

РЕДКАЯ ДВОЙНАЯ ГЕТЕРОЗИГОТНАЯ МУТАЦИЯ У БОЛЬНОЙ ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

О.И. Боева^{1,2*}, Д.А. Затейщиков², В.В. Латий¹

¹ФГБУ «Поликлиника № 1» Управления делами Президента РФ, Москва

²ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва

RARE DOUBLE HETEROZYGOUS MUTATION IN A PATIENT WITH SEVERE FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

O.I. Boeva^{1,2*}, D.A. Zateyshchikov², V.V. Latiy¹

¹Polyclinic № 1 of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

²Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

* E-mail: box0271@mail.ru

Аннотация

Семейная гиперхолестеринемия (СГ) – аутомно-доминантно наследуемое нарушение липидного обмена, приводящее при отсутствии лечения к преждевременному развитию атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний и фатальным осложнениям. Согласно данным регистра РЕНЕССАНС, частота СГ в Российской Федерации выше, чем считалось ранее. Диагноз заболевания устанавливается на основании определенного клинического фенотипа и/или результатов генетического исследования. Молекулярно-генетический анализ не является рутинной практикой, но его выполнение позволяет в большинстве случаев верифицировать диагноз и оптимизировать тактику лечения. Новые молекулярные технологии, такие как полноэкзомное секвенирование, могут привести к открытию новых неизвестных мутаций; это может быть особенно актуально для малоизученных многонациональных популяций. В настоящей статье приведен клинический случай СГ у молодой пациентки с двойной гетерозиготной мутацией по описанным патогенным вариантам в генах рецептора липопротеинов низкой плотности (*LDLR*) и аполипопротеина В-100 (*APOB*). Интерес представляет не только редкое сочетание мутаций, но и фенотипический результат их взаимодействия, более характерный для гомозиготных форм СГ. Проведен биоинформационный анализ, обсуждены гено-фенотипические корреляции.

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия, двойная гетерозиготная мутация, ген *APOB*, ген *LDLR*.

Abstract

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominantly inherited disorder of lipid metabolism which – being untreated – leads to the premature development of atherosclerotic cardiovascular diseases and fatal complications. By the RENESSANCE registry, FH frequency in the Russian Federation is higher than it had been previously considered. The disease is diagnosed by a specific clinical phenotype and / or by the results of genetic testings. The molecular genetic analysis is not a routine one, but it allows, in most cases, to verify diagnosis and to optimize treatment. New molecular technologies such as whole exome sequencing may lead to the discovery of new unknown mutations; it may be especially important for poorly studied multinational populations. This article presents a clinical case of familial hypercholesterolemia in a young female patient with double heterozygous mutation which was diagnosed by the described pathogenic variants in genes of low-density lipoprotein (*LDLR*) and apolipoprotein B-100 (*APOB*) receptors. Of interest is not only a rare combination of mutations, but also the phenotypic result of their interaction, which is more characteristic for FH homozygous forms. Results of bioinformatic analysis and gene-phenotypic correlations are discussed.

Key words: familial hypercholesterolemia, heterozygous double mutation, *APOB* gene, *LDLR* gene.

Ссылка для цитирования: Боева О.И., Затейщиков Д.А., Латий В.В. Редкая двойная гетерозиготная мутация у больной тяжелой формой семейной гиперхолестеринемии. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2023; 1: 72–78.

Введение

Семейная гиперхолестеринемия (СГ) – аутомно-доминантное генетическое заболевание, которым страдают до 30 млн человек в мире; ассоциировано с пожизненно высоким уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛНП) в плазме крови и, соответственно, риском ишемической болезни сердца (ИБС), повышенным приблизительно в 20 раз по сравнению с общепопуляционным, что определяет ее социаль-

ную значимость и необходимость раннего выявления и лечения для предотвращения ИБС и ранней смерти. При гетерозиготной форме СГ (распространенность в среднем 1 : 313) концентрация общего холестерина (ОХС) составляет от 5 до 13 ммоль/л, а при гомозиготной форме (распространенность 1 : 1 млн) – более 13 ммоль/л [1, 2]. По сравнению со встречаемостью в общей популяции, составляющей в среднем 1 : 313,

распространенность гетерозиготной СГ среди лиц с ИБС в 10 раз выше, среди лиц с ранней ИБС – в 20 раз, а при тяжелой гиперхолестеринемии – в 23 раза выше. При этом распространенность СГ варьирует в разных странах и этнических группах из-за эффекта основателя, использования различных диагностических критериев и стратегий скрининга и остается малоизученной в большинстве стран [3].

Лица с СГ идентифицируются по гиперхолестеринемии и семейному анамнезу ранней ИБС в первичном звене (оппортунистический скрининг) либо в специализированных отделениях среди пациентов с ИБС, особенно с ранней ИБС (целевой скрининг). Патогномичными внешними признаками, особенно для гомозиготной формы, являются кожные/сухожильные ксантомы, периорбитальные ксантеллазмы у пациентов моложе 20–25 лет и липоидная дуга роговицы у пациентов моложе 45 лет. Универсальный скрининг детей и/или подростков значительно повышает выявляемость СГ и выживаемость больных (до уровня в общей популяции) при условии ранней и длительной (пожизненной) эффективной гиполипидемической терапии. Наиболее доступным и экономически выгодным (с точки зрения затрат на спасенный год жизни) методом выявления лиц с СГ является каскадный скрининг членов семьи пробанда на предмет дислипидемии [2]. Молекулярно-генетический анализ не является рутинной практикой, но его выполнение позволяет при необходимости верифицировать диагноз и оптимизировать тактику лечения. Однако при современном уровне развития метода у 20% больных СГ не удается обнаружить мутаций [4].

Среди больных с генетически подтвержденным диагнозом аутосомно-доминантной СГ более 90% мутаций обнаруживаются в гене *LDLR* (рецептора липопротеинов низкой плотности). На сегодняшний день известно более 1700 мутаций в гене *LDLR*, способных нарушить функцию рецептора. При мутациях первого класса полностью нарушается синтез рецепторов в эндоплазматическом ретикулуме, при других классах мутаций формируются измененные рецепторы. Наиболее часты мутации потери функции (loss-of-function). Вторая по частоте причина СГ (5% случаев) – мутации в гене, кодирующем *apoB100* – изоформу аполипопротеина В – лиганда упомянутого рецептора. Данный тип чаще встречается среди народов Западной Европы. Носители мутаций гена *APOB* имеют более низкий уровень ОХС и ХС ЛНП и менее выраженные проявления атеросклероза артерий, чем носители мутаций гена *LDLR*. Около 2% случаев СГ связаны с мутациями усиления функции (gain-of-function) гена *PCSK9*

(пропротеинконвертазы субтилизин/кексин девятого типа) – сериновой протеазы, регулирующей деградацию рецептора липопротеинов низкой плотности. Пациенты с данной мутацией имеют в среднем больший уровень ХС ЛНП и более высокий риск преждевременного развития ИБС, чем лица с мутацией гена *LDLR* [4]. Мутации в генах *LDLRAP1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *CYP7A1* имеют рецессивный тип наследования и клинически проявляются как гомозиготная СГ. В качестве генов-кандидатов, мутации в которых вызывают развитие СГ, рассматриваются также *STAP1*, *LIPA* и *PNPLA5*. Однако в каждой из исследованных популяций имеются свои отличительные особенности генетической базы СГ. Это касается как частоты встречаемости отдельных генетических вариантов, так и их разнообразия, набора сочетаний, экспрессивности, пенетрантности и др. [4].

Клиническое наблюдение

Пациентка А., 29 лет, в июле 2019 г. обратилась к кардиологу с жалобами на снижение переносимости физической нагрузки (одышка, учащенное сердцебиение при подъеме по лестнице), умеренную общую слабость, утолщение ахилловых сухожилий.

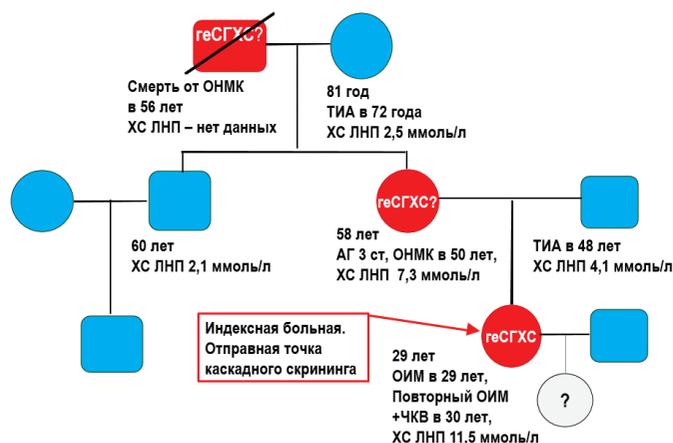
Из анамнеза: перенесла острый инфаркт миокарда (ОИМ), диагностированный на стадии постинфарктного кардиосклероза в сентябре 2018 г. через месяц после успешного родоразрешения. Во время госпитализации по поводу быстрого прогрессирования явлений застойной сердечной недостаточности в октябре 2018 г. при неоднократном биохимическом тестировании выявлена изолированная гиперхолестеринемия: ОХС 13.3 ммоль/л, ХС ЛНП 11.5 ммоль/л. Назначен розувастатин в дозе 40 мг/сут, прием которого продолжен после выписки. На этом фоне отмечалось снижение ОХС до 7.3 ммоль/л, ХС ЛНП – до 4.8 ммоль/л, уровень холестерина липопротеинов высокой плотности составил 1.19 ммоль/л (табл. 1). Побочных эффектов гиполипидемической терапии не наблюдалось.

Повторный ОИМ произошел в мае 2019 г. По данным экстренной коронароангиографии, тип кровоснабжения – правый, ствол левой коронарной артерии не изменен, передняя нисходящая артерия в проксимальном и среднем сегментах – с неровными контурами, на границе проксимального и среднего сегментов стенозирована на 75%, далее – с неровными контурами. Диагональная ветвь, огибающая и интермедиарная артерии – с неровными контурами на всем протяжении, правая коронарная артерия окклюзирована в среднем сегменте. Выполнены транслюминальная баллонная

Таблица 1

Динамика значений показателей липидного профиля за период наблюдения

Показатель	Значения, ммоль/л			
	Без лечения	На фоне гиполипидемической терапии (доза в сутки)		
		Розувастатин 40 мг	Розувастатин 40 мг + эзетимиб 10 мг	Розувастатин 40 мг + эволокумаб 420 мг
ОХС	13.3	7.3	4.8	1.16
ХС ЛНП	11.5	4.8	2.8	0.9
ХС ЛВП	1.1	1.19	1.3	1.2



Примечание. геСГ – гетерозиготная гиперхолестеринемия; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ТИА – транзиторная ишемическая атака; ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство.

Рис. 1. Родословная пациентки А

ангиопластика и стентирование правой коронарной артерии. Липидснижающая терапия дополнена эзетимибом 10 мг/сут. В июне 2019 г. выполнено плановое стентирование передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии.

Вредных привычек нет. Мать пациентки 58 лет страдает гипертонической болезнью, имеет выраженную гиперхолестеринемию (ХС ЛНП 7.3 ммоль/л), перенесла острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в возрасте 50 лет. Отец перенес транзиторную ишемическую атаку в возрасте 48 лет, имеет умеренную гиперхолестеринемию (ХС ЛНП 4.1 ммоль/л). Брат по линии матери 60 лет здоров, диагностически значимая гиперлипидемия отсутствует. Дед по линии матери умер в 56 лет от последствий ОНМК (рис. 1). Бабушка по линии матери, 81 год, перенесла транзиторную ишемическую атаку в возрасте 72 лет, диагностически значимая гиперлипидемия отсутствует.

При осмотре выявлены избыточная масса тела (индекс массы тела 27.4 кг/м²), липоидная дуга роговицы, утолщение ахилловых сухожилий. Тоны сердца приглушенные, ритм правильный с частотой сердечных сокращений (ЧСС) 76 уд/мин. Артериальное давление 135/85 мм рт. ст. Результат шестиминутного теста – 410 м.

В биохимическом анализе крови на фоне строгой гиполипидемической диеты и ежедневного длительного приема розувастатина 40 мг в сочетании с эзетимибом 10 мг/сут концентрация ОХС составила 4.8 ммоль/л, ХС ЛНП – 2.8 ммоль/л, ХС ЛВП – 1.2 ммоль/л, триглицеридов (ТГ) – 1.02 ммоль/л, NT-proBNP – 250 пг/мл. На электрокардиограмме в покое зарегистрирован синусовый ритм с ЧСС 65 уд/мин; горизонтальное положение электрической оси сердца; признаки увеличения левого предсердия и левого желудочка; рубцовые изменения в переднебоковой области левого желудочка. При мониторинге электрокардиограммы по А. Holter в течение суток регистрировался синусовый ритм, средняя ЧСС 76 уд/мин, редкая одиночная же-

лудочковая экстрасистолия (10 экстрасистол за сутки). Ишемических изменений не зарегистрировано.

При эхокардиографии выявлено увеличение левого предсердия (5.1 × 3.7 см) и левого желудочка (конечный диастолический размер 6.1 см), истончение до 7 мм, фиброз и гипокинез верхушечных сегментов левого желудочка: переднего, перегородочного и бокового. Глобальная сократительная способность миокарда снижена (фракция выброса 51%). Систолическая регургитация на митральном клапане I–II степени, увеличение полости правого предсердия, трикуспидальная регургитация I–II степени, легочная регургитация I степени. Дополнительная фиброзированная хорда в полости левого желудочка.

При дуплексном сканировании вен нижних конечностей патологии не выявлено. При дуплексном сканировании брахиоцефальных артерий обнаружены ультразвуковые признаки атеросклеротических изменений стенок сонных артерий на доступных локациях участках. Характер видимых бляшек – относительно стабильный со стенозом правой общей сонной артерии в дистальной трети до 30%, левой общей сонной артерии в средней и дистальной трети – до 40%, в бифуркации – до 45% с переходом на устье и проксимальную треть внутренней сонной артерии.

На ультрасонограмме ахилловых сухожилий отмечено увеличение переднезаднего размера до 6.2 мм, продольный размер составил 13.4 мм.

Выставлен клинический диагноз: «ИБС. Стенокардия напряжения, функциональный класс (ФК) II. Постинфарктный кардиосклероз (ОИМ 2018, 2019 гг.). Атеросклероз коронарных артерий. Состояние после стентирования правой коронарной артерии (05.2019), передней межжелудочковой артерии (07.2019). Стеноз огибающей артерии 40%. Хроническая сердечная недостаточность IА, ФК II (NYHA). Атеросклеротическое поражение обеих внутренних сонных артерий стенозирующего характера (максимальный стеноз до 45%).

Семейная гиперхолестеринемия, гетерозиготная форма, фенотипически определенная (шкала DLCNC) [1]. Общий сердечно-сосудистый риск – очень высокий».

Больных СГ с подтвержденной ИБС рекомендуется относить к категории очень высокого сердечно-сосудистого риска [1]. С учетом недостижения целевого уровня ХС ЛНП (< 1.4 ммоль/л) на высокоинтенсивной терапии статином в максимальной рекомендованной дозе в комбинации с эзетимибом и соответствующей диетой, у пациентки имелись абсолютные показания к назначению ингибитора PCSK9. На фоне применения эволокумаба 420 мг подкожно однократно ежемесячно уровень ХС ЛНП через три месяца составил 0.9 ммоль/л, ОХС – 1.6 ммоль/л (табл. 1).

На протяжении последующего года наблюдения не отмечено нежелательных явлений на фоне данной схемы гиполипидемической терапии. С согласия пациентки проведено информирование родственников о наличии повышенного риска СГ и рекомендовано проведение каскадного семейного скрининга.

С учетом фенотипической «яркости» СГ и с целью уточнения диагноза и прогноза заболевания больной было предложено выполнить молекулярно-генетический анализ с применением панели из пяти генов,

Таблица 2

Варианты мутаций в исследованных генах

Ген	Вариант	Результат	Патогенность	Частота в популяции	Количество ссылок
<i>LDLR</i>	<i>NP_000518.1:p.Leu401His</i> <i>NM_000527.4:c.1202T>A</i> <i>NC_000019.9:g.11223969T>A</i>	Гетерозигота	Патогенный или причинный (+++)	Мутация (в контроле не встречается)	10
Статистика секвенирования нового поколения: глубина покрытия: 127; качество варианта (0–255): 255 Номенклатура мутации: нуклеотидный код: <i>NM_000527.4:c.1202T>A</i> , <i>NC_000019.9:g.11223969T>A</i> Аминокислотный код: <i>NP_000518.1:p.Leu401His</i> . dbSNP ID: <i>rs121908038</i> Альтернативное название на уровне ДНК: <i>FH-Pori</i> , <i>FH Finn-7</i> Альтернативное название на уровне белка: <i>L380H</i> , <i>NP_000518.1:p.L401H</i> Локализация: экзон 9					
<i>APOB</i>	<i>NP_000375.2:p.Gln4494del</i> <i>NM_000384.2:c.13480_13482delCAG</i> <i>NC_000002.11:g.21224815_21224817delCTG</i>	Гетерозигота	Причинно-следственная связь с заболеванием вероятна (+?)	Редкий вариант (< 1% контрольной популяции)	6
Статистика секвенирования нового поколения: глубина покрытия: 367; качество варианта (0–255): 255 Номенклатура мутации: нуклеотидный код: <i>NM_000384.2:c.13480_13482delCAG</i> , <i>NC_000002.11:g.21224815_21224817delCTG</i> Аминокислотный код: <i>NP_000375.2:p.Gln4494del</i> . dbSNP ID: <i>rs562574661</i> Альтернативное название на уровне белка: <i>NP_000375.2:p.Q4494del</i> Локализация: начальный экзон: 29, последний экзон: 29					

ассоциированных с СГ: *APOB*, *APOE*, *LDLR*, *LDLRAP1*, *PCSK9*. Модель для исследования является собственностью генетической лаборатории Health in Code (Испания), где был выполнен анализ. Исследование выполнено методом секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing (NGS)) в сочетании с методом Сенгера – «золотым» стандартом генетических исследований. Из биообразца пациентки (слюна) автоматически была выделена геномная ДНК методом пурификации (QIASymphony SP, Qiagen). Подготовку образцов осуществляли с использованием Agilent SureSelectXT Target Enrichment technology для метода Illumina мультиплексного секвенирования парных прочтений. Обогащение кодирующих регионов и смежных интронных участков анализируемых генов проводили с помощью custom SureSelect library (Agilent). После формирования кластеров на sBot (Illumina) ДНК секвенировали на приборе Illumina HiSeq 1500. Клинически значимые варианты и регионы с низким покрытием были параллельно проверены методом Сенгера. Чувствительность и точность данного анализа превышают 99% для однонуклеотидных вариантов (SNVs) и малых инсерций/делеций (INDELs). Гены, включенные в данное исследование, отобраны на основе клинических данных об их взаимосвязи с фенотипом заболевания и классифицированы с учетом уровня доказательной базы данной связи (приоритетные гены, вторичные гены, гены-кандидаты). Образцы были сформированы так, чтобы анализу подверглись все кодирующие экзоны и фланкирующие участки интронов и нетранслируемых областей гена длиной 30 пар оснований (30 bp). Регионы с субоптимальным качеством покрытия были подвергнуты дидезокси-секвенированию методом Сенгера.

Данный анализ не предназначен для определения генетических вариантов, локализованных в глубоких интронных/нетранслируемых регионах. Задачей данного генетического анализа является определение однонуклеотидных вариантов и малых инсерций/делеций, длиной до 20 bp. Генетические варианты описывали согласно рекомендациям the Human Genome Variation

Society (HGVS) (www.hgvs.org). Подтверждающее дидезокси-секвенирование методом Сенгера проводили для генетических вариантов, которые отвечают следующим критериям:

- точечные мутации, выявленные с параметрами субоптимального качества: покрытие;
- точечные мутации, затрагивающие регионы / гены с высокой гомологичностью к другим регионам генома (то есть псевдогены);
- инсерции или делеции.

Выявленные генетические варианты, которые были расценены как потенциально ассоциированные с фенотипом пациента или несущие важную информацию, представлены в табл. 2.

Идентифицирован ранее описанный генетический вариант в гене *LDLR*, который расценен как ответственный за развитие СГ с аутосомно-доминантным типом наследования. Присутствие этой мутации подтверждает диагноз СГ у носителей в соответствии с актуальными диагностическими шкалами (DLCNC, Simone Broome или WHO-MEDPED) [2]. Помимо упомянутого аллельного варианта в гене *LDLR*, пациентка оказалась носителем ранее описанного редкого генетического варианта в гене *APOB*, имеющем вероятную связь с заболеванием. Пациентке было рекомендовано рассмотреть возможность проведения семейного генетического скрининга с включением в его программу выявленных генетических вариантов.

Биоинформационный анализ и обсуждение

Выявленный генетический вариант *NP_000518.1:p.Leu401His* гена *LDLR* уже представлен в публичных базах данных генотипов общей популяции. Он был впервые описан U.M. Koivisto и соавт. в когорте пациентов с диагнозом СГ из Финляндии, поэтому вариант также известен как *FH-Finn-7* [5]. Он также был выявлен в Нидерландах, России (Санкт-Петербург) и других популяциях; при этом уровень ХС ЛНП в нескольких случаях был выше 9 ммоль/л (350 мг/дл). Два других генетических варианта, затрагивающих

Фенотипы носителей варианта *rs562574661* гена *APOB* в описанных в литературе семьях

Фенотип	Носители (семьи)	Неносители	Без генетического исследования	Всего
Гиперлипидемия II типа	9 (6)	0	0	9
Здоровый или с не проявленным фенотипом	3 (1)	0	0	3
Фенотип не установлен	1 (1)	0	0	1

Таблица 4

Информация о варианте *rs562574661* гена *APOB* из базы данных с агрегированными сведениями о геномах (gnomAD)

Популяция	Количество измененных аллелей	Общее количество аллелей	Гомозиготы	Гетерозиготы	Аллельная частота, %
Европейская (не финны)	90	129394	0	90	0.07
Европейская (финны)	4	25120	0	4	0.02
Латиноамериканская	5	35424	0	5	0.01
Африканская	2	24690	0	2	0.01
Евреи Ашкенази	0	10346	0	0	0
Восточноазиатская	0	19952	0	0	0
Южноазиатская	0	30610	0	0	0
Другие	3	7180	0	3	0.04
Всего	104	281716	0	104	0.04

эту же аминокислоту – *p.Leu401Phe/Val*, были ранее зарегистрированы у больных с определенным диагнозом СГ [6]. Вариант *p.Leu401His* затрагивает очень важный функциональный домен рецептора ЛНП, отвечающий за внутриклеточное высвобождение ЛНП для последующего метаболического преобразования, и, таким образом, оказывает косвенное влияние на связывание ЛНП с рецептором. На сегодняшний день это один из регионов с наибольшим количеством мутаций, описанных в этом гене. Известно более 34 вариантов, выявленных более чем у 200 пациентов с диагнозом СГ более чем из 130 семей. Не было описано ни одного бессимптомного носителя этих генетических вариантов, что свидетельствует о высокой пенетрантности мутации [6].

Leu401 принадлежит к бета-листу (остатки 400–404), расположенному в первом из шести повторов, образующих последовательность *LDLR* класса В (домен типа бета-пропеллер или последовательность *YWTD*, остатки 397–438), который играет центральную роль в метаболизме холестерина. Изменения в интерфейсе рецептора ЛНП класса В / класса А влияют на его способность связываться с липопротеином и высвобождать ЛНП при кислотном pH.

Исследование *in silico* показало, что *Leu401* является высоко консервативной аминокислотой, поскольку все последовательности имеют лейцин в этом конкретном положении. Более того, *Leu401* сохраняется в паралогичной *LDLR* последовательности – *LRP8*. Такая высокая сохранность предполагает, что он может быть значимым остатком, поэтому изменение *p.Leu401His* может повлиять на структуру и/или функциональность белка. Эта мутация приводит к переходу от аминокислоты с алифатической гидрофобной боковой цепью

(лейцин, Leu) (*CTC*) к другой аминокислоте с основной боковой цепью (гистидин, His) (*CAC*). Между лейцином и гистидином существуют умеренные различия в физико-химических свойствах (полярность, заряд и объем) (расстояние Грэнтэма (Grantham) – 99 [0–215]). Эффект, вызванный введением этого варианта, также был оценен на биоинформационном уровне с помощью функциональных баллов с высокой прогностической ценностью. Оценки *FATHMM* и *DANN* указывают на то, что этот вариант может иметь патогенное влияние. Однако эти прогнозы требуют экспериментального подтверждения. Данная мутация описана в девяти семьях с гиперлипидемией II типа и случаями сердечно-сосудистой смерти.

Обнаруженный вариант в гене *APOB* также известен как *p.Gln4467del*, а его популяционная частота составляет 0,04 по данным *gnomAD*; зарегистрирован в *dbSNP* как *rs562574661* [7]. В литературе описано семь семей с данным генетическим вариантом (табл. 3).

Белок *apoB* содержится в плазме крови в двух основных изоформах: короткий вариант, называемый *apoB48* (основной компонент хиломикрон), и более длинная версия, известная как *apoB100* (присутствует в липопротеинах очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеинах промежуточной плотности, ЛНП и липопротеине (а)). Первый синтезируется исключительно в тонком кишечнике, второй – в печени. Обе изоформы кодируются геном *APOB* и одним транскриптом мРНК длиной более 16 кб. *apoB48* образуется, когда в результате редактирования РНК в остатке 2153 появляется стоп-кодон (*UAA*). По-видимому, существует ген тканеспецифического сплайсинга, который определяет, какая изоформа в конечном итоге образуется.

Белок *apoB100* состоит из 4563 остатков и С-концевого домена; он работает как распознаваемый ЛНП-рецептором сигнал для связывания и интернализации частиц ЛНП. В отличие от многих других белков, скорость синтеза *apoB100* не является основным фактором, определяющим скорость его секреции. Количество доступных триглицеридов определяет, будет ли *apoB100* разрушаться или секретироваться.

Мутации потери функции в *APOB* приводят к неспособности продуцировать ЛОНП и к выраженному снижению уровня триглицеридов и холестерина в плазме, вызывая семейную гипобетапопротеинемию или абетапопротеинемию с аутосомно-доминантным типом наследования. Было обнаружено более 90 мутаций в гене *APOB*, вызывающих это заболевание, большинство которых приводят к выработке аномально короткого белка апоВ. Если вырабатывается белок короче, чем *apoB100*, но длиннее, чем *apoB48*, функция *apoB48* в кишечнике не нарушается и образуются хиломикроны для переноса жира и холестерина из кишечника в кровь и для поглощения жирорастворимых витаминов (таких как витамин Е и витамин А). Если образующийся белок короче, чем *apoB48*, симптомы более тяжелые, с уменьшением или отсутствием транспортировки пищевых жиров, жирорастворимых витаминов и холестерина. Исследования круговорота *apoB* *in vivo* и *in vitro* показали связь между длиной *apoB* и сборкой и секрецией ЛОНП: чем короче апоВ, тем ниже концентрация ХС ЛНП и апоВ [8].

Мутации в рецептор-связывающем домене апоВ100 не позволяют частицам ЛНП связываться с рецептором, снижая поглощение ЛНП клетками из крови и вызывая семейный дефект *apoB100* – аутосомно-доминантно наследуемое заболевание. Известно по крайней мере пять мутаций в гене *APOB*, которые вызывают заболевание, изменяя один строительный блок белка (аминокислоту) в критической области *apoB100*. Две из них наиболее распространены: *p.Arg3527Gln* – среди людей европейского происхождения, *p.Arg3527Trp* – в азиатских популяциях. Гетерозиготная форма СГ, вызванная мутацией гена *APOB*, протекает менее тяжело, чем таковые, вызванные патогенным генетическим вариантом *LDLR* или *PCSK9*.

Популяционная частота генетического варианта *rs562574661* гена *APOB* низка и составляет 0.04, по данным gnomAD (табл. 4).

Большинство случаев носительства описаны в Португалии у индексных пациентов. Из неблагоприятных событий упоминается случай нефатального инсульта. Описана только одна семья, в которой было выявлено несколько взрослых здоровых носителей, что свидетельствует о неполной пенетрантности у взрослых. Другие члены семьи с данной мутацией демонстрировали мягкий фенотип, то есть умеренное повышение уровней ОХС и ЛНП, уровень ТГ в пределах нормы. Возможно, это связано с не 100%-ной пенетрантностью мутаций в гене *APOB*; при этом фенотип пациентов обычно более мягкий, чем у пациентов с СГ, обусловленной мутациями гена *LDLR*. Выявление данного варианта у относительно высокой доли лиц из общей популяции подкрепляет эту концепцию [9]. Недавно данная низкопенетрантная мутация гена *APOB* была выявлена и в российской популяции. При этом ее патогенность

была определена как «возможная, но имеющая противоречивые интерпретации патогенности» [10].

Тем не менее результаты изучения функции обсуждаемого генетического варианта предполагают наличие патогенности, что объясняет его возможную связь с развитием гиперхолестеринемии. Вариант расположен в экзоне 29 и приводит к делеции *Gln4494*, что вызывает явное изменение структуры *apoB100*, приводящее к уменьшению количества бета-листов с 22 до 15% и увеличению вклада альфа-спирали приблизительно на 4%. Эксперименты *in vitro* показали значительное снижение связывания и поглощения ЛНП, а также снижение пролиферации при инкубации клеток *U937* с ЛНП гетерозиготных пациентов – носителей варианта *p.Gln4494del*. Эти результаты свидетельствуют о нарушении способности *apoB100* распознавать ЛНП и рецепторы ЛНП. Известно, что ленточная конформация *apoB100*, окружающая частицу ЛНП, поддерживается благодаря взаимодействию *Arg3527* с *Trp439615*, что стабилизирует два кластера основных аминокислот, обеспечивающих связывание *apoB100* с ЛНП. Поддержание этих кластеров также может быть затруднено в случае варианта *p.Gln4494del*, поскольку делеция аминокислоты сдвигается на одну позицию вперед к следующей аминокислоте [11].

Таким образом, искажение, вносимое *p.Gln4494del*, может играть центральную роль в дефектном связывании и образовании более мелких частиц ЛНП. Примечательно, что популяция ЛНП, полученная от гетерозиготных носителей варианта *p.Gln4494del*, содержит значительно больше мелких плотных частиц (~25 нм), чем популяция ЛНП от носителей дикого типа *apoB100* (~29 нм), что может быть результатом делипидации при гидролизе, индуцированном липазами или белками-переносчиками эфиров холестерина, из-за более длительного пребывания ЛНП в крови. Более длительное пребывание ЛНП в крови приводит к значительному снижению содержания ТГ в ядре частицы, что способствует образованию малых плотных частиц ЛНП [12].

Таким образом, больная является двойной гетерозиготой по описанным патогенным вариантам *LDLR/APOB*. Интерес представляет не только редкое сочетание мутаций, но и фенотипический результат их взаимодействия, которое описывают как дигенное нарушение липидного обмена. В данном случае это высокие исходные концентрации ОХС и ХС ЛНП, характерные для гомозиготных форм СГ, тяжелое поражение коронарного сосудистого русла при отсутствии сформированного ксантомотоза.

Ранее было представлено аналогичное клиническое наблюдение 62-летней больной с двойной гетерозиготной мутацией *LDLR* и *APOB*, причем вариант в *LDLR* имел достоверную патогенность, в то время как самостоятельная патогенность мутации *APOB* не подтверждена. При этом у пробанда отмечен существенно более выраженный фенотип СГ [13].

Показательный пример реализации более тяжелого фенотипа описан у двойной гетерозиготы по *LDLR/PCSK9* с уровнем ХС ЛНП на 44–56% выше, чем у родственников – гетерозигот исключительно по *LDLR* [14].

Выполнив масштабный анализ гено-фенотипических корреляций при дигенных нарушениях липид-

ного обмена на основе опубликованных клинических наблюдений, А. Камаг и соавт. выявили более высокую распространенность сочетания вариантов *LDLR/APOB* по сравнению с *APOB/PCSK9*, а также свидетельства существенной роли дигенного наследования в формировании клинко-биохимического фенотипа СГ и ответа на липидснижающую терапию [15]. Важно понимать, что помимо усугубления фенотипических проявлений СГ взаимодействие мутаций в двух разных генах СГ может привести к прямо противоположному эффекту. Так, описан случай «нейтрализации» фенотипа СГ, обусловленного патогенным вариантом *PCSK9* (с.94G>A/p.Glu32Lys), вследствие присутствия мутации гена *APOB* (с.1672C>T/p.Arg558Ter) – причины семейной гипобетапопротеинемии [16].

Заключение

Описан случай СГ у двойной гетерозиготы по известному патогенному варианту гена *LDLR* и редкому возможно патогенному варианту гена *APOB* с ярким клинко-биохимическим фенотипом, характерным для гомозиготных форм СГ, при отсутствии сформировавшегося ксантоматоза. Для достижения целевого значения ХС ЛНП потребовалась комбинация трех классов липидснижающих средств. С учетом того, что присутствие выявленного генетического варианта гена *APOB* может усиливать фенотип у носителей других мутаций, ассоциированных с СГ, например, высокопенетрантной мутации гена *LDLR*, что и наблюдается у обследуемой больной, предложено также включить данный генетический вариант в программу семейного генетического скрининга. Проведение семейного скрининга, в первую очередь детей, позволит своевременно начать проведение лечебно-профилактических мероприятий, а также поможет уточнить клиническую значимость данного генетического варианта гена *APOB*.

Конфликт интересов отсутствует.

Авторы выражают благодарность Наталье Александровне Соничевой, сотруднику международной биотехнологической компании Health in Code, за помощь в организации молекулярно-генетического исследования.

Литература

- Ежов М.В. и др. Клинические рекомендации по семейной гиперхолестеринемии // Атеросклероз и дислипидемии. – 2019. – № 1 (34). – С. 5–43. [Ezhov M.V. et al. Clinical guidelines for familial hypercholesterolemia // The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias. – 2019. – № 1 (34). – P. 5–43. In Russian].
- Stock J. EAS Consensus Panel statement on homozygous FH // Atherosclerosis. – 2015. – V. 242. – № 1. – P. 323–326. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.050.
- Toft-Nielsen F. et al. Familial hypercholesterolemia prevalence among ethnicities –systematic review and meta-analysis // Front Genet. – 2022. – V. 13. – P. 77. doi: 10.3389/fgene.2022.840797.
- Vrablik M. et al. Genetics of familial hypercholesterolemia: new insights // Front

- Genet. – 2020. – V. 11. – P. 574474. doi: 10.3389/fgene.2020.574474.
- Koivisto U.M. et al. Molecular characterization of minor gene rearrangements in Finnish patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: identification of two common missense mutations (Gly823--> Asp and Leu380--> His) and eight rare mutations of the LDL receptor gene // Am J Hum Genetics. – 1995. – V. 57. – № 4. – P. 789.
- Sturm A.C. et al. Limited-variant screening vs comprehensive genetic testing for familial hypercholesterolemia diagnosis // JAMA Cardiol. – 2021. – V. 6. – № 8. – P. 902–909. doi: 10.1001/jamacardio.2021.1301.
- Leren T.P. et al. Identification of mutations in the apolipoprotein B-100 gene and in the PCSK9 gene as the cause of hypocholesterolemia // Clinica Chimica Acta. – 2008. – V. 397. – № 1-2. – P. 92–95. doi: 10.1016/j.cca.2008.07.025.
- Parhofer K.G. et al. Positive linear correlation between the length of truncated apolipoprotein B and its secretion rate: in vivo studies in human apoB-89, apoB-75, apoB-54.8, and apoB-31 heterozygotes // J Lipid Res. – 1996. – V. 37. – № 4. – P. 844–852.
- Alves A.C. et al. Further evidence of novel APOB mutations as a cause of familial hypercholesterolaemia // Atherosclerosis. – 2018. – V. 277. – P. 448–456. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.819.
- Miroshnikova V.V. et al. Identification of novel variants in the LDLR gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing // Biomed Rep. – 2021. – V. 14. – № 1. – P. 1. doi: 10.3892/br.2020.1391.
- Ramasamy I. Update on the molecular biology of dyslipidemias // Clinica Chimica Acta. – 2016. – V. 454. – P. 143–185. doi: 10.1016/j.cca.2015.10.033.
- Fernández-Higuero J.A. et al. Structural analysis of APOB variants, p.(Arg3527Gln), p.(Arg1164Thr) and p.(Gln4494del), causing familial hypercholesterolaemia provides novel insights into variant pathogenicity // Sci Rep. – 2015. – V. 5. – № 1. – P. 1–8. doi: 10.1038/srep18184.
- Juhász L. et al. A Rare double heterozygous mutation in low-density lipoprotein receptor and apolipoprotein B-100 genes in a severely affected familial hypercholesterolaemia patient // Cureus. – 2020. – V. 12. – № 12. doi: 10.7759/cureus.12184.
- Taylor A. et al. A double heterozygote for familial hypercholesterolaemia and familial defective apolipoprotein B-100 // Ann Clin Biochem. – 2010. – V. 47. – № 5. – P. 487–490. doi: 10.1258/acb.2010.010089.
- Kamar A. et al. The digenic causality in familial hypercholesterolemia: revising the genotype-phenotype correlations of the disease // Front Genet. – 2021. – V. 11. – P. 572045. doi: 10.3389/fgene.2020.572045.
- Sasaki K. et al. Case report: Unusual coexistence between familial hypercholesterolemia and familial hypobetalipoproteinemia // Front Cardiovasc Med. – 2022. – V. 9. doi: 10.3389/fcvm.2022.942772.