

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Поиск новых генов, ассоциированных с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, методами полногеномного секвенирования и машинного обучения

Д.Е. Иваношук<sup>1, 3</sup>✉, А.Б. Колкер<sup>2</sup>, О.В. Тимошенко<sup>1</sup>, С.Е. Семаев<sup>1, 3</sup>, Е.В. Шахтшнейдер<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия  
✉ dinara2084@mail.ru

**Аннотация.** Одним из наиболее распространенных врожденных метаболических нарушений является семейная гиперхолестеринемия. Это заболевание приводит к раннему развитию сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. Семейная гиперхолестеринемия относится к моногенным заболеваниям с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования. Редкие патогенные варианты в гене *LDLR* определяются в 75–85 % случаев у пациентов с выявленной молекулярно-генетической причиной заболевания, варианты в других генах встречаются с частотой менее 5 % (*APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *ABCG5*, *ABCG8* и др.). Отрицательный результат генетического скрининга патогенных вариантов генов рецептора липопротеинов низкой плотности и его лигандов не исключает диагноз «семейная гиперхолестеринемия». В 20–40 % случаев при молекулярно-генетическом исследовании не удается определить изменения в вышеназванных генах. Цель настоящей работы – поиск новых генов, ассоциированных с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, с использованием современных высокотехнологичных методов секвенирования и машинного обучения. На основании выборки пациентов с семейной гиперхолестеринемией, сформированной по критериям Dutch Lipid Clinic Network и включающей случаи заболевания, подтвержденные молекулярно-генетическим анализом, построены решающие деревья, которые позволили выделить из выборки случаи, требующие дополнительного молекулярно-генетического анализа. Определены пять пробандов с наиболее тяжелым течением семейной гиперхолестеринемии без патогенных вариантов в изученных генах для проведения полногеномного секвенирования на платформе HiSeq 1500 (Illumina). При выполнении полногеномного секвенирования у трех из пяти обследованных пациентов найдены редкие варианты: гетерозиготный вариант (rs760657350), локализованный в акцепторном сайте сплайсинга гена *PLD1*: с.2430-1G>A, ранее не описанная однонуклеотидная делеция гена *SIDT1*: с.2426del (p.Leu809CysfsTer2), новый миссенс-вариант с.10313C>G (p.Pro3438Arg) гена *LRP1B* и вариант однонуклеотидной делеции rs753876598: с.165del (p.Ser56AlafsTer11) гена *CETP*. Все варианты впервые описаны у пробандов с клиническим диагнозом «семейная гиперхолестеринемия». Идентифицированы варианты, которые потенциально могут влиять на формирование фенотипа семейной гиперхолестеринемии.

**Ключевые слова:** семейная гиперхолестеринемия; полногеномное секвенирование; машинное обучение; *SIDT1*; *LRP1B*; *PLD1*; *CETP*.

**Для цитирования:** Иваношук Д.Е., Колкер А.Б., Тимошенко О.В., Семаев С.Е., Шахтшнейдер Е.В. Поиск новых генов, ассоциированных с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, методами полногеномного секвенирования и машинного обучения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(5):522-529. DOI 10.18699/VJGB-23-63

## Searching for new genes associated with the familial hypercholesterolemia phenotype using whole-genome sequencing and machine learning

D.E. Ivanoshchuk<sup>1, 3</sup>✉, A.B. Kolker<sup>2</sup>, O.V. Timoshchenko<sup>1</sup>, S.E. Semaev<sup>1, 3</sup>, E.V. Shakhtshneider<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

✉ dinara2084@mail.ru

**Abstract.** One of the most common congenital metabolic disorders is familial hypercholesterolemia. Familial hypercholesterolemia is a condition caused by a type of genetic defect leading to a decreased rate of removal of low-density lipoproteins from the bloodstream and a pronounced increase in the blood level of total cholesterol. This disease leads to the early development of cardiovascular diseases of atherosclerotic etiology. Familial hypercholesterolemia is

a monogenic disease that is predominantly autosomal dominant. Rare pathogenic variants in the *LDLR* gene are present in 75–85 % of cases with an identified molecular genetic cause of the disease, and variants in other genes (*APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *ABCG5*, *ABCG8*, and others) occur at a frequency of < 5 % in this group of patients. A negative result of genetic screening for pathogenic variants in genes of the low-density lipoprotein receptor and its ligands does not rule out a diagnosis of familial hypercholesterolemia. In 20–40 % of cases, molecular genetic testing fails to detect changes in the above genes. The aim of this work was to search for new genes associated with the familial hypercholesterolemia phenotype by modern high-tech methods of sequencing and machine learning. On the basis of a group of patients with familial hypercholesterolemia (enrolled according to the Dutch Lipid Clinic Network Criteria and including cases confirmed by molecular genetic analysis), decision trees were constructed, which made it possible to identify cases in the study population that require additional molecular genetic analysis. Five probands were identified as having the severest familial hypercholesterolemia without pathogenic variants in the studied genes and were analyzed by whole-genome sequencing on the HiSeq 1500 platform (Illumina). The whole-genome sequencing revealed rare variants in three out of five analyzed patients: a heterozygous variant (rs760657350) located in a splicing acceptor site in the *PLD1* gene (c.2430-1G>A), a previously undescribed single-nucleotide deletion in the *SIDT1* gene [c.2426del (p.Leu809CysfsTer2)], new missense variant c.10313C>G (p.Pro3438Arg) in the *LRP1B* gene, and single-nucleotide deletion variant rs753876598 [c.165del (p.Ser56AlafsTer11)] in the *CETP* gene. All these variants were found for the first time in patients with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. Variants were identified that may influence the formation of the familial hypercholesterolemia phenotype.

Key words: familial hypercholesterolemia; whole-genome sequencing; machine learning; *SIDT1*; *LRP1B*; *PLD1*; *CETP*.

**For citation:** Ivanoshchuk D.E., Kolker A.B., Timoshchenko O.V., Semaev S.E., Shakhshneider E.V. Searching for new genes associated with the familial hypercholesterolemia phenotype using whole-genome sequencing and machine learning. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(5):522-529. DOI 10.18699/VJGB-23-63

## Введение

Одним из наиболее распространенных врожденных метаболических нарушений является семейная гиперхолестеринемия (СГХС) (Ежов и др., 2019). Это заболевание приводит к раннему развитию сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза (Wiegman et al., 2015; Santos et al., 2016; Borén et al., 2020). Семейная гиперхолестеринемия относится к моногенным заболеваниям с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования (Ежов и др., 2019).

Редкие патогенные варианты в гене *LDLR* определяют в 75–85 % случаев у пациентов с установленной молекулярно-генетической причиной заболевания, варианты в других генах встречаются у таких пациентов с частотой менее 5 % (*APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *ABCG5*, *ABCG8* и др.) (Nordestgaard et al., 2013; Iacocca, Hegele, 2017; Vasilyev et al., 2020). Пациенты могут быть гомозиготными или гетерозиготными носителями патогенных вариантов, что определяет тяжесть заболевания и возраст начала проявлений сердечно-сосудистых осложнений (Vaezi, Amini, 2022). Отрицательный результат генетического скрининга патогенных вариантов не исключает СГХС. В 20–40 % случаев при молекулярно-генетическом исследовании не удается определить изменения в вышеперечисленных генах. Риск развития ишемической болезни сердца среди пациентов с СГХС увеличивается в 20 раз при отсутствии лечения (Khera et al., 2016), поэтому актуален поиск новых подходов к выявлению пациентов на ранних стадиях развития этого заболевания и оценке предрасположенности к нему в семьях пациентов.

Для поиска новых случаев в одном из исследований был предложен классификатор для идентификации потенциальных пациентов с СГХС с применением данных электронной медицинской карты. При использовании данных пациентов с подтвержденной СГХС ( $n = 197$ ) и случаев без СГХС ( $n = 6590$ ) был обучен классификатор решающих деревьев. Классификатор получил положительное про-

гностическое значение (PPV) 0.88 и чувствительность 0.75 при длительном тестировании. Этот классификатор был эффективен при поиске пациентов-кандидатов для дальнейшего скрининга СГХС. Такие стратегии, управляемые машинным обучением, могут привести к эффективному выявлению пациентов с наибольшим риском заболевания (Banda et al., 2019).

Цель работы – поиск новых генов, ассоциированных с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, с применением современных высокотехнологичных методов секвенирования и машинного обучения.

## Материалы и методы

Группа пациентов с семейной гиперхолестеринемией (МКБ10 E78.0, E78.2,  $n = 102$ ) сформирована в клинико-диагностическом отделении Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиала ИЦиГ СО РАН. Исследование было одобрено Этическим комитетом НИИТПМ (№ 68 от 04.06.2019). От каждого участника исследования получено информированное согласие. Диагноз СГХС был поставлен с помощью клинических липидных критериев Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) (WHO-Human genetics DoNDP..., 1999). Согласно этим критериям, для пациентов с СГХС осуществлена балльная оценка (Приложение)<sup>1</sup>. Проведены клиническое обследование пациентов, ультразвуковая диагностика, выполнен забор крови для биохимического (липидный профиль, показатели общей биохимии) и молекулярно-генетического исследований.

Пробы крови для биохимических исследований забирала однократно из локтевой вены утром натощак через 12 ч после приема пищи. Уровни общего холестерина сыворотки, триглицеридов, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) и холестерина высокой плотности (ХС-ЛВП), а также глюкозы в крови определяли

<sup>1</sup> Приложение см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx19.pdf>

энзиматическими методами на автоматическом биохимическом анализаторе KoneLab300i (Финляндия) с использованием реактивов ThermoFisher (Финляндия). ХС-ЛНП рассчитывали по формуле Фридвальда, при ХС-ЛНП более 4.5 ммоль/л применяли метод прямого определения ХС-ЛНП. Статистическую обработку результатов выполняли в программе SPSS for Windows 23.0.

Для выделения ДНК из крови применяли метод фенол-хлороформной экстракции (Sambrook, Russell, 2006). Качество извлеченной ДНК оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Inc., США).

Выполнено таргетное секвенирование ДНК пациентов с СГХС с использованием системы NimbleGen SeqCap Target Enrichment System (Roche, Базель, Швейцария) на платформе MiSeq (Illumina, Калифорния, США). Авторская панель включала 43 гена: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *CETP*, *LPL*, *HMGCR*, *NPC1L1*, *PPARA*, *MTTP*, *LMF1*, *SAR1B*, *ABCA1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *CYP7A1*, *STAP1*, *LIPA*, *PNPLA5*, *APOA1*, *APOA5*, *APOC2*, *APOE*, *LCAT*, *ANGPTL3*, *LIPC*, *APOA4*, *APOC3*, *SREBF1*, *LMNA*, *PPARG*, *PLIN1*, *POLD1*, *LPA*, *SMAD1*, *SMAD2*, *SMAD3*, *SMAD4*, *SMAD5*, *SMAD6*, *SMAD7*, *SMAD9*, *LIPG*.

На следующем этапе исследования была сформирована выборка из 42 пациентов с СГХС без патогенных вариантов в изученных генах, которым выполнена мультиплексная лигазозависимая амплификация (MLPA) для определения структурных изменений (делеции, дубликации) промотора и экзонов гена *LDLR* с помощью набора SALSA MLPA KIT P062 (MRCHolland, Амстердам, Нидерланды).

На основании выборки семейной гиперхолестеринемии, сформированной по критериям DLCN и включающей случаи заболевания, подтвержденные молекулярно-генетическим анализом, построены решающие деревья, которые позволили выделить из выборки случаи, требующие дополнительного молекулярно-генетического анализа. Разработана программа на языке Python 3.9, предназначенная для построения ансамбля решающих правил для прогнозирования СГХС на базе машинного обучения в условиях ограниченной обучающей выборки. Решающие правила сохранялись в виде представления данных языка разметки для прогнозного моделирования (Predictive Model Markup Language). Решающие правила были построены на основе размеченной базы данных пациентов с диагнозом СГХС (Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023660511, 2.05.2023).

С применением методов машинного обучения определены пять пробандов с наиболее тяжелым течением СГХС без патогенных вариантов в изученных генах для выполнения полногеномного секвенирования на платформе HiSeq 1500 (Illumina). Автоматизированную обработку и аннотирование полученных данных секвенирования проводили на платформе NGS Wizard (genomenal.ru). Потенциальный эффект влияния новых миссенс-вариантов на функцию/структуру белка оценивали с помощью данных инструментов прогнозирования *in silico*: CADD (<https://cadd.gs.washington.edu/snv/>), PolyPhen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) и MutationTaster (<https://www.mutationtaster.org/>), а также данных о частоте этих вариантов в популяциях, согласно gnomAD. Таким обра-

зом, были отобраны варианты в генах, ассоциированных с метаболизмом липидов, приводящие к потере функции белка, и миссенс-варианты с частотой менее 0.01 %. Патогенность новых вариантов оценивали в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии (ACMG) (Richards et al., 2015). Анализ сетей белок-белковых взаимодействий выполняли в STRING (Szklarczyk et al., 2019).

## Результаты

Методами таргетного секвенирования и MLPA определены «патогенные» и «вероятно патогенные» варианты у 47.5 % обследованных пробандов и у 85.7 % детей пробандов. Варианты в гене *LDLR* у пациентов с фенотипом СГХС, которые были выявлены в нашем исследовании, приведены в табл. 1. Все миссенс-варианты представлены в гетерозиготной форме. Варианты Cys352Tyr, Cys340Phe и Leu401His ранее описаны у пациентов с СГХС в России (Zakharova et al., 2005) и в других странах (Feussner et al., 1996; Torres et al., 2014).

В исследованной выборке гетерозиготная форма заболевания в 73 % случаев была обусловлена редкими вариантами в гене *LDLR*. Определены два новых варианта NM\_000527.5:c.266G>C, NP\_000518.1:p.Cys89Ser и NM\_000527.5:c.1123T>G, NP\_000518.1:p.Tyr375Asp в гене *LDLR*. Два неродственных пробанда были носителями компаунд-гетерозиготных вариантов гена *LDLR*, при этом клиническое течение заболевания у пациентов соответствовало гомозиготной форме заболевания. В первом случае у пациентки 28 лет с диагнозом «определенная СГХС» были найдены редкие варианты NM\_000527.5:c.796G>A, NP\_000518.1:p.Asp266Asn и NM\_000527.5:c.1054T>A, NP\_000518.1:p.Cys352Ser в экзонах 5 и 7 гена *LDLR* (см. табл. 1). Во втором случае у пациентки 35 лет с диагнозом «определенная СГХС» компаунд-гетерозиготу составляли два миссенс-варианта в экзонах 3 и 8 гена *LDLR*. Одна замена локализована в экзоне 3 гена *LDLR* (NM\_000527.5:c.266G>C, NP\_000518.1:p.Cys89Ser), в котором ранее в этой позиции был описан редкий «вероятно патогенный» вариант rs87598984 NM\_000527.5:c.266G>A, NP\_000518.1:p.Cys89Tyr у пациентов с СГХС (Day et al., 1997; Graham et al., 1999; Fouchier et al., 2005).

Патогенность выявленного варианта также подтверждена анализом *in silico* (Mutation Taster score: 112, CADD score: 24.8 PolyPhen-2 score: 1.000). Другой новый миссенс-вариант локализован в экзоне 8 гена *LDLR*: NM\_000527.5:c.1123T>G, NP\_000518.1:p.Tyr375Asp (см. табл. 1). Этот миссенс-вариант приводит к замене аминокислоты в том же положении, в котором ранее были описаны другие миссенс-варианты, расцененные как вероятно патогенные у пациентов с СГХС (Assouline et al., 1997; García-García et al., 2001; Damgaard et al., 2005; Mollaki et al., 2014). Патогенность варианта также подтверждена анализом *in silico* (Mutation Taster score: 160, CADD score: 25.5, PolyPhen-2 score: 1.000). Оба обнаруженных варианта, NM\_000527.5:c.266G>C, NP\_000518.1:p.Cys89Ser и NM\_000527.5:c.1123T>G, NP\_000518.1:p.Tyr375Asp, не аннотированы в базе данных gnomAD (v2.1.1). По сово-

**Таблица 1.** Однонуклеотидные варианты в генах *LDLR*, *APOB*, *LPL* у пациентов с фенотипом СГХС

Номер варианта	Аминокислотная замена	Частота редкого аллеля, gnomAD (v2.1.1)	Интерпретация вариантов нуклеотидной последовательности согласно базам данных ClinVar, LOVD
<i>LDLR</i>			
rs121908038	p.Leu401His	НД	Вероятно патогенный
rs137853964	p.Val827Ile	A = 0.000919	
rs28942078	p.Val429Met	A = 0.000012	Патогенный
rs539080792	p.Glu337Lys	A = 0.000106	
rs570942190	p.Arg416Trp	T = 0.000024	
rs755757866	p.Cys340Tyr	T = 0.000008	Вероятно патогенный
rs761954844	p.Cys329Tyr	A = 0.000025	
rs879254566	p.Asp178Glu	НД	Патогенный
rs879254721	p.Glu308Lys	НД	
rs879254980	p.Glu558Ter	НД	
rs879255191	–	НД	Вероятно патогенный
rs875989907	p.Asp266Asn	A = 0.000012	Патогенный
rs879254769	p.Cys352Ser	НД	Вероятно патогенный
НД/rs875989894	p.Cys89Ser	НД	Новый вариант
НД	p.Tyr375Asp	НД	
<i>APOB</i>			
rs5742904	p.Arg3527Gln	T = 0.000294	Патогенный
<i>LPL</i>			
rs118204077	p.Arg270Cys	C = 0.000008	Патогенный

Примечание. НД – нет данных; номера белковых последовательностей, которые были использованы при аннотации вариантов: *LDLR* (NP\_000518.1), *APOB* (NP\_000375.3), *LPL* (NP\_000228.1).

купности сведений они были расценены как вероятно патогенные варианты.

В образцах ДНК пациентов без функционально значимых замен в генах липидного метаболизма был выполнен MLPA анализ для определения структурных изменений (делеции, дубликации) в промоторе и экзонах гена *LDLR*. Данный анализ выявил делецию кодирующего участка гена *LDLR* в образцах ДНК двух неродственных пациентов NM\_000527.4:c.(2140+1\_2141-1)\_(2311+1\_2312-1)del.

При молекулярно-генетическом исследовании у трех пациентов из двух неродственных семей (пробанд и сын пробанда из одной семьи и пробанд из другой семьи) определен вариант rs5742904 (NM\_000384.3:c.10580G>A, NP\_000375.3:p.Arg3527Gln) (ClinVar Variation ID: 17890) в гене *APOB* (см. табл. 1).

Редкие замены участка гена *APOB*, кодирующего сайт связывания с рецептором ЛНП, ассоциированы с развитием гиперхолестеринемии. Один из вариантов данного участка, NP\_000375.3:p.Arg3527Gln, приводит к развитию гиперхолестеринемии со сниженным клиренсом ЛНП вследствие дефекта структуры ЛНП, обеспечивающей связывание с рецептором ЛНП (Pullinger et al., 1995).

При анализе результатов таргетного высокопроизводительного секвенирования в гене *LPL* найден редкий патогенный вариант rs118204077 (NM\_000237.3:c.808C>T, NP\_000228.1:p.Arg270Cys) в гетерозиготной форме (ClinVar Variation ID: 1548) (см. табл. 1). Этот вариант

был идентифицирован у пациента 45 лет с гиперхолестеринемией (12.4 ммоль/л) и гипертриглицеридемией (17.4 ммоль/л), DLCN – 5 баллов. Ранее в данном локусе были описаны варианты, ассоциированные с развитием гипертриглицеридемии (Ma et al., 1994; Surendran et al., 2012), у пациентов с дефицитом липопротеинлипазы (Hegele et al., 2018; Teramoto et al., 2018).

По результатам выполненных молекулярно-генетических исследований, 52.5 % пациентов не были носителями патогенных вариантов в изученных генах липидного обмена. Из них с использованием алгоритма машинного обучения было выбрано пять человек с наиболее тяжелым течением СГХС для полногеномного секвенирования. У трех пациентов обнаружено четыре варианта в генах, ассоциированных с липидным метаболизмом, имеющих частоту редкого аллеля менее 0.01 %. Среди них два варианта были однонуклеотидными делециями: один затрагивал акцепторный сайт сплайсинга и один был миссенс-вариантом (табл. 2).

В гене *SIDT1*, кодирующем трансмембранный белок 1 семейства SID1, определен новый ранее не описанный вариант, который приводит к сдвигу рамки считывания, начиная с кодона 809 (NM\_017699.3:c.2426de, NP\_060169.2:p.Leu809CysfsTer2). Ген состоит из 30 экзонов и находится в локусе 3q13.2 хромосомы 3 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/54847>). Согласно данным gnomAD, варианты с потерей функции описаны в этом

**Таблица 2.** Редкие варианты, определенные у пациентов с фенотипом СГХС в генах липидного обмена при полногеномном секвенировании

Ген	Положение (GRCh38/hg38)	Положение в кДНК (номер транскрипта)	Аминокислотная замена (номер белковой последовательности)	Генотип	Частота минорного аллеля	dbSNP ID		
					gnomAD (v2.1.1)	RuSeq		
<i>SIDT1</i>	chr3:113627646	GT>G	(NM_017699.3) с.2426del	(NP_060169.2) p.Leu809CysfsTer2	Гетерозигота	–	–	Новый
<i>LRP1B</i>	chr2:140442605	G>C	(NM_018557.3) с.10313C>G	(NP_061027.2) p.Pro3438Arg	–	–	–	Новый
<i>PLD1</i>	chr3:171645024	G>A	(NM_002662.5) с.2430, –1G>A	–	0.00001768	0.0002457	rs760657350	
<i>CETP</i>	chr16:56963054	GC>G	(NM_000078.3) с.165del	(NP_000069.2) p.Ser56AlafsTer11	–	0.00001415	0.0002081	rs753876598

гене, но ни один из них не был аннотирован как патогенный или вероятно патогенный, согласно данным ClinVar и литературы. Для этого гена показан pLI score = 0, что подтверждает устойчивость гена к вариантам с потерей функции. По совокупности данных мы расценили этот вариант как имеющий неопределенную клиническую значимость (критерий патогенности PM2).

Описан новый миссенс-вариант в гене *LRP1B* (LDL receptor related protein 1B) с.10313C>G p.Pro3438Arg в гетерозиготном состоянии. Ген локализован в локусе 2q22.1-q22.2 хромосомы 2, состоит из 92 экзонов и кодирует один из рецепторов семейства рецепторов липопротеинов низкой плотности (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/53353>). Для этого варианта отсутствуют данные о частоте в gnomAD. Патогенность варианта также подтверждена анализом *in silico* (Mutation Taster score: 103, CADD score: 33, PolyPhen-2 score: 1.000). Большинство вариантов в этом гене являются доброкачественными (данные ClinVar, доступ: февраль 2023) либо вариантами с неопределенной клинической значимостью. По совокупности данных мы расценили этот вариант как вариант с неопределенной клинической значимостью (критерии патогенности PM2, PP3, BP1).

У одного из пациентов определен редкий гетерозиготный вариант в акцепторном сайте сплайсинга (NM\_002662.5:с.2430, –1G>A) в гене фосфолипазы D1 (*PLD1*). Вариант зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD: 5 мутантных аллелей на 282 768 хромосом (гомозиготы не обнаружены). Ген *PLD1* кодирует фосфатидилхолин-специфическую фосфолипазу, которая катализирует гидролиз фосфатидилхолина с образованием фосфатидной кислоты и холина (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5337>). Этот ген расположен в локусе 3q26.31 и содержит 35 экзонов. Фосфолипаза D (PLD) и продукт ее ферментативной реакции, фосфатидная кислота (PA), регулируют клеточную адгезию иммунных клеток (макрофагов и нейтрофилов) к коллагену (Speranza et al., 2014).

Известно, что биаллельные варианты с потерей функции гена *PLD1* являются причиной врожденных пороков легочного и трехстворчатого клапанов, правого желудочка и выводного тракта правого желудочка сердца и неонатальной кардиомиопатии (Ta-Shma et al., 2017; Lahrouchi et al., 2021). По совокупности данных мы расценили эту

замену как носительство вероятно патогенного варианта в отношении врожденных пороков развития сердца (PM2, PVS1). В отношении СГХС мы отнесли обнаруженную замену к категории вариантов с неизвестной клинической значимостью (критерий патогенности PM2).

У одного из обследованных пациентов выявлена гетерозиготная однонуклеотидная делеция rs753876598, (NM\_000078.3:с.165del) в гене *CETP* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1071>). Вариант аннотирован в базе данных ClinVar (ID1675625), зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD: 4 мутантных аллеля на 282 774 хромосом (гомозиготы не найдены). Известно, что варианты с потерей функции этого гена влияют на уровень ХС-ЛВП (Millwood et al., 2018; Li et al., 2021). По совокупности критериев оценки патогенности (PM2, PVS1) мы расценили этот вариант как вероятно патогенный. Ген *CETP* кодирует белок плазмы, который катализирует обмен триглицеридов и сложных эфиров холестерина между липопротеиновыми частицами (Oliveira, Raposo, 2020).

## Обсуждение

Высокопроизводительное секвенирование используется не только для молекулярно-генетической диагностики СГХС, но и в качестве инструмента выявления вариантов, которые могут быть вовлечены в метаболизм липидов и их влияния на фенотип пациентов с СГХС (Miroshnikova et al., 2021). В настоящем исследовании идентифицированы 16 вариантов (15 однонуклеотидных замен и 1 делеция), которые ранее были классифицированы в базах ClinVar или LOVD как патогенные или вероятно патогенные, а также два новых миссенс-варианта в гене *LDLR*, расцененные как патогенные. При проведении полногеномного анализа мы обнаружили четыре дополнительных варианта в генах, ассоциированных с метаболизмом липидов, удовлетворяющих критериям поиска. Два из этих четырех вариантов ранее были описаны, два были новыми.

Один из генов, в которых были найдены редкие варианты у пациентов с СГХС, – *PLD1*, кодирует фермент фосфолипазу D1. Фосфолипаза D1 гидролизует мембранно-липидный фосфатидилхолин с образованием фосфатидной кислоты (Bowling et al., 2021). Фосфатидная кислота – промежуточный метаболит в синтезе всех мембранных глицерофосфолипидов, играет важную структурную роль

в живых клетках, способствуя биогенезу мембран (Tanguy et al., 2018). Кроме того, показана роль фосфатидной кислоты, а также фосфолипазы D1 в экзоцитозе (Tanguy et al., 2022).

Альтернативный сплайсинг мРНК *PLD1* приводит к появлению множества вариантов транскриптов, обладающих как каталитическими, так и регуляторными свойствами (Nelson, Frohman, 2015). Обнаружено, что рецессивные варианты в гене *PLD1* ассоциированы с тяжелыми правосторонними врожденными пороками сердца в двух семьях (Ta-Shma et al., 2017). У мышей, нокаут по *Pld1*, наблюдалось умеренное нарушение функции легочного и трехстворчатого клапана (Ta-Shma et al., 2017). Рецессивные варианты *PLD1* также ассоциированы с изолированными неонатальными кардиомиопатиями (Lahrouchi et al., 2021). Миссенс-варианты *PLD1* были сверхпредставлены у человека в областях белка, критических для каталитической активности, что приводило к значительному снижению ферментативной активности большинства мутантных белков (Lahrouchi et al., 2021). На клеточных линиях также показано, что повышенная экспрессия *PLD1* увеличивала образование липидных капель, тогда как нокаунт *PLD1* с помощью siRNA ингибировал этот процесс (Andersson et al., 2006).

Обнаруженный нами вариант (NM\_002662.5:c.2430, -1G>A) у пробанда с СГХС без признаков врожденных пороков сердца находился в гетерозиготном состоянии. С учетом низкой частоты распространенности варианта и возможной его роли в субклеточном транспорте и образовании липидных капель данная замена интересна для последующего анализа у лиц с нарушениями липидного обмена.

Еще один редкий вариант найден в гене *LRP1B* (receptor related protein 1B, родственный рецептору белок 1). Белок *LRP1B* относится к семейству рецепторов липопротеинов низкой плотности (Strickland et al., 2002). Он играет роль в катаболизме липопротеинов, в связи с этим изучение редких вариантов гена *LRP1B* у лиц с СГХС является перспективным. Большинство из недавно идентифицированных лигандов *LRP1B* – хорошо известные факторы свертывания крови и метаболизма липопротеинов, что предполагает его возможное участие в атеросклеротическом процессе (Lee, 2019).

Белок *SIDT1* представляет собой многопроходный трансмембранный белок, принадлежащий к трансмембранному семейству *SID1*, с определенной гомологией последовательностей с *Caenorhabditis elegans* ChUP-1, холестерин-связывающим белком, расположенным во внутриклеточных везикулах (Valdes et al., 2012). Показана его экспрессия в эндолизосомах (Nguyen et al., 2019). Для гена *SIDT1* ранее было продемонстрировано участие в транспорте холестерина (Méndez-Acevedo et al., 2017), но в контексте изучения фенотипа семейной гиперхолестеринемии он не рассматривался. Найденный нами вариант, вероятнее всего, не участвует в формировании клинического фенотипа СГХС, так как оценка с помощью критериев ACMG позволяет отнести его к вариантам с неопределенной клинической значимостью, но для однозначной оценки его ассоциации с фенотипом СГХС требуются дополнительные данные.

Ген  *CETP*  кодирует белок CETP, переносящий эфиры холестерина. Данный белок регулирует концентрацию и размер частиц ЛПВП в крови и играет важную роль в обратном транспорте холестерина (Barter, Kastelein, 2006). Обнаружено, что повышенная активность  *CETP*  приводит к снижению уровня ЛПВП и связана с более высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний (Barter, 2011; Iwanicka et al., 2018). Варианты в гене  *CETP*  могут изменять липидный профиль крови (Wuni et al., 2022). В осуществленных нами ранее исследованиях одного из вариантов гена  *CETP*  была подтверждена его ассоциация с изменениями липидного профиля крови и риском развития инфаркта миокарда в популяции Западной Сибири (Semaev et al., 2019). При построении карты функциональных и физических ассоциаций предсказанным функциональным партнером для белка CETP был белок APOB, мутации в котором служат одной из причин развития семейной гиперхолестеринемии.

Для оценки патогенетических эффектов обнаруженных вариантов в формировании клинического фенотипа СГХС требуется проведение дополнительного сегрегационного и функционального анализов. Выявление новых патогенных вариантов позволит улучшить оценку риска развития СГХС и ее осложнений среди пациентов и членов их семей.

## Заключение

Сочетание методов машинного обучения и полногеномного секвенирования у пробандов с клиническим диагнозом СГХС дало возможность выявить редкие варианты в генах *SIDT1*, *LRP1B*, *PLD1*, *CETP*, которые потенциально могут влиять на фенотип заболевания.

## Список литературы / References

- Ежов М.В., Бажан С.С., Ершова А.И., Мешков А.Н., Соколов А.А., Кухарчук В.В., Гуревич В.С., Воевода М.И., Сергиенко И.В., Шахтшнейдер Е.В., Покровский С.Н., Коновалов Г.А., Леонтьева И.В., Константинов В.О., Щербакова М.Ю., Захарова И.Н., Балахоннова Т.В., Филиппов А.Е., Ахмеджанов Н.М., Александрова О.Ю., Липовецкий Б.М. Клинические рекомендации по семейной гиперхолестеринемии. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2019;15(1):58-98.
- [Ezhov M.V., Bazhan S.S., Ershova A.I., Meshkov A.N., Sokolov A.A., Kukharchuk V.V., Gurevich V.S., Voevoda M.I., Sergienko I.V., Shakhshneider E.V., Pokrovsky S.N., Kononov G.A., Leontyeva I.V., Konstantinov V.O., Shcherbakova M.Yu., Zakharova I.N., Balakhonova T.V., Filippov A.E., Akhmedzhanov N.M., Aleksandrova O.Yu., Lipovetsky B.M. Clinical guidelines for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis i Dislipidemii = The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias*. 2019;15(1):58-98. (in Russian)]
- Andersson L., Boström P., Ericson J., Rutberg M., Magnusson B., Marchesan D., Ruiz M., Asp L., Huang P., Frohman M.A., Borén J., Olofsson S.O. PLD1 and ERK2 regulate cytosolic lipid droplet formation. *J. Cell Sci*. 2006;119(Pt. 11):2246-2257. DOI 10.1242/jcs.02941.
- Assouline L., Leitersdorf E., Lambert M., Reshef A., Feoli-Fonseca J.C., Levy E. Identification of two novel LDL receptor gene defects in French-Canadian pediatric population: mutational analysis and biochemical studies. *Hum. Mutat*. 1997;9(6):555-562. DOI 10.1002/(SICI)1098-1004(1997)9:6<555::AID-HUMU9>3.0.CO;2-0.
- Banda J.M., Sarraju A., Abbasi F., Parizo J., Pariani M., Ison H., Briskin E., Wand H., Dubois S., Jung K., Myers S.A., Rader D.J.,

- Leader J.B., Murray M.F., Myers K.D., Wilemon K., Shah N.H., Knowles J.W. Finding missed cases of familial hypercholesterolemia in health systems using machine learning. *NPJ Digit. Med.* 2019;2:23. DOI 10.1038/s41746-019-0101-5.
- Barter P.J., Kastelein J.J.P. Targeting cholesteryl ester transfer protein for the prevention and management of cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47(3):492-499. DOI 10.1016/j.jacc.2005.09.042.
- Barter P.J. The causes and consequences of low levels of high density lipoproteins in patients with diabetes. *Diabetes Metab. J.* 2011; 35(2):101-106. DOI 10.4093/dmj.2011.35.2.101.
- Borén J., Chapman M.J., Krauss R.M., Packard C.J., Bentzon J.F., Binder C.J., Daemen M.J., Demer L.L., Hegele R.A., Nicholls S.J., Nordestgaard B.G., Watts G.F., Bruckert E., Fazio S., Ference B.A., Graham I., Horton J.D., Landmesser U., Laufs U., Masana L., Pasterkamp G., Raal F.J., Ray K.K., Schunkert H., Taskinen M.R., van de Sluis B., Wiklund O., Tokgozoglul., Catapano A.L., Ginsberg H.N. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur. Heart J.* 2020;41(24):2313-2330. DOI 10.1093/eurheartj/ehz962.
- Bowling F.Z., Frohman M.A., Airola M.V. Structure and regulation of human phospholipase D. *Adv. Biol. Regul.* 2021;79:100783. DOI 10.1016/j.jbior.2020.100783.
- Damgaard D., Larsen M.L., Nissen P.H., Jensen J.M., Jensen H.K., Soerensen V.R., Jensen L.G., Faergeman O. The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis.* 2005;180(1):155-160. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2004.12.001.
- Day I.N., Whittall R.A., O'Dell S.D., Haddad L., Bolla M.K., Gudnason V., Humphries S.E. Spectrum of LDL receptor gene mutations in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Hum. Mutat.* 1997;10(2):116-127. DOI 10.1002/(SICI)1098-1004(1997)10:2<116::AID-HUMU4>3.0.CO;2-I.
- Feussner G., Dobmeyer J., Nissen H., Hansen T.S. Unusual xanthomas in a young patient with heterozygous familial hypercholesterolemia and type III hyperlipoproteinemia. *Am. J. Med. Genet.* 1996; 65:149-154. DOI 10.1002/(SICI)1096-8628(19961016)65:2<149::AID-AJMG14>3.0.CO;2-Q.
- Fouchier S.W., Kastelein J.J., Defesche J.C. Update of the molecular basis of familial hypercholesterolemia in the Netherlands. *Hum. Mutat.* 2005;26(6):550-556. DOI 10.1002/humu.20256.
- García-García A.B., Real J.T., Puig O., Cebolla E., Marín-García P., Martínez Ferrandis J.I., García-Sogo M., Civera M., Ascaso J.F., Carmena R., Armengod M.E., Chaves F.J. Molecular genetics of familial hypercholesterolemia in Spain: Ten novel *LDLR* mutations and population analysis. *Hum. Mutat.* 2001;18(5):458-459. DOI 10.1002/humu.1218.
- Graham C.A., McClean E., Ward A.J., Beattie E.D., Martin S., O'Kane M., Young I.S., Nicholls D.P. Mutation screening and genotype:phenotype correlation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1999;147(2):309-316. DOI 10.1016/s0021-9150(99)00201-4.
- Hegele R.A., Berberich A.J., Ban M.R., Wang J., Digenio A., Alexander V.J., D'Erasmus L., Arca M., Jones A., Bruckert E., Stroes E.S., Bergeron J., Civeira F., Witztum J.L., Gaudet D. Clinical and biochemical features of different molecular etiologies of familial chylomicronemia. *J. Clin. Lipidol.* 2018;12(4):920-927.e4. DOI 10.1016/j.jacl.2018.03.093.
- Iacocca M.A., Hegele R.A. Recent advances in genetic testing for familial hypercholesterolemia. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2017;17(7): 641-651. DOI 10.1080/14737159.2017.1332997.
- Iwanicka J., Iwanicki T., Niemiec P., Balcerzyk A., Krauze J., Górczyńska-Kosiorz S., Ochalska-Tyka A., Grzeszczak W., Żak I. Relationship between *CETP* gene polymorphisms with coronary artery disease in Polish population. *Mol. Biol. Rep.* 2018;45(6):1929-1935. DOI 10.1007/s11033-018-4342-1.
- Khera A.V., Won H.H., Peloso G.M., Lawson K.S., Bartz T.M., Deng X., van Leeuwen E.M., ... Correa A., Boerwinkle E., Merlini P.A., Ardisino D., Saleheen D., Gabriel S., Kathiresan S. Diagnostic yield and clinical utility of sequencing familial hypercholesterolemia genes in patients with severe hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(22):2578-2589. DOI 10.1016/j.jacc.2016.03.520.
- Lahrouchi N., Postma A.V., Salazar C.M., De Laughter D.M., Tjong F., Pihervá L., Bowling F.Z., ... Mulder B., Airola M.V., Kmoch S., Barnett J.V., Clur S.A., Frohman M.A., Bezzina C.R. Biallelic loss-of-function variants in *PLDI* cause congenital right-sided cardiac valve defects and neonatal cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.* 2021; 131(5):e142148. DOI 10.1172/JCI142148.
- Lee S. The genetic and epigenetic association of LDL Receptor Related Protein 1B (*LRP1B*) gene with childhood obesity. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):1815. DOI 10.1038/s41598-019-38538-2.
- Li W., Liu X., Huang C., Liu L., Tan X., Wang X. The loss-of-function mutation of *CETP* affects HDLc levels but not ApoA1 in patients with acute myocardial infarction. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2021;31(2):602-607. DOI 10.1016/j.numecd.2020.10.019.
- Ma Y., Liu M.S., Chitayat D., Bruin T., Beisiegel U., Benlian P., Foubert L., De Gennes J.L., Funke H., Forsythe I., Blaichman S., Papanikolaou M., Erkelens D.W., Kastelein J., Brunzell J.D., Hayden M.R. Recurrent missense mutations at the first and second base of codon Arg<sup>243</sup> in human lipoprotein lipase in patients of different ancestries. *Hum. Mutat.* 1994;3(1):52-58. DOI 10.1002/humu.1380030109.
- Méndez-Acevedo K.M., Valdes V.J., Asanov A., Vaca L. A novel family of mammalian transmembrane proteins involved in cholesterol transport. *Sci. Rep.* 2017;7(1):7450. DOI 10.1038/s41598-017-07077-z.
- Millwood I.Y., Bennett D.A., Holmes M.V., Boxall R., Guo Y., Bian Z., Yang L., Sansome S., Chen Y., Du H., Yu C., Hacker A., Reilly D.F., Tan Y., Hill M.R., Chen J., Peto R., Shen H., Collins R., Clarke R., Li L., Walters R.G., Chen Z., China Kadoorie Biobank Collaborative Group. Association of *CETP* gene variants with risk for vascular and nonvascular diseases among chinese adults. *JAMA Cardiol.* 2018;3(1):34-43. DOI 10.1001/jamacardio.2017.4177.
- Miroshnikova V.V., Romanova O.V., Ivanova O.N., Fedyakov M.A., Panteleeva A.A., Barbitoff Y.A., Muzalevskaya M.V., Urazgildeeva S.A., Gurevich V.S., Urazov S.P., Scherbak S.G., Sarana A.M., Semenova N.A., Anisimova I.V., Guseva D.M., Pchelina S.N., Glotov A.S., Zakharova E.Y., Glotov S.O. Identification of novel variants in the *LDLR* gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing. *Biomed. Rep.* 2021;14(1):15. DOI 10.3892/br.2020.1391.
- Mollaki V., Progiap P., Drogari E. Familial hypercholesterolemia in Greek children and their families: genotype-to-phenotype correlations and a reconsideration of *LDLR* mutation spectrum. *Atherosclerosis.* 2014;237(2):798-804. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.031.
- Nelson R.K., Frohman M.A. Physiological and pathophysiological roles for phospholipase D. *J. Lipid. Res.* 2015;56(12):2229-2237. DOI 10.1194/jlr.R059220.
- Nguyen T.A., Smith B.R.C., Elgass K.D., Creed S.J., Cheung S., Tate M.D., Belz G.T., Wicks I.P., Masters S.L., Pang K.C. SIDT1 localizes to endolysosomes and mediates double-stranded RNA transport into the cytoplasm. *J. Immunol.* 2019;202(12):3483-3492. DOI 10.4049/jimmunol.1801369.
- Nordestgaard B.G., Chapman M.J., Humphries S.E., Ginsberg H.N., Masana L., Descamps O.S., Wiklund O., ... Kuivenhoven J.A., Pajukanta P., Ray K., Stalenhoef A.F., Stroes E., Taskinen M.R., Tybjaerg-Hansen A., European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur. Heart J.* 2013;34(45):3478-3490. DOI 10.1093/eurheartj/ehz273.
- Oliveira H.C.F., Raposo H.F. Cholesteryl ester transfer protein and lipid metabolism and cardiovascular diseases. In: Jiang X.-C. (Ed.)

- Lipid Transfer in Lipoprotein Metabolism and Cardiovascular Disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 1276. Singapore: Springer, 2020;15-25. DOI 10.1007/978-981-15-6082-8\_2.
- Pullinger C.R., Hennessy L.K., Chatterton J.E., Liu W., Love J.A., Mendel C.M., Frost P.H., Malloy M.J., Schumaker V.N., Kane J.P. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J. Clin. Invest.* 1995;95(3):1225-1234. DOI 10.1172/JCI117772.
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Rehm H.L., ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015;17(5):405-424. DOI 10.1038/gim.2015.30.
- Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2006;2006(1):pdb.prot4455. DOI 10.1101/pdb.prot4455.
- Santos R.D., Gidding S.S., Hegele R.A., Cuchel M.A., Barter P.J., Watts G.F., Baum S.J., Catapano A.L., Chapman M.J., Defesche J.C., Folco E., Freiburger T., Genest J., Hovingh G.K., Harada-Shiba M., Humphries S.E., Jackson A.S., Mata P., Moriarty P.M., Raal F.J., Al-Rasadi K., Ray K.K., Reiner Z., Sijbrands E.J., Yamashita S., International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(10):850-861. DOI 10.1016/S2213-8587(16)30041-9.
- Semaev S., Shakhtshneider E., Orlov P., Ivanoshchuk D., Malyutina S., Gafarov V., Ragino Y., Voevoda M. Association of rs708272 (*CETP* gene variant) with lipid profile parameters and the risk of myocardial infarction in the white population of Western Siberia. *Biomolecules.* 2019;9(11):739. DOI 10.3390/biom9110739.
- Speranza F., Mahankali M., Henkels K.M., Gomez-Cambronero J. The molecular basis of leukocyte adhesion involving phosphatidic acid and phospholipase D. *J. Biol. Chem.* 2014;289(42):28885-28897. DOI 10.1074/jbc.M114.597146.
- Strickland D.K., Gonias S.L., Argraves W.S. Diverse roles for the LDL receptor family. *Trends Endocrinol. Metab.* 2002;13(2):66-74. DOI 10.1016/S1043-2760(01)00526-4.
- Surendran R.P., Visser M.E., Heemelaar S., Wang J., Peter J., Defesche J.C., Kuivenhoven J.A., Hosseini M., Péterfy M., Kastelein J.J., Johansen C.T., Hegele R.A., Stroes E.S., Dallinga-Thie G.M. Mutations in *LPL*, *APOC2*, *APOA5*, *GPIIIBP1* and *LMF1* in patients with severe hypertriglyceridaemia. *J. Intern. Med.* 2012;272(2):185-196. DOI 10.1111/j.1365-2796.2012.02516.x.
- Szklarczyk D., Gable A.L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J., Simonovic M., Doncheva N.T., Morris J.H., Bork P., Jensen L.J., Mering C.V. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D607-D613. DOI 10.1093/nar/gky1131.
- Tanguy E., Kassas N., Vitale N. Protein-phospholipid interaction motifs: A focus on phosphatidic acid. *Biomolecules.* 2018;8(2):20. DOI 10.3390/biom8020020.
- Tanguy E., Wolf A., Wang Q., Chasserot-Golaz S., Ory S., Gasman S., Vitale N. Phospholipase D1-generated phosphatidic acid modulates secretory granule trafficking from biogenesis to compensatory endocytosis in neuroendocrine cells. *Adv. Biol. Regul.* 2022;83:100844. DOI 10.1016/j.jbior.2021.100844.
- Ta-Shma A., Zhang K., Salimova E., Zerneck A., Sieiro-Mosti D., Stegner D., Furtado M., Shaag A., Perles Z., Nieswandt B., Rein A.J., Rosenthal N., Neiman A.M., Elpeleg O. Congenital valvular defects associated with deleterious mutations in the *PLD1* gene. *J. Med. Genet.* 2017;54(4):278-286. DOI 10.1136/jmedgenet-2016-104259.
- Teramoto R., Tada H., Kawashiri M.A., Nohara A., Nakahashi T., Konno T., Inazu A., Mabuchi H., Yamagishi M., Hayashi K. Molecular and functional characterization of familial chylomicronemia syndrome. *Atherosclerosis.* 2018;269:272-278. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2017.11.006.
- Torres M.M.T., Mora-Hernández S., Vázquez Cárdenas N.A., González Jaimes A. Homozygous familial hypercholesterolemia: the c.1055G>A mutation in the *LDLR* gene and clinical heterogeneity. *J. Clin. Lipidol.* 2014;8(5):525-527. DOI 10.1016/j.jacl.2014.05.002.
- Vaezi Z., Amini A. Familial Hypercholesterolemia. In: StatPearls. StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2022. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556009/> (accessed on 24 July 2022).
- Valdes V.J., Athie A., Salinas L.S., Navarro R.E., Vaca L. CUP-1 is a novel protein involved in dietary cholesterol uptake in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One.* 2012;7(3):e33962. DOI 10.1371/journal.pone.0033962.
- Vasilyev V., Zakharova F., Bogoslovskaya T., Mandelshtam M. Familial hypercholesterolemia in Russia: three decades of genetic studies. *Front. Genet.* 2020;11:550591. DOI 10.3389/fgene.2020.550591.
- Wiegman A., Gidding S.S., Watts G.F., Chapman M.J., Ginsberg H.N., Cuchel M., Ose L., ... Santos R.D., Stalenhoef A.F., Steinhagen-Thiessen E., Stroes E.S., Taskinen M.R., Tybjærg-Hansen A., Wiklund O., European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur. Heart J.* 2015;36(36):2425-2437. DOI 10.1093/eurheartj/ehv157.
- World Health Organization-Human genetics DoNDP. Familial hypercholesterolaemia: report of a second World Health Organization consultation, Geneva: WHO; 1999. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66346> (Application: 14.11.2022).
- Wuni R., Kuhnle G.G.C., Wynn-Jones A.A., Vimalaswaran K.S. A nutrigenetic update on *CETP* gene-diet interactions on lipid-related outcomes. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2022;24(2):119-132. DOI 10.1007/s11883-022-00987-y.
- Zakharova F.M., Damgaard D., Mandelshtam M.Y., Golubkov V.I., Nissen P.H., Nilsen G.G., Stenderup A., Lipovetsky B.M., Konstantinov V.O., Denisenko A.D., Vasilyev V.B., Faergeman O. Familial hypercholesterolemia in St.-Petersburg: the known and novel mutations found in the low density lipoprotein receptor gene in Russia. *BMC Med. Genet.* 2005;6:6. DOI 10.1186/1471-2350-6-6.

#### ORCID ID

D.E. Ivanoshchuk [orcid.org/0000-0002-0403-545X](https://orcid.org/0000-0002-0403-545X)  
A.B. Kolker [orcid.org/0000-0002-7048-6419](https://orcid.org/0000-0002-7048-6419)  
O.V. Timoshchenko [orcid.org/0000-0002-6584-2060](https://orcid.org/0000-0002-6584-2060)  
S.E. Semaev [orcid.org/0000-0003-3999-8501](https://orcid.org/0000-0003-3999-8501)  
E.V. Shakhtshneider [orcid.org/0000-0001-6108-1025](https://orcid.org/0000-0001-6108-1025)

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-25-00743.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.12.2022. После доработки 02.05.2023. Принята к публикации 03.05.2023.