaald naar *ex-vivo* gentherapie door een apoE-gen aan het beenmerg toe te voegen en zo tevens de hoeveelheid plasma apoE te verhogen. Een van de uitdagingen bestaat uit het efficiënt transfecteren van de zeer geringe hoeveelheid pluripotente stamcellen.

Een andere *ex vivo* benadering gaat uit van de lever. Na partiële hepatectomy kunnen aldus geïsoleerde hepatocyten *in vitro* gemanipuleerd worden en vervolgens teruggebracht in de lever door infusie via de poortader. Deze procedure is uitgewerkt in een dierenmodel voor familiale hypercholesterolemie (FH), het Watanabe konijn. Hierbij is met succes de in Watanabe konijnen defectieve LDL-receptor teruggebracht in de hepatocyten. Vervolgens zijn een aantal zeer ernstige FH patiënten behandeld via deze gentherapeutische procedure (Grossman *et al.* 1995). Dit gaf een marginale verbetering van het fenotype, waarschijnlijk veroorzaakt door de geringe efficiëntie waarmee het LDL-receptor gen in de hepatocyten kon worden gebracht. De apoE-deficiënte muis zou een uitstekend model zijn om meer efficiënte hepatocyt transfectie methoden uit te werken.

In vivo somatische gentherapie

Bij het *in vivo* transfecteren van cellen of weefsels is het van cruciaal belang dat uitsluitend somatische cellen worden geraakt van het beoogde type. Dit kan door geïsoleerde weefsels te transfecteren of door een effectieve targeting van het te transfecteren DNA. Een geïsoleerd weefsel is bijvoorbeeld ook een van de circulatie afgesloten lever, waarin via verschillende methodes DNA gebracht kan worden. Het ideaal is uiteraard een intraveneuze injectie van een DNA therapeutisch agens, wat vervolgens zelf het juiste weefsel opzoekt en transfecteert.

Voor de behandeling van apoE-deficiënte muizen is de lever het meest voor de hand liggende doel orgaan. Het adenovirus (het verkoudheidsvirus) is een virus wat van nature na intraveneuze toediening de lever infecteert. Adenovirus vectoren zijn ontwikkeld die zodanig zijn aangepast dat ze genetische informatie kunnen opnemen en slechts éénmaal kunnen infecteren. Verscheidene laboratoria hebben inmiddels aangetoond dat apoE-expresserende adenovirus vectoren het apoE-deficiënte fenotype in muizen corrigeren (o.a. Stevenson *et al.*, 1995).

Vectoren

Uit het voorgaande blijkt dat een aantal gentherapeutische benaderingen in principe mogelijk zijn. Brede en grootschalige toepassing wordt echter nog belemmerd door een groot aantal praktische problemen. Deze problemen vloeien voornamelijk voort uit de vectoren die gebruikt (kunnen) worden om het therapeutisch DNA in de juiste cellen te krijgen.

Bijvoorbeeld voor de ideale *in vivo* DNA transfectie methode zou het gen specifiek naar een bepaald celtype gestuurd moeten worden, vervolgens opgenomen en permanent tot expressie gebracht moeten worden.

Hierbij kunnen dus een aantal belangrijke parameters voor het therapeutisch agens gedefinieerd worden nl.:

- 1 Targeting; hoe krijg je het DNA naar een specifieke cel toe
- 2 Verpakking; hoe zorg je ervoor dat dit DNA ongeschonden de cel bereikt
- 3 Opname; hoe zorg je ervoor dat het DNA de kern bereikt
- 4 Expressie; hoe zorg je ervoor dat het eenmaal opgenomen DNA tot expressie komt en blijft

Virale vectoren

Een groot aantal virussen zijn geëvolueerd om een specifiek celtype te infecteren en hierin vervolgens na opname hun genomen tot expressie te brengen en te repliceren. de voor gentherapie gebruikte virale vectoren maken handig gebruik van deze eigenschappen maar zijn aangepast om het verspreidingsgevaar door replicatie in geïnfecteerde cellen en weefsels tot nul te beperken. De momenteel meest toegepaste virale vectoren zijn gebaseerd op adenovirus of retrovirus.

Om infectieuze, maar niet replicerende virale vectoren te verkrijgen wordt in beide systemen gebruik gemaakt van trans-complementatie. Een voor replicatie essentieel deel van het virus wordt uit de toe te dienen vector weggelaten. Indien men virus wenst te produceren voor gentherapie wordt een specifieke cellijn geïnfecteerd, die de voor replicatie essentiële factoren wel produceert, maar zelf ook geen virus kan maken. De virusvectoren kunnen dus een complementerende cellijn infecteren en hierin repliceren, maar een niet-complementerende cellijn of weefsel kan alleen geïnfecteerd worden.

De gebruikte retrovirussen zijn afkomstig van het muizenvirus MuLV (Murine leukaemia virus). Verschillende vectoren waarin therapeutische genen gekloneerd kunnen worden en complementerende cellijnen zijn beschikbaar. Een groot voordeel van retrovirus vectoren is het feit dat ze na succesvolle infectie integreren in het genoom van de geïnfecteerde cel. Deze cel en al zijn nakomelingen zal dus het therapeutische gen tot expressie brengen. Retrovirusvectoren kunnen een groot aantal celtypen infecteren, echter alleen wanneer deze zich delen. Niet-delende cellen kunnen niet geïnfecteerd worden, wat de toepassing van retrovirusvectoren in een gentherapeutische benadering limiteert. De hierboven beschreven succesvolle infectie van beenmerg stamcellen en *in vitro* gepropageerde leverexplantaten is met retrovirusvectoren gedaan.

Grote voordelen van adenovirusvectoren zijn de zeer hoge virus titers die geproduceerd kunnen worden (10^{11} pfu/ml vs 10^7 pfu/ml voor een retrovirus) en dat ook niet delende cellen geïnfecteerd kunnen worden. Het grootste nadeel van adenovirusvectoren is het feit dat expressie van het transgen slechts tijdelijk is. Adenovirussen integreren niet in het genoom van de geïnfecteerde cel en zullen dus na verloop van tijd uitverdunnen in (zelfs langzaam) delende cellen. Er is inmiddels een behoorlijke ervaring in het gebruik van adenovirusvectoren *in vivo* in model systemen. Hierbij is nog een nadeel van deze vectoren aan het licht gekomen, nl. immunogeniciteit. Omdat adenovirusvectoren bestaan uit een therapeutisch gen verpakt in een wild-type viruseiwitmantel, herkent het immuunsysteem deze virus-eiwitten na intraveneuze injectie en zal zowel een humorale als een cellulaire respons geven. De met virusvector geïnfecteerde cellen worden vervolgens specifiek door het immuunsysteem opgeruimd. Bovendien roept het voor een tweede maal intraveneus toedienen van het virus een geheugenrespons op die onmiddellijk compleet virusneutraliserend werkt.

Niet-virale vectoren

De niet-virale vectoren zijn nog grotendeels in ontwikkeling en een aantal veelbelovende concepten worden actief onderzocht. Veelal wordt nog gewerkt aan de individuele eisen (targeting, verpakking, opname en expressie) waaraan een ideale vector moet voldoen.

Met betrekking tot lever targeting wordt bijvoorbeeld gewerkt aan specifieke liganden voor de asialoglycoproteinereceptor. Deze receptor komt uitsluitend voor op de lever en synthetische liganden zijn gemaakt, die *in vivo* zeer specifiek door de lever worden opgenomen.

Ook met betrekking tot de vraag hoe het DNA na opname in de kern terecht moet komen wordt actief gewerkt. De opname van al dan gecomplexed DNA door cellen loopt via de endosomale/lysosomale route. Dit is het cellulaire mechanisme om opgenomen complexen af te breken en om te zetten in produkten die nuttig zijn voor de cel. Het omzeilen van dit afbraakproces is een belangrijk probleem. Virussen hebben specifieke eiwitten die ervoor zorgen dat na opname het aldus gevormde endosoom openbreekt. Deze eiwitten worden momenteel op hun potentie onderzocht om het complex aan endosomale afbraak te laten ontsnappen.

Met betrekking tot de eisen die aan het DNA construct gesteld worden om lange termijn expressie te verkrijgen is nog zeer weinig bekend. Men zou kunnen denken aan kunstmatige chromosomen die zoals de endogene chromosomen met de cel meedelen en onderhouden worden. Ook kan men denken aan het gebruiken van bepaalde viruseigenschappen om het construct in het genoom van de getransfecteerde cel te laten integreren.

Het ligt in de lijn der verwachting dat niet-virale vectoren de nuttige virus eigenschappen (b.v. endosomale lysis) zullen overnemen om uiteindelijk een ideale hybride vector te worden.

Tabel V. Voor-, nadelen en limitaties van de verschillende DNA transfectie technieken.

Transfectie techniek	integratie	transfecteerd niet delende cellen	titer	
retrovirus	+	-	+	-
adenovirus	-	+	+++	+
niet-viraal	±	+	+++	?

HYPERLIPOPROTEINEMIE EN ATHEROSCLEROSE

Nieuwe ontwikkelingen ten behoeve van diagnostiek en behandeling

Onder redactie van
R.R. Frants, et al.

CIP-GEGEVENS KONINKLIJKE BIBLIOTHEEK, DEN HAAG

Hyperlipoproteïnemie

Hyperlipoproteïnemie en atherosclerose : nieuwe ontwikkelingen ten behoeve van diagnostiek en behandeling / [cursuscommissie R.R. Frants ... et al.]. - Leiden : Boerhaave Commissie voor Postacademisch Onderwijs in de Geneeskunde, Rijksuniversiteit Leiden. - (Boerhaave cursus, ISSN 0929-8940)
Cursus gehouden op 12 januari 1996. Met lit. opg.
ISBN 90-6767-315-3
Trefw.: lipoproteïnen / vaatziekten

LITERATUUR

- Grossman M, Rader DJ, Muller DWM, Kolanski DM, Kozarski K, Clark BJIII, Stein EA, Lupien PJ, Brewer HBJr, Raper SE, and Wilson, JM. A pilot study of *ex vivo* gene therapy for homozygous familial hypercholesterolaemia. *Nature Med* 1995; 1:1148-1154
- De Knijff P, Van den Maagdenberg AMJM, Stalenhoef AFH, Gevers JA, van Leuven F, Demacker PNM, Kuyt LP, Frants RR, and Havekes LM. Familial Dysbetalipoproteinemia associated with apolipoprotein E3-Leiden in an extended multigenerational pedigree. *J Clin Invest* 1991;88:643-655.
- De Knijff P, Van den Maagdenberg AMJM, Boomsma DI, Stalenhoef AFH, Smelt AHM, Kastelein JJP, Marais AD, Frants RR, and Havekes LM. Variable expression of familial dysbetalipoproteinemia in apolipoprotein E²(Lys146→Gln) allele carriers. *J Clin Invest* 1994;94:1252-1262.
- Linton MF, Atkinson JB, and Fazio S. Prevention of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by bone marrow transplantation. *Science* 1995;267:1034-1037.
- Van den Maagdenberg AMJM, Hofker MH, Krimpenfort PJA, De Bruijn I, Van Vlijmen B, Van der Boom H, Havekes LM, and Frants RR. Transgenic mice carrying the apolipoprotein E3-Leiden gene exhibit hyperlipoproteinemia. *J Biol Chem* 1993;268:10540-10545.
- Nakashima Y, Plump AS, Raines EW, Breslow JL, and Ross R. ApoE-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree. *Arterioscler Thromb* 1994;14:133-140.
- Van Ree JH, Van den Broek WJAA, Dahlmans VEH, Groot PHE, Vidgeon-Hart M, Frants RR, Wieringa B, Havekes LM, and Hofker MH. Diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in heterozygous apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 1994;111:25-37.
- Stevenson SC, Marshall-Neff J, Teng B, Lee CB, Roy CS, and McClelland A. Phenotypic correction of hypercholesterolemia in ApoE-deficient mice by adenovirus-mediated *in vivo* gene transfer. *Arterioscler Thromb* 1995;15:479-484.