

Возможности прогнозирования семейной гиперхолестеринемии на основании биохимических особенностей у пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска

DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2025.03.0006

© А.К. Мусонова, Д.В. Сидоренко, В.Д. Назаров, Д.С. Сливинский, К.Р. Дюсупова, А.А. Плотникова, Е.А. Суркова, Т.В. Блинова, А.В. Мазинг, С.В. Лапин, Е.А. Полякова, К.В. Легостаева, Н.Н. Смирнова, А.Н. Куликов

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Мусонова Анастасия Константиновна – ORCID 0000-0003-0986-5150; Сидоренко Дарья Владимировна – ORCID: 0000-0001-8503-0759; Назаров Владимир – ORCID 0000-0002-9354-8790; Сливинский Дмитрий Сергеевич – ORCID 0009-0007-2860-5713; Дюсупова Карина Рашидовна – ORCID 0009-0008-0164-4832; Плотникова Анастасия Александровна – ORCID 0009-0000-3045-3738; Суркова Елена Аркадьевна – ORCID 0000-0001-5191-0221; Блинова Татьяна Владимировна – ORCID 0000-0003-4896-3319; Мазинг Александра Васильевна – ORCID 0000-0002-3055-6507; Лапин Сергей Владимирович – ORCID 0000-0002-4998-3699; Полякова Екатерина Анатольевна – ORCID 0000-0002-3231-6152; Легостаева Кристина Владимировна – ORCID 0000-0002-7006-0215; Смирнова Наталья Николаевна – ORCID 0000-0002-0581-7285. Куликов Александр Николаевич – ORCID 0000-0002-4544-2967. Возможности прогнозирования семейной гиперхолестеринемии на основании биохимических особенностей у пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2025;3(60):65–76. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2025.03.0006.

Аннотация

Обоснование. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) атеросклеротического генеза являются ведущей причиной смертности во всем мире. Наиболее распространенным наследственным нарушением липидного обмена, характеризующимся повышением концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности и преждевременным развитием сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза, является семейная гиперхолестеринемия.

Цель. Изучить биохимические и молекулярно-генетические особенности пациентов очень высокого сердечно-сосудистого риска с подозрением на семейную гиперхолестеринемию и оценить параметры чувствительности и специфичности биохимических показателей липидного профиля.

Материалы и методы. Исследование включало 50 пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска в возрасте от 18 до 55 лет. Всем пациентам были проведены электрофорез липидов, определение аполипопротеинов и молекулярно-генетические исследования в лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний при Научно-методическом центре Минздрава России по молекулярной медицине ПСПбГМУ им. академ. И.П. Павлова.

Результаты. Согласно результатам NGS-секвенирования в исследуемой группе патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB* были обнаружены в 10% и 4% случаев соответственно. MLPA-анализ для определения протяженных делеций и дупликаций гена *LDLR* не выявил структурных изменений. Наиболее высокой прогностической ценностью обладал биохимический показатель аполипопротеин B100.

Заключение. Дальнейшее исследование молекулярно-генетических и биохимических особенностей позволит персонализировать тактику ведения пациентов с семейной гиперхолестеринемией.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания атеросклеротического генеза, ЛНП, семейная гиперхолестеринемия, моногенная СГХС, *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, полигенная СГХС, липопротеин (а).

Prognosing of the predicting familial hypercholesterolemia based on biochemical characteristics among very-high cardiovascular risk patients

© A.K. Musonova, D.V. Sidorenko, V.D. Nazarov, D.S. Slivinskiy, K.R. Dyusupova, A.A. Plotnikova, E.A. Surkova, T.V. Blinova, A.V. Mazing, S.V. Lapin, E.A. Polyakova, K.V. Legostaeva, N.N. Smirnova, A.N. Kulikov

For citation: Musonova Anastasia Konstantinovna – ORCID0000-0003-0986-5150; Sidorenko Darya Vladimirovna – ORCID 0000-0001-8503-0759; Nazarov Vladimir Dmitrievich – ORCID 0000-0002-9354-8790; Slivinsky Dmitry Sergeevich – ORCID 0009-0007-2860-5713; Dyusupova Karina Rashidovna – ORCID 0009-0008-0164-4832; Plotnikova Anastasia Aleksandrovna – ORCID 0009-0000-3045-3738; Surkova Elena Arkadyevna – ORCID 0000-0001-5191-0221; Blinova Tatyana Vladimirovna – ORCID 0000-0003-4896-3319; Mazing Alexandra Vasilievna – ORCID 0000-0002-3055-6507; Lapin Sergey Vladimirovich – ORCID 0000-0002-4998-3699; Polyakova Ekaterina Anatolyevna – ORCID 0000-0002-3231-6152; Legostaeva Kristina Vladimirovna – ORCID 0000-0002-7006-0215; Smirnova Natalya Nikolaevna – ORCID 0000-0002-0581-7285; Kulikov Alexander Nikolaevich – ORCID 0000-0002-4544-2967. Comparative evaluation of the effectiveness of various types of lipid-lowering therapy and quality of life in elderly patients after coronary artery bypass grafting. *Atherosclerosis and dyslipidemias*. 2025;3(60):65–76. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2025.03.0006.

Abstract

The results of the quality of life of 50 patients after surgical intervention on the heart are presented. This problem is actual today, as recently there has been an increase in the number of heart operations. Quality of life was evaluated after coronary bypass surgery using the SF-36 questionnaire. Groups of patients were formed on the type of lipid-lowering therapy: the first group is on injections alirocumab 300 mg subcutaneous once a month and second group – on therapy including rosuvastatin 20 mg and ezetimibe 10 mg. The observation period was one year. As a results, it was revealed that in the treatment with alirocumab, compared with therapy including rosuvastatin and ezetimibe, target LDL levels are more often achieved and maintained, quality of life indicators are higher in category Physical Functioning (Pf), Vitality (VT) and Role-Emotional (Re), the percentage of anxiety disorders is lower in the postoperative period.

Keywords: coronary artery disease, coronary bypass surgery, elderly patients, rosuvastatin, ezetimibe, alirocumab.

Received/Поступила:

Review received/Рецензия получена:

Accepted/Принята в печать:

1. Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) атеросклеротического генеза являются ведущей причиной смертности во всем мире [1, 2]. Практический подход к снижению заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний ориентирован на контроль и коррекцию модифицируемых факторов риска, а именно снижение уровня атерогенных фракций холестерина (ХС): ХС липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП), липопротеидов невысокой плотности (нЛВП) и триглицеридов (ТГ) [3].

Согласно клиническим рекомендациям 2023 года, посвященным нарушениям липидного обмена, дислипидемии (ДЛП) трактуются как состояния, при которых концентрации липидов и липопротеидов крови выходят за пределы нормы. Такие нарушения липидного обмена могут быть вызваны как наследственными (первичными), так и приобретенными (вторичными) причинами [4]. Значительное число нарушений липидного обмена носит вторичный характер и может быть обусловлено, например, такими заболеваниями, как сахарный диабет, гипотиреоз, хронические заболевания почек и метаболический синдром. В свою очередь первичные ДЛП являются генетически обусловленными состояниями. Их развитие связано с молекулярными особенностями генов, регулирующих функциональную активность рецепторов, ферментов и транспортных белков, которые участвуют в липидном обмене [5].

В структуре первичных дислипидемий одним из наиболее распространенных генетически детерминированных нарушений метаболизма липидов, выражающихся повышением уровня ХС ЛНП в сыворотке крови, является семейная гиперхолестеринемия [4]. Диагноз СГХС устанавливается согласно клиническим критериям. Наиболее часто используемыми являются критерии, разработанные в Нидерландах – критерии Dutch Lipid Clinic Network (DLCN), в Великобритании – критерии Саймона Брума (SIMON-BROOME) и в США – критерии Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths (MEDPED) [6].

Первой описанной формой СГХС является моногенная форма (мСГХС), развитие которой обусловлено вариантами в нескольких генах: гена рецептора ЛНП – *LDLR* (OMIM 606945), гена аполипопротеина В100 – *APOB* (OMIM 107730) и гена *PCSK9* (OMIM 607786) [7]. Пациенты с СГХС могут быть носителями вариантов как на одной (гетерозиготная СГХС (ге-СГХС)), так и на двух аллелях (гомозиготная СГХС (го-СГХС)). Обе группы пациентов характеризуется патологическим повышением уровней общего холестерина и ХС ЛНП, а также подвергаются высокому риску ранних сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. Однако в то же время у значительной доли пациентов с клиническим диагнозом СГХС могут не выявляться варианты в генах *LDLR*, *APOB* и *PCSK9* при молекулярно-

генетическом исследовании [8]. Также описана более редкая аутосомно-рецессивная форма СГХС (OMIM 603813), связанная с геном адаптерного белка 1 рецептора ЛНП (*LDLRAP1*) [9].

Второй по распространенности формой СГХС является полигенная форма. Развитие полигенных случаев СГХС в европейской популяции обуславливается кумулятивным эффектом 6 полиморфизмов в генах метаболизма ЛНП – *CELSR2*, *APOB*, *ABCG5/8*, *LDLR* и *APOE* [10]. Влияние данных полиморфизмов может повышать уровень ХС ЛНП соизмеримо уровню ХС ЛНП при моногенной форме СГХС [11].

Другим генетически детерминированным нарушением липидного обмена и независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний является гиперлипопротеинемия(а). Langsted A. et al. призывают рассматривать повышенный уровень липопротеина(а) (ЛП(а)), как одну из форм СГХС, и включать в спектр обязательных лабораторных тестов при обследовании пациентов [12].

Электрофоретическая картина пациентов с СГХС характеризуется дислипидемией типа IIa и IIb, также известные как семейная гиперхолестеринемия и семейная комбинированная гиперхолестеринемия соответственно, согласно классификации Фредриксона (D. Fredrickson 1965) или классификации ВОЗ (2000) [13]. Особенности биохимической картины СГХС характеризуются высокой вариацией значений ХС ЛНП на фоне нормальных показателей ЛВП и триглицеридов. Однако гипертриглицеридемия не исключает диагноз СГХС, так как наследственные формы могут сосуществовать с метаболическим синдромом. У пациентов с гетерозиготными формами СГХС ЛНП варьирует от 5 до 13 ммоль/л. В свою очередь гомозиготные формы СГХС характеризуются уровнем ХС ЛНП более 13 ммоль/л без терапии или стойким повышением ХС ЛНП более 8 ммоль/л на фоне гиполипидемической терапии [14]. Также уровень ХС ЛНП напрямую зависит от того, в каком гене локализуется вариант. Носители вариантов гена *LDLR* отличаются более выраженным повышением уровней ОХ и ХС ЛНП, чем *APOB*-ассоциированные формы СГХС [15, 16].

Средняя распространённость ге-СГХС в популяции варьируется в зависимости от этнической принадлежности и колеблется от 0,25% (1:400) до 0,52% (1:192) [17]. По данным метаанализа популяционных исследований в 2020 году было установлено, что распространённость СГХС в популяции составила 1 на 313 человек. Среди пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) распространённость СГХС была в 10 раз выше (1:31), в 20 раз выше среди лиц с ранней ИБС (1:15) и в 23 раза выше среди лиц с тяжелым генерализованным атеросклерозом (1:14) [18]. Однако несмотря на распространённость и существенный вклад СГХС в структуру ССЗ, частота выявления данного заболевания в ряде стран составляет менее 1% [19].

Распространенность ге-СГХС в 11 регионах РФ в рамках исследования ЭССЕ-РФ составила 1:173 человека, что подчеркивает высокую частоту встречаемости данной нозологии в российской популяции [20]. Тем не менее СГХС остается недостаточно диагностируемым заболеванием [20]. Возможными причинами гиподиагностики данной нозологии являются не только низкая осведомленность врачей о проявлениях и критериях заболевания, но и недостаточное использование молекулярно-генетических методов диагностики у больных и родственников в рамках каскадного скрининга.

Таким образом, несмотря на достигнутый за последние два десятилетия прогресс в области клинической и лабораторной диагностики, СГХС по-прежнему остается недостаточно диагностируемым генетически детерминированным заболеванием. Оценка особенностей биохимических профилей в зависимости от выявленных молекулярно-генетических особенностей лиц с ранними сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза позволит разработать комплексный подход к обследованию пациентов с нарушениями липидного обмена.

Целью нашей работы являлся анализ биохимических и молекулярно-генетических особенностей пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска с подозрением на семейную гиперхолестеринемию и оценка параметров чувствительности и специфичности биохимических показателей липидного профиля.

2. Материалы и методы

Исследование включало 50 пациентов в возрасте старше 18 лет, обратившихся в клинику НИИ сердечно-сосудистых заболеваний в отделение кардиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, все пациенты подписали информированное согласие. Клинические данные были собраны с помощью анкет, заполненных лечащим врачом. Критериями включения в исследование являлись: пациенты высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска, рассчитанного на основании стратификации риска, указанной в клинических рекомендациях МЗ РФ «Нарушения липидного обмена» (2023), в возрасте от 18 до 55 лет, в том числе пациенты с развитием первого эпизода сердечно-сосудистых катастроф в возрасте до 50 лет.

Электрофорез липидов, определение апопротеинов и молекулярно-генетические исследования были выполнены в лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний при Научно-методическом центре Минздрава России по молекулярной медицине ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова.

2.1. Исследование биохимических показателей

Электрофорез липидов проводится на оборудовании для горизонтального электрофореза в агарозе Hydrasis II компании Sebia (Франция) в соответствии с рекомендациями производителя. Оценка холестерина в составе липидных фракций проводилась с помощью реактивов HDL/LDL Cholesterol Direct (Sebia, Франция). Для исследования триглицеридов и других липидов в составе липопротеидов используются реактивы Hydragel Lipo + Lpa производства компании Sebia (Франция). Количественная оценка триглицеридов и холестерина проводилась с помощью автоматического биохимического анализатора и реактивов компании BioSystems (Испания). Расчет содержания холестерина и триглицеридов в составе липидных фракций осуществлялся посредством программного обеспечения Phoresis (Sebia, Франция). Тип дислипидемии устанавливался в соответствии с классификацией Фредриксона (D. Fredrickson 1965) или классификацией ВОЗ (2000) [13].

Оценка аполипопротеинов проводилась с помощью метода лазерной кинетической нефелометрии на автоматическом анализаторе белков (Siemens Healthineers, Германия). Использовались наборы реактивов для исследований аполипопротеина В и аполипопротеина ЛП(а) в соответствии с инструкциями производителя.

2.2. Молекулярно-генетические методы

Выделение ДНК выполнялось с помощью метода высаливания из лейкоцитов венозной крови пациентов. Образцы ДНК хранились при температуре -20°C . Для обнаружения вариантов в генах *APOB*, *LDLR* и *PCSK9* использовался метод NGS-секвенирования. Была разработана панель урицилсодержащих праймеров Prep&Seq™ U-target (ООО «ПАРСЕК ЛАБ», Россия). Секвенирование проводилось на платформе Illumina MiSeq (Illumina, США). Анализ полученных данных каждого образца осуществлялся индивидуально с использованием программного обеспечения, предоставляемого производителем реагентов (ООО «ПАРСЕК ЛАБ», Россия).

Обнаружение протяженных делеций и дупликаций промотора и экзонов гена *LDLR* проводилось методом мультиплексной амплификации лигазосвязанных проб (MLPA). MLPA-анализ проведен с использованием коммерческого набора SALSA MLPA KIT P062 (MRCHolland, Amsterdam) в соответствии с инструкцией производителя. Флуоресцентно меченные фрагменты были разделены и идентифицированы с помощью капиллярного электрофореза с использованием генетического анализатора Нанофор-5 компании Синтол (Россия). Полученные данные проанализированы с помощью программного обеспечения GeneMarker® (SoftGenetics, США).

Для оценки полигенного индекса была произведена оценка точечных полиморфизмов в генах *CELSR2* (rs629301), *APOB* (rs1367117), *ABCG8* (rs4299376), *LDLR* (rs6511720) и *APOE* (rs429358, rs7412) методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих наборов ТестГен (Россия) согласно инструкции производителя. Полученные результаты были интерпретированы в виде суммы аллелей риска с помощью «SNP-коэффициентов», разработанных в 2016 году на основании наиболее распространенных вариантов, повышающих уровень ХС ЛНП [21].

2.3. Статистический анализ

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программы GraphPad Prism версия 8.2.1 (GraphPad Software Inc., США). Для показателей, прошедших проверку на нормальность распределения использовали среднее арифметическое. А для показателей, не прошедших проверку на нормальность распределения, использовали Me (Q1-Q3), где Me — медиана, Q1 — 25% квартиль, Q3 — 75% квартиль. Для оценки достоверности полученных результатов использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Сравнение групп по качественным признакам проводилось с помощью точного критерия хи-квадрат Пирсона. Считалось, что $p < 0,05$ указывает на статистически значимое различие. Для определения диагностической значимости биохимических показателей применялся ROC-анализ, который позволил оценить зависимость чувствительности и специфичности.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Лабораторные характеристики пациентов

Исследуемая группа пациентов включала 18 женщин (средний возраст 48 [35–55] лет) и 32 мужчины (средний возраст 46 [39–54] лет). Средний уровень ОХС у женщин и мужчин составил 6,62 [4,88–7,80] ммоль/л и 5,39 [3,59–7,54] ммоль/л, ХС ЛНП — 3,81 [3,13–5,29] ммоль/л и 2,96 [1,84–4,94] ммоль/л, триглицериды — 1,47 [1,12–1,77] ммоль/л и 1,76 [1,13–2,66] ммоль/л соответственно. Средний уровень ИМТ у женщин и мужчин составил 22,88 [19,34–27,66] кг/м² и 28,90 [26,01–30,98] кг/м² соответственно. ЛП(а) в исследуемой группе составил: менее 30 мг/дл — у 32 (64%) пациентов, более 50 мг/дл — у 13 (26%), пограничные значения ЛП(а) в плазме от 30 до 50 мг/дл — у 5 (10%). Аполипопротеин В100 составил: менее 1,3 ммоль/л — у 8 (44,4%) и 18 (56,3%) пациентов, более 1,3 ммоль/л — у 10 (55,6%) и 14 (43,8%).

Перенесенный инфаркт миокарда (ИМ) был установлен у 19 (36,5%) пациентов, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) — у 4 (7,6%), коронарное шунтирование (КШ) — у 6

(11,5%), стентирование коронарных артерий — у 23 (44,2%). Диагноз нестабильной стенокардии был установлен у 4 (7,7%) пациентов, фибрилляция предсердий — у 2 (3,9%). Гиполипидемическую терапию принимали 25 (48,1%) пациентов в момент включения в исследование. Терапия была представлена статинами, в частности аторвастатином и розувастатином. Семейный анамнез сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза отягощен у 16 (30,8%) пациентов.

3.2. Результаты NGS-секвенирования и MLPA анализа

Согласно результатам NGS-секвенирования в исследуемой группе патогенные и вероятно патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB* были обнаружены в 10% и 4% случаев соответственно. Варианты неясной клинической значимости были идентифицированы в генах *PCSK9* и *APOB* в 5,8 % случаев.

В нашем исследовании были обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты в гене *LDLR* в 9 экзоне NM_001195798.2:c.1202T>A (p.Leu401His), в 12 экзоне NM_000527.5:c.1747C>T (p.His583Tyr) и у двух пациентов из неродственных семей в 4 экзоне NM_000527.5:c.682G>T (p.Glu228Ter). Также в нашей группе был обнаружен патогенный вариант в интронной области гена *LDLR* NM_000527.5:c.1187-10G>A.

В гене *APOB* в исследуемой группе при молекулярно-генетическом исследовании были обнаружены два патогенных варианта в 26 экзоне — NM_000384.3:c.10580G>A (p.Arg3527Gln) и NM_000384.3:c.10579C>T (p.Arg3527Trp). Также были обнаружены два варианта неясной клинической значимости в гене *APOB* — NM_000384.3:c.5066G>A (p.Arg1689His) и NM_000384.3:c.13055T>G (p.Leu4352Arg).

Клинически значимых вариантов в гене *PCSK9* в исследуемой группе обнаружено не было. Был выявлен вариант неясной клинической значимости, локализованный во 2 экзоне гена *PCSK9* — NM_174936.4:c.533G>A (p.Ser178Asn).

Лицам, у которых по результатам NGS-секвенирования не было обнаружено функционально значимых вариантов в генах *LDLR*, *APOB* и *PCSK9*, был выполнен MLPA-анализ для определения протяженных делеций и дупликаций в промоторе и экзонах гена *LDLR*. Структурных изменений в исследуемой группе обнаружено не было.

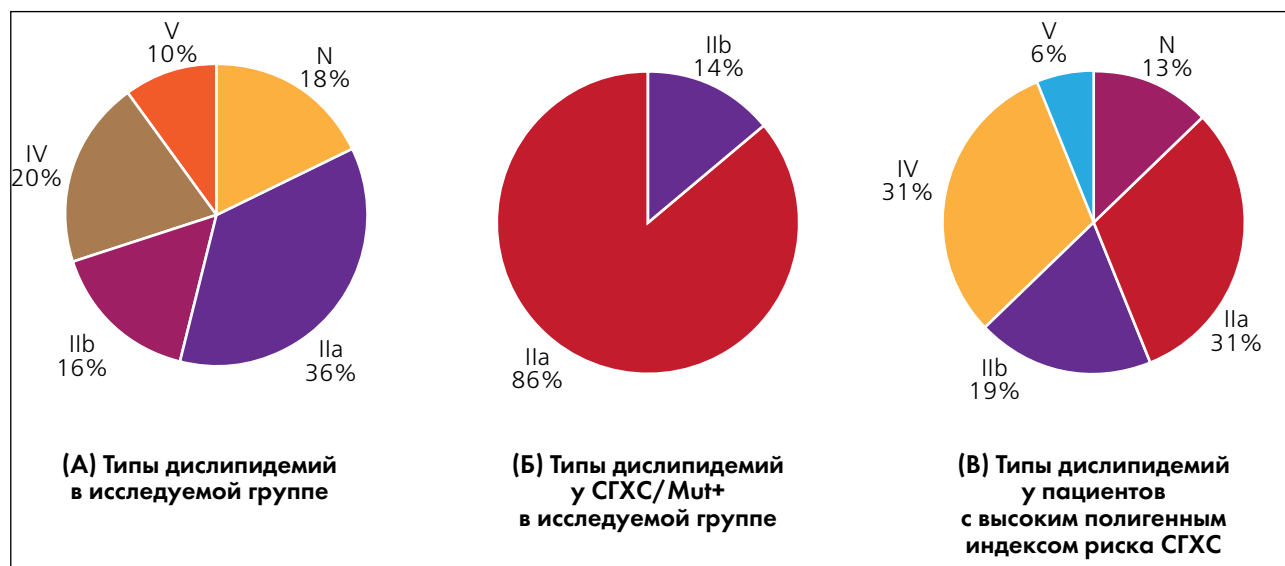
3.3. Тип дислипидемии

По результатам комплексной оценки содержания холестерина и триглицеридов в липидных фракциях методом электрофореза в исследуемой группе до проведения молекулярно-генетического исследования наиболее распространенными типами дислипидемии в соответствии с классификацией

Фредриксона (D. Fredrickson 1965) или классификацией ВОЗ (2000) стали IIa 36% (n=18), IIb 16% (n=8), IV 20% (n=10), V 10% (n=5) и норма 18% (n=9). В исследуемой группе I и III типов обнаружено не было. После проведения молекулярно-генетического исследования варианты в генах *LDLR* и *APOB*

были обнаружены у IIa типа (86%, n=6), IIb (14%, n=1) (рис. 1). После оценки полигенного индекса риска СГХС в группе высокого риска СГХС были обнаружены IIa 31% (n=5), IIb 19% (n=3), IV 31% (n=5), V 6% (n=1) и норма 13% (n=2).

Рисунок 1. Распространенность типов дислипидемий в соответствии с классификацией Фредриксона (D. Fredrickson 1965) или классификацией ВОЗ (2000) в исследуемой группе



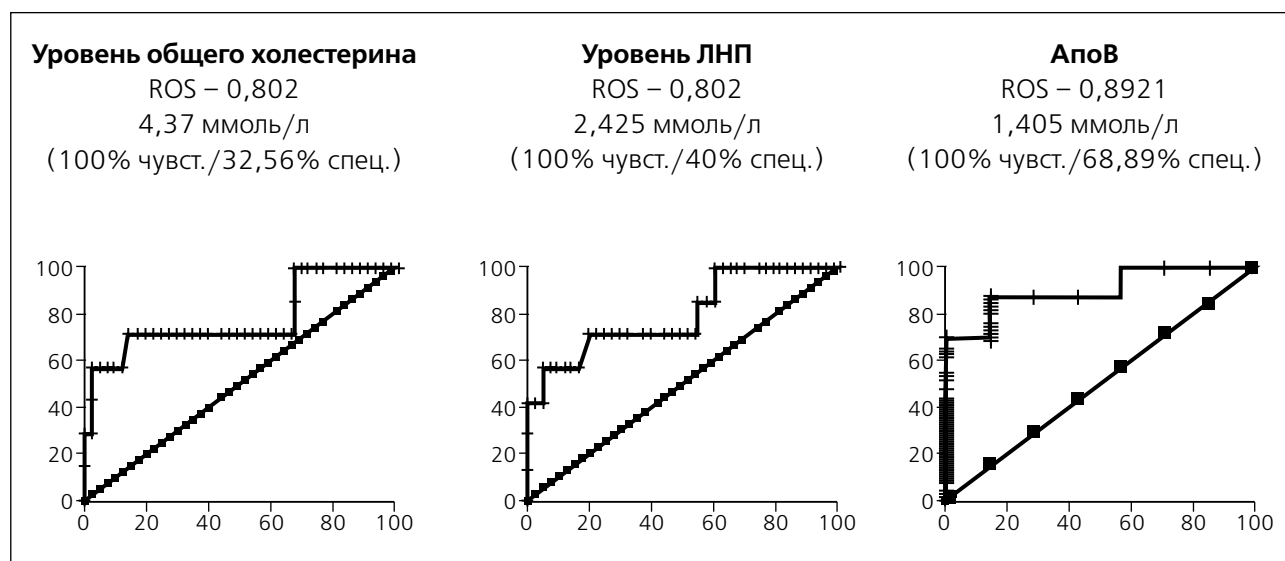
Примечания: (А) Распространенность типов дислипидемий до молекулярно-генетического исследования в исследуемой группе. (Б) Распространенность типов дислипидемий СГХС/Mut+ в исследуемой группе. (В) Распространенность типов дислипидемий у пациентов с высоким полигенным индексом риска СГХС.

3.4. Оценка предсказательности тестов – специфичность и чувствительность

Для определения диагностической значимости общего холестерина (ОХС), ХС ЛНП и АпоВ проводился ROC-анализ, который позволил оценить зависимость чувствительности и специфичности. Площадь под кривой (AUC) для каждого

биохимического показателя составила 0,802, 0,802 и 0,8921 соответственно. Наилучшей прогностической силой обладает биохимический показатель АпоВ. Также был рассчитан пороговый уровень на основании максимальных значений показателей чувствительности и специфичности тестов (рис. 2).

Рисунок 2. Анализ ROC-кривой концентраций ОХС, ХС ЛНП и АпоВ у пациентов в исследуемой группе



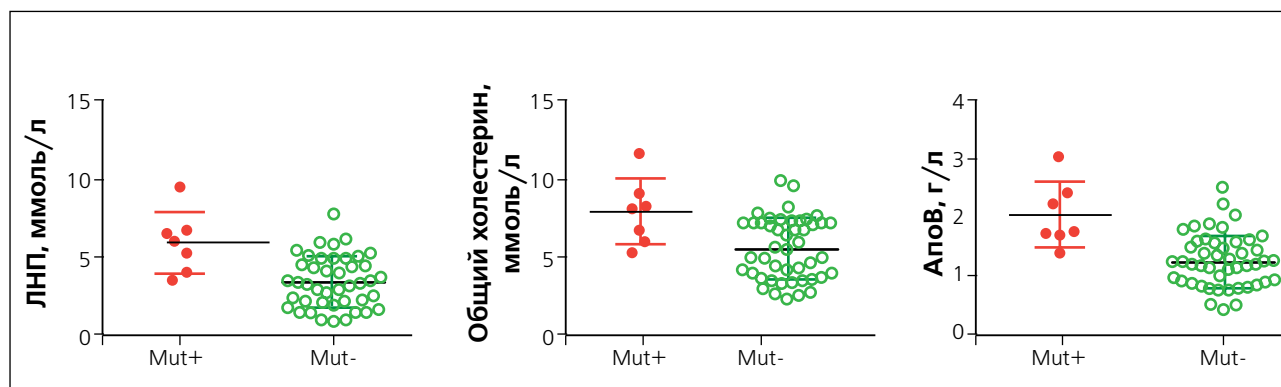
Примечание: AUC – площадь под кривой.

3.5. Лабораторные особенности пациентов с патогенными вариантами

Распределение уровней ОХС, ХС ЛНП и АпоВ у СГХС/Mut- и СГХС/Mut+ пациентов в исследуемой группе представлено на рисунке 3. В соответствии с данными анализа ROC-кривой за пороговый уровень для уровня ОХС было принято значение

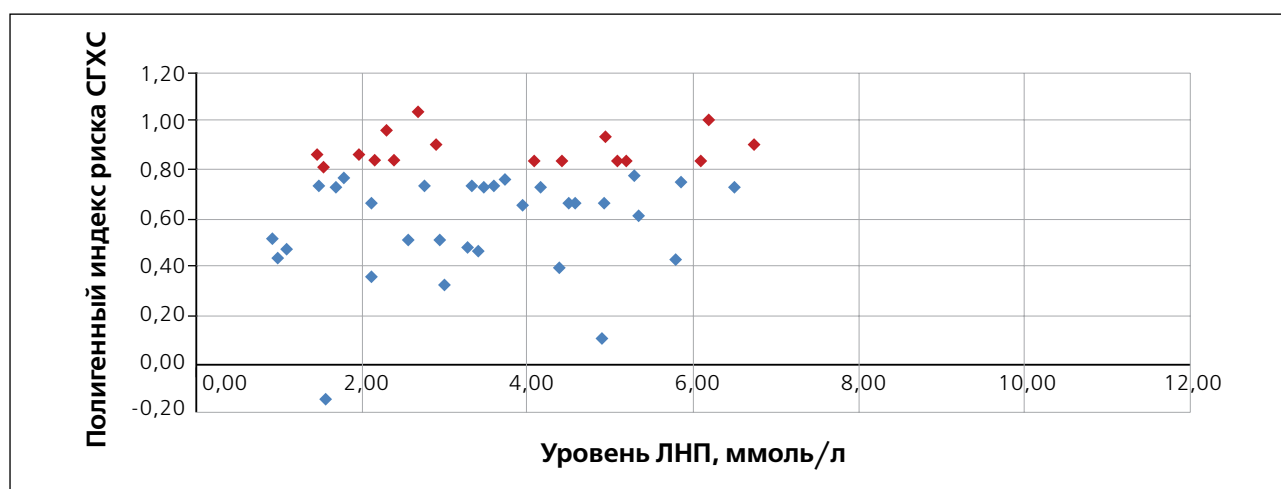
4,37 ммоль/л, ХС ЛНП – 2,424 ммоль/л и АпоВ – 1,405 ммоль/л. Среднее относительное значение ОХС, ХС ЛНП и АпоВ было значительно выше у лиц с вариантами в генах, характерных для моногенной формы СГХС, чем у лиц отрицательных по данным молекулярно-генетического исследования в исследуемой группе.

Рисунок 3. Распределение уровней ОХС, ХС ЛНП и АпоВ у СГХС/Mut- и СГХС/Mut+ пациентов в исследуемой группе



3.6. Распределение полигенного индекса у пациентов в исследуемой группе

Рисунок 4. Распределение индекса риска полигенной СГХС и уровня ХС ЛНП в исследуемой группе



4. Обсуждение

СГХС является одним из наиболее распространенных наследственных заболеваний, связанных с нарушением липидного обмена. Однако несмотря на значительный риск развития преждевременного атеросклероза и фатальных сердечно-сосудистых событий, СГХС остается недостаточно диагностируемым заболеванием. Развитие ранней диагностики, ранней профилактики СГХС и внедрение в практику каскадного скрининга позволят снизить не только степень влияния болезни на протяжении всей жизни пациента, но и риски ранних сердечно-сосудистых событий атеросклеротического генеза.

Наиболее распространенной формой семейной гиперхолестеринемии является моногенная форма, в основе развития которой лежат варианты в генах *LDLR*, *APOB* и *PCSK9*. При анализе данных, полученных в результате NGS-секвенирования в нашем исследовании, были обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB*, распространенность которых в исследуемой группе составила 10% и 4% соответственно. Согласно данным, полученным по результатам молекулярно-генетического исследования пациентов с моногенной формой СГХС в российской популяции, распространенность вариантов гена *LDLR* и *APOB* составляет 73,1% и 11,5% соответственно [22].

Эти данные согласуются с нашими результатами, показавшими наибольшую распространенность *LDLR*-ассоциированных форм СГХС в исследуемой группе.

В результате молекулярно-генетического исследования были выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты в гене *LDLR*, локализованные в 4, 9 и 12 экзонах. Эти результаты согласуются с данными о высокой распространенности в российской популяции вариантов в 4 и 9 экзонах. Также в ходе исследования нами был обнаружен один из мажорных вариантов гена *LDLR* на территории РФ. Патогенный вариант NM_000527.5:c.1202T>A (p.Leu401His) был описан у 33 семей, проживающих в Санкт-Петербурге, Новосибирске, Москве, Красноярске и Петрозаводске [23].

Вопрос о распространенности протяженных делеций и дупликаций в гене *LDLR* на территории РФ на сегодняшний день остается открытым. В ходе данного исследования по результатам MLPA-анализа крупномасштабных перестроек в исследуемой группе обнаружено не было. Согласно данным генетического тестирования 595 неродственных пациентов с семейной гиперхолестеринемией, проведенного Meshkov A. et al. в российской популяции в 2021 году, было описано 5 крупных структурных изменений в гене *LDLR*, включавших четыре делеции и tandemную дупликацию [24]. В работе Shakhtshneider E. et al., включающей 80 пациентов из Западной Сибири с установленным клиническим диагнозом семейная гиперхолестеринемия, было описано два гетерозиготных варианта в гене *LDLR*, представленных делецией со 2 по 10 экзона и делецией 15 экзона [22]. Разница между полученными и ожидаемыми данными может быть объяснена размером исследуемой группы. Также данных о распространенности протяженных делеций и дупликаций в работах недостаточно, что может быть также объяснено большим вниманием исследователей на протяжении долгого времени к выявлению миссенс-вариантов, в то время как целенаправленный поиск протяженных перестроек не проводился [23]. Таким образом, анализ вариантов, представленных протяженными делециями и дупликациями, в структуре гена *LDLR* на территории РФ требует дальнейших исследований.

Ген *APOB* считается вторым по частоте геном, вовлеченных в структуру СГХС. В результате молекулярно-генетического исследования были обнаружены 2 патогенных варианта в 26 экзоне гена *APOB*—NM_000384.3:c.10580G>A (p.Arg3527Gln) и NM_000384.3:c.10579C>T (p.Arg3527Trp), распространенность которых в популяции, согласно базе данных gnomAD, составляет T=0,0004207 и T=0,00005762 соответственно. Также в ходе исследования было обнаружено два варианта неясной клинической значимости в гене *APOB*. Частота встречаемости варианта NM_000384.3:c.5066G>A (p.Arg1689His), согласно базе данных gnomAD,

составляет 0,001282. Brænne I. et al. при изучении распространенности вариантов в генах *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* не выявили взаимосвязи между обнаруженным вариантом и риском возникновения раннего инфаркта миокарда [25].

Патогенных и вероятно патогенных вариантов в гене *PCSK9* обнаружено не было. Результаты были аналогичны данным геномного профилирования 626 пациентов с СГХС, опубликованных в исследовании 2019 года Trinder M. et al. [26]. Обнаружение данных вариантов действительно является наиболее редким событием. Их распространенность составляет менее 1% всех случаев моногенной СГХС [27].

При исключении моногенных причин у значительной части пациентов с клиническим диагнозом семейной гиперхолестеринемии развитие заболевания может быть связано с полигенной природой. В ходе нашего исследования мы оценили распределение полигенного индекса риска СГХС, включающего 6 полиморфизмов в генах метаболизма ЛНП, кумулятивное влияние которых может повышать уровень ХС ЛНП соизмеримо уровню ХС ЛНП при моногенной форме СГХС [11]. Распространенность высокого полигенного индекса риска СГХС в исследуемой группе составила 32% (n=16). Полученные результаты согласуются с данными, согласно которым полигенная гиперхолестеринемия встречается примерно у 20–30% пациентов с мутационно-негативной СГХС [28]. При сравнении пациентов с моногенной СГХС с пациентами с высоким полигенным индексом риска СГХС в нашем исследовании мы зафиксировали статистически значимые различия в концентрациях ХС ЛНП между группами (p=0,0075). В группе пациентов с выявленными патогенными вариантами в генах *APOB* и *LDLR* в семейном анамнезе были зафиксированы инфаркты миокарда в возрасте до 45 лет, а минимальные значения общего холестерина и ХС ЛНП составили 5,4 ммоль/л и 3,55 ммоль/л, максимальные – 12,13 ммоль/л и 9,53 ммоль/л соответственно. В группе пациентов с высоким полигенным индексом риска СГХС в семейном анамнезе были зафиксированы ИМ и ОНМК в возрасте до 55 лет. Значения общего холестерина и ХС ЛНП у пациентов с пСГХС характеризовались высокой вариацией значений. Минимальные значения общего холестерина и ХС ЛНП составили 2,63 ммоль/л и 1,46 ммоль/л, максимальные – 9,96 ммоль/л и 6,75 ммоль/л соответственно. На сегодняшний день данных о распространенности и особенностях полигенной формы семейной гиперхолестеринемии на территории РФ не представлено, что требует дальнейших исследований.

После проведения NGS-секвенирования, MLPA-анализа и расчета полигенного индекса риска СГХС полученные результаты были сопоставлены с данными комплексной оценки содержания холестерина и триглицеридов в липидных фракциях методом электрофореза в исследуемой группе.



При оценке распределения типов дислипидемий согласно классификации ВОЗ СГХС/Mut+ были обнаружены только IIa и IIb типы в процентном соотношении 86% и 14% соответственно. Полученные данные согласуются с ожидаемыми результатами распределения типов дислипидемий у пациентов с моногенной формой СГХС. При сравнении пациентов с мСГХС с отрицательными пациентами по данным NGS-секвенирования в нашем исследовании мы зафиксировали статистически значимые различия в распределении типов дислипидемий между группами ($p < 0,001$). При оценке распределения типов дислипидемий у пациентов с высоким полигенным индексом риска СГХС мы наблюдали и другие типы согласно классификации ВОЗ. Однако, несмотря на то что были выявлены IV и V типы, в группе с высоким полигенным индексом преобладали IIa и IIb типы в процентном соотношении 31% и 19% соответственно. Таким образом, определение типа дислипидемии в соответствии с классификацией Фредриксона (D. Fredrickson 1965) или классификацией ВОЗ (2000) может выступать дополнительным инструментом, позволяющим предположить получение положительного результата по данным молекулярно-генетического исследования.

Другим генетически детерминированным нарушением липидного обмена и независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний является повышение уровня ЛП(а) в крови. Клинические рекомендации, посвященные нарушениям липидного обмена, акцентируют внимание на необходимости измерения уровня ЛП(а) в крови каждому взрослому хотя бы один раз в жизни для выявления лиц с генетически обусловленным высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. Кроме того, рекомендации направлены на выявление лиц с отягощенным анамнезом и с чрезвычайно повышенными значениями ЛП(а) >180 мг/дл, сердечно-сосудистый риск которых эквивалентен риску при гетерозиготных формах семейной гиперхолестеринемии [4].

Распространенность ЛП(а) ≥ 50 мг/дл в исследуемой группе составила 26% ($n=13$). Результаты были аналогичны данным Langsted A. et al., согласно которым до четверти всех диагнозов клинической СГХС было обусловлено высокими значениями ЛП(а) [12]. Значение уровня ЛП(а) более 30 мг/дл в исследуемой группе у пациентов с ранними сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза суммарно составило 36% ($n=18$). Данные результаты согласуются с данным Rogozhina A.A. et al., согласно которым уровень ЛП(а) выше 30 мг/дл в российской популяции был зафиксирован у 29,6% пациентов с ранней ишемической болезнью сердца [29]. Максимальный уровень ЛП(а) в исследуемой группе составил 201 мг/дл, минимальный уровень ЛП(а) — 2,0 мг/дл. В ходе исследования у пациентов с ЛП(а) ≥ 50 мг/дл

в анамнезе зафиксированы перенесенный инфаркт миокарда в возрасте от 35 до 53 лет — у 5 (38,5%) пациентов, ОНМК — у 2 (16,4%), а также стенозирующее поражение коронарных артерий более 50% — у 8 пациентов (61,5%). Таким образом, полученные результаты подчеркивают значение липопротеина (а) как одного из важнейших маркеров, который в обязательном порядке необходимо оценивать у пациентов с подозрением на семейную гиперхолестеринемия и у лиц с ранними сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза.

Сегодня, несмотря на то что семейная гиперхолестеринемия является одной из наиболее распространенных генетически обусловленных причин нарушения липидного обмена, современные подходы к диагностике на ранних этапах затруднены. Согласно данным Европейского общества атеросклероза (EAS), возраст постановки диагноза семейная гиперхолестеринемия варьирует от 40 до 49 лет, при этом каждый шестой взрослый уже имеет в анамнезе зафиксированное сердечно-сосудистое заболевание атеросклеротического генеза [30]. Возникает необходимость в поиске маркера, который мог бы выступать прогностическим фактором, предсказывающим положительный результат молекулярно-генетического исследования на ранних этапах до возникновения сердечно-сосудистых заболеваний.

Многообещающим маркером для ранней диагностики СГХС, согласно данным нашего исследования, может стать аполипопротеин В100 (АпоВ), повышение концентрации которого свидетельствует о доле атерогенных фракций липопротеинов в плазме. Существует тесная связь между уровнем АпоВ в плазме крови и развитием атеросклероза, о чем свидетельствуют данные обзорных исследований [31]. Huang Y. et al. в проспективном когортном исследовании представили результаты, подчеркивающие независимую связь между аномальными уровнями АпоВ и более высоким риском смертности как от всех причин, так и от сердечно-сосудистых заболеваний, независимо от использования статинов. Риск смертности от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с аномальными значениями аполипопротеина В100 был выше на 76%, чем у лиц с нормальным уровнем [32].

В нашем исследовании в ходе ROC-анализа АпоВ продемонстрировал наибольшую диагностическую значимость: площадь под кривой AUC составила 0,8921. При значении показателя 1,405 ммоль/л чувствительность теста составила — 100% и специфичность — 68,89%. При анализе данных между пациентами СГХС/Mut- и СГХС/Mut+ в группе была обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,001$). При сравнении группы пациентов с высоким и низким полигенным индексом риска СГХС статистически значимой разницы обнаружено не было ($p=0,432$). При сравнении группы

пациентов с ЛП(а) ≥ 50 мг/дл и ЛП(а) < 50 мг/дл статистически значимой разницы также обнаружено не было ($p=0,406$).

Таким образом, аполипопротеин В100 может стать перспективным маркером для выявления пациентов с СГХС до возникновения фатальных сердечно-сосудистых событий. Ограничением данного маркера становятся пациенты с гиперлипопротеинемией(а), для выявления которых необходимо назначение отдельного теста согласно клиническим рекомендациям и консенсус-документам, а также пациенты с высоким полигенным индексом риска СГХС.

5. Заключение

Таким образом, в результате исследования, посвященного биохимическим и молекулярно-генетическим особенностям пациентов с высокого и очень высокого риска, наиболее многообещающим маркером, предсказывающим положительный результат молекулярно-генетического исследования для диагностики мСГХС, является аполипопротеин В100. Согласно результатам NGS-секвенирования

в исследуемой группе наибольшей распространенностью характеризовались патогенные варианты в гене *LDLR* и реже встречались варианты в гене *APOB*. Клинически значимых вариантов в гене *PCSK9* обнаружено не было. Согласно результатам молекулярного исследования оценка частоты встречаемости вариантов, представленных протяженными делециями и дупликациями в структуре гена *LDLR*, а также изучение распространенности полигенной формы СГХС на территории РФ требует дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Martin SS, Aday AW, Almarazooq ZI, Anderson CAM, Arora P, Avery CL, et al. 2024 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*. 2024;149(8):e347-e913. doi: 10.1161/CIR.0000000000001209.
2. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bòck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227-3337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484.
3. Martin SS, Sperling LS, Blaha MJ, Wilson PWF, Gluckman TJ, Blumenthal RS, Stone NJ. Clinician-patient risk discussion for atherosclerotic cardiovascular disease prevention: importance to implementation of the 2013 ACC/AHA Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(13):1361-1368. doi: 10.1016/j.jacc.2015.01.043.
4. Ezbov MV, Kukbarchuk VV, Sergienko IV, et al. Disorders of lipid metabolism. Clinical Guidelines 2023. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(5):5471. In Russian. (Клинические рекомендации. Нарушения липидного обмена. МЗ РФ, 2023. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5471.
5. Yanai H, Yoshida H. Secondary dyslipidemia: its treatments and association with atherosclerosis. *Glob Health Med*. 2021;3(1):15-23. doi: 10.35772/ghm.2020.01078.
6. 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;41(1):111-188. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455.
7. Tandirerung FJ. The Clinical Importance of Differentiating Monogenic Familial Hypercholesterolemia from Polygenic Hypercholesterolemia. *Curr Cardiol Rep*. 2022;24(11):1669-1677. doi: 10.1007/s11886-022-01783-5.
8. Taylor A, Wang D, Patel K, Whittall R, Wood G, Farrer M, et al. Mutation detection rate and spectrum in familial hypercholesterolemia patients in the UK pilot cascade project. *Clin Genet*. 2010;77(6):572-580. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01356.x.
9. D'Erasmus L, Minicocci I, Nicolucci A, Pintus P, Roeters Van Lennep JE, et al. Autosomal Recessive Hypercholesterolemia: Long-Term Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(3):279-288. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.028.

10. Futema M, Shab S, Cooper JA, Li K, Whittall RA, Sharifi M, et al. Refinement of variant selection for the LDL cholesterol genetic risk score in the diagnosis of the polygenic form of clinical familial hypercholesterolemia and replication in samples from 6 countries. *Clin Chem*. 2015;61(1):231-238. doi: 10.1373/clinchem.2014.231365.
11. Talmud PJ, Shab 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. *Lancet*. 2013;381(9874):1293-1301. doi: 10.1016/S0140-6736(12)62127-8.
12. Langsted A, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a) as Part of the Diagnosis of Clinical Familial Hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep*. 2022;24(4):289-296. doi: 10.1007/s11883-022-01002-0.
13. Fredrickson DS, Lees RS. A system for phenotyping hyperlipoproteinemia. *Circulation*. 1965;31:321-327. doi: 10.1161/01.cir.31.3.321.
14. Ballout RA, Remaley AT. Chapter 28. Pediatric dyslipidemias: lipoprotein metabolism disorders in children. Editors: D. Dietzen, M. Bennett, E. Wong, S. Haymond. *Biochemical and Molecular Basis of Pediatric Disease (5th Ed.)*. Academic Press, 2021:965-1022. doi: 10.1016/B978-0-12-817962-8.00002-0.
15. Myant NB. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 1993;104(1-2):1-18. doi: 10.1016/0021-9150(93)90171-p.
16. Meshkov AN, Ershova AI, Shcherbakova NV, Rozhkova TA, Kalinina MV, Kukharchuk VV, Boytsov SA. Phenotypical features of heterozygous familial hypercholesterolemia in individuals with LDLR or APOB gene mutations. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2011;10(8):63-65. In Russian. (Мешиков А.Н., Еришова А.И., Щербакова Н.В., Рожкова Т.А., Калинин М.В., Кухарчук В.В., Бойцов С.А. Фенотипические особенности течения гетерозиготной формы семейной гиперхолестеринемии у носителей мутаций генов LDLR и APOB. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011;10(8):63-65).
17. Toft-Nielsen F, Emanuelsson F, Benn M. Familial Hypercholesterolemia Prevalence Among Ethnicities-Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Genet*. 2022;13:840797. doi: 10.3389/fgene.2022.840797.
18. Bebeshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(20):2553-2566. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.057.
19. Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16(1):9-20. doi: 10.1038/s41569-018-0052-6.
20. Meshkov AN, Ershova AI, Kiseleva AV, Shalnova SA, Drapkina OM, Boytsov SA, On Behalf Of The Fh-Esse-Rf Investigators. The Prevalence of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia in Selected Regions of the Russian Federation: The FH-ESSE-RF Study. *J Pers Med*. 2021;11(6):464. doi: 10.3390/jpm11060464.
21. Futema M, Bourbon M, Williams M, Humphries SE. Clinical utility of the polygenic LDL-C SNP score in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2018;277:457-463. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.006.
22. Shakhbatsneider E, Ivanoschuk D, Timoshchenko O, Orlov P, Semaev S, Valeev E, et al. Analysis of Rare Variants in Genes Related to Lipid Metabolism in Patients with Familial Hypercholesterolemia in Western Siberia (Russia). *J Pers Med*. 2021;11(11):1232. doi: 10.3390/jpm11111232.
23. Vasilyev VB, Zakharova FM, Bogoslovskaya TY, Mandelshtam MY. Analysis of the low density lipoprotein receptor gene (LDLR) mutation spectrum in Russian familial hypercholesterolemia. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektii*. 2022;26(3):319-326. doi: 10.18699/VJGB-22-38.
24. Meshkov A, Ershova A, Kiseleva A, Zotova E, Sotnikova E, Petukhova A, et al. The LDLR, APOB, and PCSK9 Variants of Index Patients with Familial Hypercholesterolemia in Russia. *Genes (Basel)*. 2021;12(1):66. doi: 10.3390/genes12010066.
25. Brønne I, Kleiwecke 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):191-197. doi: 10.1038/ejhg.2015.100.
26. Trinder M, Li X, DeCastro ML, Cermakova L, Sadananda S, Jackson LM, et al. Risk of Premature Atherosclerotic Disease in Patients With Monogenic Versus Polygenic Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(4):512-522. doi: 10.1016/j.jacc.2019.05.043.
27. Henderson R, O'Kane M, McGilligan V, Watterson S. The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *J Biomed Sci*. 2016;23:39. doi: 10.1186/s12929-016-0256-1.
28. Trinder M, Francis GA, Brunham LR. Association of Monogenic vs Polygenic Hypercholesterolemia With Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *JAMA Cardiol*. 2020;5(4):390-399. doi: 10.1001/jamacardio.2019.5954.
29. Rogozhina AA, Averkova AO, Zubova EA, Minushkina LO, Brazhnik VA, Ivanova ON, et al. Incidence of familial

- hypercholesterolemia in patients with early manifestations of coronary artery disease: data from a Russian multicenter study and meta-analysis. Russian Journal of Cardiology. 2023;28(10):5587. In Russian. (Рогожина А.А., Аверкова А.О., Зубова Е.А., Минушкина Л.О., Бражник В.А., Иванова О.Н. и др. Частота встречаемости семейной гиперхолестеринемии у больных с ранней манифестацией ишемической болезни сердца: данные российского многоцентрового исследования и метаанализ. Российский кардиологический журнал. 2023;28(10):5587) doi: 10.15829/1560-4071-2023-5587.*
30. National Organization for Rare Disorders Familial hypercholesterolemia. <https://rarediseases.org/rare-diseases/familial-hypercholesterolemia/>Date: 2023.
31. Singh K, Prabbakaran D. Apolipoprotein B. An ideal biomarker for atherosclerosis? *Indian Heart J.* 2024;76(Suppl 1):S121-S129. doi: 10.1016/j.ihj.2023.12.001.
32. Huang Y, Chen S, Pan H, Yang S, Cheng W. Relationship between serum apolipoprotein B and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality in individuals with hypertension: a prospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2024;24(1):273. doi: 10.1186/s12872-024-03949-1.
-