

УДК 616.153.922

DOI 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *APOA5* У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИЕЙ

С.В. Михайлова<sup>1</sup>, Д.Е. Иванощук<sup>1</sup>, Н.С. Широкова<sup>2</sup>, Е.В. Шахтшнейдер<sup>1</sup> ✉

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, Российская Федерация, 630090; <sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», ул. Пирогова, 2, Новосибирск, Российская Федерация, 630090

### Основные положения

- Изучен полиморфизм гена *APOA5* у пациентов с семейной гиперхолестеринемией методом таргетного секвенирования.
- Выявлено восемь замен в гене *APOA5*: rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821, для которых ранее показана ассоциация с дислипидемией.
- Найдена ранее не описанная замена Ala169Asp, которая может менять заряд сайта связывания белка с липидными каплями в гепатоцитах.
- Генетические варианты *APOA5*, распространенные у пациентов с семейной гиперхолестеринемией, могут участвовать в формировании патологического фенотипа дислипидемии.

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Цель</b>               | Анализ генетического полиморфизма гена <i>APOA5</i> среди пациентов европеоидного происхождения с семейной гиперхолестеринемией.   |
| <b>Материалы и методы</b> | Выборка из 43 неродственных пациентов европеоидного происхождения с семейной гиперхолестеринемией (СГХС) сформирована с использованием диагностического критерия Dutch Lipid Clinic Network. Таргетное секвенирование геномной ДНК выполнено с помощью набора NimbleGen SeqCap EZ Choice kit на пиросеквенаторе Roche Junior GS (Roche, Швейцария).  |
| <b>Результаты</b>         | У пациентов с СГХС выявлены восемь замен в гене <i>APOA5</i> – rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821, – для которых ранее показана ассоциация с дислипидемией, а также одна ранее не описанная замена Ala169Asp, которая может менять заряд сайта связывания белка с липидными каплями в гепатоцитах. Не выявлено различий в частоте внутригенного гаплотипа ApoA5*2, для которого ранее показана ассоциация с повышенным уровнем триглицеридов, между пациентами с СГХС и популяцией. |
| <b>Заключение</b>         | Генетические варианты <i>APOA5</i> , распространенные у пациентов с СГХС, могут участвовать в формировании патологического фенотипа дислипидемии, однако для более точной оценки их вклада целесообразно проводить дифференциацию пациентов с СГХС по уровню триглицеридов.  |
| <b>Ключевые слова</b>     | Гиперлипидемия • Триглицериды • Липопротеины • Ген <i>APOA5</i> • Генетический полиморфизм • Гаплотипы   |

Поступила в редакцию: 01.04.2020; поступила после доработки: 19.04.2020; принята к печати: 01.05.2020

## POLYMORPHISM OF THE *APOA5* GENE IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERLIPIDEMIA

S.V. Mikhailova<sup>1</sup>, D.E. Ivanoshchuk<sup>1</sup>, N.S. Shirokova<sup>2</sup>, E.V. Shakhtshneider<sup>1</sup> ✉

<sup>1</sup>Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 10, Ac. Lavrentieva ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630090; <sup>2</sup>Novosibirsk State University, 2, Pirogova St., Novosibirsk, Russian Federation, 630090

### Highlights

- The *APOA5* gene polymorphism was studied in patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing.

**Для корреспонденции:** Елена Владимировна Шахтшнейдер, 2117409@mail.ru; адрес: пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия, 630090

**Corresponding author:** Elena V. Shakhtshneider, 2117409@mail.ru; address: 10, Ac. Lavrentieva ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630090

- Eight substitutions in the *APOA5* gene (rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, rs651821) were identified. They have been previously reported to be associated with dyslipidemia.
- A previously undescribed substitution, Ala169Asp, have been determined. It is responsible for altering the charge of the protein binding site to lipid drops in hepatocytes.
- Genetic variants of *APOA5*, common in patients with familial hypercholesterolemia, may be involved in the formation of the pathological phenotype of dyslipidemia.

|                   |  |
|-------------------|--|
| <b>Aim</b>        | To study <i>APOA5</i> genetic polymorphism in Caucasoid patients with familial hypercholesterolemia.   |
| <b>Methods</b>    | Sample of patient with familial hypercholesterolemia (43 unrelated Caucasoid persons) was formed using Dutch Lipid Clinic Network Criteria. Targeted sequencing of genome DNA was performed by NimbleGen SeqCap EZ Choice kit on pyrosequencer Roche Junior GS (Roche, Switzerland).   |
| <b>Results</b>    | In patients with familial hypercholesterolemia, 8 substitutions were identified in the <i>APOA5</i> gene: rs2075291, rs3135506, rs2072560, rs2266788, rs3135507, rs34089864, rs619054, and rs651821, that are known to be associated with dyslipidemia. One novel substitution Ala169Asp was found. It is responsible for changing the charge of a domain for lipid droplets binding in the <i>APOA5</i> protein. There were no differences in the frequencies of the ApoA5*2 intragenic haplotype, which has been recently reported to be associated with an increased triglyceride levels in patients with familial hypercholesterolemia and the population. |
| <b>Conclusion</b> | Genetic variants of <i>APOA5</i> , common in patients with familial hypercholesterolemia, may be involved in the formation of the pathological phenotype of dyslipidemia. However, a more accurate assessment of their contribution is required to differentiate patients with familial hypercholesterolemia according to their triglycerides level.   |
| <b>Keywords</b>   | Hyperlipidemia • Triglycerides • Lipoproteins • <i>APOA5</i> gene • Genetic polymorphism • Haplotypes  |

*Received: 01.04.2020; received in revised form: 19.04.2020; accepted: 01.05.2020*

### Список сокращений

|   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| ЛОВП – липопротеины очень высокой плотности | СГХС – семейная гиперхолестеринемия |
| ОНП – однонуклеотидный полиморфизм          | <i>APOA5</i> – аполипопротеин А5    |
| ТГ – триглицериды                           |                                     |

### Введение

Первичная гиперлипидемия – одно из самых распространенных нарушений метаболизма у человека, выражаемое повышенным уровнем липидов и/или липопротеинов в плазме крови. Распространенность повышенного общего холестерина сыворотки, по данным ВОЗ, составляет 54% среди представителей мужского и женского пола европеоидной расы ([https://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/cholesterol\\_text/en/](https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/)). Часто это нарушение сопровождается повышенным уровнем (более 1,70 ммоль/л) триглицеридов (ТГ). Высокий уровень холестерина – один из основных факторов риска атеросклероза, который в свою очередь ведет к развитию ишемической болезни сердца, стабильно находящейся на первом месте среди причин смерти в мире ([www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death)). Высокий уровень ТГ (более 20 ммоль/л) является

фактором риска острого панкреатита, а умеренно повышенный – ожирения, атеросклероза, сахарного диабета 2-го типа, метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний [1–3].

Разновидность первичной гиперлипидемии, семейная гиперхолестеринемия (СГХС), – моногенное заболевание, при котором нарушение метаболизма холестерина в ряде случаев сопровождается повышением уровня ТГ и обусловлено гомо- или гетерозиготной перестройкой в одном из генов. Каскадный генетический скрининг признан наиболее эффективным методом выявления случаев СГХС, в том числе до клинических проявлений заболевания [4]. Молекулярно-генетическая диагностика СГХС позволяет своевременно назначать пациентам адекватную терапию, предотвращающую развитие осложнений основного заболевания. Гены метаболизма холестерина, мутации в которых

обуславливают большую часть случаев СГХС (*LDLR*, *LDLRAP1*, *APOB*, и *PCSK9*), относительно хорошо изучены, и их генетический анализ широко используется в диагностике [2]. Еще несколько генов – *CYP7A1*, *LIPA*, *ABCG5*, *ABCG8*, *PNPLA5* – включены в анализ предрасположенности к СГХС недавно [5]. Однако для 30% пациентов с СГХС не удается выявить генетическую причину развития заболевания [6].

Данная работа направлена на поиск ранее не известных генетических вариантов, вызывающих развитие фенотипа СГХС и других форм дислипидемии. Мы проанализировали генетический полиморфизм гена *APOA5*, который кодирует ключевой регулятор концентрации ТГ в плазме крови у европеоидных пациентов с семейной гиперхолестеринемией.

Ген *APOA5* расположен на хромосоме 11 в локусе 11q23.3 вблизи кластера генов аполипопротеинов *APOA4/APOC3/APOA1* на расстоянии 27 тыс. нуклеотидных пар от 3'-конца гена *APOA4*, состоит из четырех экзонов, первый из которых не кодирующий [7]. Синтезируемый полипептид АРОА5 состоит из 366 аминокислот, первые 23 из которых являются лидерным пептидом. После его отрезания получается высокогидрофобный белок, содержащий 343 аминокислоты: 1–146 ответственны за связывание с липопротеинами высокой и очень высокой плотности (ЛОВП), 161–181 – за связывание с поверхностью жировых капель в гепатоцитах; 186–222 – за связывание с гепарином, 192–238 – за связывание с липидами и активацию липопротеин липазы, С-концевой домен 293–343 также отвечает за связывание с липидами [3].

АРОА5 синтезируется в печени, где связывается с поверхностью жировых капель в процессе формирования из них ЛОВП, а затем вместе с ними выходит в кровоток [8]. Одна молекула АРОА5 приходится в среднем на 24 частицы ЛОВП, что подразумевает в большей степени регуляторную, чем структурную функцию этого белка [9]. Помимо ЛОВП в плазме крови АРОА5 связывается с хиломикронами и липопротеинами высокой плотности [3]. Низкий уровень экспрессии АРОА5 показан в энтероцитах [10], белок может интернализироваться адипоцитами, в которых он также находится в связи с жировыми каплями [3].

Предполагается, что АРОА5 может участвовать в регуляции концентрации ТГ на нескольких этапах метаболизма липопротеинов: секреции ЛОВП в печени, активации липопротеин липазы на внутренней поверхности кровеносных сосудов, захвате липопротеинов рецепторами гепатоцитов, депонировании ТГ в адипоцитах и синтезе хиломикронов в энтероцитах [11]. В разных этнических группах выявлены различающиеся наборы однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена *APOA5*, ассоциированных с гиперлипидемией, гиперхолестеринемией, ожирением, инфарктом миокарда и другими заболеваниями [11].

Различия между европеоидными, азиатскими и африканскими популяциями как по частоте встречаемости, так и ассоциации с гипертриглицеридемией, сахарным диабетом 2-го типа, метаболическим синдромом показаны для rs662799 и rs3135506 [3, 12, 13], что говорит о неполной пенетрантности этих однонуклеотидных полиморфизмов.

Для *APOA5* показано наличие внутригенных гаплотипов (обозначаемых ApoA5\*1 – 5) по полиморфизмам rs662799, rs2266788, rs3135506, s2072560 [7, 13, 14], гаплотип ApoA5\*2, представленный в европеоидных популяциях с частотой около 8%, ассоциирован со сниженной экспрессией АРОА5 и повышенным уровнем ТГ по сравнению с четырьмя другими вариантами [13]. Показано, что характеризующий его вариант rs2266788С в 3'-некодирующей области гена создает потенциальный сайт связывания для экспрессирующейся в печени микроРНК miR-485-5p, что приводит к посттранскрипционной даун-регуляции мРНК *APOA5* [15]. Предполагается, что именно этот ОНП определяет характерный для носителей данного гаплотипа сниженный уровень белка АРОА5.

## Материалы и методы

Протокол исследования одобрен этическим комитетом Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия). Письменное информированное согласие на обследование и участие в исследовании получено от каждого пациента. Для лиц моложе 18 лет информированное согласие подписано одним из родителей или законным опекуном.

Набор материала проводился в Научно-клиническом центре липидологии НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Обследованы 43 неродственных пациента в возрасте от 6 до 48 лет с диагнозом «определенная семейная гиперхолестеринемия» согласно критерию Dutch Lipid Clinic Network [16].

Геномная ДНК для секвенирования нового поколения выделена из лейкоцитов венозной крови путем экстракции фенол-хлороформом [17]. В дизайн таргетной панели включены кодирующие фрагменты и прилегающие сайты сплайсинга генов липидного обмена, в том числе АРОА5. Для приготовления библиотек использован набор NimbleGen SeqCap EZ Choice kit (Roche, Швейцария). Качество анализируемой ДНК и приготовленных библиотек оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Анализ готовой библиотеки выполнен на пиросеквенаторе Roche Junior GS (Roche, Швейцария).

Биоинформационный анализ данных секвенирования проведен в системе NGSWizard на платформе Genomenal (ru.genomenal.com) и включал:

картирование данных на геном человека (версия GRCh38), контроль качества, удаление дубликатов, выявление однонуклеотидных вариантов и инсерций/делеций в гене *APOA5*. Аннотация полученных вариантов производилась с использованием баз данных gnomAD (gnomad.broadinstitute.org), ClinVar (www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar), HGMD (www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php) и данных литературы. При анализе новой замены учитывались данные тестирования *in silico* с помощью программ SIFT (provean.jcvi.org/index.php), PolyPhen-2 (genetics.bwh.harvard.edu/pph2), Mutation Taster (www.mutationtaster.org) и LIST (list.msl.ubc.ca).

## Результаты

Обнаруженные у пациентов с СГХС генетические варианты гена *APOA5* представлены в *таблице*.

Вариантов гена *APOA5*, для которых ранее показана ассоциация с тяжелыми формами гипертриглицеридемии [11, 14], в исследованной выборке не найдено. Четыре из обнаруженных однонуклеотидных варианта предсказаны в ClinVar как доброкачественные. Для восьми ранее найденных ОНП в разных этнических группах показана ассоциация с гипертриглицеридемией или гиперхолестеринемией, при этом оцененные нами частоты этих полиморфизмов в исследованной выборке не показали достоверных отличий от популяционных. Вероятнее всего, это связано с тем, что в выборку были

включены пациенты с СГХС без учета наличия или отсутствия у них гипертриглицеридемии.

Мы также оценили в исследуемой выборке частоту внутригенного гаплотипа ApoA5\*2, определяемого по наличию вариантов rs2266788G и rs2072560T: выявлены шесть гетерозиготных носителей этого варианта (7%), что соответствует его частоте в европеоидных популяциях [13].

У одного пациента найдена ранее не описанная замена Ala169Asp в экзоне 4 гена *APOA5*. Неполярный аланин, находящийся в домене белка, отвечающем за связь с липидными каплями, заменен при этом на отрицательно заряженную аспарагиновую кислоту. Тестирование *in silico* замены Ala169Asp показало индекс патогенности по программе Mutation Taster 126 баллов, по PolyPhen-2 – 0,956 балла, по LIST – 0,703407 балла, что указывает на вероятную патогенность этого варианта; программа Provean (2,119 балла) определила замену как нейтральную. Для однозначной оценки ее функциональной значимости требуются дополнительные исследования.

## Обсуждение

Гипертриглицеридемии с умеренно повышенным уровнем ТГ, как правило, имеют полигенное наследование и распространены существенно шире моногенных тяжелых форм этого заболевания [11, 14]. Гиперхолестеринемии, в том числе СГХС, могут сопровождаться гипертриглицеридемиями,

**Таблица.** Нуклеотидные варианты гена *APOA5*, идентифицированные в группе пациентов с семейной гиперхолестеринемией. Частота редкого аллеля представлена согласно базе данных gnomAD

**Table.** Nucleotide variants in *APOA5* gene, identified in patients with familial hypercholesterolemia. Minor allele frequency is given according to gnomAD database

| Однонуклеотидные варианты / SNV | Локализация / Localization    | Частота редкого аллеля / Minor allele frequency | Ассоциированный фенотип, ClinVar, ссылки / Phenotype, ClinVar, References                                     |
|---------------------------------|-------------------------------|---|---|
| rs2075291                       | Gly185Ser<br>экзон 4 / экон 4 | 0,0062  | Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [17, 19]  |
| rs3135506                       | Ser19Trp<br>экзон 3 / экон 3  | 0,0675  | Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [20]  |
| Новая / New                     | Ala169Asp<br>экзон 4 / экон 4 | нд / на   | –   |
| rs2072560                       | Инtron 3 /<br>Intron 3        | 0,1   | Гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия (ЛЮВП) / Hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia (VLDL) [21]     |
| rs45596738                      | 3' UTR                        | 0,0565  | Доброкачественная / Benign  |
| rs12287066                      | Ile44Ile<br>экзон 3 / экон 3  | 0,0791  |   |
| rs2266788                       | 3' UTR                        | 0,0677  | Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [7, 15]   |
| rs3135507                       | Val153Met<br>экзон 4 / экон 4 | 0,0508  | Гиперхолестеринемия / Hypercholesterolemia [22]   |
| rs33984246                      | 3' UTR                        | 0,0565  | Доброкачественная / Benign  |
| rs34089864                      |                               | 0,0387  | Гиперхолестеринемия / Hypercholesterolemia [23]   |
| rs619054                        |                               | 0,1896  | Гиперхолестеринемия в одном гаплотипе с rs34089864 / Hypercholesterolemia in association with rs34089864 [23] |
| rs651821                        | 5' UTR                        | 0,1195  | Гипертриглицеридемия / Hypertriglyceridemia [19]  |
| rs143292359                     | Ala315Val<br>экзон 4 / экон 4 | 0,0006  | Доброкачественная / Benign [13, 24]   |

**Примечание:** ЛЮВП – липопротеины очень высокой плотности; НД – нет данных; UTR – нетранслируемая область.  
**Note:** NA – not available; SNV – single nucleotide variations; UTR – untranslated region, VLDL – very-low-density lipoprotein.

при этом патогенные мутации в некоторых генах метаболизма холестерина всегда вызывают подъем уровня ТГ (*LIPA*, *ABCG5* и *ABCG8*), что не характерно для других генов. Для ряда генов показано, что мутации в них, не способные сами по себе приводить к СГХС, могут модифицировать фенотип этого заболевания, усугубив тяжесть клинических проявлений [5]. Это может приводить к тому, что среди пациентов с СГХС будут встречаться те, чей фенотип обусловлен мутациями в более чем одном гене. Большое количество полиморфизмов гена *APOA5*, ассоциированных с повышенным уровнем ТГ и имеющих частоты 5–10% в европеоидных популяциях, подразумевает существенную роль генетического фона, создаваемого этим геном, в проявлении патологического фенотипа семейной гиперхолестеринемии.

Помимо этого показано, что в определении уровня триглицеридов плазмы крови существенны взаимодействия гена *APOA5* с ненаследственными факторами: наличием ожирения, пищевыми привычками и потреблением алкоголя [25]. В результате анализа спектра генетических вариантов *APOA5* мы выявили у пациентов с СГХС восемь полиморфных сайтов, для которых ранее показана ассоциация с гиперлипидемией, и одну ранее не описанную потенциально патогенную мутацию в экзоне 4 этого гена. При этом частоты выявленных нами вариантов не отличались от популяционных. Это говорит о том, что распространенные полиморфизмы гена *APOA5* не влияют на предрасположенность к СГХС, однако редкие варианты этого гена требуют дополнительного внимания.

Для оценки вклада обнаруженных вариантов в фенотип заболевания требуются расширение выборки и дифференциация пациентов по уровню триглицеридов.

#### Информация об авторах

*Михайлова Светлана Владимировна*, кандидат биологических наук, научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующей лабораторией молекулярной генетики человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0897-5473

*Иванощук Динара Евгеньевна*, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0403-545X

*Широкова Нина Сергеевна*, студент Института медицины и психологии В. Зельмана федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8828-0259

*Шахтшнейдер Елена Владимировна*, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая

#### Заключение

У пациентов с СГХС выявлены восемь ОНП, для которых ранее в разных этнических группах показана ассоциация с дислипидемией, и одна ранее не описанная потенциально патогенная замена Ala169Asp в экзоне 4 гена *APOA5*, приводящая к смене неполярной аминокислоты в сайте связывания с липидными каплями на отрицательно заряженную. Для проверки ее функциональной значимости требуются дальнейшие исследования. Частота внутригенного гаплотипа ApoA5\*2, предрасполагающего к развитию дислипидемии, у пациентов с СГХС не отличалась от популяционной. Таким образом, генетические варианты гена *APOA5* могут вносить вклад в формирование патологического фенотипа СГХС в российской популяции, но для более точной оценки их вклада требуется дифференциация пациентов по уровню триглицеридов.

#### Конфликт интересов

С.В. Михайлова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.Е. Иванощук заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.С. Широкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.В. Шахтшнейдер заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### Финансирование

Работа по формированию выборки и молекулярно-генетический анализ выполнены при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 19-015-00458), биоинформационный анализ выполнен в рамках государственного задания № АА-АА-А17-117072710029-7.

#### Author Information Form

*Mikhailova Svetlana V.*, PhD, Head of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0897-5473

*Ivanoshchuk Dinara E.*, junior researcher at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0403-545X

*Shirokova Nina S.*, student at the V. Zelman Institute for Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8828-0259

*Shakhtshneider Elena V.*, PhD, MD, leading researcher, Head of the Division of Monogenic Forms of Human Common

сектором изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; ORCID 0000-0001-6108-1025

Disease, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; ORCID 0000-0001-6108-1025

#### Вклад авторов в статью

*МСВ* – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ИДЕ* – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ШНС* – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ШЕВ* – вклад в дизайн исследования, анализ данных, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

#### Author Contribution Statement

*MSV* – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

*IDE* – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

*ShNS* – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

*ShEV* – contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Do R., Stitzel N.O., Won H.H., Jørgensen A.B., Duga S., Merlini A.P., et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature*. 2015; 518:102-106. doi: 10.1038/nature13917
- Ramasamy I. Update on the laboratory investigation of dyslipidemias. *Clin Chim Acta*. 2018; 479:103-125. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.015.
- Su X., Kong Y., Peng D.Q. New insights into apolipoprotein A5 in controlling lipoprotein metabolism in obesity and the metabolic syndrome patients. *Lipids Health Dis*. 2018; 17(1):174. doi: 10.1186/s12944-018-0833-2.
- Шахтштейнер Е.В., Иванощук Д.Е., Макаренкова К.В., Орлов П.С., Тимошенко О.В., Бажан С.С., Никитин Ю.П., Воевода М.И. Каскадный генетический скрининг в диагностике гетерозиготной формы семейной гиперхолестеринемии: клинический случай. *Российский кардиологический журнал*. 2017; (6):178-179. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-178-179>.
- Mikhailova S., Ivanoshchuk D., Timoshchenko O., Shakhtshneider E. Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia. *Biomolecules*. 2019; 9(12). pii: E807. doi: 10.3390/biom9120807.
- Печерина Т.Б., Хорлампенко А.А., Горбунова Е.В., Строкольская И.Л., Кашталап В.В. Клиническое наблюдение пациента с семейной гетерозиготной гиперхолестеринемией. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2017;6(4):155-168. DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-ISS-168.
- Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C., Cox D.R., Fruchart J.C., et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*. 2001; 294(5540):169-173. DOI: 10.1126/science.1064852
- Shu X., Nelbach L., Ryan R.O., Forte T.M. Apolipoprotein A-V associates with intrahepatic lipid droplets and influences triglyceride accumulation. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1801:605–608. doi: 10.1016/j.bbali.2010.02.004.
- Merkel M., Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest*. 2005; 115(10):2694-2696. DOI: 10.1172/JCI26712.
- Guardiola M., Alvaro A., Vallve J.C., Rosales R., Sola R., Girona J., et al. APOA5 gene expression in the human intestinal tissue and its response to in vitro exposure to fatty acid and fibrate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22:756–762. doi: 10.1016/j.numecd.2010.12.003.
- Guardiola M., Ribalta J. Update on APOA5 Genetics: Toward a Better Understanding of Its Physiological Impact. *Curr Atheroscler Rep*. 2017; 19(7):30. doi: 10.1007/s11883-017-0665-y.
- Hubacek J.A. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: Lessons from genetic epidemiology. *Gene*. 2016; 592(1):193-199. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.070.
- Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet*. 2002; 11(24):3031-3038. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3031.
- Melegh B.I., Duga B., Sümegi K., Kisfali P., Maász A., Komlósi K., et al. Mutations of the apolipoprotein A5 gene with inherited hypertriglyceridaemia: Review of the current literature. *Curr Med Chem*. 2012; 19(36):6163-6170. DOI: 10.2174/092986712804485719.
- Caussy C., Charrière S., Marçais C., Di Filippo M., Sassolas A., Delay M., et al. An APOA5 3' UTR variant associated with plasma triglycerides triggers APOA5 downregulation by creating a functional miR-485-5p binding site. *Am J Hum Genet*. 2014; 94(1):129-134. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.12.001.
- Defesche J.C., Lansberg P.J., Umans-Eckenhausen M.A., Kastelein J.J. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med*. 2004; 4:59–65.
- Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc*. 2006; 2006(1). pii: pdb.prot4455. doi: 10.1101/pdb.prot4455.
- Qian X., Li Y., Liu X., Li L., Yang K., Liu R., et al. The "T" allele of apolipoprotein A5 rs2075291 is significantly associated with higher total cholesterol and triglyceride and lower high-density lipoprotein cholesterol levels in Asians: a meta-analysis. *Nutr Res*. 2018; 56:11-22. doi: 10.1016/j.nutres.2018.03.018.
- You Y., Wu Y.-H., Zhang Y., Zhang L., Song Y., Bai W., et al. Effects of polymorphisms in APOA5 on the plasma levels of triglycerides and risk of coronary heart disease in Jilin, northeast China: a case-control study. *BMJ Open*. 2018; 8(6): e020016. doi: 10.1136/bmjopen-2017-020016.
- Vrablik M., Hubacek J.A., Dlouha D., Satny M., Adamkova V., Ceska R. Strong association between APOA5 gene polymorphisms and hypertriglyceridaemic episodes. *Folia Biol (Praha)*. 2019; 65(4):188-194.
- Jasim A.A., Al-Bustan S.A., Al-Kandari W, Al-Serri A., Al-Askar H. Sequence analysis of APOA5 among the Kuwaiti population identifies association of rs2072560, rs2266788, and rs662799 with TG and VLDL levels. *Front Genet*. 2018; 9:112. doi: 10.3389/fgene.2018.00112.
- Fahrioglu U., Ergoren M.Ç. The association between APOA5 gene polymorphisms and plasma lipids in the Turkish Cypriot population: a possible biomarker for preventing

cardiovascular diseases. *Biochem Genet.* 2018; 56(3):176-187. doi: 10.1007/s10528-017-9836-3.

23. Salehi S., Emadi-Baygi M., Rezaei M., Kelishadi R., Nikpour P. Lack of evidence of the role of APOA5 3'UTR polymorphisms in Iranian children and adolescents with metabolic syndrome. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):74-81. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.74.

24. Hubacek J.A., Skodová Z., Adámková V., Lánská V., Pitha J. APOA5 variant Ser19Trp influences a decrease of the total cholesterol in a male 8 year cohort. *Clin Biochem.* 2006;39(2):133-136. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.11.012

25. Williams P.T. Gene-environment interactions due to quantile-specific heritability of triglyceride and VLDL concentrations. *Sci Rep.* 2020;10(1):4486. doi: 10.1038/s41598-020-60965-9.

## REFERENCES

1. Do R., Stitzel N.O., Won H.H., Jørgensen A.B., Duga S., Merlini A.P., et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature.* 2015; 518:102-106. doi: 10.1038/nature13917

2. Ramasamy I. Update on the laboratory investigation of dyslipidemias. *Clin Chim Acta.* 2018; 479:103-125. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.015.

3. Su X., Kong Y., Peng D.Q. New insights into apolipoprotein A5 in controlling lipoprotein metabolism in obesity and the metabolic syndrome patients. *Lipids Health Dis.* 2018; 17(1):174. doi: 10.1186/s12944-018-0833-2.

4. Shakhtshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Makarenkova K.V., Orlov P.S., Timoshchenko O.V., Bazhan S.S., Nikitin Yu.P., Voevoda M.I. Cascade genetic screening in diagnostics of heterozygous familial hypercholesterolemia: clinical case. *Russ J Cardiol.* 2017; 6 (146): 178–179. (In Russian). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-178-179>.

5. Mikhailova S., Ivanoshchuk D., Timoshchenko O., Shakhtshneider E. Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia. *Biomolecules.* 2019; 9(12). pii: E807. doi: 10.3390/biom9120807.

6. Pecherina T.B., Khorlampenko A.A., Gorbunova E.V., Strokolskaya I.L., Kashtalov V.V. Clinical case of a patient with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2017;6(4):155-168. (In Russian). DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-ISS-168.

7. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C., Cox D.R., Fruchart J.C., et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science.* 2001; 294(5540):169-173. DOI: 10.1126/science.1064852

8. Shu X., Nelbach L., Ryan R.O., Forte T.M. Apolipoprotein A-V associates with intrahepatic lipid droplets and influences triglyceride accumulation. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1801:605–608. doi: 10.1016/j.bbali.2010.02.004.

9. Merkel M., Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest.* 2005; 115(10):2694-2696. DOI: 10.1172/JCI26712.

10. Guardiola M., Alvaro A., Vallve J.C., Rosales R., Sola R., Girona J., et al. APOA5 gene expression in the human intestinal tissue and its response to in vitro exposure to fatty acid and fibrate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012; 22:756–762. doi: 10.1016/j.numecd.2010.12.003.

11. Guardiola M., Ribalta J. Update on APOA5 Genetics: Toward a Better Understanding of Its Physiological Impact. *Curr Atheroscler Rep.* 2017; 19(7):30. doi: 10.1007/s11883-017-0665-y.

12. Hubacek J.A. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: Lessons from genetic epidemiology. *Gene.* 2016; 592(1):193-199. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.070.

13. Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet.* 2002; 11(24):3031-3038. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3031.

14. Melegh B.I., Duga B., Sümegi K., Kisfali P., Maász A., Komlósi K., et al. Mutations of the apolipoprotein A5 gene with inherited hypertriglyceridaemia: Review of the current literature. *Curr Med Chem.* 2012; 19(36):6163-6170. DOI: 10.2174/092986712804485719.

15. Caussy C., Charrière S., Marçais C., Di Filippo M., Sassolas A., Delay M., et al. An APOA5 3' UTR variant associated with plasma triglycerides triggers APOA5 downregulation by creating a functional miR-485-5p binding site. *Am J Hum Genet.* 2014; 94(1):129-134. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.12.001.

16. Defesche J.C., Lansberg P.J., Umans-Eckenhuisen M.A., Kastelein J.J. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med.* 2004; 4:59–65.

17. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc.* 2006; 2006(1). pii: pdb.prot4455. doi: 10.1101/pdb.prot4455.

17. Qian X., Li Y., Liu X., Li L., Yang K., Liu R., et al. The "T" allele of apolipoprotein A5 rs2075291 is significantly associated with higher total cholesterol and triglyceride and lower high-density lipoprotein cholesterol levels in Asians: a meta-analysis. *Nutr Res.* 2018; 56:11-22. doi: 10.1016/j.nutres.2018.03.018.

19. You Y., Wu Y.-H., Zhang Y., Zhang L., Song Y., Bai W., et al. Effects of polymorphisms in APOA5 on the plasma levels of triglycerides and risk of coronary heart disease in Jilin, northeast China: a case-control study. *BMJ Open.* 2018; 8(6): e020016. doi: 10.1136/bmjopen-2017-020016.

20. Vrablik M., Hubacek J.A., Dlouha D., Satny M., Adamkova V., Ceska R. Strong association between APOA5 gene polymorphisms and hypertriglyceridaemic episodes. *Folia Biol (Praha).* 2019; 65(4):188-194.

21. Jasim A.A., Al-Bustan S.A., Al-Kandari W, Al-Serri A., Al-Askar H. Sequence analysis of APOA5 among the Kuwaiti population identifies association of rs2072560, rs2266788, and rs662799 with TG and VLDL levels. *Front Genet.* 2018; 9:112. doi: 10.3389/fgene.2018.00112.

22. Fahrioglu U., Ergören M.Ç. The association between APOA5 gene polymorphisms and plasma lipids in the Turkish Cypriot population: a possible biomarker for preventing cardiovascular diseases. *Biochem Genet.* 2018; 56(3):176-187. doi: 10.1007/s10528-017-9836-3.

23. Salehi S., Emadi-Baygi M., Rezaei M., Kelishadi R., Nikpour P. Lack of evidence of the role of APOA5 3'UTR polymorphisms in Iranian children and adolescents with metabolic syndrome. *Diabetes Metab J.* 2018;42(1):74-81. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.74.

24. Hubacek J.A., Skodová Z., Adámková V., Lánská V., Pitha J. APOA5 variant Ser19Trp influences a decrease of the total cholesterol in a male 8 year cohort. *Clin Biochem.* 2006;39(2):133-136. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.11.012

25. Williams P.T. Gene-environment interactions due to quantile-specific heritability of triglyceride and VLDL concentrations. *Sci Rep.* 2020;10(1):4486. doi: 10.1038/s41598-020-60965-9.

**Для цитирования:** С.В. Михайлова, Д.Е. Иванощук, Н.С. Широкова, Е.В. Шахтинейдер. Полиморфизм гена *APOA5* у пациентов с первичной гиперлипидемией. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (2): 38-44. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44

**To cite:** S.V. Mikhailova, D.E. Ivanoshchuk, N.S. Shirokova, E.V. Shakhtshneider. Polymorphism of the *APOA5* gene in patients with primary hyperlipidemia. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020; 9 (2): 38-44. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-38-44