

Уровень PCSK9 в семьях пациентов с семейной гиперхолестеринемией

Мешков А.Н.*, Калинина М.В., Ершова А.И.*, Косенков Е.И., Щербак Н.В., Рожкова Т.А., Масенко В.П., Кухарчук В.В., Бойцов С.А.*

ФГБУ РКНИК МЗиСР РФ; *ФГБУ ГНИЦИМ МЗиСР РФ

Абстракт

Протеин конвертаза субтилизин/кексин тип 9 (PCSK9) – ключевое звено в регуляции обмена липидов крови за счет непосредственного участия в деградации рецепторов ЛПНП (LDLR). Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – наследственное аутосомно-доминантное заболевание, вызываемое в большинстве случаев мутациями гена LDLR и характеризующееся высоким содержанием в плазме крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ХСЛПНП).

Цель: Изучение плазменного уровня PCSK9 и его корреляций с уровнем липидов крови, СРБ, фибриногена, гомоцистеина и фибриногена крови у больных СГХС, не получающих гиполипидемическую терапию, и их здоровых родственников.

Материал и методы. Проведено сравнение уровня PCSK9 у 60 пациентов с диагнозом СГХС (59 пациентов с гетерозиготной формой, 1 пациентка с гомозиготной формой) и 29 здоровых родственников 1 и 2 степени родства, у которых диагноз СГХС был исключен. В исследование включались пациенты, которые на момент обследования не принимали гиполипидемическую терапию в течение как минимум 3 месяцев. Уровень PCSK9 определяли в плазме крови иммуноферментным методом. Данные представлены в виде медианы (25–75 процентиля).

Результаты. Показано, что уровень PCSK9 плазмы крови был достоверно повышен в группе больных СГХС [258,77 (221,67–299,17) нг/мл] по сравнению с их здоровыми родственниками [193,83 (166,44–220,29) нг/мл, $p < 0,001$] и что он коррелировал с возрастом ($r = 0,22$, $p = 0,049$), уровнем общего ХС ($r = 0,55$, $p < 0,001$), ХСЛПНП ($r = 0,51$, $p < 0,001$), триглицеридов ($r = 0,3$, $p = 0,006$) и фибриногена ($r = 0,3$, $p = 0,01$).

Заключение: PCSK9 – новый плазменный маркер, отражающий степень нарушения липидного обмена у больных СГХС.

Ключевые слова: PCSK9, семейная гиперхолестеринемия.

The level of PCSK9 in patients with familial hypercholesterolemia

Meshkov A.N. *, Kalinin M.V., Ershov A.I.*, Kosenkov E., Shcherbakova N.V., Rozhkov T.A., Masenko V.P., Kuharchuk V.V., Boitsov S.A. *

Abstract

Aim: Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) is a key regulator of lipids metabolism by its ability to facilitate the degradation of LDL receptor (LDLR). Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal codominant inherited disorder caused in most cases a mutation in the gene coding for the LDLR and characterized by very high plasma concentrations of low density lipoprotein cholesterol (LDLc). We studied the levels of PCSK9 and its correlation with the lipids, C-reactive protein, homocysteine and fibrinogen in untreated FH patients and their first-degree and second-degree relatives without FH.

Materials and Methods: We compared the PCSK9 levels in 60 FH patients (59 patients with heterozygous form FH, one patient with homozygous form FH) and 29 healthy relatives of 1 and 2 degree relatives, without FH. All patients with FH did not take lipid-lowering therapy 3 months or more. The level of PCSK9 in plasma were determined by ELISA. Data are presented as median (25 – 75 percent).

Results: We show that the PCSK9 level was significantly higher in FH patients 258,77 (221,67–299,17) ng/ml compared to their healthy relatives 193,83 (166,44–220,29) ng/ml ($p < 0,001$) and that it correlated with age ($r = 0,22$, $p = 0,049$), total cholesterol ($r = 0,55$, $p < 0,001$), LDLc ($r = 0,51$, $p < 0,001$), triglycerides ($r = 0,3$, $p = 0,006$) and fibrinogen ($r = 0,3$, $p = 0,01$).

Conclusion: PCSK9 new, potentially promising plasma marker that reflects the degree of lipid metabolism in FH patients

Key words: PCSK9, familial hypercholesterolemia.

Пропротейн конвертаза субтилизин/кексин тип 9 (PCSK9) – ключевое звено в регуляции обмена липидов крови. PCSK9 непосредственно участвует в деградации рецепторов-ЛПНП (LDLR), рецепторов-ЛПОНП (VLDLR) и рецепторов- к аполипопротеину Е 2 типа (АpoER2). Главным образом PCSK9 экспрессируется в тканях печени, а также кишечнике и почках [1,2]. Мутации гена PCSK9 связаны с развитием как семейной гиперхолестеринемии (СГХС) (мутации повышающие активность гена), так и с развитием семейной гипобеталипопротеинемии (мутации, приводящие к снижению функции гена) [3,4]. В то же время отсутствует четкая корреляция между уровнем PCSK9 в плазме крови и уровнем ХС ЛПНП у носителей мутаций гена PCSK9, приводящих к развитию СГХС [5]. Данные о корреляции плазменного уровня PCSK9 с показателями липидов в популяционных исследованиях также противоречивы [6]. Целью нашего исследования было изучение плазменного уровня PCSK9 и его корреляций с уровнем липидов крови, С-реактивного белка, гомоцистеина и фибриногена крови у больных СГХС, не получающих гиполипидемическую терапию, и их здоровых родственников.

Материалы и методы

В исследование включались пациенты с клиническим диагнозом "семейная гиперхолестеринемия", которые на момент обследования не принимали гиполипидемическую терапию в течение как минимум 3 месяцев, и их родственники 1 и 2 степени родства, у которых диагноз СГХС был исключен. Диагноз "семейная гиперхолестеринемия" устанавливали на основании критериев, учитывающих уровень холестерина низкой плотности (ХС-ЛПНП) в плазме крови, наличие ксантом, раннее развитие сердечно-сосудистого заболевания у исследуемого пациента и семейный анамнез гипер-

холестеринемии, ксантоматоза и ранних сердечно-сосудистых заболеваний [7].

Забор крови проводили после 12-часового голодания. Уровни общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), С-реактивного белка (СРБ) и липопротеина (а) [Лп(а)] определяли с помощью автоматического анализатора Architect C8000 (Abbott, США), уровень гомоцистеина – с помощью иммунофлюоресцентного анализатора AxSym (Abbott, США), фибриногена – с помощью коагулометрического анализатора ACL ELife Pro (IL, Италия). Уровень PCSK9 определяли в плазме крови иммуноферментным методом (Human Proprotein Convertase 9 Immunoassay Kit, R&D Systems, Inc.).

Для статистического анализа была использована программа Statistica 6.0. Так как большинство сравниваемых признаков не имели нормального распределения, все данные представлены в виде медианы, 25 и 75 процентилей, а различия между группами выявляли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки взаимосвязи признаков использовался метод ранговой корреляции по Спирмену.

Результаты

В исследование было включено 59 пациентов с диагнозом СГХС гетерозиготная форма, 1 пациентка с диагнозом СГХС, гомозиготная форма и 29 здоровых родственников 1 и 2 степени родства, у которых диагноз СГХС был исключен. Пациенты в группах исследования были сопоставимы по возрасту 45,5 (27,5-57,5) лет и 37,0 (28,0-45,0) лет соответственно в основной и контрольной группах ($p=0,08$, табл. 1). Группы сравнения также статистически не отличались по уровню ХС-ЛПВП, СРБ, Лп(а) и гомоцистеина. В то же время в группе боль-

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов.

Показатели	Больные (n=60)	Здоровые (n=29)	p
Возраст, лет	45,5 [27,5- 57,5]	37,0 [28,0-45,0]	0,08
ХС, моль/л	8,0 [7,3-10,1]	5,0 [4,6-5,1]	<0,001
ТГ, моль/л	1,12 [0,8-1,8]	0,78 [0,6-1,1]	0,0038
ЛПНП, моль/л	6,0 [5,1-7,9]	2,9 [2,7-3,4]	<0,001
ЛПВП, моль/л	1,5 [1,3-1,7]	1,4 [1,2-1,7]	0,42
Лп(а), мг/дл	12,0 [5,5-25,1]	8,4 [4,4-19,5]	0,22
СРБ, (мг/дл)	0,16 [0,07-0,33]	0,1 [0,04-0,2]	0,12
Гомоцистеин, мкмоль/л	11,88 [9,92-14,28]	11,38 [9,85-12,81]	0,84
Фибриноген, г/л	3,34 [2,97-3,78]	3,0 [2,6-3,31]	0,0064
PCSK9, нг/мл	258,77 [221,67-299,17]	193,83 [166,44-220,29]	<0,001



ных по сравнению с контрольной группой были достоверно выше уровень ОХ, ХС-ЛПНП, ТГ и фибриногена. Уровень PCSK9 также достоверно был выше в группе пациентов с СГХС 258,77 (221,67-299,17) нг/мл, чем в контрольной группе 193,83 (166,44-220,29) нг/мл. При этом у пациентки 22 лет с гомозиготной формой СГХС отмечался максимальный в данном исследовании уровень PCSK9 461,13 нг/мл. Уровень PCSK9 умеренно коррелировал с уровнем ОХ, ТГ, ХС-ЛПНП, фибриногена и слабо коррелировал с возрастом (Таб.2).

Таблица 2. Корреляция уровня PCSK9 с уровнем липидов, СРБ, гомоцистеина и фибриногена крови в семьях больных СГХС.

Показатели	r	p
Возраст	0,22	0,049
ХС	0,55	<0,001
ТГ	0,3	0,006
ЛПНП	0,51	<0,001
ЛПВП	0,19	0,09
Lp(a)	0,14	0,21
СРБ	0,21	0,05
Гомоцистеин	-0,007	0,95
Фибриноген	0,3	0,01

Обсуждение

Пропротейн конвертаза субтилизин/кексин тип 9 (PCSK9) – новый плазменный маркер, широко изучаемый в липидологии и кардиологии. Впервые связь PCSK9 с нарушениями липидного обмена была выявлена у больных с СГХС. В 2003 году был выявлен новый ген PCSK9, мутация которого приводила к развитию семейной гиперхолестеринемии [8]. В популяционных исследованиях среди разных этнических групп показана корреляция плазменного уровня PCSK9 с показателями ОХ, ТГ, ХС-ЛПНП [6]. В то же время ни в одном исследовании не показана корреляция плазменного уровня PCSK9 с уровнем ХС ЛПВП. У больных СГХС с мутациями в гене PCSK9, повышающими функцию гена, не отмечается четкой корреляции плазменного уровня PCSK9 с типом мутации. В то же время при мутациях со сниженной функцией гена (R46L, Y142X или S679X), вызывающих гипохолестеринемия, имеется достоверная корреляция плазменного уровня PCSK9 с типом мутации независимо от уровня ХС ЛПНП [5,9]. Этот факт может объясняться повышением аффинности PCSK9 к LDLR и ускорением деградации LDLR, а не простым увеличением уровня PCSK9 при мутациях, повышающих функцию гена.

Изучение уровня PCSK9 у больных СГХС с мутациями в генах LDLR и APOB ранее не проводилось.

Данная работа впервые в России показала различия плазменного уровня PCSK9 у больных СГХС и их здоровых родственников. Уровень PCSK9 умеренно коррелировал с уровнем ОХ, ТГ, ХС-ЛПНП и слабо коррелировал с возрастом, что совпадает с данными популяционных исследований. Как и ранее было показано [6], мы также не выявили корреляции плазменного уровня PCSK9 с ХС-ЛПВП. Хотя в данной работе мы не проводили генетического подтверждения диагноза СГХС, можно предположить, что большинство наших больных имели мутации только в генах LDLR и APOB, так как в российской популяции не описаны мутации в гене PCSK9, а только мутации в генах LDLR и APOB [10,11]. Повышение уровня PCSK9 у больных с СГХС с мутациями генов LDLR или APOB носит вторичный характер и может быть объяснено следующим механизмом. У больных СГХС с мутациями генов LDLR или APOB наблюдается низкий внутриклеточный уровень холестерина. В ответ на низкий внутриклеточный уровень холестерина трансмембранные белки эндоплазматического ретикула (SREBP – sterol regulatory element-binding proteins) расщепляются сериновой протеазой 1 и транспортируются в аппарат Гольджи. Затем SREBP подвергаются дальнейшему процессингу цинковой металлопротеиназой (протеазой-2). Протеаза 2 освобождает регуляторные домены SREBP, которые переносятся в ядро и активируют транскрипцию гена PCSK9 [6, 12]. Схожий механизм повышения PCSK9 имеет место и на фоне лечения статинами. В ряде исследований показано увеличение плазменных уровней PCSK9 на 14-47% в зависимости от типа и дозы статина [9, 13, 14].

Заключение

PCSK9 – новый плазменный маркер, отражающий степень нарушения липидного обмена у больных СГХС.

Работа поддержана Правительством Москвы: ГК №8/3-280н-10 и ГК №8/3-281н-10.



Список литературы.

1. Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R. et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. *Hepatology* 2008;48:646–654.
2. Naureckiene S, Ma L, Sreekumar K. et al. Functional characterization of Narx 1, a novel proteinase related to proteinase K. *Arch Biochem Biophys* 2003;420:55–67.
3. Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF. et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. *Nat Struct Mol Biol* 2007;14:413–419.
4. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:214P225.
5. Humphries SE, Neely RD, Whittall RA. 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;55:2153–2161.
6. Cariou B, Le May C, Costet P. Clinical aspects of PCSK9. *Atherosclerosis* 2011;216:258–265.
7. Marks D, Thorogood M, Andrew H. et al. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial Hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2003; 68:1P14.
8. Abifadel M, Varret M, Rabès JP. et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34:154P156.
9. Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC. et al. Genetic and metabolic determinants of plasma PCSK9 levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2537–2543.
10. Меишков АН, Малышев ПП, Кухарчук ВВ. Семейная гиперхолестеринемия в России: генетическая и фенотипическая характеристика. *Терапевтический архив*, 2009;9:23P29.
11. Zakharova FM, Damgaard D, Mandelshtam MY. et al. Familial hypercholesterolemia in St. Petersburg: the known and novel mutations found in the low density lipoprotein receptor gene in Russia. *BMC Medical Genetics* 2005, 6:6 doi:10.1186/1471P2350P6P6.
12. Fernandez-Hernando C, Suárez Y, Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNAs in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2011;22:86P92.
13. Careskey HE, Davis RA, Alborn WE. et al. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Lipid Res* 2008;49:394–398.
14. Welder G, Zineh I, Pacanowski MA. et al. High-dose atorvastatin causes a rapid sustained increase in human serum PCSK9 and disrupts its correlation with LDL cholesterol. *J Lipid Res* 2010;51:2714–2721