

ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ У БОЛЬНЫХ С КЛИНИЧЕСКИ ДИАГНОСТИРОВАННЫМ НАСЛЕДСТВЕННЫМ НАРУШЕНИЕМ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

А. О. Аверкова¹✉, В. А. Бражник^{1,2}, Г. И. Спешилов^{3,4}, А. А. Рогожина¹, О. С. Королева¹, Е. А. Зубова², А. С. Галявич⁵, С. Н. Терещенко⁶, О. И. Боева⁷, Д. А. Затеищikov^{1,2}

¹ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента РФ, Москва

² Городская клиническая больница № 51, Москва

³ Институт проблем передачи информации имени А. А. Харкевича РАН, Москва

⁴ ООО «Ридсенс», Троицкий наноцентр ФИОП «Роснано», Москва

⁵ Казанский государственный медицинский университет, Казань

⁶ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии, Москва

⁷ Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь

Истинная распространенность генетических вариантов, стоящих за развитием семейной гиперхолестеринемии (СГХС) и характерных для каждой популяции, остается неизвестной. Целью работы было определение спектра патологических генетических вариантов у больных острым коронарным синдромом (ОКС) с клинически диагностированной СГХС с помощью таргетного секвенирования. Были отобраны 38 из 2081 пациентов двух многоцентровых наблюдательных исследований больных ОКС (2004–2007; 2014–2016 гг.) возрастом ≤ 55 лет (мужчины) и ≤ 60 лет (женщины) с СГХС, клинически диагностированной по критериям Голландской сети липидных клиник и критериям регистра Simon Broome. Молекулярно-генетическое исследование проводили с помощью таргетного секвенирования следующего поколения: сначала секвенировали 3 гена, ассоциированные с СГХС: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*; при отсутствии значимых изменений панель расширяли. Из 38 пациентов у 24 (63,2%) были выявлены генетические изменения, которые могли обусловить клинические проявления СГХС и раннюю манифестацию ишемической болезни сердца. Все пациенты являлись гетерозиготными носителями генетических вариантов. Выявлены варианты в трех основных генах (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*), связанных с СГХС, и редкие варианты в других генах системы липидного обмена (*APOE*, *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *LPL*, *ANGPTL3*, *MTTP*). Пять генетических вариантов описаны впервые: патогенный вариант p.Val273_Cys313del гена *LDLR*; вероятно патогенный вариант p.Arg160His гена *APOE*; варианты неуточненной клинической значимости p.Glu612Lys и c.*415G>A гена *PCSK9*; вариант p.Ala776Ser гена *LDLR*. Таким образом, использование клинических критериев позволяет выявить среди пациентов с ОКС и СГХС носителей мутаций не только «классических» генов, связанных с СГХС, но и редких, способных приводить к фенотипическим проявлениям СГХС.

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия, острый коронарный синдром, генетическое обследование, нарушение липидного обмена, таргетное секвенирование

✉ **Для корреспонденции:** Анастасия Олеговна Аверкова
ул. Маршала Тимошенко, д. 19, стр. 1А, г. Москва, 121359; avek@mail.ru

Статья получена: 30.09.2018 **Статья принята к печати:** 05.11.2018

DOI: 10.24075/vrgmu.2018.061

TARGETED SEQUENCING IN PATIENTS WITH CLINICALLY DIAGNOSED HEREDITARY LIPID METABOLISM DISORDER AND ACUTE CORONARY SYNDROME

Averkova AO¹✉, Brazhnik VA^{1,2}, Speshilov GI^{3,4}, Rogozhina AA¹, Koroleva OS¹, Zubova EA², Galyavich AS⁵, Tereshenko SN⁶, Boyeva OI⁷, Zateyshchikov DA^{1,2}

¹ Central State Medical Academy of the Department of Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow

² City Clinical Hospital No 51, Moscow

³ Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, RAS, Moscow

⁴ ReadSense OOO, Troitsk Center for Nanotechnologies of Rusnano Foundation for Nanotechnology Infrastructure and Educational Projects, Moscow

⁵ Kazan State Medical University, Kazan

⁶ National Medical Research Center for Cardiology, Moscow

⁷ Stavropol State Medical University, Stavropol

The actual prevalence of genetic variants causing familial hypercholesterolemia (FH) in every population remains unknown. The aim of this work was to determine the spectrum of pathogenic variants in patients with acute coronary syndrome (ACS) and clinically diagnosed FH using targeted sequencing. We selected 38 patients with ACS from the sample of 2,081 participants of two multicenter observational studies (2004–2007; 2014–2016) who had a clinical diagnosis of FH based on the Dutch Lipid Clinic Network score and Simon Broome criteria. The men and women included in the study were ≤ 55 and ≤ 60 years of age, respectively. Molecular genetic screening was done by targeted next-generation sequencing. We started by sequencing 3 genes associated with FH, including *LDLR*, *APOB*, and *PCSK9*. If no relevant variants were detected, the panel was expanded. Of 38 patients, 24 (63.2%) were shown to have mutations that could cause clinical manifestations of FH and premature coronary artery disease. All patients were heterozygous carriers. Mutations were detected in three “classic” genes *LDLR*, *APOB*, and *PCSK9* associated with FH, as well as in other genes involved in lipid metabolism, such as *APOE*, *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *LPL*, *ANGPTL3*, and *MTTP*. Five variants detected in our study sample had not been described previously: the pathogenic p.Val273_Cys313del variant of the *LDLR* gene, the likely pathogenic p.Arg160His variant in the *APOE* gene, two variants of uncertain significance p.Glu612Lys and c.*415G>A in the *PCSK9* gene, and the mutant variant p.Ala776Ser in the *LDLR* gene. We conclude that the use of clinical diagnostic criteria in patients with ACS and FH enables identification of carriers of both “classic” mutations associated with FH and rare genetic variants that can be phenotypically expressed as FH.

Keywords: familial hypercholesterolemia, acute coronary syndrome, genetic testing, lipid metabolism disorder, targeted sequencing

✉ **Correspondence should be addressed:** Anastasia O. Averkova
Marshala Timoshenko 19, b. 1A, Moscow, 121359; avek@mail.ru

Received: 30.09.2018 **Accepted:** 05.11.2018

DOI: 10.24075/brsmu.2018.061

Среди наследственных нарушений липидного обмена семейная гиперхолестеринемия (СГХС) служит одной из наиболее известных причин ранней манифестации ишемической болезни сердца (ИБС) и ведет к двадцатикратному повышению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Это самое распространенное моногенное нарушение липидного обмена с аутосомно-доминантным типом наследования, ведущее к повышению уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛНП). Большинство (60–80%) больных гетерозиготной формой СГХС, определенной клинически, являются носителями мутаций в гене рецептора ЛНП (*LDLR*); в разных географических регионах преобладают различные мутации. В результате происходит уменьшение количества молекул рецептора ЛНП (ЛНПР) или снижение активности ЛНПР. Ген *LDLR* расположен в коротком плече 19 хромосомы и состоит из 18 экзонов, транскрипция и трансляция которых приводит к синтезу 5 доменов, формирующих на поверхности клетки ЛНПР [2]. Около 5–10% больных гетерозиготной формой СГХС являются носителями мутаций гена *APOB*, что проявляется фенотипически менее выраженным повышением уровня холестерина, чем в случае мутаций *LDLR*, и эти мутации более распространены у жителей центральной Европы, чем в других регионах [3]. Дефект белка апоВ100 на частицах ЛНП препятствует их связыванию с ЛНПР. Ген картирован на хромосоме 2p и включает 29 экзонов [2]. Мутации приобретения функции (*gain-of-function*, GOF) гена пропротеинового конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (*PCSK9*) представляют собой третью основную причину развития аутосомно-доминантной СГХС, обуславливая менее 1% случаев СГХС в большинстве исследованных популяций. Они приводят к ускоренной интрузии и разрушению ЛНПР и уменьшению количества молекул ЛНПР. Ген *PCSK9* расположен в малом плече хромосомы 1p32 и содержит 12 экзонов и 11 интронов [4, 5]. Очень редко причиной развития СГХС являются мутации в других генах, участвующих в обмене липидов [3]. Нередко пациенты оказываются носителями двух мутаций в генах, ассоциированных с СГХС. Однако у 20–40% больных с клинически диагностированной СГХС причинную мутацию выявить не удается.

Целью работы было определение спектра патологических вариантов генов системы липидного обмена у больных острым коронарным синдромом (ОКС) с клинически диагностированной СГХС с помощью таргетного секвенирования.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы данные больных, отобранных из 2081 участника двух многоцентровых (4 центра в трех городах — Москва, Казань, Ставрополь) наблюдательных исследований больных с ОКС, включение в которые проходило с 2004 по 2007 и с 2014 по 2016 г. Протокол исследования подробно описан ранее [6]. Проведение исследования одобрено решением заседания этического комитета ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента РФ (протокол № 14/14 от 20 октября 2014 г.

Для данной работы из первого периода набора отобрано 326 больных, из второго — 374. В течение первого периода набора критериями включения пациентов были: «раннее» развитие ОКС (в возрасте ≤ 55 лет у мужчин и ≤ 60 лет у

женщин); развитие ОКС не ранее 10 дней до индексной госпитализации; наличие СГХС, диагностированной по критериям Голландской сети липидных клиник (КГСЛК) и регистра Simon Broome [7, 8]; наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии включения во время второго периода: те же плюс необходимость проведения чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) вне зависимости от итогового решения о его проведении у пациентов с ОКС.

СГХС диагностировали по критериям КГСЛК и регистра Simon Broome. По КГСЛК учитывается отягощенная наследственность, раннее развитие ИБС у самого больного, данные осмотра (сухожильные ксантомы, липоидная дуга роговицы), а также уровень ЛНП. При оценке данных, если больной набирает больше 8 баллов, речь идет об определенной СГХС, 6–8 баллов говорят о вероятной СГХС, 3–5 баллов свидетельствуют о возможной СГХС, а менее 3 баллов — диагноз СГХС маловероятен [7]. Согласно критериям регистра Simon Broome, выявление СГХС основывается на индивидуальной оценке уровня общего холестерина и ЛНП в зависимости от возраста больного и степени родства с тем, у кого этот уровень также повышен. В клинической практике, согласно данным критериям, возможна диагностика лишь возможной СГХС, так как диагноз определенной СГХС требует выявления причинной мутации [8].

Для проведения молекулярно-генетического исследования были отобраны 38 пациентов по следующему алгоритму. Первая часть исследования: все пациенты, набравшие ≥ 5 баллов по КГСЛК, и все набравшие 4 балла по КГСЛК + пациенты с СГХС, диагностированной по регистру Simon Broome (всего 10 человек). Вторая часть исследования: все набравшие ≥ 5 баллов по КГСЛК + пациенты с СГХС, диагностированной по регистру Simon Broome, и с отягощенной наследственностью (всего 24 человека). Из второй части исследования в анализ были также включены 4 пациента, которые в индексную госпитализацию не подходили под критерий наличия «раннего» ОКС, однако у которых был известен факт ранней манифестации ИБС (≥ 6 баллов по КГСЛК и 5 баллов по КГСЛК + отягощенная наследственность).

Молекулярно-генетическое исследование проводили в генетической лаборатории ООО «Ридсенс» (Москва). Выделение ДНК выполняли посредством наборов для выделения геномной ДНК из крови на спин-колонках К-Сорб (Синтол; Россия). Синтез ДНК-библиотек из ДНК образцов для последующего секвенирования на секвенаторе нового поколения Illumina MiSeq (Illumina, США) производили с использованием набора NEB Next Ultra (NEB; США). Обогащение целевыми фрагментами генов (кодирующими областями) с использованием методики селективного захвата участков ДНК с помощью синтезированных зондов проводили с использованием таргетной синтетической панели обогащения NimbleGen (Roche; США). Проверку качества амплифицированной обогащенной ДНК-библиотеки выполняли прометодом капиллярного гель-электрофореза с использованием прибора BioAnalyzer 2100 (Roche; Швейцария). Контроль качества амплифицированной обогащенной ДНК-библиотеки производили с использованием ДНК-флуориметра Qubit (Invitrogen; США) и капиллярного электрофореза BioAnalyzer (Agilent; США). Далее проводили запуск секвенатора Illumina MiSeq в соответствии с рекомендациями производителя с использованием набора реактивов на 300 циклов (MiSeq 300 cycles v2).

Сначала во всех исследуемых образцах проводили исследование трех генов, ассоциированных с СГХС: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*. Затем при отсутствии значимых генетических изменений панель расширили к исследованию следующих генов, ассоциированных с обменом липидов: *APOA1*, *APOA5*, *APOC2*, *APOE*, *APOC3*, *ABCA1*, *ABCG1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *ANGPTL3*, *CEL*, *CH25H*, *CPT2*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *GPD1*, *GPIHBP1*, *INSIG2*, *LCAT*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *LMF1*, *LPA*, *LPL*, *MTTP*, *NPC1L1*, *PNPLA2*, *PPARA*, *SAR1B*.

Проверка качества панели зондов включала следующие стадии для каждого из образцов: картирование прочтений секвенирования на референсный геном человека (сборка GRCh37.p13 hg19), расчет эффективности покрытия на основе данных о целевых фрагментах (для анализа брали нуклеотиды с минимальным покрытием 20x), используемых для синтеза зондов, поиск целевых мутаций в рамках панели обогащения, аннотацию найденных мутаций с помощью баз данных (HGMD, COSMIC, ClinVar, 1000 GenomesProject, dbSNP, ExAC), оценку консервативности замен с помощью методов моделирования (POLYPHEN, SIFT, MUTATION TASTER, FATMM, CADD, DANN, EIGEN). Аннотацию вариаций проводили в соответствии с рекомендациями ACMG [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все пациенты с выявленными изменениями гетерозиготны. По результатам проведенного обследования, мутации в трех «классических» генах, ответственных за развитие СГХС, были выявлены у 11 пациентов.

Среди них три патогенных и вероятно патогенных варианта в гене *LDLR*, а также один с неуточненной клинической значимостью. Патогенная мутация p.Val273_Cys313del ранее не описана и приводит к делеции внутри рамки считывания в области 6 экзона, в результате чего в ЛНПР отсутствует домен класса A7 в N-концевом участке [10]. Данная мутация относится к третьему классу мутаций гена *LDLR*, ведущих к синтезу рецептора с нарушением его связывания с ЛНП. Мутация g.11218068_11218190del с той же аминокислотной заменой описана Usifo и соавторами [11]. Ранее не была описана мутация неуточненной клинической значимости p.Ala776Ser, расположенная в 16-м экзоне. Редкие миссенс-варианты данной локализации распространены в общей популяции, и большинство из них классифицируются как непатогенные, однако полностью исключить фенотип гиперхолестеринемии не представляется возможным [12]. Вероятно патогенная мутация p.Gly20Arg гена *LDLR* встречалась у двух пациентов. Патогенный вариант p.Glu208Lys описан у одного больного.

В гене *APOB* выявлены патогенные и вероятно патогенные мутации у двоих пациентов и еще у двоих обнаружены мутации неуточненной клинической значимости. Встречаемость всех определенных вариантов в общей популяции составляет менее 1%.

В гене *PCSK9* обнаружены ранее не описанные мутации неуточненной клинической значимости у двоих обследованных. Мутация p.Glu612Lys расположена в 11-м экзоне. Известно о связи мутаций в этом функциональном домене (цистеин-гистидин-обогащенный C-концевой домен) с СГХС. В частности, имеется модифицирующее влияние подобных генетических вариантов на пациентов, являющихся носителями мутаций в гене *LDLR* (важно отметить, что обследованный нами больной также является носителем вероятно патогенной мутации p.Gly20Arg

гена *LDLR*) [13]. Мутация с.*415G>A расположена в 12-м экзоне. Это нетранслируемый участок, который содержит элементы, отвечающие за экспрессию гена. Однако оценить функциональные последствия такого рода генетических изменений не представляется возможным.

У пациентов с клинически диагностированной СГХС встречались мутации и в других генах, участвующих в липидном обмене. Наиболее широко представлены изменения в гене *APOE*; в нем были выявлены мутации у двоих пациентов. В частности, у одного из них имелась вероятно патогенная ранее не описанная мутация p.Arg160His с локализацией в 4-м экзоне. Этот участок отвечает за связывание липопротеина *APOE* с ЛНПР, и уже известно об ассоциации вариантов данной локализации (с аналогичной аминокислотной заменой) с развитием аутосомно-доминантной семейной дисбеталипротеинемии [14]. Кроме того, у четверых пациентов имелся один и тот же полиморфизм гена *APOE*, отвечающий за образование атерогенной изоформы ε4 аполипопротеина E (в одном из случаев одновременно с носительством мутации гена *APOB* неуточненной клинической значимости p.Ala4002Val).

У троих пациентов были обнаружены мутации в гене *ABCA1*, из них одна патогенная и две вероятно патогенные, обуславливающие сниженный уровень ЛВП. У двоих обследованных имелись мутации в гене *ABCG8*: патогенная и неуточненной клинической значимости, для которых описана связь с ситостеролемией [15]. Один больной имел вероятно патогенную мутацию в гене *ABCG5*, один — вероятно патогенную мутацию гена *LPL*, еще у одного была патогенная мутация в гене *ANGPTL3* и у одного — мутация неуточненной клинической значимости в гене *MTTP*.

Таким образом, из 38 пациентов с клинически диагностированной СГХС у 24 (63,2%) были выявлены генетические изменения, которые могли бы обусловить клинические проявления СГХС и раннюю манифестацию ИБС. Среди них 5 ранее описаны не были.

Результаты проведенного обследования представлены в таблице и на рис. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Частота встречаемости СГХС в общей популяции составляет 0,2–0,5%, а среди пациентов с ОКС может достигать 8%, в связи с чем ее адекватная диагностика именно в этой группе пациентов на сегодняшний день представляется актуальной проблемой, так как дает возможность своевременного назначения соответствующей липидснижающей терапии и проведения каскадного скрининга [16, 17]. Изучение распространенности различных мутаций, вызывающих развитие СГХС, в российской популяции находится только на начальном этапе [18]. Однако известно о крайней гетерогенности и отсутствии эффекта основателя, что было выявлено исследователями из Санкт-Петербурга [19]. В частности, в обследованной ими группе больных с СГХС (без ОКС) не было обнаружено носителей мутации гена *APOB*. Еще в одном из исследований, проведенном также на северо-западе России, не выявлено мутаций в гене *APOB* [20]. В нашей выборке больных с «ранним» развитием ОКС мутации в генах *LDLR* и *APOB* представлены почти в одинаковой степени (четыре мутации гена *LDLR*, из которых три патогенных/вероятно патогенных, а одна встречается у двух пациентов; четыре мутации *APOB*, из которых две патогенных/вероятно патогенных). Обращает также на себя внимание выявление в обследованной

Таблица. Результаты секвенирования пациентов с «ранним» развитием ОКС и клинически диагностированной СГХС

N	Пол	Возраст	Наследственность	ЛНП, ммоль/л	КГСЛК, баллы	СГХС Simon Broome	Результат	Патогенность варианта	Популяционная частота
1	Ж	48	+	9,6	11	+	Ген <i>LDLR</i> p.Val273_Cys313del; c.817+303_940+943del	Патогенный	Не описана
2	М	53	-	9,1	11	+	Не обнаружено	-	-
3	М	46	+	6,9	8	+	1. Ген <i>LDLR</i> p.Gly20Arg; c.58G>A 2. Ген <i>PCSK9</i> p.Glu612Lys; c.1834G>A	1. Вероятно патогенный 2. Неуточненной клинической значимости	1. < 1% 2. Не описан
4	Ж	51	+	5,9	6	+	Полиморфизм гена <i>APOE</i> p.Cys130Arg; c.388T>C; изоформа apoE4	Модифицирующий фактор	> 1%
5	М	46	+	5,6	6	+	Не обнаружено	-	-
6	М	49	+	5,1	6	+	Не обнаружено	-	-
7	Ж	57	+	5,7	6	+	Ген <i>LDLR</i> p.Ala776Ser; c.2326G>T	Неуточненной клинической значимости	Не описан
8	Ж	59	+	5,2	6	+	Не обнаружено	-	-
9	М	52	+	6,2	6	+	1. Полиморфизм гена <i>APOE</i> p.Cys130Arg; c.388T>C; изоформа apoE4 2. Ген <i>APOB</i> p.Ala4002Val; c.12005C>T	1. Модифицирующий фактор 2. Неуточненной клинической значимости	1. > 1% 2. < 1%
10	М	55	+	6,2	6	+	Ген <i>PCSK9</i> c.*415G>A	Неуточненной клинической значимости	Не описан
11	М	54	+	6,5	6	+	Ген <i>ABCG8</i> p.Ala642Thr; c.G1924A	Неуточненной клинической значимости	< 1%
12	М	54	+	5,1	6	+	Не обнаружено	-	-
13	М	36	+	5,6	6	-	Ген <i>APOE</i> p.Arg180Cys; c.C538T	Вероятно патогенный	< 1%
14	М	34	Неизвестна	5,4	5	+	Полиморфизм гена <i>APOE</i> p.Cys130Arg; c.388T>C; изоформа apoE4	Модифицирующий фактор	> 1%
15	М	53	Неизвестна	5,2	5	+	Не обнаружено	-	-
16	Ж	56	Неизвестна	5,5	5	-	Не обнаружено	-	-
17	М	44	-	5,8	5	+	Ген <i>LDLR</i> p.Gly20Arg; c.58G>A	Вероятно патогенный	< 1%
18	М	50	-	5,1	5	+	Не обнаружено	-	-
19	Ж	58	-	5,0	5	-	Ген <i>APOE</i> p.Arg160His; c.479G>A	Вероятно патогенный	Не описана
20	М	55	-	6,3	5	-	Не обнаружено	-	-
21	М	51	+	4,0	4	+	Полиморфизм гена <i>APOE</i> p.Cys130Arg; c.388T>C; изоформа apoE4	Модифицирующий фактор	> 1%
22	Ж	57	+	4,0	4	+	Ген <i>ABCA1</i> p.Pro85Leu; c.C254T	Вероятно патогенный	< 1%
23	М	43	+	4,9	4	+	Ген <i>LPL</i> p.Thr379Ile; c.C1136T	Вероятно патогенный	< 1%
24	М	53	+	4,6	4	+	Ген <i>LDLR</i> p.Glu208Lys; c.G622A	Патогенный	< 1%
25	М	47	+	5,4	6	+	Ген <i>ANGPTL3</i> p.Asn147*; c.431_434del	Патогенный, семейная гипобеталипопротеинемия	< 1%
26	Ж	54	+	5,0	6	+	Не обнаружено	-	-
27	М	39	+	5,3	6	+	Ген <i>ABCG5</i> p.Gly27Ala; c.G80C	Вероятно патогенный, сидостеролемиа/ гиперхолестеринемия	< 1%
28	М	46	+	6,5	6	+	Ген <i>MTP</i> p.Leu838Phe; c.G2514C	Неуточненной клинической значимости	< 1%
29	М	45	+	5,0	6	+	Не обнаружено	-	-
30	М	42	+	4,8	6	-	Не обнаружено	-	-
31	М	51	Неизвестна	5,2	5	+	Ген <i>ABCG8</i> p.Leu572Pro; c.T1715C	Патогенный, сидостеролемиа	< 1%
32	Ж	47	Неизвестна	5,7	5	-	Ген <i>APOB</i> p.Val4265Ala; c.T12794C	Вероятно патогенный	< 1%
33	М	48	-	4,9	5	-	Не обнаружено	-	-
34	Ж	59	+	4,9	4	+	Ген <i>ABCA1</i> p.Val399Ala; c.T1196C	Патогенный, врожденный дефицит ЛВП	< 1%
35	М	56	+	6,5	7	-	Не обнаружено	-	-
36	М	64	+	5,0	6	+	Ген <i>APOB</i> p.Ser3279Gly; c.A9835G	Вероятно патогенный	< 1%
37	М	57	+	5,8	6	+	Ген <i>APOB</i> p.Asn2971Thr; c.A8912C	Неуточненной клинической значимости	< 1%
38	Ж	64	+	5,6	5	-	Ген <i>ABCA1</i> p.Arg496Trp; c.C1486T	Вероятно патогенный, врожденный дефицит ЛВП	< 1%

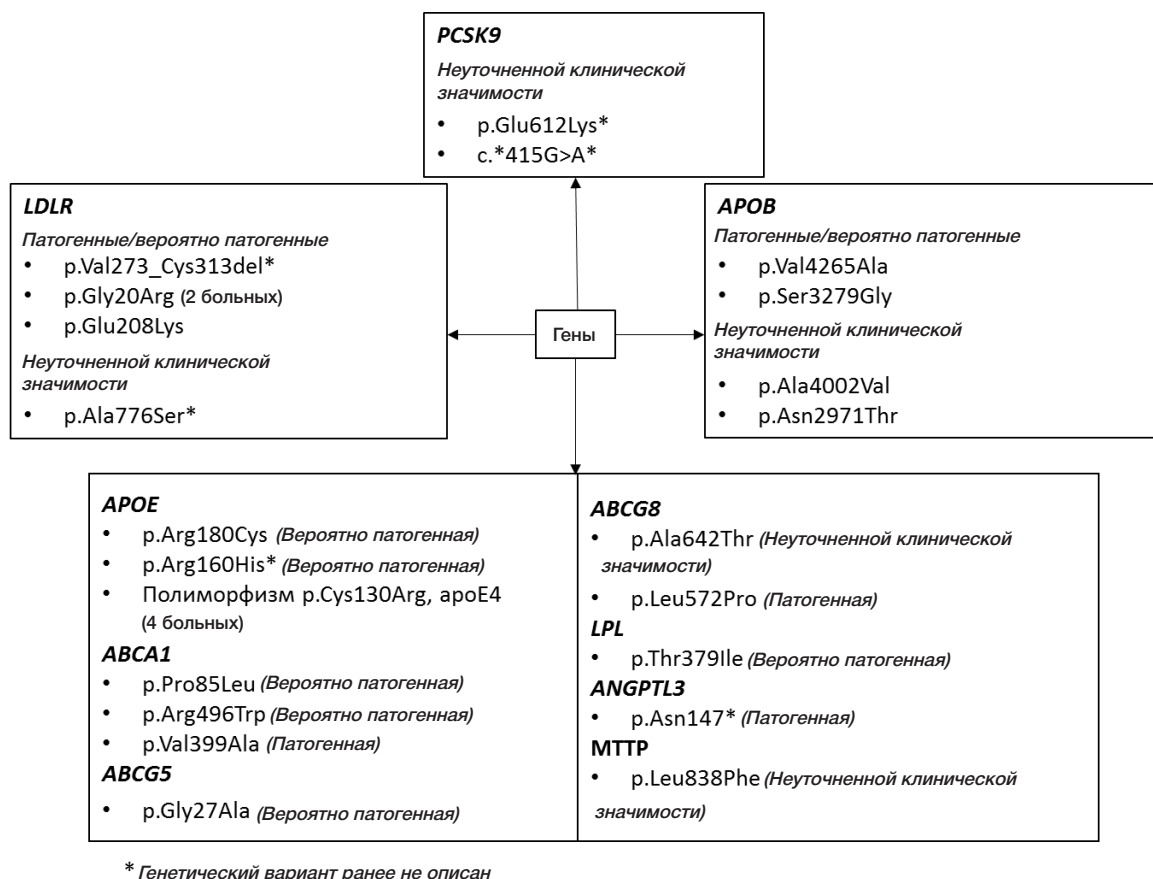


Рис. 1. Генетические варианты, ассоциированные с клинически диагностированной СГХС у больных «ранним» ОКС

нами группе двух больных с фенотипом СГХС, которые являются носителями мутаций с неизвестной клинической значимостью в гене *PCSK9*. На сегодняшний день в России описание случаев мутаций *PCSK9* пока единично [21]. Все известные патологические варианты гена *PCSK9* являются чрезвычайно редкими и имеют аллельную частоту менее 0,1% в общей популяции [22]. Распределение в общей популяции однонуклеотидных полиморфизмов, мало влияющих на обмен холестерина, такое, что у большинства наблюдается баланс между аллелями, повышающими и снижающими уровень ЛНП. У людей же, находящихся в крайних точках этого распределения, имеется наследственно обусловленное преобладание аллелей, повышающих уровень ЛНП, которые кумулятивно могут приводить к достижению значений ЛНП, характерных для гетерозиготной СГХС. Одним из самых характерных и изученных примеров такого полиморфизма является полиморфизм гена *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$, когда у носителей $\epsilon 4$ риск ИБС в несколько раз выше [23, 24]. Известно об ассоциации носительства генотипа изоформ $\epsilon 4$ полиморфного маркера p.Cys130Arg с развитием СГХС в популяции России [25], что подтверждается и нашими данными, где этот полиморфизм обнаружен у четверых больных. Важно также обратить внимание на широкую представленность редких мутаций в других генах липидного обмена (*APOE*, *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *LPL*, *ANGPTL3*, *MTPP*), что может указывать на возможно иную распространенность мутаций в популяции больных

с «ранним» развитием ОКС и СГХС в России. Среди обследованных у пациентки № 1 (см. таблицу) ранее не описанная мутация p.Val273_Cys313del в гене *LDLR* носила определенно патогенный характер [11]. Был проведен каскадный скрининг у дочери пробанда (известно о повышении у нее уровня общего холестерина), не выявивший носительства патологического варианта гена. Итак, из 38 обследованных у 14 пациентов (36,8%) выявленные генетические варианты носили патогенный и вероятно патогенный характер, а у 10 (26,3%) имели неуточненную клиническую значимость. Данные о частоте встречаемости генетических вариантов, связанных с СГХС именно у больных с «ранним» ОКС, в литературе не описаны, однако, согласно исследованию ряда авторов, проводивших таргетное секвенирование у 104 пациентов с клинически диагностированной СГХС, были выявлены патологические варианты как в генах *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, так и в редких генах системы липидного обмена у 67% обследованных с определенной СГХС [26].

Выводы

Использование клинических критериев позволяет с помощью последующего таргетного секвенирования выявить среди пациентов с ОКС и СГХС носителей патологических генетических вариантов не только в «классических» генах, связанных с СГХС, но и в редких, которые, возможно, ассоциированы с фенотипическими проявлениями СГХС.

Литература

- Braenne I, Kleinecke M, Reiz B, Graf E, Strom T, Wieland T et al. Systematic analysis of variants related to familial hypercholesterolemia in families with premature myocardial infarction. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24 (2): 191–7.
- Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Genetic Architecture of Familial Hypercholesterolaemia. *Current Cardiology Reports.* 2017; 19 (5): 1–8.
- Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. *Nature Reviews Disease Primers.* 2017; (3): 1–20.
- Ouguerram K, Chetiveaux M, Zair Y, Costet P, Abifadel M, Varret M et al. Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal-dominant hypercholesterolemia related to mutations in PCSK9. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2004; 24 (8): 1448–53.
- Sun H, Samarghandi A, Zhang N, Yao Z, Xiong M, Teng BB. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 interacts with apolipoprotein B and prevents its intracellular degradation, irrespective of the low-density lipoprotein receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2012; 32 (7): 1585–95.
- Затейщиков Д. А., Волкова Э. Г., Гузь И. О., Евдокимова М. А., Асейчева О. Ю., Галявич А. С. и др. Лечение больных, перенесших острый коронарный синдром, по данным Российского многоцентрового проспективного наблюдательного исследования. *Фарматека.* 2009; (12): 109–13.
- Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *European Heart Journal.* 2016; 37 (39): 2999–3058.
- Wierzbicki AS, Humphries SE, Minhas R. Familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. *British Medical Journal.* 2008; (337): 1095.
- 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; 17 (5): 405–424.
- Аверкова А. О., Бражник В. А., Королева О. С., Зубова Е. А., Рогожина А. А., Хасанов Н. Р. и др. Особенности поражения коронарного русла и течения острого коронарного синдрома у молодых больных с семейной гиперлипидемией по данным наблюдательного проекта ОРАКУЛ II. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. Приложение.* 2017; 6 (4): 9.
- Usifo E, Leigh SEA, Whittall RA, Lench N, Taylor A, Yeats C et al. Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Familial Hypercholesterolemia Variant Database: Update and Pathological Assessment. *Annals of Human Genetics.* 2012; 76 (5): 387–401.
- Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalu AB, Noto D, Fasano T et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis.* 2013; 227 (2): 342–8.
- Pisciotta L, Priore Oliva C, Cefalu 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; 186 (2): 433–40.
- Wintjens R, Bozon D, Belabbas K, MBou F, Girardet JP, Tounian PA et al. Global molecular analysis and APOE mutations in a cohort of autosomal dominant hypercholesterolemia patients in France. *Journal of Lipid Research.* 2016; 57 (3): 482–91.
- Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Kojima H et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet.* 2001; 69 (2): 278–90.
- De Backer G, Besseling J, Chapman J, Hovingh GK, Kastelein JJP, Kotseva K et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in coronary patients: An analysis of EUROASPIRE IV, a study of the European Society of Cardiology. *Atherosclerosis.* 2015; 241 (1): 169–75.
- Nordstgaard 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. *European Heart Journal.* 2013; 34 (45): 3478–90a.
- Ежов М. В., Сергиенко И. В., Дупляков Д. В., Абашина О. Е., Качковский М. А., Шапошник И. И. и др. Результаты Российской научно-исследовательской программы по диагностике и лечению больных семейной гиперхолестеринемией. Высокая распространенность, низкая информированность, плохая приверженность. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2017; (2): 5–15.
- Захарова Ф. М., Татищева Ю. А., Голубков В. И., Липовецкий Б. М., Константинов В. О., Денисенко А. Д. и др. Семейная гиперхолестеринемия в Санкт-Петербурге: разнообразие мутаций свидетельствует об отсутствии выраженного эффекта основателя. *Генетика.* 2007; 43 (9): 1255–62.
- Корнева В. А., Богословская Т. Ю., Кузнецова Т. Ю., Мандельштам М. Ю., Васильев Б. В. Семейная гиперхолестеринемия, обусловленная новой мутацией гена рецепторов липопротеинов низкой плотности. *Клиническая медицина.* 2014; (7): 49–53.
- Шахтшнейдер Е. В., Макаренкова К. В., Астракова К. С., Иванощук Д. Е., Орлов П. С., Рагино Ю. И. и др. Таргетное секвенирование гена PCSK9 у пациентов семейной гиперхолестеринемией в России. *Кардиология.* 2017; (6): 46–51.
- Kosenko T, Golder M, Leblond G, Weng W, Lagace TA. Low density lipoprotein binds to proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 (PCSK9) in human plasma and inhibits PCSK9-mediated low density lipoprotein receptor degradation. *The Journal of biological chemistry.* 2013; 288 (12): 8279–88.
- Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlborn A et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *Jama.* 2007; 298 (11): 1300–11.
- Luo JQ, Ren H, Banh HL, Liu MZ, Xu P, Fang PF et al. The Associations between Apolipoprotein E Gene Epsilon2/Epsilon3/Epsilon4 Polymorphisms and the Risk of Coronary Artery Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Frontiers in physiology.* 2017; (8): 1031.
- Shakhtshneider EV, Ragino YI, Chernjavski AM, Kulikov IV, Ivanova MV, Voevoda MI. Apolipoprotein E gene polymorphism in men with coronary atherosclerosis in Siberia. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2011; 150 (3): 355–8.
- Vandrovcova J, Thomas ER, Atanur SS, Norsworthy PJ, Neuwirth C, Tan Y et al. The use of next-generation sequencing in clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Genet Med.* 2013; 15 (12): 948–57.

References

- Braenne I, Kleinecke M, Reiz B, Graf E, Strom T, Wieland T et al. Systematic analysis of variants related to familial hypercholesterolemia in families with premature myocardial infarction. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24 (2): 191–7.
- Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Genetic Architecture of Familial Hypercholesterolaemia. *Current Cardiology Reports.* 2017; 19(5): 1–8.
- Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. *Nature Reviews Disease Primers.* 2017; (3): 1–20.
- Ouguerram K, Chetiveaux M, Zair Y, Costet P, Abifadel M, Varret M et al. Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal-dominant hypercholesterolemia related to mutations in PCSK9. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2004; 24 (8): 1448–53.

5. Sun H, Samarghandi A, Zhang N, Yao Z, Xiong M, Teng BB. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 interacts with apolipoprotein B and prevents its intracellular degradation, irrespective of the low-density lipoprotein receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2012; 32 (7): 1585–95.
6. Zatejshnikov DA, Volkova JeG, Guz IO, Evdokimova MA, Asejcheva OJu, Galjavich AS i dr. Lechenie bol'nyh, perenessih ostryj koronarnyj sindrom, po dannym Rossijskogo mnogocentrovogo prospektivnogo nabljudatel'nogo issledovanija. *Farmateka*. 2009; (12): 109–13.
7. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart Journal*. 2016; 37 (39): 2999–3058.
8. Wierzbicki AS, Humphries SE, Minhas R. Familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. *British Medical Journal*. 2008; (337): 1095.
9. 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; 17 (5): 405–24.
10. Averkova AO, Brazhnik VA, Koroleva OS, Zubova EA, Rogozhina AA, Hasanov NR et al. Osobennosti porazheniya koronarnogo rusla i techeniya ostrogo koronarnogo sindroma u molodyh bol'nyh s semejnoy giperlipidemiej po dannym nablyudatel'nogo proekta ORAKUL II. Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyh zabolevanij. *Prilozhenie*. 2017; 6 (4): 9.
11. Usifo E, Leigh SEA, Whittall RA, Lench N, Taylor A, Yeats C et al. Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Familial Hypercholesterolemia Variant Database: Update and Pathological Assessment. *Annals of Human Genetics*. 2012; 76 (5): 387–401.
12. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalu AB, Noto D, Fasano T et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis*. 2013; 227 (2): 342–8.
13. Pisciotta L, Priore Oliva C, Cefalu 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; 186 (2): 433–40.
14. Wintjens R, Bozon D, Belabbas K, MBou F, Girardet JP, Tounian PA et al. Global molecular analysis and APOE mutations in a cohort of autosomal dominant hypercholesterolemia patients in France. *Journal of lipid research*. 2016; 57 (3): 482–91.
15. Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Kojima H et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet*. 2001; 69 (2): 278–90.
16. De Backer G, Besseling J, Chapman J, Hovingh GK, Kastelein JJP, Kotseva K et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in coronary patients: An analysis of EUROASPIRE IV, a study of the European Society of Cardiology. *Atherosclerosis*. 2015; 241 (1): 169–75.
17. 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. *European Heart Journal*. 2013; 34 (45): 3478–90a.
18. Ezhov MV, Sergienko IV, Duplyakov DV, Abashina OE, Kachkovskiy MA, Shaposhnik II et al. Rezul'taty Rossijskoj nauchno-issledovatel'skoj programmy po diagnostike i lecheniyu bol'nyh semejnoy giperholesterinemiej. *Vysokaya rasprostranennost', nizkaya informirovannost', plohay a priverzhennost'. Ateroskleroz i dislipidemii*. 2017; (2): 5–15.
19. Zaharova FM, Tatishcheva YA, Golubkov VI, Lipoveckij BM, Konstantinov VO, Denisenko AD et al. Semejnaya giperholesterinemiya v Sankt-Peterburge: raznoobrazie mutacij svidatel'stvuet ob otsutstvii vyrazhennogo ehffekta osnovatelya. *Genetika*. 2007; 43 (9): 1255–62.
20. Korneva VA, Bogoslovskaya TY, Kuznecova TY, Mandelshtam MY, Vasilev BV. Semejnaya giperholesterinemiya, obsulovlennaya novoj mutaciej gena receptorov lipoproteinov nizkoj plotnosti. *Klinicheskaya medicina*. 2014; (7): 49–53.
21. Shakhtshneider EV, Makarenkova KV, Astrakova KS, Ivanoshchuk DE, Orlov PS, Ragino YI et al. Targetnoe sekvenirovanie gena PCSK9 u pacientov semejnoy giperholesterinemiej v Rossii. *Kardiologiya*. 2017; (6): 46–51.
22. Kosenko T, Golder M, Leblond G, Weng W, Lagace TA. Low density lipoprotein binds to proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 (PCSK9) in human plasma and inhibits PCSK9-mediated low density lipoprotein receptor degradation. *The Journal of biological chemistry*. 2013; 288 (12): 8279–88.
23. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlborn A et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *Jama*. 2007; 298 (11): 1300–11.
24. Luo JQ, Ren H, Banh HL, Liu MZ, Xu P, Fang PF et al. The Associations between Apolipoprotein E Gene Epsilon2/Epsilon3/Epsilon4 Polymorphisms and the Risk of Coronary Artery Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Frontiers in physiology*. 2017; (8): 1031.
25. Shakhtshneider EV, Ragino YI, Chernjavski AM, Kulikov IV, Ivanova MV, Voevoda MI. Apolipoprotein E gene polymorphism in men with coronary atherosclerosis in Siberia. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2011; 150 (3): 355–8.
26. Vandrovцова J, Thomas ER, Atanur SS, Norsworthy PJ, Neuwirth C, Tan Y et al. The use of next-generation sequencing in clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Genet Med*. 2013; 15 (12): 948–57.