

На правах рукописи

СПИРИДОНОВ АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НА
ФОНЕ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИНОВ
НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ В МОЛОДОМ ВОЗРАСТЕ**

3.1.20. Кардиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент

Каштанова Елена Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Кашталап Василий Васильевич

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», заведующий отделом клинической кардиологии

доктор медицинских наук, доцент

Хидирова Людмила Даудовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2026 года в _____ часов на заседании Диссертационного Совета 24.1.239.02 созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 630089, город Новосибирск, улица Бориса Богаткова, д. 175/1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (630089, город Новосибирск, улица Бориса Богаткова, д. 175/1, <https://iimed.ru>)

Автореферат разослан _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

С.В. Мустафина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) по-прежнему остаются основной причиной смерти во всем мире (Ray K. K. et al., 2014). Множество профилактических стратегий, созданных за последние десятилетия, продемонстрировали свою эффективность тем не менее, проблема остается крайне актуальной (Stol D. M. et al., 2020). Одним из основных этиологических факторов заболеваний сердечно-сосудистой системы является атеросклероз (FERENCE V. A. et al., 2018). Фактически, атеросклероз-ассоциированные ССЗ, ежегодно являются причиной четырех миллионов смертей в Европе (Mach F. et al., 2019; FERENCE V. A. et al., 2017). Особое внимание привлекает распространённость гиперхолестеринемии среди молодого трудоспособного населения. Согласно данным третьего этапа многоцентрового исследования ЭССЕ-РФ, охватившего 15 субъектов Российской Федерации, в возрастной группе 35–44 лет повышенные значения холестерина липопротеинов низкой плотности были зафиксированы у 60,6 % участников. При этом среди мужчин данный показатель составил 66,1 %, а среди женщин – 55,6 % (Ежов М. В. и соавт., 2023).

Несмотря на высокую распространённость нарушений липидного обмена, особенно среди молодых людей, механизмы их формирования остаются недостаточно изученными. В последние годы растёт интерес к роли метаболических молекул, являющихся частью метаболической системы, которую также составляют провоспалительные молекулы, пептиды, секретируемые поджелудочной железой и пептиды, секретируемые кишечником. В совокупности данные гормоны находятся во взаимосвязанной сети, влияющей на энергетический гомеостаз и липидный обмен (Everaert N. et al., 2022; Sahu B. et al., 2023).

Метаболические расстройства сопровождаются изменением секреции адипокинов, нарушением баланса между провоспалительными и противовоспалительными медиаторами, что способствует дислипидемии и увеличению вероятности формирования сердечно-сосудистой патологии. В большинстве случаев повышенная концентрация холестерина в крови не сопровождается выраженными клиническими симптомами, однако гиперхолестеринемия связана с возрастанием вероятности развития сердечно-сосудистых патологий (FERENCE V. A. et al., 2018; Тао Х. et al., 2025; Taskinen M. R. et al., 2015).

Технологическое развитие в области медицинской генетики привело к идентификации клинически значимых вариантов в десятках генов, вызывающих нарушения липидного обмена, в том числе, гипобеталипопротеинемию, гиперхолестеринемию, абеталипопротеинемию и т. д. (Драпкина О. М. и соавт., 2023; Ежов М. В. и соавт., 2023; Peloso G. M. et al., 2014).

Учитывая изложенные данные, представляется обоснованным интерес к исследованиям, посвящённым выявлению взаимосвязи между концентрациями биомолекулярных маркеров метаболических изменений и генетическими вариантами, отражающими особенности метаболических изменений у лиц молодого возраста с повышенными показателями холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП).

Степень разработанности темы исследования. Работы, посвящённые исследованию взаимосвязи между гиперхолестеринемией липопротеинов низкой плотности и метаболическими гормонами в возрастном диапазоне 25–44 лет, представлены в ограниченном количестве, как в отечественной, так и в международной литературе. Результаты исследований, касающихся участия резистина в развитии дислипидемии, остаются неоднозначными. Согласно ряду исследований, концентрация резистина в крови демонстрирует положительную ассоциацию с содержанием различных липидных фракций, включая липопротеины очень низкой плотности (Owecki M. et al., 2010). Что касается липокалина-2, то в настоящее время сведений о его влиянии на регуляцию липидного обмена немного. Тем не менее, известно, что повышенное содержание этого белка в сыворотке крови связано с ожирением, персистирующим воспалительным процессом и широким спектром метаболических нарушений (Ahangari N. et al., 2021; Wang Y. et al., 2007). В ряде публикаций также описана связь липокалина-2 с развитием атеросклеротических изменений у пациентов с нарушением углеводного обмена и дислипидемией (Ibragimov V. M.-É. et al., 2020; Abella V. et al., 2015).

Имеются работы, свидетельствующие о влиянии глюкагоноподобного пептида (ГПП 1) на метаболизм липопротеинов (Das K. C. et al., 2022). Известно, что глюкозозависимый инсулилотропный полипептид (ГИП) улучшает клиренс ХС-ЛНП, но в то же время способствует нездоровому типу распределения жира с уменьшением подкожного и увеличением внутрибрюшного жира (Stol D. M. et al., 2020).

Анализ источников демонстрирует, что в настоящее время в ряде научных центров активно применяются молекулярно-генетические методы для исследования нарушений липидного обмена с использованием различных современных технологий (Peloso G. M. et al., 2014; Landrum M. J. et al., 2018; Quaye L. N. K. et al., 2023). Такие исследования позволяют выявлять как редкие мутации, так и более распространённые варианты в структуре ДНК, приводящие к развитию дислипидемий (van der Laan S. W. et al., 2018). В настоящем исследовании на основании критического анализа современных научных публикаций был сформирован перечень генов, вовлечённых в патогенез гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности как моногенной, так и полигенной природы. В перечень вошли гены, хорошо охарактеризованные в различных этнических группах и имеющие доказанную связь с регуляцией липидного обмена: *LDLR*; *LDLRAP1*; *LPA*, *PCSK9*; *LPL* и др. Помимо этого, для анализа были выбраны и менее изученные гены, участвующие в биосинтезе адипокинов, потенциально вовлечённых в формирование клинического фенотипа нарушений липидного обмена. К ним относятся *INS*, *GHRL*, *ADIPOQ*, *GIP*, *NAMPT*, *PYY*, *GLPIR*, *FTO*, *GCG*, *LEP*, *PPY*, *APLN* и *APLNR* (García-Giustiniani D. et al., 2016; Brown E. E. et al., 2020; Zhang T. et al., 2019; Loos R. J. F. et al., 2022; Wu G. et al., 2014; Quaye L. N. K. et al., 2023).

Таким образом, проведение исследований, направленных на оценку биомолекулярных маркеров, отражающих особенности метаболического состояния у молодых лиц с повышенными концентрациями ХС-ЛНП, а также их ассоциации с

индивидуальным генетическим профилем, представляется актуальным и перспективным направлением.

Цель работы

Изучить наиболее значимые биохимические и некоторые молекулярно-генетические показатели, отражающие обменные процессы у молодых людей 25–44 лет на фоне повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности.

Задачи исследования

1. Изучить распространённость повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности у мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска.

2. Изучить уровни биомолекул, отражающих обменные процессы (амилина, С-пептида, грелина, глюкозозависимого инсулиотропного полипептида, глюкагон-подобного пептида 1, глюкагона, интерлейкина 6, инсулина, лептина, моноцитарного хемотаксического фактора 1, панкреатического полипептида, пептида YY, фактора некроза опухолей альфа, адипонектина, адипсина, липокалина-2, ингибитора активатора плазминогена-1 и резистина) у молодых людей, и выявить их ассоциации с повышенным уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности.

3. Идентифицировать редкие функционально значимые варианты в кодирующих областях и прилегающих сайтах сплайсинга генов, ассоциированных с повышенным уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности, у мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска.

4. Провести анализ ассоциации вариантов генов, ассоциированных с повышенным уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности, с уровнем биомолекул адипокинового профиля у мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска.

Научная гипотеза. Высокий уровень ХС-ЛНП (10-дециль – более 4,2 ммоль/л), у мужчин и женщин 25–44 лет, ассоциирован с изменением уровня показателей углеводного обмена и показателей воспаления, а также с наличием редких функционально значимых вариантов в генах, вовлеченных в регуляцию липидного обмена.

Научная новизна работы. Получены современные данные по распространённости гиперхолестеринемии ЛНП в популяционной выборке жителей города Новосибирска в возрастном диапазоне 25–44 лет. Выявлено, что у мужчин частота гиперхолестеринемии ЛНП в городе Новосибирске в этом возрастном диапазоне составила 60,6 %. У женщин частота гиперхолестеринемии ЛНП – 50,5 %.

Впервые в г. Новосибирске проведен поиск ассоциативных связей повышенного уровня ХС-ЛНП с метаболическими гормонами и адипокинами у людей молодого возраста 25–44 лет. Показано, что у людей с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л увеличивались концентрации в крови С-пептида, инсулина (в 1,5 раз), лептина (в 1,4 раза), адипсина (в 1,1 раз), липокалина-2 (в 2 раза), ингибитора активатора плазминогена-1 (в 1,6 раз) и уменьшалась концентрация в крови глюкагон-подобного пептида 1 (в 1,5 раз). Выраженную связь с уровнем ХС-ЛНП продемонстрировал С-пептид, увеличение его уровня на 1 нг/мл сопровождалось повышением ХС-ЛНП более чем в 1,8 раза (ОШ = 1,831; $p = 0,005$).

При этом показано, что у мужчин уровень ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л в крови связан с увеличением концентраций С-пептида (в 1,3 раз) и липокалина-2 (в 1,9 раз). Результаты продемонстрировали, что шанс наличия уровня ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л у мужчин ассоциирован с увеличением уровня С-пептида (ОШ = 3,290; 95% ДИ 1,219–8,883; $p = 0,019$) и с уровнем липокалина-2 (ОШ = 1,005; 95% ДИ 1,001–1,008; $p = 0,006$). У женщин уровень ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л связан с повышением уровня липокалина-2 (в 2,3 раза) и уменьшением уровня глюкагон-подобного пептида 1 (в 1,6 раз) в крови. Шанс наличия повышенного уровня ХС-ЛНП ассоциирован с повышением уровня липокалина-2 (ОШ = 1,003; 95% ДИ 1,001–1,005; $p = 0,013$) и уменьшением уровня глюкагон-подобного пептида 1 (ОШ = 0,991; 95% ДИ 0,986–0,996; $p = 0,001$).

Впервые для отечественных исследований был изучен спектр вариантов в генах липидного обмена у лиц 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л методом высокопроизводительного секвенирования. Результаты изучения биохимических и молекулярно-генетических показателей на фоне повышенного уровня ХС-ЛНП в молодом возрасте показали, что у молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л определяются редкие патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB* и вероятно патогенные варианты в генах *ABCA1*, *APOE*, *CETP*, *LCAT*, *LIPA*, *LIPC*, *LIPG*, *LPA*.

Впервые для российских исследований был изучен спектр вариантов в генах липидного обмена у лиц 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л методом высокопроизводительного секвенирования. Показано, что у молодых людей в возрастном диапазоне 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л патогенных и вероятно патогенных вариантов не обнаружено.

Теоретическая и практическая значимость работы. В популяционной выборке жителей г. Новосибирска в молодом возрасте 25–44 лет изучена распространённость гиперхолестеринемии ЛНП. Выявлены независимые ассоциации повышенного уровня ХС-ЛНП с метаболическими гормонами и адипокинами у людей молодого возраста (25–44 лет). Исследование расширяет информацию о генетическом профиле человека, так как изучен спектр вариантов в генах липидного обмена у лиц 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л и с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л. Результаты изучения биохимических и молекулярно-генетических показателей на фоне повышенного уровня ХС-ЛНП в молодом возрасте позволили прийти к выводу, что у молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л определяются редкие патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB* и вероятно патогенные варианты в генах *ABCA1*, *APOE*, *CETP*, *LCAT*, *LIPA*, *LIPC*, *LIPG*, *LPA*. У молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л патогенных и вероятно патогенных вариантов не обнаружено.

Выявленные изменения подчеркивают необходимость дополнительного диагностического молекулярно-генетического обследования у молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л для проведения первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование по дизайну является одноцентровым обсервационным поперечным исследованием. Исследование проведено на выборке жителей города Новосибирска, сформированной с 2013 по 2017 гг. Для построения популяционной выборки использовалась база Территориального Фонда обязательного медицинского страхования лиц 25–44 лет по одному из районов г. Новосибирска, типичному по производственной, социальной, популяционно-демографической, транспортной структурам и уровню миграции населения. С помощью генератора случайных чисел была сформирована случайная репрезентативная выборка в количестве 2 500 человек. Известно, что молодые возрастные группы относятся к наиболее ригидным в плане отклика, поэтому были применены методы поэтапного эпидемиологического стимулирования – почтовые приглашения, телефонные звонки, информационные сообщения в средствах массовой информации. Отклик составил 60,5 %, что является ограничением исследования.

В исследование включено 1 457 человек (663 мужчины и 794 женщины). Для изучения взаимосвязи между уровнями биомолекул и концентрацией липопротеинов низкой плотности, вся популяционная выборка была стратифицирована по децильным интервалам распределения ХС-ЛНП. Для анализа были отобраны участники, попавшие в крайние децили – 146 человек с минимальными значениями ХС-ЛНП ($< 2,1$ ммоль/л) и 158 человек с максимальными показателями ($\geq 4,2$ ммоль/л). Для молекулярно-генетического анализа было отобрано 386 участников, в том числе лица, входящие в нижний и верхний дециль по уровню ХС-ЛНП.

В сыворотке крови проводили исследование липидного спектра и уровня глюкозы ферментативным методом на автоматическом анализаторе. Определение метаболических и провоспалительных маркеров осуществлялось методом мультиплексного анализа. Для проведения таргетного секвенирования использовали технологию обогащения целевых участков генома NimbleGen SeqCap Target Enrichment. Секвенирование осуществляли на платформе Illumina NextSeq 500. Проведенная статистическая обработка данных с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics позволила сформулировать обоснованные выводы и получить статистически значимые данные.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В популяционной выборке 25–44 лет г. Новосибирска выявлена высокая распространённость гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности.
2. У молодых людей 25–44 лет из исследованных показателей, повышенный уровень холестерина липопротеинов низкой плотности ассоциирован с липокалином-2 (прямая ассоциация), С-пептидом (прямая ассоциация), глюкагон-подобного пептида 1 (обратная ассоциация).
3. У молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л определяются патогенные варианты в генах *LDLR* и *APOB* и вероятно патогенные варианты в генах *ABCA1*, *ADIPOQ*, *APOE*, *CETP*, *LCAT*, *LIPA*, *LIPC*, *LIPG*, *LPA*. У молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л патогенных и вероятно патогенных вариантов в изученных генах не обнаружено.

Степень достоверности результатов исследования. Достоверность полученных результатов исследования обусловлена достаточным объемом выборки ($n = 1\ 457$).

Лабораторное оборудование, применявшееся в ходе исследования, прошло плановую метрологическую проверку в соответствии с требованиями «ГОСТ Р 8.563-96 Государственная система обеспечения единства измерений». Все методы измерений были официально утверждены и сопровождались заключениями метрологических служб, что подтверждается наличием соответствующих сертификатов. Для проведения биохимических и молекулярно-генетических анализов использовались современные, валидированные методологические подходы (сертификаты Федеральной системы контроля качества). Обработка полученных данных проводилась с использованием статистического пакета SPSS версии 20.0. Применённые методы статистического анализа соответствовали целям и задачам исследования.

Исходные данные и итоги статистического анализа прошли проверку на корректность и признаны надежными. Ключевые положения опубликованы в рецензируемых журналах, проходящих рецензирование, и не вызвали критических замечаний со стороны научного сообщества.

Апробация и внедрение материалов диссертации. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на: IX международном Образовательном форуме «Российские дни сердца» (Санкт-Петербург, 2022); международном конгрессе «От науки к практике в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии» (Кемерово, 2024); на VII межрегиональном научно-практическом форуме с международным участием «Карачинские чтения 2024» (Карачи, 2024).

Апробация диссертационной работы прошла на заседании межлабораторного семинара НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН 24 июня 2025 года (Протокол № 03-2025 от 24.06.2025).

Материалы и выводы диссертации используются в работе клиники НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, в учебном процессе НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН по программам подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре.

Публикации. По результатам диссертационного исследования опубликовано 6 научных работ, включая 6 статей в рецензируемых изданиях, входящих в перечень научных журналов, рекомендованных ВАК Российской Федерации. Из них 2 статьи индексированы в международных научных базах данных Web of Science и/или Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертация оформлена на 138 страницах машинописного текста и содержит 17 таблиц и 2 рисунка. Дизайн исследования отвечает установленным требованиям к кандидатским диссертациям и включает следующие структурные элементы: введение, аналитический обзор литературы, раздел, посвящённый материалам и методам, главу с изложением собственных данных, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, а также перечень использованной литературы. В библиографический список вошли 268 источников, в том числе 10 российских и 258 иностранных.

Личный вклад автора. Автор диссертационной работы принимал непосредственное участие в формировании научной концепции и дизайна исследования,

а также в постановке его цели и задач. Вместе с математиком НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, старшим научным сотрудником Л. В. Щербаковой, осуществлял формирование базы данных и проведение статистической обработки полученных результатов. Автором самостоятельно подготовлен аналитический обзор литературы по теме диссертации, проведён анализ и интерпретация данных собственного исследования. Соискателем в соавторстве написаны, оформлены и опубликованы научные статьи в рецензируемых журналах, входящих в Перечень ВАК, а также индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus. Результаты исследования были представлены на международных и межрегиональных научно-практических конференциях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты, представленные в работе, получены при выполнении программы Государственного задания «Изучение молекулярно-генетических и молекулярно биологических механизмов развития распространённых терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их ранней диагностике и профилактике» (FWNR-2024-0004) и в рамках гранта РФФ 21-15-00022 «Роль молекул секреторной активности висцеральных адипоцитов при абдоминальном ожирении в раннем развитии распространённых социально значимых заболеваний». Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН протокол № 44 от 25.10.2022. От всех лиц, включенных в исследование, было получено информированное согласие на обследование и обработку персональных данных.

Диссертационное исследование по дизайну является одноцентровым наблюдательным поперечным исследованием (рисунок 1).

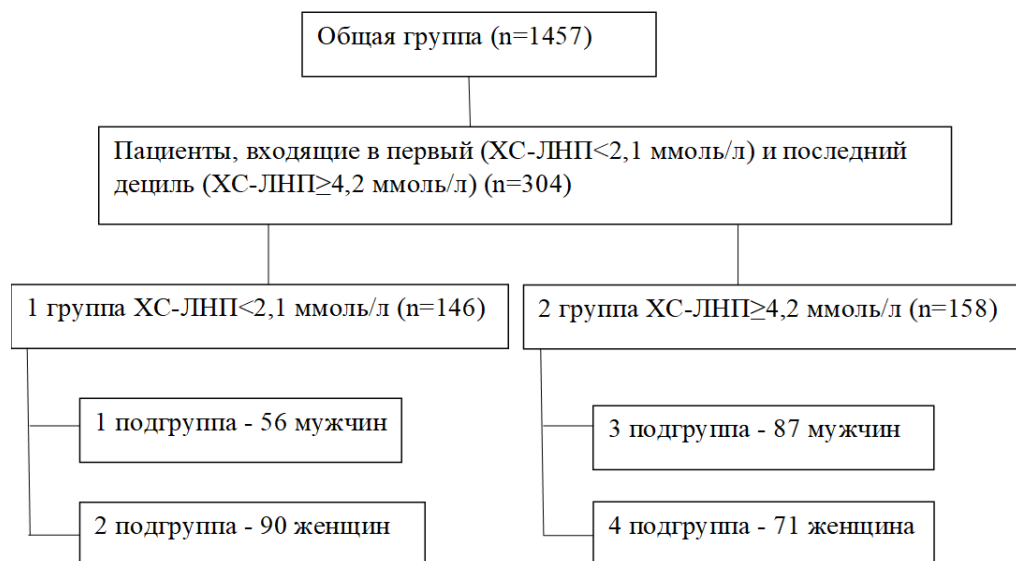


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Исследование проведено на выборке жителей города Новосибирска, сформированной с 2013 по 2017 гг. В исследование включено 1 457 человек, из которых 663 мужчины и 794 женщины, у которых на момент проведения исследования в биобанке НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН имелись образцы биологического материала, а уровень ТГ был менее 4,0 ммоль/л.

С целью изучения взаимосвязи между уровнями биомолекул и концентрацией липопротеинов низкой плотности, вся популяционная выборка была стратифицирована по децильным интервалам распределения ХС-ЛНП. Для анализа были отобраны участники, попавшие в крайние децили – 146 человек (56 мужчин, 90 женщин) с минимальными значениями ХС-ЛНП ($< 2,1$ ммоль/л) и 158 (87 мужчин, 71 женщина) человек с максимальными показателями ($\geq 4,2$ ммоль/л).

Комплексная клинико-инструментальная оценка состояния здоровья проводилась специалистами НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. В обследование входили: сбор анамнестических и демографических сведений; оценка курения и сопутствующей медикаментозной терапии; анкетирование по питанию; трехкратное измерение артериального давления; антропометрия (рост, вес, окружность талии, расчет индекса массы тела по формуле Кетле – $\text{кг}/\text{м}^2$); регистрация ЭКГ и другие функциональные тесты. Информация о курении и физической активности получалась анкетным методом. Курильщики классифицировались как никогда не курившие, прекратившие курение или продолжающие курить. Рост фиксировался при помощи стенового ростомера, масса тела – на электронных весах.

Уровень ХС-ЛНП $\geq 3,0$ ммоль/л соответствовал критерию дислипидемии в соответствии с клиническими рекомендациями. При проведении скрининга были недоступны данные для полноценного определения групп общего риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и дифференциации целевых уровней холестерина липопротеинов низкой плотности согласно современным рекомендациям. Артериальная гипертензия диагностировалась при систолическом АД > 140 мм рт. ст. и/или диастолическом АД > 90 мм рт. ст. Показатели глюкозы натощак выше 6,1 ммоль/л трактовались как гипергликемия. Инсулинорезистентность (ИР) оценивалась с помощью расчёта индекса НОМА-IR: $\text{НОМА-IR} = [\text{глюкоза (ммоль/л)} \times \text{инсулин (мкЕД/мл)}] / 22,5$; референсные значения составляли 0–2,7.

Для последующего молекулярно-генетического анализа было отобрано 386 участников, в том числе лица, входящие в нижний и верхний дециль по уровню ХС-ЛНП.

Забор венозной крови для биохимического и генетического анализа у всех участников исследования проводился в утренние часы натощак, при условии соблюдения интервала не менее 12 часов после последнего приёма пищи. Биологический материал отбирали из локтевой вены. Полученные образцы подвергали центрифугированию при скорости 1 000 об/мин в течение 15 минут с целью разделения сыворотки и последующего аликвотирования, что позволяло минимизировать риски, связанные с многократными циклами замораживания и оттаивания. Далее, как

сыворотку, так и клеточные элементы крови хранили при температурном режиме $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ вплоть до момента проведения лабораторных исследований.

Биохимический анализ сыворотки крови включал определение концентраций общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП), а также уровня глюкозы. Определения проводились ферментативным методом с применением наборов реагентов производства Thermo Fisher Scientific (Финляндия) на автоматическом анализаторе Konelab Prime 30i (Финляндия). Расчёт значения холестерина липопротеинов низкой плотности выполнялся с использованием формулы Фридвальда. Для приведения значений глюкозы в сыворотке к уровню глюкозы в плазме натощак (ГПН) применялась формула, рекомендованная Европейской ассоциацией по изучению диабета (EASD, 2005) – $\text{ГПН (ммоль/л)} = -0,137 + 1,047 \times \text{глюкоза сыворотки (ммоль/л)}$. Определение метаболических и провоспалительных маркеров осуществлялось методом мультиплексного анализа с использованием реагентных панелей Human Metabolic Hormone V3 и Human Adipokine Panel 1 (США) на проточном флуориметре Luminex MAGPIX (США). Оценке подвергались уровни следующих показателей: амилина; С-пептида; грелина; глюкозозависимого инсулиноподобного полипептида (ГИП); глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1); глюкагона; интерлейкина-6 (ИЛ-6); инсулина; лептина; МСР-1; панкреатического полипептида (РР); пептида YY (РYY); фактора некроза опухолей α (ФНО- α); адипонектина; адипсина; липокалина-2; ингибитора активатора плазминогена-1 (ИАП-1) и резистина. Результаты измерений выражались в соответствующих единицах: нг/мл – для С-пептида, липокалина-2, ИАП-1, лептина и резистина; мкг/мл – для адипонектина и адипсина; пг/мл – для остальных маркеров. В исследуемой выборке сывороточная концентрация резистина была измерена в 50 % образцов, что связано с получением в некоторых пробах слишком низких уровней, не позволяющих обнаружить данный биомаркер.

Выделение ДНК из лейкоцитарной фракции периферической крови осуществлялось по классическому методу фенол-хлороформной экстракции.

Выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование кодирующих областей и прилегающих сайтов сплайсинга генов, ассоциированных с изменением уровня холестерина ЛНП, адипокинов и хемокинов.

Таргетная панель была разработана с помощью онлайн-инструмента (AmpliSeq, Illumina) и включала кодирующие участки и прилегающие сайты сплайсинга (по 100 п.н.), а также 1 000 п.н. 3' и 5'UTR областей генов липидного обмена *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *ANGPTL3*, *APOA1*, *APOA4*, *APOA5*, *APOB*, *APOC2*, *APOC3*, *APOE*, *CETP*, *CYP7A1*, *HMGCR*, *LCAT*, *LDLR*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *LIPC*, *LIPG*, *LMF1*, *LMNA*, *LPA*, *LPL*, *MTP*, *NPC1L1*, *PCSK9*, *PLIN1*, *PNPLA5*, *POLD1*, *PPARA*, *PPARG*, *SAR1B*, *SREBF1*, *STAP1*, а также генов ряда адипокинов *ADIPOQ*, *APLN*, *APLNR*, *GCG*, *GHRL*, *GIP*, *GLP1R*, *INS*, *LEP*, *NAMPT*, *RETN*. Выбор генов для таргетного секвенирования был основан на анализе литературных данных.

Для проведения таргетного секвенирования использовали технологию обогащения целевых участков генома NimbleGen SeqCap Target Enrichment (Roche).

Секвенирование осуществляли на платформе Illumina NextSeq 500 (Illumina, Калифорния, США). Биоинформатическая обработка включала выравнивание с референсным геномом человека версии GRCh38. Анализ выявленных вариантов был выполнен в соответствии с современными стандартами и руководствами Американского колледжа медицинской генетики и геномики (Richards S., 2015).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics версии 20.0. Для оценки распределения количественных переменных применяли тест Колмогорова-Смирнова. Переменные, не соответствующие нормальному распределению, описывались посредством медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля – Q25 %; Q 75 %). В случае нормального распределения данные представлялись в формате среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Категориальные переменные выражались в виде процентных долей. Для сравнения количественных признаков между двумя независимыми группами применялся U-критерий Манна-Уитни. Анализ различий по качественным переменным осуществлялся с использованием χ^2 критерия Пирсона. Для выявления взаимосвязей между переменными была построена многофакторная логистическая регрессионная модель, при разработке которой учитывали отсутствие мультиколлинеарности между предикторами. Результаты регрессионного анализа представлены в виде отношений шансов (ОШ) и соответствующих 95 % доверительных интервалов (ДИ). Уровень статистической значимости определяли при p-значении менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения распространённости повышенного уровня ХС-ЛНП в популяционной выборке 25–44 лет г. Новосибирска были изучены клинические характеристики групп мужчин и женщин. Показано, что мужчины и женщины с уровнем ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л имели статистически значимо более высокий возраст, показатели артериального давления, индекс массы тела и окружность талии по сравнению с лицами, у которых уровень ХС-ЛНП был < 3 ммоль/л ($p < 0,05$).

У мужчин и женщин с уровнем ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л выявлены статистически значимо более высокие значения общего холестерина, ХС-ЛНП и триглицеридов, а также более низкий уровень ХС-ЛВП по сравнению с лицами, имеющими ХС-ЛНП < 3 ммоль/л ($p < 0,05$). У женщин дополнительно отмечен небольшой, но значимый рост уровня глюкозы крови ($p < 0,0001$).

На втором этапе анализа были сформированы две группы участников на основе распределения уровня ХС-ЛНП по децилям. Первая группа включала 146 человек с концентрацией ХС-ЛНП ниже 2,1 ммоль/л, тогда как во вторую вошли 158 человек с уровнем ХС-ЛНП, равным или превышающим 4,2 ммоль/л. У лиц с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л отмечались достоверно более высокий возраст, показатели систолического и диастолического артериального давления, индекс массы тела, а также большая распространённость артериальной гипертензии и гипергликемии по сравнению с

группой с ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л ($p < 0,05$). Также у лиц с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л отмечены достоверно более высокие значения общего холестерина, ХС-ЛНП, триглицеридов и глюкозы, а также более низкий уровень ХС-ЛВП по сравнению с группой с ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л ($p < 0,0001$).

На следующем этапе исследования все включенные в обследования лица были разделены на 4 подгруппы:

- а) 1-я подгруппа – 56 мужчин с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л;
- б) 2-я подгруппа – 87 мужчин с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л;
- в) 3-я подгруппа – 90 женщин с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л;
- г) 4-я подгруппа – 71 женщина с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л.

У мужчин с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л отмечались большие значения окружности талии, уровня глюкозы, частота гипергликемии, инсулинорезистентности (НОМА-IR $\geq 2,7$) и абдоминального ожирения. Также у них наблюдались более высокие показатели общего холестерина, ХС-ЛНП и триглицеридов, а уровень ХС-ЛВП был ниже ($p < 0,05$).

У женщин с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л выявлены более высокие значения возраста, систолического и диастолического артериального давления, частоты артериальной гипертензии, гипергликемии, уровня глюкозы и инсулинорезистентности. Кроме того, в этой группе были значительно выше показатели общего холестерина, ХС-ЛНП и триглицеридов ($p < 0,05$).

Распространённость повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности у мужчин и женщин 25–34, 35–44, 25–44 лет г. Новосибирска. В рамках исследования была проведена оценка частоты повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности у представителей мужского и женского пола в двух возрастных категориях: от 25 до 34 лет и от 35 до 44 лет. У мужчин старшей возрастной подгруппы (35–44 года) доля обследованных с уровнем ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л достигла 64,9 %, что существенно превышало аналогичный показатель у мужчин возрастной категории 25–34 лет (55,1 %; $p = 0,010$). Аналогичная возрастная динамика была выявлена и среди женщин. В подгруппе 25–34 лет признаки гиперхолестеринемии ЛНП наблюдались у 42,2 % участниц, тогда как в возрастной подгруппе 35–44 лет эта доля увеличивалась до 55,9 %, что также было статистически достоверно ($p < 0,001$). Сравнение частоты ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л между мужчинами и женщинами в обеих возрастных подгруппах показало, что в возрастной категории 25–34 лет гиперхолестеринемия чаще фиксировалась у мужчин (55,1 % против 42,2 % у женщин; $p = 0,002$). Эта тенденция сохранялась и в подгруппе 35–44 лет, где показатель ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л регистрировался у 64,9 % мужчин и 55,9 % женщин ($p = 0,008$).

Анализ распространённости повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности среди жителей г. Новосибирска в возрасте 25–44 лет ($n = 1457$) выявил доминирование лиц с ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л по сравнению с участниками, имеющими более низкие значения данного показателя. Так, по совокупной выборке частота повышенного ХС-ЛНП составила 55,1 %, тогда как доля лиц с концентрацией ниже 3 ммоль/л – 44,9 % (рисунок 2). Сходная тенденция прослеживалась при

стратификации по полу. У мужчин доля участников с ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л составила 60,6 %, тогда как уровень ниже 3 ммоль/л отмечался у 39,4 %. Среди женщин наблюдался менее выраженный, но аналогичный сдвиг – 50,5 % обследованных имели уровень ХС-ЛНП, превышающий 3 ммоль/л и 49,5 % – ниже указанного порогового значения.

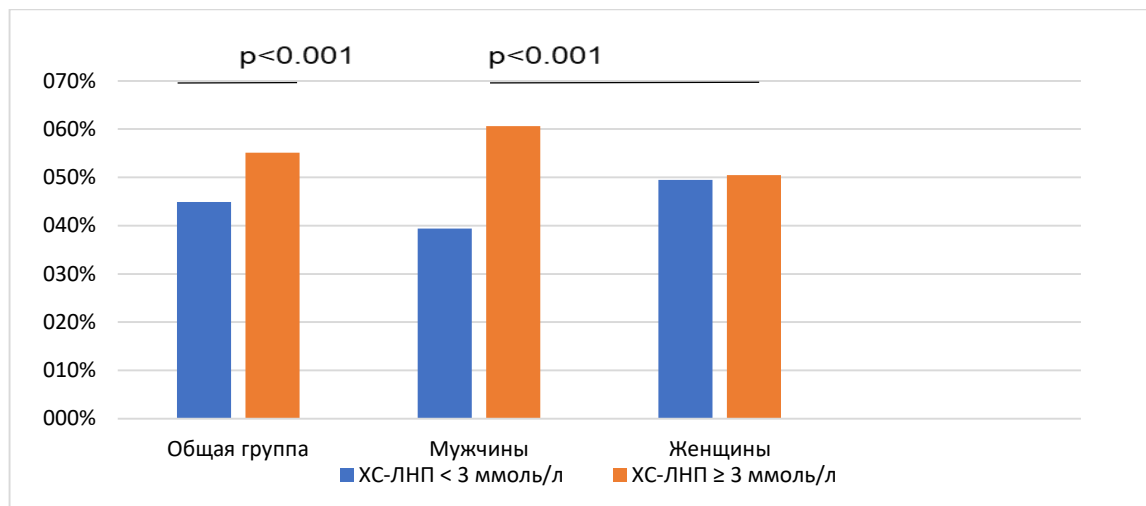


Рисунок 2 – Распространённость повышенного уровня холестерина ЛНП у мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска

Таким образом, результаты анализа указывают на наличие отчётливых возрастных и половых различий в распространённости повышенных значений ХС-ЛНП. Наиболее высокая доля лиц с концентрацией ХС-ЛНП ≥ 3 ммоль/л зафиксирована среди мужчин в возрастной группе 35–44 лет, что подчёркивает значимость возрастного-гендерного подхода при оценке риска нарушений липидного обмена.

Уровни метаболитических гормонов. Результаты, полученные при анализе биомолекул, отражающих метаболитические изменения показали, что у лиц с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л были зафиксированы более высокие концентрации С-пептида и инсулина по сравнению с участниками с низкими значениями ХС-ЛНП ($< 2,1$ ммоль/л). При исследовании инкретинов достоверные различия между группами выявлены только в отношении глюкагоноподобного пептида-1, уровень которого оказался пониженным в группе с высоким ХС-ЛНП. Среди анализируемых адипокинов статистически значимо более высокие показатели наблюдались по лептину, адипсину, липокалину-2, резистину и ингибитору активатора плазминогена-1, что может свидетельствовать о более выраженном метаболитическом неблагополучии в этой группе.

Сравнительный анализ уровней исследованных биохимических показателей в подгруппах мужчин и женщин показал, что у мужчин с концентрацией ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л наблюдалось увеличение уровня С-пептида по сравнению с участниками, у которых содержание ХС-ЛНП не превышало 2,1 ммоль/л. Анализ адипокинового профиля у представителей мужской подгруппы с гиперхолестеринемией выявил достоверное повышение уровней лептина, резистина, ингибитора активатора плазминогена-1 и липокалина-2. У женщин в подгруппе с ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л были зафиксированы достоверно более высокие значения инсулина, лептина, резистина,

ИАП-1 и липокалина-2, при одновременном снижении уровня глюкагоноподобного пептида-1 и МСР-1.

Ассоциации изучаемых биохимических показателей с наличием холестерина липопротеинов низкой плотности равным или превышающим 4,2 ммоль/л. С помощью метода однофакторного логистического регрессионного анализа, стандартизация которого проводилась по возрасту и полу, была оценена связь между наличием ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л и показателями, продемонстрировавшими статистическую разницу в сравнительном анализе. Значимыми предикторами высокого уровня ХС-ЛНП выступили показатели артериального давления – систолическое и диастолическое. Каждое увеличение САД на 1 мм рт. ст. увеличивало шанс наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л на 2,1 % ($p = 0,020$), а ДАД – на 4,3 % ($p = 0,001$). Индекс массы тела, как один из модифицируемых факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, также показал высокую степень ассоциации (ОШ = 1,081; $p = 0,001$). Среди биохимических маркеров наиболее выраженную ассоциацию с уровнем ХС-ЛНП продемонстрировал С-пептид – увеличение его уровня на 1 нг/мл сопровождалось ростом шанса повышения ХС-ЛНП более чем в 1,8 раза (ОШ = 1,831; $p = 0,005$). Особый интерес представляют адипокины. Липокалин-2 оказался значимым маркером – его увеличение на 1 нг/мл ассоциировалось с ростом шанса повышения ХС-ЛНП (ОШ = 1,004; $p < 0,0001$). Также статистически значимым оказался ингибитор активатора плазминогена-1, при его увеличении на 1 нг/мл шанс наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л возрастал на 3,3 % (ОШ = 1,033; $p = 0,0001$). Обратная связь была установлена для ГПП-1 (ОШ = 0,998; $p = 0,002$), что согласуется с его потенциальной антиатерогенной ролью.

Далее был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ связи изучаемых биомолекул с шансом наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л. В качестве зависимой переменной использовали наличие крайне высокого и крайне низкого уровня ХС-ЛНП. В качестве независимых переменных – показатели, показавшие статистическую значимую разницу в однофакторном анализе и возраст. Качество разработанной логистической регрессионной модели – чувствительность 74,5 % и специфичность 75,8 %, точность классификации 75 %.

Показано, что шанс наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л из исследуемых независимых переменных ассоциирован с повышением уровня С-пептида (ОШ = 1,956; 95 % ДИ 1,047–3,651; $p = 0,035$), липокалина 2 (ОШ = 1,004; 95 % ДИ 1,002–1,005; $p = 0,001$) и уменьшением уровня ГПП-1 (ОШ = 0,998; 95 % ДИ 0,996–0,999; $p = 0,006$). Возраст, как немодифицируемый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний, также продемонстрировал связь с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л (ОШ = 1,063; 95% ДИ 1,008–1,122; $p = 0,025$).

Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа связи изучаемых уровней биомолекул с шансом наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л у мужчин и женщин представлены в таблицах 1 и 2. В модели в качестве зависимой переменной использовали наличие крайне высокого и крайне низкого уровня ХС-ЛНП; в качестве независимых переменных – все исследуемые нами биохимические показатели, возраст, ОТ, наличие артериальной гипертензии и гипергликемии. Качество разработанной

логистической регрессионной модели (мужчины) – чувствительность 66,7 % и специфичность 78,9 % при общей точности классификации 74,0 %. Качество разработанной логистической регрессионной модели (женщины) – чувствительность 70,0 % и специфичность 83,1 % при общей точности классификации 77,4 %.

Таблица 1 – Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа связи изучаемых уровней биомолекул с шансом наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л у мужчин

Показатели	ОШ	ДИ (нижняя граница)	ДИ (верхняя граница)	р
Возраст, на 1 год	1,051	0,961	1,149	0,279
С-пептид, на 1 нг/мл	3,290	1,219	8,883	0,019
ГПП-1, на 1 пг/мл	0,999	0,997	1,001	0,175
РУУ, на 1 пг/мл	0,995	0,976	1,1014	0,617
Адипсин, на 1 мкг/мл	0,992	0,953	1,032	0,699
Лептин, на 1 пг/мл	0,993	0,849	1,162	0,930
Липокалин 2, на 1 нг/мл	1,005	1,001	1,008	0,006
Грелин, на 1 пг/мл	1,909	0,532	6,855	0,321

Результаты продемонстрировали, что шанс наличия уровня ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л у мужчин ассоциирован с увеличением уровня С-пептида (ОШ = 3,290; 95% ДИ 1,219–8,883; $p = 0,019$) и наименее выражено с уровнем липокалина-2 (ОШ = 1,005; 95% ДИ 1,001–1,008; $p = 0,006$).

Таблица 2 – Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа связи изучаемых уровней биомолекул с шансом наличия ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л у женщин

Показатели	ОШ	ДИ (нижняя граница)	ДИ (верхняя граница)	р
Возраст, на 1 год	1,074	0,991	1,164	0,082
С-пептид, на 1 нг/мл	1,684	0,554	5,118	0,358
ГПП 1, на 1 пг/мл	0,991	0,986	0,996	0,001
Адипсин, на 1 мкг/мл	0,630	0,967	1,021	0,630
ИАП 1, на 1 нг/мл	1,009	0,970	1,049	0,649
Лептин, на 1 пг/мл	1,056	0,978	1,140	0,163
Грелин, на 1 пг/мл	1,038	0,346	3,118	0,947
МСР – 1, на 1 пг/мл	0,995	0,987	1,003	0,264
Липокалин 2, на 1 нг/мл	1,003	1,001	1,005	0,013

У женщин шанс наличия повышенного уровня ХС-ЛНП ассоциирован с повышением уровня липокалина-2 (ОШ = 1,003; 95% ДИ 1,001–1,005; $p = 0,013$) и уменьшением уровня ГПП-1 (ОШ = 0,991; 95% ДИ 0,986–0,996; $p = 0,001$).

Анализ вариантов в кодирующих областях и прилегающих сайтах сплайсинга генов, ассоциированных с повышенным уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности. В рамках настоящего исследования были получены результаты таргетного секвенирования генов, участвующих в регуляции липидного обмена и синтезе адипокинов, у обследованных лиц с предельно низкими и высокими концентрациями ХС-ЛНП, соответствующими первому и десятому перцентилем распределения.

Группа с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности равным или превышающим 4,2 ммоль/л. На первом этапе были проанализированы варианты в генах липидного обмена, связанные с развитием семейной гиперхолестеринемии (СГХС): *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1* в группе с уровнем холестерина ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л. У одного обследованного из группы с высокими значениями ХС-ЛНП при молекулярно-генетическом исследовании определен редкий вариант rs121908026 в гене *LDLR* в гетерозиготной форме. Частота редкого аллеля Т по данным базы GnomAD составила 0,000027. По данным литературы, вариант rs121908026 ранее был определен у пациентов с СГХС в Польше, Латвии, Японии. У пациента носителя rs121908026 изменения липидного профиля характерны для пациентов с семейной гиперхолестеринемией: ОХС 7,34 ммоль/л (284 мг/дл), ХС-ЛНП – 5,55 ммоль/л (214 мг/дл).

В гене *APOB* в группе с гиперхолестеринемией ЛНП выявлены 4 редких варианта в гетерозиготной форме: rs12714097; rs762035088; rs898106597 и новый вариант p.N2067R (NM_000384, с.А6200G). Варианты rs762035088 и p.N2067R (NM_000384, с.А6200G) расположены в экзоне 26. Экзон 26 кодирует сайт связывания аполипопротеина В с рецептором ЛНП и определяет взаимодействие аргинина в положении 3500 с триптофаном в положении 4369, расположенном вблизи карбоксильного конца белка. Патогенные варианты в этом экзоне могут приводить к развитию семейной гиперхолестеринемии.

Редкий вариант rs762035088 в 26-м экзоне гена *APOB* определен у пациента с уровнем ОХС 5,97 ммоль/л (231 мг/дл) и ХС-ЛНП – 4,31 ммоль/л (166 мг/дл). Частота редкого аллеля А по данным базы GnomAD составила (А = 0,000013) (таблица 3).

Таблица 3 – Патогенные варианты в генах липидного обмена в группе с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л

Номер позиции	Ген	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Частота редкого аллеля, GnomAD
rs121908026	<i>LDLR</i>	NM_001195799 Exon 3 с.С407Т	p.S136L	Т = 0,000027
rs12714097	<i>APOB</i>	NM_000384 Exon 18 с.С2630Т	p.P877L	Т = 0,0006
rs762035088	<i>APOB</i>	NM_000384 Exon 26 с.Г10673А	p.R3558H	А = 0,000013

Номер позиции	Ген	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Частота редкого аллеля, GnomAD
rs898106597	<i>APOB</i>	NM_000384 Exon 15 с.Т2114G	p.F705C	G = 0,000005
—	<i>APOB</i>	NM_000384 Exon 26 с.А6200G:	p.H2067R	—

Редкий вариант rs12714097 в 18-м экзоне гена *APOB* определен у пациента с уровнем ОХС 6,74 ммоль/л (261 мг/дл) и ХС-ЛНП – 4,46 ммоль/л (172,4 мг/дл). Частота редкого аллеля Т по данным базы GnomAD составила 0,00006. Впервые данный вариант был описан у пациентов с фенотипом СГХС в 2013 году.

Редкий вариант rs898106597 в 15-м экзоне гена *APOB* определен у пациента с уровнем ОХС 6,23 ммоль/л (241 мг/дл) и ХС-ЛНП – 4,26 ммоль/л (164,8 мг/дл). Частота редкого аллеля G по данным базы GnomAD составила 0,000005. Вариант отсутствует в базе данных ClinVar.

На следующем этапе в подгруппе обследованных с концентрацией ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л были проанализированы аллельные варианты генов, участвующих в регуляции липидного обмена и ассоциированные с различными формами и клиническими проявлениями гиперхолестеринемии (таблица 4).

У одного обследованного из группы с высокими значениями ХС-ЛНП при молекулярно-генетическом исследовании определен редкий патогенный вариант rs116928232 в гене *LIPA*. Данный синонимичный вариант приводит к потере экзона и снижает активность лизосомальной кислой липазы, способствуя развитию изменений липидного профиля. Концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности у данного обследуемого составила 4,22 ммоль/л (163 мг/дл), что соответствует значительному повышению уровня ХС-ЛНП. Согласно данным базы GnomAD, частота аллеля А для данного варианта составляет 0,00077.

Таблица 4 – Варианты в генах *ABCA1*, *LCAT*, *LIPA*, *LIPC*, *LPA* в группе с уровнем холестерина ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л

Номер позиции	Ген	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Частота редкого аллеля, GnomAD
rs116928232	<i>LIPA</i>	NM_000235.4 Exon 8 с. G894A	p.Q298Q (exon loss)	A = 0,00077
—	<i>ABCA1</i>	NM_005502 Exon 17 с.Т2518С:	p.W840R	—
—	<i>LIPC</i>	NM_000236 Exon 5 с.737_738insCG	p.G247Afs*12	—
rs199560940	<i>LCAT</i>	NM_000229 Exon 3 G382A	p.G128S	T = 0,000047
—	<i>LPA</i>	NM_005577 Exon 22 с.С3554А	p.T1185K	—

В нашем исследовании редкий патогенный вариант rs199560940 в 3-м экзоне гена *LCAT* определен у пациента с уровнем ОХС 7,39 ммоль/л (286 мг/дл) и ХС-ЛНП – 5,44 ммоль/л (210,4 мг/дл). Частота редкого аллеля по данным базы GnomAD составила 0,000047. Ген *LCAT* кодирует внеклеточный фермент этерификации холестерина – лецитин-холестеринацилтрансферазу, которая участвует в транспорте холестерина.

У лиц с гиперхолестеринемией ЛНП в генах *ABCA1*, *LIPC*, *LPA* был выявлен ряд редких вариантов с неизвестной клинической значимостью, требующих дальнейшего изучения. Данные варианты находятся в функционально значимых экзонах генов, ассоциированных с нарушениями липидного обмена.

Таким образом, у молодых участников исследования в возрасте 25–44 лет с выявленным повышением уровня холестерина липопротеинов низкой плотности были идентифицированы как редкие патогенные, так и новые, ранее не описанные в научной литературе и генетических базах данные варианты в генах, связанных с наследственными формами гиперхолестеринемии, а также в других локусах, влияющих на метаболизм холестерина.

Полученные результаты подчеркивают потенциал таргетного секвенирования как эффективного и доступного инструмента для раннего молекулярно-генетического выявления первичных форм гиперхолестеринемии у лиц молодого возраста. Применение данного подхода открывает возможности для своевременного начала персонализированной профилактики атеросклероза и предотвращения связанных с ним сердечно-сосудистых осложнений, обусловленных длительным воздействием повышенного уровня ХС-ЛНП на сосудистую стенку.

Группа с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности менее 2,1 ммоль/л. В нашем исследовании был определен редкий миссенс-вариант с.T2522C (p.L841P; NM_001101648) в 9-м экзоне гена *NPC1L1* у пациента с уровнем ОХС 4,21 ммоль/л (163 мг/дл) и ХС-ЛНП – 2,07 ммоль/л (79,8 мг/дл). Ген *NPC1L1* имеет решающее значение для всасывания холестерина через плазматическую мембрану энтероцитов кишечника. Выявленный вариант перспективен для дальнейшего изучения его ассоциации с нормальными и низкими значениями ХС-ЛНП.

Гетерозиготное носительство варианта rs11591147 в гене *PCSK9* было выявлено у одного участника из группы с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности менее 2,1 ммоль/л. В группе с уровнем ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л данный вариант не был обнаружен. В ранее опубликованных работах продемонстрировано, что аллель Т, может быть связан с более низкими значениями ХС-ЛНП.

У обследованных лиц с уровнем ХС-ЛНП $\leq 2,1$ ммоль/л был выявлен ряд доброкачественных вариантов нуклеотидной последовательности в генах *APOA4*, *STAP1*, *APOE*, которые не оказывают статистически значимого влияния на уровень ХС-ЛНП.

У обследованных лиц молодого возраста 25-44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\leq 2,1$ ммоль/л не выявлено редких патогенных вариантов в генах, ассоциированных с нарушением метаболизма холестерина. Обследованные лица с уровнем ХС-ЛНП $\leq 2,1$

ммоль/л отличаются от группы обследованных лиц молодого возраста 25-44 лет с гиперхолестеринемией ЛНП по спектру вариантов в генах липидного обмена.

Анализ вариантов в генах, ассоциированных с уровнем биомолекул адипокинового профиля. У мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска выполнен анализ ассоциации вариантов генов *ABCA1, ABCG5, ABCG8, ANGPTL3, APOA1, APOA4, APOA5, APOB, APOC2, APOC3, APOE, CETP, CYP7A1, HMGCR, LCAT, LDLR, LDLRAP1, LIPA, LIPC, LIPG, LMF1, LMNA, LPA, LPL, MTP, NPC1L1, PCSK9, PLIN1, PNPLA5, POLDI, PPARA, PPARG, SAR1B, SREBF1, STAP1*, а также генов адипокинов *ADIPOQ, APLN, APLNR, GCG, GHRL, GIP, GLP1R, INS, LEP, NAMPT, RETN*, с уровнем биомолекул адипокинового профиля: амилина, С-пептида, грелина, глюкозозависимого инсулиотропного полипептида, глюкагоноподобного пептида-1, глюкагона, интерлейкина-6, инсулина, лептина, MCP-1, панкреатического полипептида, пептида YY, фактора некроза опухолей α , адипонектина, адипсина, липокалина-2, ингибитора активатора пламиногена-1 и резистина. В результате проведенного анализа статистически значимых ассоциаций с распространенными вариантами в изученных генах выявлено не было ($p > 0,05$).

У лиц молодого возраста с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л были идентифицированы два редких варианта в гене *ADIPOQ*, кодирующем адипонектин.

В нашем исследовании у носителя гетерозиготного варианта p.G102R в третьем экзоне гена *ADIPOQ* (с.G304A, NM_004797) определен повышенный уровень адипонектина 105,1 мкг/мл, медиана 32,54.

У носителя гетерозиготного варианта во втором экзоне гена *ADIPOQ* p.G42A (с.G125C, NM_004797) определены повышенные значения уровня адипсина 13,1 мкг/мл, медиана 8,09, и липокалина-2 – 2090,5 нг/мл, медиана 320,20.

Функционально значимые варианты в данном гене могут быть причиной сниженного синтеза адипонектина. Концентрация адипонектина в крови, как правило, обратно коррелирует с массой тела и объемом висцеральной жировой ткани. Выявленные в нашем исследовании у лиц молодого возраста с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности $\geq 4,2$ ммоль/л в гене *ADIPOQ* варианты с неопределенной клинической значимостью – p.G102R и p.G42A – перспективны для дальнейшего изучения на популяционных и клинических выборках.

В четвертом экзоне гена *GIP* нами был выявлен редкий доброкачественный вариант с.A299C (p.E100A; NM_004123). У носителя данного варианта был определен уровень ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л и ожирение (ИМТ - 31,93 кг/м²). Ген *GIP* кодирует гормон инкретин, который регулирует секрецию инсулина и обеспечивает гомеостаз глюкозы в крови.

Применение клиничко-диагностических подходов в сочетании с таргетным секвенированием даёт возможность идентифицировать носителей редких патогенных вариантов в различных генах и проанализировать их вклад в формирование фенотипических признаков гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование оценивает распространённость и возможные патогенетические механизмы гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности у лиц 25–44 лет в г. Новосибирске.

Продемонстрирована высокая (55,1 % в группе мужчин и женщин; 60,6 % в группе мужчин; 50,5 % в группе женщин) встречаемость уровня ХС-ЛНП более 3 ммоль/л, превосходящая средние показатели по Российской Федерации.

Выявлены значимые половые различия в ассоциации между уровнем ХС-ЛНП и метаболическими гормонами, а также подтверждена ранее доказанная связь с параметрами углеводного обмена. Установлено, что у мужчин повышенный уровень ХС-ЛНП связан с увеличением концентраций С-пептида (ОШ = 3,290; $p = 0,019$) и липокалина-2 (ОШ = 1,005; $p = 0,006$), а у женщин – с повышением липокалина-2 (ОШ = 1,003; $p = 0,013$) и снижением уровня глюкагоноподобного пептида-1 (ОШ = 0,991; $p = 0,001$), что указывает на возможные половые различия в механизмах обменной регуляции. Данные изменения могут быть отражением ранних стадий формирования инсулинорезистентности и субвоспалительного процесса.

Кроме того, в исследуемой популяции выявлены редкие патогенные и вероятно патогенные варианты в генах, ассоциированных с липидным обменом, в частности, в генах *LDLR* (rs121908026, частота аллеля Т 0,000027) и *APOB* (rs12714097, частота аллеля Т = 0,0006; rs762035088, частота аллеля А = 0,000013; rs898106597, частота аллеля G = 0,000005), что подтверждает вклад наследственных факторов в развитие гиперхолестеринемии у молодых лиц. Эти данные подчеркивают необходимость более ранней генетической диагностики, так как вовлечение лиц с уровнями $\geq 4,2$ ммоль/л в дальнейший клинико-генетический скрининг может повысить выявляемость наследственных форм гиперхолестеринемии и способствовать профилактике сердечно-сосудистых заболеваний.

Полученные результаты подчеркивают важность ранней диагностики нарушений липидного и углеводного обмена у молодых пациентов. Данные исследования могут быть использованы для совершенствования программ первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, особенно в группе лиц с высоким кардиометаболическим риском.

ВЫВОДЫ

1. Частота гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности в возрастном диапазоне 25–44 лет составила 55,1 % в общей группе мужчин и женщин. У мужчин частота гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности в возрастном диапазоне 25–44 лет составила 60,6 %. У женщин частота гиперхолестеринемии липопротеинов низкой плотности в возрастном диапазоне 25–44 лет составила 50,5 %.

2. У мужчин 25–44 лет уровень холестерина липопротеинов низкой плотности $\geq 4,2$ ммоль/л прямо ассоциирован с уровнем С-пептида (ОШ = 3,290; $p = 0,019$) и липокалина-2 (ОШ = 1,005; $p = 0,006$). У женщин 25–44 лет шанс наличия уровня ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л прямо ассоциирован с уровнем липокалина-2 (ОШ = 1,003; $p = 0,013$)

и обратно ассоциирован с уровнем глюконоподобного пептида-1 (ОШ = 0,991; $p = 0,001$).

3. У молодых людей 25–44 лет с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности $\geq 4,2$ ммоль/л определяются редкие патогенные варианты в генах *LDLR* (rs121908026, частота аллеля Т 0,000027) и *APOB* (rs12714097, частота аллеля Т = 0,0006; rs762035088, частота аллеля А = 0,000013; rs898106597, частота аллеля G = 0,000005; NM_000384 с.А6200G р.Н2067R), и вероятно патогенные варианты в генах *ABCA1* (NM_005502 с.Т2518С р.В840R), *LCAT* (rs199560940, частота аллеля Т = 0,000047), *LIPA* (rs116928232, частота аллеля Т = 0,00077), *LIPC* (NM_00236 с.737_738insCG р.G247Afs*), *LPA* (NM_005577 с.С3554А р.Т1185К). У молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $< 2,1$ ммоль/л патогенных и вероятно патогенных вариантов не обнаружено.

4. У молодых людей 25–44 лет с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л определяются редкие варианты в генах (*ADIPOQ* р.G42A; *ADIPOQ* р.G102R) адипоцитокинов, которые ассоциированы с формированием метаболического фенотипа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Мужчинам и женщинам в возрастном диапазоне 25–44 лет, с уровнем ХС-ЛНП $\geq 4,2$ ммоль/л рекомендовано определение показаний в соответствии с диагностическими критериями Dutch Lipid Clinic Network для проведения молекулярно-генетического исследования.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Адипокины/цитокины и нарушения липидного обмена / А.Н. Спиридонов, А.Д. Худякова, Ю.И. Рагино // Атеросклероз. – 2022. – Т. 18. – № 2. – С. 157–164.
2. Ассоциации адипокинов и метаболических гормонов с гиперхолестеринемией липопротеинов низкой плотности у мужчин и женщин до 45 лет / Е.В. Каштанова, Я.В. Полонская, В.С. Шрамко, Л.В. Щербакова, Е.М. Стахнёва, Е.В. Садовский, А.Н. Спиридонов, Ю.И. Рагино // Кардиология. – 2022. – Т. 62. – № 11. – С. 63–70.
3. Ассоциации уровней в крови холестерина липопротеинов низкой плотности и биомолекул метаболических нарушений у молодых людей 25–44 лет / Е.В. Каштанова, Я.В. Полонская, Л.В. Щербакова, Е.М. Стахнёва, В.С. Шрамко, А.Н. Спиридонов, Ю.И. Рагино // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2023. – Т. 12. – № 3. – С. 152–160.
4. Гиперхолестеринемия в молодом возрасте / А.Н. Спиридонов, Ю.И. Рагино // Атеросклероз. – 2021. – Т. 17. – № 2. – С. 83–93.
5. Распространенность повышенного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности у мужчин и женщин 25–44 лет г. Новосибирска / А.Н. Спиридонов, Е.В. Каштанова, Л.В. Щербакова, Е.В. Шахтштейнер, Д.В. Денисова // Атеросклероз. – 2024. – Т. 20. – № 4. – С. 413–420.
6. Анализ вариантов в генах липидного обмена у лиц молодого возраста 25–44 лет с контрастными уровнями холестерина липопротеинов низкой плотности / А.Н.

Спиридонов, Д.Е. Иванощук, Е.В. Каштанова, Е.В. Шахтшнейдер // Атеросклероз. – 2025. Т.21, – № 3. – С.237–247.

Список сокращений:

ГПН	глюкоза в плазме натошак
ГПП 1	глюкагоноподобный пептид-1
ГИП	глюкозозависимый инсулинотропный полипептид
ИАП-1	ингибитор активатора плазминогена-1
ИР	инсулинорезистентность
ИЛ	интерлейкин
ОХС	общий холестерин
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
СГХС	Семейная гиперхолестеринемия
ТГ	триглицериды
ФНО- α	фактор некроза опухолей альфа
ХС-ЛНП	холестерин липопротеинов низкой плотности
ХС-ЛВП	холестерин липопротеинов высокой плотности
АРОА1	аполипопротеин А1
АРОА5	аполипопротеин А5
АРОС2	аполипопротеин С2
АРОЕ	аполипопротеин Е
АРОА4	аполипопротеин А4
АРОС3	аполипопротеин С3
АВСА1	АТР-связывающая кассета, представитель 1 подсемейства А
АВСГ5	АТР-связывающая кассета, представитель 5 подсемейства G
АВСГ8	АТР-связывающая кассета, представитель 8 подсемейства G
АРОD	аполипопротеин D
ANGPTL3	ангиопэтин 3 типа
СУР7А1	семейство цитохромов P450, представитель 1 подсемейства 7
СЕТР	белок переноса холестерилового эфира
ГИР	глюкозозависимый инсулинотропный полипептид
НMGCR	3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктаза
LDLR	рецептор липопротеинов низкой плотности
LDLRAP1	белок-адаптер рецептора липопротеинов низкой плотности
LPL	липопротеинлипаза
LCAT	лецитин-холестеролацилтрансфераза
LMF1	фактор созревания липазы
LIPA	липаза А
LIMA1	домен и актин-связывающий белок 1
LIPC	печёночный тип липазы С
LMNA	ламин
LPA	липопротеин А

LIPG	эндотелиальная липаза
MCP-1	моноцитарный хемотаксический фактор 1
MTTP	микросомальный белок-переносчик триглицеридов
NGAL	липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой
NPC1L1	NPC1- подобный внутриклеточный транспортер холестерина 1
PPAR α	альфа-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом
PYY	пептид YY
PP	панкреатический полипептид
PCSK9	пропротеинконвертаза 9-го субтилизин-кексинового типа
PNPLA5	пататиноподобная фосфолипаза 5
PPARG	рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма
POLD1	каталитическая субъединица ДНК-полимеразы дельта
PLIN1	перилипин А
STAP1	адаптер для преобразования сигнала, входящий в семейство 1
SREBF1	стероловый регуляторный фактор транскрипции 1