

Is de cholesterolrespons erfelijk bepaald?

Genetische aanleg en gevoeligheid van serumcholesterol voor voeding

R.M. Weggemans*, P.L. Zock*,
J.M. Ordovas**, M.B. Katan*

DE GEVOELIGHEID van het serumcholesterol voor veranderingen in de voeding verschilt van mens tot mens. Deze cholesterolrespons is binnen een individu deels reproduceerbaar, wat erop kan duiden dat de gevoeligheid voor een deel erfelijk bepaald is (1,2).

We willen onderzoeken of we bepaalde alternatieve vormen, allelen, van bij de cholesterolstofwisseling betrokken genen kunnen identificeren die de cholesterolrespons mede bepalen. Hierbij worden polymorfismen onderzocht. Van een polymorfisme is sprake wanneer in een bevolking twee of meer allelen van een gen aanwezig zijn, waarbij ten minste twee allelen met een frequentie van meer dan 0,01 voorkomen (3). De eerste resultaten van dit onderzoek worden verwacht in het voorjaar van 1997.

Populatie

Wij maken gebruik van gegevens over de cholesterolrespons van 670 mensen uit 21 experimenten naar de effecten van vetzuren en cholesterol en 9 experimenten naar de effecten van de koffiediterpenen cafestol en kahweol. Deze onderzoeken zijn uitgevoerd op de vakgroep Humane Voeding in de periode 1976 tot en met 1995.

Privacy

De door ons te meten polymorfismen hebben geen directe relatie met ziekten. Omdat DNA-onderzoek echter theoretisch een risico van misbruik met zich mee kan brengen, zijn er toch uitgebreide maatregelen genomen voor het waarborgen van de privacy van de deelnemers. Alle oorspronkelijke gegevens, die overigens al onder een code waren opgeslagen, hebben een nieuw

* Vakgroep Humane Voeding, Landbouwwuniversiteit Wageningen, Biotechnion, Bomenweg 2, 6703 HD Wageningen

** USDA Human Nutrition Research Center on Aging, Tufts University, Boston, Verenigde Staten

Gen-locus	Structureel of functioneel effect	Mutatie
A-I	ja	-75 G -> A substitutie in de promoterregio van apo A-I
A-II	nee	MspI restrictiefragmentlengtepolymorfisme met 3,0 en 3,7 kb fragmenten
A-IV	ja	Gln ³⁶⁰ -> His Binnen Gln ³⁶⁰ -groep: Thr ³⁴⁷ -> Ser
B	ja	insertie/deletie van leu-ala-leu in apo B-signalpeptide
C-III	nee	SstI restrictiefragmentlengtepolymorfisme: G -> C transversie in 3' onvertaalde deel van het apo C-III-gen
E	ja	E2: Arg ¹⁶⁸ -> Cys E4: Cys ¹¹² -> Arg
LPL	nee	HindIII restrictiefragmentlengtepolymorfisme: mutatie in intron 8
	ja	C -> G transversie in nucleotide 1595 van cDNA, wat leidt tot Ser -> Stop
CETP	nee	TaqI restrictiefragmentlengtepolymorfisme met 4,4 en 5,3 kb fragmenten

Tabel 1: Kandidaatgen-loci.

nummer gekregen en ook alle nieuwe gegevens zullen onder dit nieuwe nummer worden opgeslagen. Om de nummers naar namen te herleiden zijn daarom twee code-lijsten nodig: één met het nieuwe nummer en het oorspronkelijke codenummer en één met het oorspronkelijke codenummer en de naam. Deze lijsten zijn voor de uitvoerders van het onderzoek niet toegankelijk. Aan de deelnemers worden geen individuele gegevens verstrekt, tenzij zij dit schriftelijk heb-

	N	%
Totaal	670	100
Opgespoord	587	88
Reeds benaderd	470	70
DNA verzameld	368	55
DNA verzameling gepland	56	8
Overleden / ziek	16	2
Niet-deelnemers	30	4
Nog op te sporen	83	12

Tabel 2: Resultaten van de opsporing tot en met 28-11-1996.

ben aangevraagd. Zo willen wij voorkomen dat zij mogelijk ongewenste informatie krijgen. Het DNA wordt achter slot en grendel bewaard in koelkasten en vriezers.

DNA-karakterisering

DNA-isolatie vindt plaats uit volbloed (4), dat door de vroegere deelnemers in het kader van dit onderzoek wordt afgestaan. Het DNA wordt deels naar USDA-Human Nutrition Research Center in Boston, Verenigde Staten gestuurd en deels in Wageningen opgeslagen. In Boston worden verschillende polymorfismen in het DNA bepaald, waaronder een aantal in genen die coderen voor apolipoproteïnes A-I, A-IV, C-III en E (tabel 1). De gels, waarop de resultaten zijn af te lezen, zullen onafhankelijk door twee onderzoekers worden geïnterpreteerd.

Op dit moment onderzoeken we of ook DNA dat is geïsoleerd uit wangschrapsel kan worden gebruikt voor het bepalen van genetische karakteristieken (5). Deze methode willen we gebruiken in gevallen

waarbij DNA-isolatie uit bloed niet mogelijk is.

Opsporing van deelnemers

In tabel 2 staan de resultaten van de opsporingsactiviteiten tot en met 28 november 1996. Een deel van de 587 mensen die zijn opgespoord is nog niet benaderd voor deelname aan dit onderzoek. Van de 30 niet-deelnemers doen 6 mensen niet mee omdat zij bezwaar hebben tegen genetisch onderzoek en 3 mensen doen niet mee omdat zij geen bloed willen laten afnemen; 1 persoon noemt beide redenen. De overige 20 personen doen niet mee om redenen van persoonlijke aard.

Toekomstig onderzoek

Veelbelovende polymorfismen van kandidaatgenen zullen in twee toekomstige onderzoeken nader worden bestudeerd. Hierbij zal de gevoeligheid van het serumcholesterol voor vetten in de voeding (eerste experiment) of voor cafestol en kahweol (tweede experiment) tussen twee groepen worden vergeleken, waarbij de deelnemers vooraf zijn ingedeeld op grond van hun genotype.

Literatuur

1. Katan MB, Beynen AC, de Vries JH, Nobles A. Existence of consistent hypo- and hyperresponders to dietary cholesterol in man. *Amer J Epidemiol* 1986;123:221-234.
2. Katan MB, van Gastel AC, de Rover CM, van Montfort MAJ, Knuijman JT. Differences in the individual responsiveness of serum cholesterol to fat-modified diets in man. *Eur J Clin Investigation* 1988;18:644-647.
3. Thompson & Thompson. *Genetics in Medicine*. Thompson MW, McInnes RR, Willard HF (editors). W.B. Saunders Co, London, 5th edition, 1991
4. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 1988;16:1215.
5. Meulenbelt I, Droog S, Trommelen GJM, Boomsma DI, Slagboom PE. High-yield noninvasive human genomic DNA isolation method for genetic studies in geographically dispersed families and populations. *American Journal of Human Genetics* 1995;57:1252-1254.

Dit onderzoek wordt gefinancierd door de Nederlandse Hartstichting, subsidienummer 95.118.

Absorptie en metabolisme van de cholesterolverhogende koffiediterpenen cafestol en kahweol

B. de Roos*, S. Meyboom*,
T. Kosmeijer-Schuil*, M.B. Katan*

CAFESTOL EN KAHWEOL zijn diterpenen die van nature voorkomen in de vetafractie van koffiebonen. Ongefilterde koffiebrouwels als Scandinavische kookkoffie, Turkse koffie en cafetièrekoffie bevatten relatief veel diterpenen, gemiddeld zo'n 3-4 mg cafestol en kahweol per kop (1). Elke 10 mg cafestol verhoogt het serumcholesterol in mensen met ongeveer 0,13 mmol/l (2).

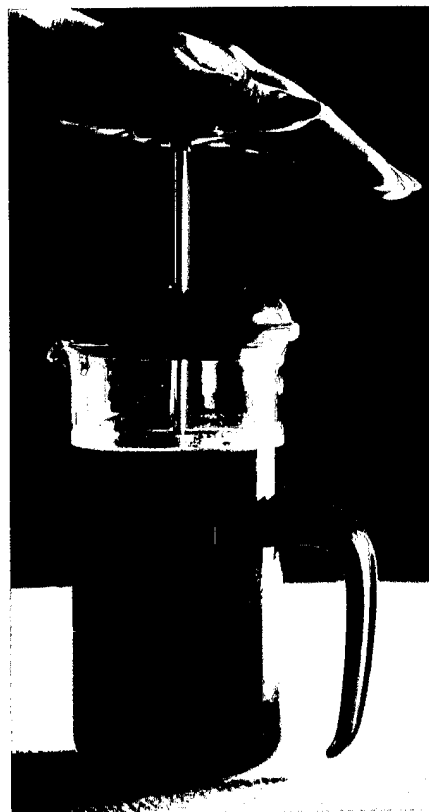
Om te bepalen welk deel van de geconsumeerde koffiediterpenen uiteindelijk verantwoordelijk is voor de stijging in serumlipiden, is de absorptie van cafestol en kahweol uit cafetièrekoffie in de dunne darm bepaald. Deze absorptiewaarden geven ook aan hoeveel van de geconsumeerde koffiediterpenen in het colon terechtkomt. Er zijn namelijk voorzichtige aanwijzingen dat koffiediterpenen mogelijk een anticarcinogeen effect op het colon zouden kunnen uitoefenen (3).

Behalve de absorptie is ook getracht een deel van het metabolisme van cafestol en kahweol te ontrafelen. De mogelijkheid bestaat namelijk dat niet cafestol en kahweol zelf maar een metaboliet verantwoordelijk is voor het cholesterolverhogende effect. Deze kennis zou waardevol zijn voor het onderzoek naar het werkingsmechanisme van cafestol en kahweol.

Experiment

Negen gezonde vrijwilligers met een ileostoma dronken op drie verschillende dagen in random volgorde 1, 2, of 3 koppen cafetièrekoffie, bij een standaardontbijt. Daarna werd gedurende die dag om de twee uur stomavloeistof verzameld. Tevens werd er 24-uurs-urine verzameld. Op de dag dat de proefpersonen drie koppen cafetièrekoffie moesten drinken, verzamelden ze hun urine ook om de twee uur. Op die manier kon de

kinetiek van cafestol en kahweol worden bestudeerd. In de stomavloeistof en de urines werden vervolgens de hoeveelheid uitgescheiden cafestol en kahweol bepaald. Dit werd gedaan voor en na toevoeging van het enzym β -glucuronidase met sulfatase-activiteit aan de stomavloeistof of urine. Op die manier wordt het deel van de cafestol en kahweol gemeten dat wordt uitgescheiden als conjugaat van glucuronzuur of sulfaat. Onder in vitro gesimuleerde condities is gekeken naar de stabiliteit van cafestol en kahweol tijdens passage van het maagdarmkanaal, tijdens verzamelen van stomavloeistof en tijdens vriesdrogen. Na incubatie met maagsap was ongeveer 25% van de aanwezige cafestol en kahweol uit cafetièrekoffie verloren gegaan, terwijl duodenumsap geen effect had op de stabiliteit van de diterpenen. Recoveries van cafestol en kahweol na twee uur incubatie met verse stomavloeistof en na vriesdrogen waren beide ongeveer 90%. In figuur 1 is een rekenmodel weergegeven waarmee de ab-



Bereiding van cafetièrekoffie.

* Vakgroep Humane Voeding, Landbouwwuniversiteit Wageningen
Postbus 8129, 6700 EV Wageningen