

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PCSK9 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ
ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ****Астракова К.С., Шахтштейдер Е.В., Иваношук Д.Е., Орлов П.С.,
Рагино Ю.И., Воевода М.И.***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины***Аннотация**

Семейная гиперхолестеринемия входит в число наиболее распространенных врожденных метаболических нарушений. Мутации генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* определяют развитие аутосомно-доминантной формы семейной гиперхолестеринемии. Ген *PCSK9* кодирует фермент пропротеин конвертазу субтилизин/кексिनотипа 9, участвующий в метаболизме липопротеинов низкой плотности (ЛНП) посредством пост-транскрипционной регуляции рецепторов ЛНП. Мутации «потери функции» гена *PCSK9* приводят к низкой деградации рецепторов к ЛНП и снижению уровня холестерина ЛНП (ХС-ЛНП). Мутации «усиления функции» снижают количество рецепторов к ЛНП в печени, что приводит к высокому уровню ХС-ЛНП в крови и повышенному риску ИБС.

Цель работы – выполнить анализ rs562556 и rs11591147 гена *PCSK9* в российской популяции и в популяционных подвыборках лиц с гипер- и гипохолестеринемиями; изучить ассоциацию белка *PCSK9* с rs562556 и rs11591147 гена *PCSK9* на популяционном уровне.

Материалы и методы: исследование выполнено на базе клинико-диагностического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины. Проведено генотипирование rs562556 и rs11591147 гена *PCSK9* в популяции; генотипирование rs562556 в подгруппе с гиперхолестеринемией; генотипирование rs11591147 в подгруппе с нормальными и низкими значениями уровня общего ХС. Подвыборки сформированы из репрезентативной выборки (9360 человек; 45-69 лет, средний возраст 53,8±7; мужчин и женщин 1:1) жителей города Новосибирска (международный проект «Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе» HAPIEE, руководители в РФ – академик РАМН Никитин Ю.П., проф., д.м.н. Малютина С.К.). Исследование одобрено этическим комитетом «НИИТПМ». Уровни липидов в плазме определяли с помощью стандартных ферментативных анализов. Генотипирование rs11591147 гена *PCSK9* было выполнено по оригинальной методике с использованием ПЦР-ПДРФ, с дальнейшим подтверждением методом прямого автоматического секвенирования. Генотипирование rs562556 гена *PCSK9* выполнено методом РТ-ПЦР с использованием наборов «Синтол» (Россия). Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows.

Астракова Ксения Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ», адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 264-25-16

Шахтштейдер Елена Владимировна, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ», к.м.н., адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 264-25-16, 2117409@mail.ru

Иваношук Динара Евгеньевна, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ», адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 264-25-16,

Орлов Павел Сергеевич, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ», адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 264-25-16,

Рагино Юлия Игоревна, зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ», д.м.н., профессор, адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 373-10-68

Воевода Михаил Иванович, директор «НИИТПМ», член-корр. РАМН, д.м.н., профессор, адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел./факс (383) 264-25-16

© Астракова К.С., Шахтштейдер Е.В., Иваношук Д.Е., Орлов П.С., Рагино Ю.И., Воевода М.И., 2016

Результаты: Анализ ассоциации rs562556 с показателями липидного профиля крови и уровнем белка PCSK9 показал, что данный полиморфизм не вносит существенный вклад в формирование гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Западной Сибири. Выявлена ассоциация мутации «потери функции» R46L (rs11591147) гена PCSK9 с уровнем ОХС в группе с нормальными и низкими значениями ОХС.

Заключение: впервые в России определена частота аллелей и генотипов rs562556 и rs11591147 гена PCSK9 в популяции и в популяционных подвыборках лиц с гипер- и гипохолестеринемиями. Частота аллелей и генотипов соответствует европеоидным популяциям Северной и Западной Европы. Выявлена статистически значимая ассоциация редкого аллеля T rs11591147 с низким уровнем ОХС.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-01594.

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия, ген пропротеин конвертазы субтилизин кексин тип 9, популяция

ВВЕДЕНИЕ

Атеросклероз – одна из основных причин, лежащих в основе сердечно-сосудистых заболеваний – является воспалительной реакцией в стенках артерий вследствие прогрессивного накопления липидных и фиброзных отложений в сосудистой стенке [1]. Многочисленные эпидемиологические исследования представили бесспорное доказательство того, что гиперхолестеринемия (ГХС) и повышенный уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) в крови положительно коррелирует с риском развития атеросклероза, ишемической болезни сердца (ИБС), которая, в свою очередь, является основной причиной заболеваемости и смертности в мире [2].

Семейная гиперхолестеринемия (СГ) – распространенное доминантно наследуемое заболевание человека [3]. Заболевание обусловлено группой генетических дефектов, которые приводят к снижению скорости удаления липопротеинов низкой плотности (ЛНП) из крови. *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* – гены, мутации которых определяют фенотип аутосомно-доминантной семейной гиперхолестеринемии. Мутации в гене рецептора липопротеинов низкой плотности (*LDLR*) являются причиной СГ в 79-85 % случаев, мутации гена аполипопротеина В (*APOB*) – в 5-7 % случаев, мутации гена пропротеин конвертазы субтилизин/кексин тип 9 (*PCSK9*) определяются менее, чем у 5 % пациентов с СГ [4, 5]. Несмотря на это, *PCSK9* играет фундаментальную роль в метаболизме ЛНП посредством пост-транскрипционной регуляции рецепторов ЛНП [6]. Фермент пропротеин конвертаза субтилизин/кексинового типа 9, кодируемый геном *PCSK9*, взаимодействуя с рецепторами ЛНП на поверхности гепатоцита, приводит к интернализации этого комплекса и лизосомальной деградации, в следствие чего повышается уровень ЛНП в крови [7].

Ген пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (proprotein convertase, subtilisin/kexin-type, 9 или *PCSK9*) находится на коротком плече хромосомы 1 в положении 1p32.3, состоит из 12 экзонов, включает 3617 пар оснований и кодирует

белок из 692 аминокислот [8]. Ассоциация *PCSK9* и уровня холестерина ЛНП обусловлена генетической вариабельностью гена *PCSK9*. Существует более 50 аминокислотных вариантов *PCSK9*, влияющих на уровень общего холестерина (ОХС) крови [9]. В 2003 г Abifadel М. и соавт. была открыта первая мутация в гене пропротеин конвертазы субтилизин кексин тип 9 (*PCSK9*). Известно более 75 мутаций, вызывающих развитие аутосомно-доминантной семейной гиперхолестеринемии, мутации встречаются во всех 12 экзонах гена. Мутации в гене *PCSK9* обладают разнонаправленным действием на уровень холестерина липопротеинов низкой плотности, приводя к повышению или снижению средних значений холестерина липопротеинов низкой плотности в крови. По отношению к результату их функции они могут быть разделены на две группы – мутации усиления функции (“gain-of-function”) и мутации потери функции (“loss-of-function”). С помощью клеточных и животных моделей было показано, что мутации типа “gain-of-function” в *PCSK9* снижают количество рецепторов к ЛНП в печени, приводя к высокому уровню холестерина ЛНП в крови и повышенному риску ИБС [10], и являются причиной развития редкой формы аутосомно-доминантной семейной гиперхолестеринемии [9].

Полиморфизм I474V (rs562556) в большинстве популяций не связан с какими-либо изменениями в концентрации ХС-ЛНП [11]. С другой стороны, в популяции Японии данный полиморфизм был ассоциирован с увеличением ОХС и ХС-ЛНП [12]. В исследовании Parnell L.D., 2010 полиморфизм I474V отмечен, как один из трех потенциально функциональных полиморфизмов гена *PCSK9*, что требует его дальнейшего изучения [13].

Вариант R46L (rs11591147) гена *PCSK9* связан со снижением уровня ХС-ЛНП на 9%-15% и снижением на 47% риска развития ИБС [14]. Данный вариант также может быть выявлен у лиц с нормо- или гиперхолестеринемией, вследствие совокупности действия других генетических и средовых факторов, влияющих на уровень холестерина [9; 15].

Полиморфные варианты гена PCSK9, ассоциированные с семейной гиперхолестеринемией, вносят значительный вклад в метаболизм холестерина и требуют изучения их клинического потенциала в различных популяциях мира [16].

Цель работы — выполнить анализ rs562556 и rs11591147 гена PCSK9 в российской популяции и в популяционных подвыборках лиц с гипер- и гипохолестеринемиями; изучить ассоциацию белка PCSK9 с rs562556 и rs11591147 гена PCSK9 на популяционном уровне.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе клинично-диагностического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины. Одномоментное эпидемиологическое обследование взрослого населения проведено в двух административных районах г. Новосибирска (Западная Сибирь). Состав жителей обследованных районов типичен для г. Новосибирска по национальному, возрастному составу и занятости населения. Основная репрезентативная выборка 9360 человек, возраст 45-69 лет, средний возраст $53,8 \pm 7$ сформирована с помощью таблицы случайных чисел из жителей г. Новосибирска. Обследование выполнено в рамках Международного многоцентрового проекта «Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе» НАРПЕЕ (головной центр в г. Лондон (Великобритания), принципиальные исследователи в Новосибирске (Россия) — академик РАНН Никитин Ю.П. и профессор д.м.н. Малютин С.К.). В этническом отношении подавляющую часть обследованных составили европеоиды (>90%). Исследование одобрено этическим комитетом «НИ-ИТПМ». От каждого пациента получено информированное согласие на обследование.

Обследование проводилось бригадой врачей по стандартным методикам и проходило в специально оборудованных центрах (кабинеты регистрации обследуемых, кабинет для заполнения анкет, кабинеты специалистов (терапевт, кардиолог, гастроэнтеролог,

невропатолог, диетолог), процедурный кабинет, кабинет функциональных методов обследования и антропометрии).

Для изучения наследственных нарушений липидного обмена из основной выборки были отобраны методом случайных чисел 3 группы, контрастные по среднему уровню ОХС. Соотношение мужчин и женщин в группах 1:1. Различия в уровне ОХС между группами статистически значимые (табл. 1).

При анализе полиморфизма гена PCSK9 пациенты, которым проводилась липидснижающая терапия, были исключены из анализа.

Забор крови из локтевой вены проводили утром натощак. Показатели липидного профиля крови — ОХС, триглицериды (ТГ), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП) — измеряли энзиматическими методами с использованием стандартных реактивов Biocon Fluitest (Германия) на биохимическом анализаторе «Labsystem FP-901» (Финляндия). ХС-ЛНП рассчитывали по формуле Фридвалда. Индекс атерогенности (ИА) рассчитывали по формуле: $ИА = (ОХС - ХС-ЛВП) / ХС-ЛВП$. Методами иммуноферментного анализа в крови определяли уровень белка PCSK9, используя тест-системы «Human Proprotein Convertase 9/PCSK9 Immunoassay» (R&D Systems, USA).

Выделение ДНК из крови проводили с использованием метода фенол-хлороформной экстракции. Полученную ДНК хранили в замороженном виде при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Генотипирование rs11591147 гена PCSK9 было выполнено по оригинальной методике с использованием ПЦР-ПДРФ. Генотипирование rs562556 гена PCSK9 выполнено методом РТ-ПЦР с использованием наборов «Синтол» (Россия).

При статистическом анализе данных тест на соблюдение равновесия Харди-Вайнберга рассчитывали с использованием критерия χ^2 . Оценку различий средних значений количественных показателей между разными генотипами проводили после стандартизации по полу, возрасту и индексу массы тела в модели «GLM» лицензионного пакета статистических программ SPSS for Windows.

Таблица 1

Показатели среднего уровня общего ХС, ХС-ЛВП, ТГ, ХС-ЛНП, глюкозы, ИМТ в группах

	Высокий ОХС Группа 1 (n=304)	Низкий ОХС Группа 2 (n=311)	Популяция Группа 3 (n=319)	Различия между группами
ОХС, мг/дл	401,3 \pm 5,1	141,7 \pm 5,1	237,9 \pm 5,2	1-2-3 p<0,000
ХС-ЛВП, мг/дл	59,3 \pm 1,4	49,9 \pm 1,4	58,9 \pm 1,4	2-1,3 p<0,000
ТГ, мг/дл	266,3 \pm 11,5	89,8 \pm 11,3	134,6 \pm 11,5	3-2 p<0,020 3-1 p<0,000
ХС-ЛНП, мг/дл	221,7 \pm 5,1	51,6 \pm 5,0	117,9 \pm 5,1	1-2-3 p<0,000
ИМТ, кг/м ²	28,7 \pm 0,6	27,3 \pm 0,6	29,2 \pm 0,6	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	6,8 \pm 0,2	5,5 \pm 0,2	5,8 \pm 0,2	1-2 p<0,000 1-3 p<0,003

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота аллелей и генотипов rs562556 и rs11591147 гена PCSK9

Выполнен анализ полиморфизма V474I, 1420G>A, (rs562556) гена PCSK9 в европеоидной популяции Западной Сибири и группе с высоким ОХС (таблица 2). Частота генотипов в популяции соответствует теоретически ожидаемой и находится в равновесии Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,024$). Частота редкого аллеля G в группе с гиперхолестеринемией статистически значимо не отличается от популяционной группы.

Частота редкого аллеля G полиморфизма V474I в странах мира отличается между популяциями и составляет в популяциях Европы 13-18%, популяциях Японии и Китая 0-0,6%, популяциях Африки до 29%. Европеоидная популяция Западной Сибири по частоте редкого аллеля G статистически значимо не отличается от европеоидных популяций Европы.

Выполнен анализ мутации R46L, G>T, (rs11591147) гена PCSK9 в европеоидной популяции Западной Сибири и группе с нормальными и низки-

ми значениями ОХС (табл. 4). В популяции в 100% случаев определены гомозиготы по дикому типу rs11591147. Частота редкого аллеля T в группе с нормальными и низкими значениями ОХС несколько выше, чем в популяции, однако различия не достигают уровня статистической значимости.

Частота редкого аллеля T мутации R46L в различных популяциях мира составляет 0,1-1%. В европеоидной популяции Западной Сибири частота редкого аллеля T соответствует другим популяциям.

Ассоциация rs562556 и rs11591147 гена PCSK9 с липидными показателями крови и уровнем белка PCSK9

Анализ V474I (rs562556) гена PCSK9 с показателями липидного профиля крови в европеоидной популяции Западной Сибири не выявил статистически значимых различий между генотипами (табл. 4). Гендерных различий ассоциации rs562556 с ОХС, ТГ, ХС-ЛВП и ХС-ЛНП не наблюдается.

При анализе ассоциации rs562556 гена PCSK9 с показателями липидного профиля крови в группе с гиперхолестеринемией не выявлено статистически значимых различий между генотипами (табл. 5).

Таблица 2

Частота аллелей и генотипов rs562556 гена PCSK9 в европеоидной популяции Сибири и группе с высоким ОХС

	Популяция	Высокий ОХС
Аллели		
A	85,9%	86,8%
G	14,1%	13,2%
Генотипы		
AA (n)	73,6% (195)	74,6% (206)
AG (n)	24,5% (65)	24,3% (67)
GG (n)	1,9% (5)	1,1% (3)

Таблица 3

Частота аллелей и генотипов rs11591147 гена PCSK9 в европеоидной популяции Западной Сибири и группе с нормальными и низкими значениями ОХС

	Популяция	Низкий ОХС
Аллели		
G	100%	99,6%
T	0%	0,4%
Генотипы		
GG (n)	100% (252)	99,2% (257)
GT (n)	0% (0)	0,8% (2)
TT (n)	0% (0)	0% (0)

Таблица 4

Уровни общего ХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, ТГ крови (мг/дл) и индекс атерогенности для генотипов rs562556 гена PCSK9 в популяции

Генотипы	ОХС	ХС-ЛВП	ХС-ЛНП	ТГ	Индекс атерогенности
AA	237±3,2	60±1,1	123±2,8	119±4,2	2,7±0,1
AG	237±5,6	61±1,9	117±4,9	130±7,3	2,6±0,2
GG	201±19,3	66±6,5	84±17,1	110±25,2	1,6±0,5
(p)	0,176	0,584	0,064	0,371	0,134

Примечание: данные представлены как M±σ, p – уровень статистической значимости данного фактора в общей факторной модели

Таблица 5

Уровни общего ХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, ТГ крови (мг/дл) и индекс атерогенности для генотипов rs562556 гена PCSK9 в группе с гиперхолестеринемией

Генотипы	ОХС	ХС-ЛВП	ХС-ЛНП	ТГ	Индекс атерогенности
AA	351±4,1	64±1,3	192±4,1	210±9,4	4,5±0,2
AG	359±7,1	63±2,2	203±7,2	201±16,4	4,5±0,3
GG	326±32,2	73±10,2	149±39,9	369±74,4	3,1±1,3
(p)	0,483	0,627	0,199	0,091	0,551

Уровень белка PCSK9 и генотипы rs562556 определены у 41 пациента группы с гиперхолестеринемией (из них 34 пациента – гомозиготы по дикому типу, 6 – гетерозиготы и 1 пациент – гомозигота по редкому аллелю), а также у 41 пациента из популяционной группы (из них 32 пациента – гомозиготы по дикому типу, 8 – гетерозиготы и 1 пациент – гомозигота по редкому аллелю). В группе пациентов гомозигот по дикому типу rs562556 (n=66) среднее значение белка PCSK9 составило 142,9±6,8 мг/дл. В группе пациентов гетерозигот rs562556 (n=14) среднее значение белка PCSK9 составило 158,5±14,9 мг/дл. Гомозиготы по редкому аллелю (n=2) rs562556 имели средний уровень белка PCSK9 160,4±39,5 мг/дл. Различия между генотипами в уровне белка PCSK9 статистически не значимо (p=0,601).

В группе с нормальными и низкими значениями ОХС выполнен анализ ассоциации мутации R46L (rs11591147) гена PCSK9 с показателями липидного профиля крови. Выявлена статистически значимая ассоциация редкого аллеля Т с низким уровнем ОХС (табл. 6). Подобный характер ассоциации для данной мутации определяется и в других популяциях мира [9, 14].

Уровень белка PCSK9 и генотипы rs11591147 определены у 9 пациентов из популяционной группы, 7 пациентов из группы с низкими и нормальными значениями ОХС и у одного пациента из группы гиперхолестеринемии, все 17 пациентов гомозиготы по дикому типу со средним уровнем белка PCSK9 111,8±9,5 мг/дл и уровнем ОХС 172,8±8,7 мг/дл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в России определена частота аллелей и генотипов rs562556 и rs11591147 гена PCSK9 в популяции и в популяционных подвыборках лиц с гипер- и гипохолестеринемиями. Частота аллелей и генотипов

соответствует европеоидным популяциям Северной и Западной Европы.

Анализ ассоциации rs562556 с показателями липидного профиля крови и уровнем белка PCSK9 показал, что данный полиморфизм не вносит существенный вклад в формирование гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Западной Сибири.

Выявлена ассоциация мутации «потери функции» R46L (rs11591147) гена PCSK9 с уровнем ОХС в группе с нормальными и низкими значениями ОХС. Лица с мутациями потери функции PCSK9 имеют низкую концентрацию ЛНП на протяжении всей жизни, что снижает заболеваемость ИБС [14; 17].

Секвенирование гена PCSK9 проводится для определения мутаций «усиления функции» при диагностике аутосомно-доминантной формы СГ. Коррекция уровня PCSK9 в крови является одним из перспективных направлений для лечения гиперхолестеринемии и профилактики развития ИБС. Для России актуально развитие исследований гена PCSK9 с целью изучения популяционной специфичности вклада PCSK9 в формирование семейной гиперхолестеринемии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 2002, 420(6917):868–874.
- Roger V.L., Go A.S., Lloyd-Jones D.M. et al. Heart Disease and Stroke Statistics - 2011 Update: a report from the American Heart Association. // *Circulation*, 2011; 123: e18–e209.
- Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolaemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004;160:407–20.

Таблица 6

Уровни общего ХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, ТГ крови (мг/дл) и индекс атерогенности для rs11591147 гена PCSK9 в группе с нормальными и низкими значениями ОХС

Генотипы	ОХС	ХС-ЛВП	ХС-ЛНП	ТГ	Индекс атерогенности
GG	174±1,5	53,8±0,7	74±1,5	101±2,3	1,9±0,1
GT	141±16,9	42,6±8,2	56±17,6	92±26,0	1,8±0,6
TT	-	-	-	-	-
(p)	0,05*	0,173	0,318	0,735	0,857

4. Humphries S.E., Whittall R.A., Hubbart C.S., Maplebeck S. et al. Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. *J MedGenet.* 2006; 43 (12):943-949.
5. Marduel M., Carrié A., Sassolas A., Devillers M., Carreau V., Di Filippo M., Erlich D., Abifadel M., Marques-Pinheiro A., Munnich A., Junien C., The French ADH Research Network, Boileau C., Varret M. and Rabès J.P. Molecular Spectrum of Autosomal Dominant Hypercholesterolemia in France. *HUMAN MUTATION Mutation in Brief* 31: E1811-E1824 (2010) Online.
6. Poirier S, Mayer G, Poupon V, et al. Dissection of the endogenous cellular pathways of PCSK9-induced low density lipoprotein receptor degradation: evidence for an intracellular route. *J Biol Chem.* 2009; 284(42):28856–28864.
7. В. В. Кухарчук, С. С. Бажан Пропропротеин конвертаза субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) – регулятор экспрессии рецепторов липопротеинов низкой плотности. *Атеросклероз и Дислипидемии* 2013 №2 (11), стр. 19-26. (V. V. Kukharchuk, S. S. Bajan Proprotein convertase subtilisin/keksin type 9 (PCSK9) - control the expression of low density lipoprotein receptor. *The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias* 2013 №2 (11), p. 19-27).
8. Abifadel, M., Varret, M., Rabès, J.-P., Allard, D., Ouguerram, K., Devillers, M., Cruaud, C., Benjannet, S., Wickham, L., Erlich, D., Derre, A., Vileger, L., and 14 others. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature Genet.* 34: 154-156, 2003.
9. Abifadel M., Rabès J.P., Devillers M. et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat* 2009; 30:520–529.
10. R. Schulz, K.-D. Schluter, U. Laufs Molecular and cellular function of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). *Basic Res Cardiol* 2015; 110:4.
11. Kotowski I. K., Pertsemliadis A., Luke A., Cooper R. S., Vega G. L., Cohen J. C., Hobbs H. H. 2006. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. *Am. J. Hum. Genet.* 78: 410–422
12. Parnell LD, Lee YC, Lai CQ. Adaptive genetic variation and heart disease risk. *Curr Opin Lipidol.* 2010 Apr;21(2):116-22.
13. Shioji K, Mannami T, Kokubo Y, Inamoto N, Takagi S, Goto Y, et al. Genetic variants in PCSK9 affect the cholesterol level in Japanese. *J Hum Genet* 2004;49(2):109-114.
14. Humphries SE, Neely RDG, Whittall RA, Trout JS, Konrad RJ, Scartezini M, et al. Healthy individuals carrying the PCSK9 p.R46L variant and familial hypercholesterolemia patients carrying PCSK9 p.D374Y exhibit lower plasma concentrations of PCSK9. *Clin Chem.* 2009;55:2153–61.
15. Seidah N.G. The Proprotein Convertases, 20 Years Later. M. Mbikay, N.G. Seidah (eds.), *Proprotein Convertases Chapter 3, Methods in Molecular Biology* 768, 2011: 23-57.
16. M. Abifadel, S. Elbitar, P. El Houry, Y. Ghaleb, M. Ch maly, M-L. Moussalli, J-P. Rabès, M. Varret, C. Boileau Living the PCSK9 Adventure: from the Identification of a New Gene in Familial Hypercholesterolemia Towards a Potential New Class of Anticholesterol Drugs. *CurrAtheroscler Rep* (2014) 16:439.
17. Postmus I, Trompet S, de Craen AJ, Buckley BM, Ford I, Stott DJ, Sattar N, Slagboom PE, Westendorp RG, Jukema JW. PCSK9 SNP rs11591147 is associated with low cholesterol levels but not with cognitive performance or noncardiovascular clinical events in an elderly population. *J Lipid Res.* 2013 Feb;54(2):561-6.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM IN PCSK9 GENE WITH LIPID PROFILE IN RUSSIAN POPULATION

Astrakova K.S., Shakhshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Orlov P.S., Ragino Yu.I., Voevoda M.I.

Federal State Budgetary of Scientific Institution “Institution of Internal and Preventive Medicine”

Summary

Background and aims: mutations in LDLR, APOB, PCSK9 genes determine the development of autosomal dominant forms of familial hypercholesterolemia. The PCSK9 gene encodes an enzyme involved in the metabolism of low density lipoprotein (LDL) by post-transcriptional regulation of the LDL receptors. Purpose: to perform analysis of PCSK9 rs562556, rs11591147 in Russian population and the population sub-samples of persons with hyper- and hypocholesterolemia; to investigate the PCSK9 protein association with rs562556, rs11591147 the PCSK9 gene at the population level.

Materials and methods: genotyping rs562556 in the PCSK9 was carried out in a population and in the subgroup with hypercholesterolemia; genotyping rs11591147 was carried out in a population and in the subgroups with normal and low level of total cholesterol. Subgroups were included in the analyses in the HAPIEE project framework (9360 participants, 45-69 years old, 50% men). Blood lipid levels were determined using standard enzymatic assays. Genotyping of the PCSK9 rs11591147 was performed using PCR-RFLP and then confirmed by direct sequencing. Genotyping of the PCSK9 rs562556 was performed by RT-PCR using sets of "Syntol" (Russia).

Results: Analysis of rs562556 association with lipid profile and PCSK9 protein blood levels showed these polymorphisms do not significantly contribute to forming hypercholesterolemia in Caucasian populations of Western Siberia. "Loss of function" mutation R46L (PCSK9 rs11591147) association with total cholesterol levels in the group with normal and low levels of total cholesterol was revealed.

Conclusion: The PCSK9 rs562556, rs11591147 alleles and genotypes frequency in the population and in the population subgroups with hyper- and hypocholesterolemia were determined for the first time in Russia. The Caucasian population of West Siberia does not significantly differ from populations of Europe by alleles and genotypes frequencies. A statistically significant association of the rare T allele of rs11591147 with low total cholesterol was determined.

Reported study was supported by RFBR, research project №14-04-01594.

Key words: familial hypercholesterolemia, proprotein convertase subtilisin/kexin 9 gene, population

*Статья поступила 27 мая 2016 г.
Принята в печать 30 мая 2016 г.*