

**ГЕНЫ АПОЛИПРОТЕИНОВ *APOA5* И *APOH*
КАК РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА ЛИПОПРОТЕИНОВ****Н.С. Широкова¹, С.В. Михайлова², Д.Е. Иваношук^{2,3}, Е.В. Шахтшнейдер^{2,3}**¹*ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1*²*ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10*³*НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

Атеросклероз является ведущей причиной развития сердечно-сосудистых заболеваний, приводящих к инвалидизации и смерти пациентов во всем мире. Множество факторов способно влиять на атерогенез, в их числе гипертония, курение, наличие сахарного диабета и воспалительных процессов. Известно, что нарушения обмена холестерина и триглицеридов, вызванные изменением в структуре белков, входящих в состав липопротеинов, ассоциированы с предрасположенностью к гиперлипидемии и атеросклерозу. Несмотря на повышенный интерес к изучению механизмов атерогенеза, многие участники этого процесса остаются не до конца изученными. В данном обзоре рассмотрена структура и функция двух белков, аполипопротеина А5 и аполипопротеина Н, в связи с их ассоциацией с нарушением обмена липидов.

Ключевые слова: аполипопротеины, атеросклероз, триглицериды, ген *APOA5*, ген *APOH*.

АПОЛИПОПРОТЕИН А5

Аполипопротеин А5 (апо А5) кодируется геном *APOA5*, который расположен на длинном плече 11-й хромосомы в локусе 11q23.3, в кластере генов аполипопротеинов *APOA1/C3/A4/A5*. Известно, что гены *APOC3* и *APOA5* размещены на расстоянии 35 тысяч пар оснований друг от друга и являются ключевыми модуляторами метаболизма триглицеридов (ТГ) в плазме крови [1, 2]. Ген *APOA5* состоит из четырех экзонов, первый – некодирующий, а с остальных трех считывается функциональный протеин из 366 аминокислотных остатков [3]. Белок апо А5 содержит сигнальную последовательность из 23 аминокис-

лот, которая отрезается при посттрансляционной модификации с образованием высокогидрофобного белка, состоящего из 343 аминокислот. Первые 146 N-концевых аминокислот ответственны за связывание с липопротеинами высокой (ЛПВП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности, аминокислоты 161–181 – с поверхностью жировых капель в гепатоцитах, 186–222 – с гепарином, 192–238 – с липидами и отвечает за активацию липопротеинлипазы. С-концевой домен, аминокислоты 293–343, также отвечает за связывание с липидами [4].

Ген *APOA5* преимущественно экспрессируется в печени и в гораздо меньшей степени – в

Широкова Нина Сергеевна – студент, e-mail: shirokovans97@mail.ru

Михайлова Светлана Владимировна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории молекулярной генетики человека, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru

Иваношук Динара Евгеньевна – м.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека, ФИЦ ИЦиГ СО РАН; н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: dinara2084@mail.ru

Шахтшнейдер Елена Владимировна – канд. мед. наук, руководитель сектора изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека, ФИЦ ИЦиГ СО РАН; зам. руководителя филиала по научной работе, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: 2117409@mail.ru

тканях кишечника [5]. После синтеза в гепатоцитах апо А5 связывает жировые капли в ходе образования липопротеинов и секретируется в кровотока вместе с ними [6]. При исследовании липопротеиновых частиц обнаружено, что апо А5 взаимодействует с ЛПОНП, ЛПВП, хиломикронами, но не с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) [7]. Хотя белок в основном циркулирует в составе липопротеиновых частиц, он также детектируется в сыворотке в форме мономера [8]. Дальнейшие исследования на клеточных линиях человека показали, что уровень его экспрессии изменяется под действием различных стимулов (диета, фармакологические агенты) [9]. В норме у человека концентрация белка апо А5 существенно меньше, чем других апопротеинов, однако уровень его очень важен для регуляции содержания ТГ [7]. В экспериментах с модельными животными выявлено, что при сверхэкспрессии белка апо А5 количество ТГ во фракции ЛПОНП плазмы крови снижалось по сравнению с мышами дикого типа, а при нокаутировании гена *APOA5* развивалась гипертриглицеридемия [3, 10].

Механизм регуляции уровня ТГ посредством апо А5 на данный момент до конца не известен. Считается, что апо А5 активирует липопротеинлипазу и тем самым стимулирует гидролиз ТГ-богатых липопротеинов [11]. Комплекс апо А5 и липопротеинов связывается с рецепторами гепатоцитов, что способствует удалению остаточных липопротеинов из кровотока, также апо А5 регулирует накопление ТГ в адипоцитах и продукцию хиломикронов в клетках тонкого кишечника [12].

Описано более 40 полиморфных вариантов гена *APOA5*, которые могут влиять на содержание ТГ в крови [13]. Повышенный уровень ТГ, вероятнее всего, вносит независимый вклад в повышенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), а тяжелая гипертриглицеридемия, независимо от ССЗ, ассоциирована с риском возникновения острого панкреатита [14].

В редких случаях нонсенс-варианты гена *APOA5* могут обуславливать развитие аутосомно-доминантной или рецессивной формы тяжелой гипертриглицеридемии. Показано, что гомозиготный вариант с.433 С>Т, Q145X гена *APOA5* может приводить к развитию аутосомно-рецессивной формы тяжелой гипертриглицеридемии с ранним началом (возраст манифестации 5 лет), а гетерозиготные носители варианта имеют либо нормальный, либо слегка повышенный уровень ТГ. При исследовании *in vitro* установлено, что при гомозиготном варианте активация липопротеинлипазы происходила медленнее по сравнению с вариантом дикого типа, что подтвердило роль *APOA5* в активации этого фермента [15].

У двух чилийский сибсов (возраст манифестации 22 года и 30 лет) идентифицирован вариант с.289С>Т, Q97X, сопряженный с тяжелой гипертриглицеридемией в гомозиготном варианте. Обе сестры имели в анамнезе эпизоды возникновения острого панкреатита и находились на поддерживающих медикаментах и диете. У брата, гетерозиготного носителя мутации Q97X, наблюдался промежуточный фенотип с содержанием ТГ не более 22 ммоль/л, с отсутствием эпизодов острого панкреатита, наличием ожирения и сахарного диабета, но хорошо контролируемый при приеме гиполипидемических средств из группы статинов. Другие члены семьи, гетерозиготные носители, также имели повышенный уровень ТГ (не более 12 ммоль/л), ожирение и сахарный диабет без возникновения острого панкреатита [16]. У 17-летнего пробанда, носителя гомозиготного варианта Q97X, регистрировалось увеличение концентрации ТГ, низкое содержание ЛПВП и отсутствие белка апо А5. Тяжелая гипертриглицеридемия была зафиксирована в возрасте двух лет, но благодаря своевременному выявлению и поддержанию диеты уровень ТГ удалось снизить [17].

Для *APOA5* показано наличие внутригенных гаплотипов (обозначаемых ApoA5*1-5) по следующему полиморфизмам: rs662799 (-1131T>C в области промотора), rs2266788 (1259T>C в 3'-нетранслируемой области (НТО)), rs3135506 (56C>G в третьем экзоне), rs2072560 (IVS3+476G>A в третьем интроне) [3, 5, 18]. Проведено исследование, в котором выявлена неполная пенетрантность носительства Q139X [19]. В одной из семей с поздним дебютом гиперхиломикронемии, резистентностью к проводимой липидснижающей терапии и диете выявлены гетерозиготные носители варианта Q139X [19]. Дальнейшие исследования распространенности этой мутации среди 140 лиц с гиперхиломикронемией и последующее обследование выявленных гетерозиготных носителей и их доступных родственников показали ассоциацию патологического фенотипа с носительством гаплотипа ApoA5*2 или ApoA5*3 [19].

Гаплотипы *APOA5**2 (rs662799, rs2266788, rs2072560) и *APOA5**3 (rs3135506) вместе с гаплотипом дикого типа (*APOA5**1) составляют примерно 98 % всех генетических вариантов в популяции [5]. Оставшиеся 2 % включают *APOA5**4 (rs662799) и *APOA5**5 (rs2266788). Значительное повышение концентрации ТГ в сыворотке обнаружено у носителей гаплотипа *APOA5**2, причем среди них были и пациенты с метаболическим синдромом, и здоровые люди [20]. Показано, что носительство гаплотипа *APOA5**2 предрасполагает к развитию метаболического синдрома у взрослых и ожирения у детей, тогда как *APOA5**5 обладал протективным эффектом [20, 21].

Среди вариантов гена *APOA5* наиболее хорошо изучен полиморфизм rs662799 в промоторной области, обнаруживаемый у 6 % здорового европейского населения. Частота варианта отличается в других популяциях: 30 % японцев, 27 % китайцев и 20 % индийского населения являются носителями минорного аллеля, который ассоциирован с повышенными уровнями ТГ и риском развития ишемической болезни сердца, метаболического синдрома и инсульта [20, 22, 23]. Минорный аллель варианта rs2072560 ассоциирован с увеличением содержания ТГ в плазме крови. Несмотря на то что rs2072560 является интронным вариантом, он может влиять на транскрипцию белка, таким образом модифицируя взаимодействие апо А5 с липопротеинлипазой, и, в конечном итоге, приводит к повышению уровня циркулирующих ТГ [3, 24].

Менее изучен минорный вариант rs2266788 в 3'-UTR гена *APOA5*. Он создает потенциальный сайт связывания для экспрессирующейся в печени микроРНК miR-485-5p, что приводит к уменьшению синтеза мРНК *APOA5*. Предполагается, что именно этот однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) определяет характерный для носителей гаплотипа *APOA5*2* сниженный уровень белка апо А5 [25]. Носительство минорного аллеля rs2266788 также ассоциировано с повышением содержания ТГ, но при этом его связь с развитием цереброваскулярных заболеваний и метаболического синдрома не подтверждена [18, 24].

Носителями rs3135506 (*APOA5*3*) являются 3 % индийского, 4,8 % афро-американского, 4,8 % французского и 15 % испанского населения, в азиатской популяции данная замена крайне редка (около 0,1 %) [5, 26]. ОНП rs3135506 находится в кодирующей области и приводит к замене серина на триптофан в положении 19 (Ser19Trp). Показана ассоциация минорного аллеля rs3135506 с увеличением содержания ТГ, более высоким риском развития ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и инсульта в связи с окклюзией сосудов атеросклеротическими бляшками [27, 28]. У носителей по крайней мере одного метилированного сайта в 3-м экзоне гена *APOA5* обнаружена повышенная концентрация ТГ, ЛПОНП и пониженный уровень ЛПВП плазмы [29].

Таким образом, некоторые варианты гена *APOA5* могут модифицировать фенотип гиперлипидемии, увеличивая вероятность развития атеросклероза.

АПОЛИПОПРОТЕИН Н

Аполипопротеин Н, также известный как β2-липопротеин I (β2ГП I), впервые описан как

компонент липопротеинов плазмы в 1983 г. Он был выделен из фракции ЛПОНП плазмы крови пациента с гиперхолестеринемией и сразу же отнесен к нетипичным аполипопротеинам. Белок полностью растворим в воде, его вторичная, третичная и четвертичная структура полностью отличается от таковых у остальных аполипопротеинов [30]. По структуре β2ГП I относят к суперсемейству белков ССР (complement control protein), взаимодействующих с компонентами системы комплемента. Однако биологическая роль этого белка в организме остается непонятной. Первоначально, исходя из показанной преимущественной ассоциации β2ГП I с хиломикронами и ЛПОНП, был сделан вывод о его связи с метаболизмом ТГ.

В 1990-х годах интерес к β2ГП I возрос в связи с доказанной связью этого белка и антифосфолипидного синдрома (АФС), аутоиммунного заболевания человека, вызываемого антифосфолипидными антителами (АФА), катализирующими тромбоз кровеносных сосудов, и ассоциированного с осложнениями при беременности [31]. Этот синдром может быть первичным или развиваться вследствие системной красной волчанки. Установлено, что ключевые АФА направлены против β2ГП I, а не против фосфолипидов, как считалось первоначально. АФС по некоторым оценкам могут служить причиной 13,5 % случаев инсульта и 11,5 % случаев инфаркта миокарда [32]. Выработка аутоантител к β2ГП I обусловлена его способностью связываться с отрицательно заряженными соединениями, после чего белок начинает распознаваться специфическими АФА [33]. В частности, показано участие β2ГП I в связывании липополисахаридов грамотрицательных бактерий [34] и фосфатидилсерина на поверхности апоптотных клеток и апоптических телец. Фосфатидилсерин – фосфолипид внутренней части бислоя плазматической мембраны, в апоптотных клетках он начинает выходить на поверхность и распознается макрофагами с помощью нескольких видов рецепторов. Предполагается, что, связываясь с фосфатидилсерином на поверхности апоптотных клеток и апоптических телец, β2ГП I позволяет моноцитам и макрофагам распознавать и захватывать их с помощью рецепторов семейства белков, связанных с липопротеиновыми рецепторами (LRP) [35, 36].

Исходя из структуры β2ГП I предположена его роль в регуляции системы комплемента, в частности, посредством усиления деградации фактора свертывания крови С3 [37]. В экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что β2ГП I может участвовать в регуляции процесса тромбообразования, при этом он очень чувствителен к расщеплению плазмином [38]. Предполагает-

ся, что белок может предотвращать активацию каскада свертывания крови путем связывания с фосфолипидами на поверхности поврежденных клеток.

В ходе изучения структуры и физиологических функций $\beta 2$ ГП I, его роль в качестве апополипротеина в 2008 г. была оспорена [39]. При помощи иммуносорбентного анализа его ассоциация с ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП как натошак, так и пространдиально не показана. Кроме этого у пациентов с АФС в липопротеиновой фракции плазмы крови $\beta 2$ ГП I также не выявлен. Предложено полностью уйти от названия белка «аполипротеин Н», однако в базах данных по-прежнему встречаются оба его названия, а в ряде работ описана ассоциация полиморфизмов гена *АРОН*, кодирующего $\beta 2$ ГП I, с нарушением обмена липидов.

Показано связывание $\beta 2$ ГП I с окисленными формами ЛПНП (оЛПНП). Последние играют существенную роль в развитии атеросклероза; будучи захваченными макрофагами, оЛПНП способствуют их превращению в пенные клетки, которые создают основу атеросклеротических бляшек. Они запускают воспалительные и иммунные события, сопровождающиеся эндотелиальной дисфункцией и секрецией провоспалительных цитокинов, что приводит к аутоиммунному ответу, способному ускорять внутриклеточное накопление липидов в атеросклеротических бляшках. Установлено *in vitro*, что обработанные оЛПНП макрофаги выделяют экзосомы, которые провоцируют апоптоз эндотелиальных клеток и развитие окислительного стресса [40]. $\beta 2$ ГП I взаимодействует с оЛПНП с образованием стабильных циркулирующих комплексов, предполагается, что они способствуют раннему атерогенезу [41, 42]. При этом не связанный с оЛПНП $\beta 2$ ГП I имеет антиатерогенные свойства, предотвращая образование пенных клеток и блокируя окисление ЛПНП [42, 43]. Лигандами $\beta 2$ ГП I оказались омега-карбоксилированные 7-кетохолестерины в составе оЛПНП. Предполагается, что повышение уровня таких сывороточных комплексов связано с артериальным тромбозом при АФС и с аутоиммунноопосредованным атерогенезом [44].

Концентрация $\beta 2$ ГП I в плазме крови в среднем составляет 0,2 мг/мл, при этом она имеет большие индивидуальные и расовые различия, позитивно коррелирует с возрастом и негативно – с концентрацией С-реактивного белка. Показано, что 23 % дисперсии концентрации $\beta 2$ ГП I в плазме крови связано с полиморфизмом гена *АРОН* [34, 45–47].

С целью выяснения роли $\beta 2$ ГП I в организме получена линия мышей с нокаутом гена *ApoH* (гомолога человеческого *АРОН*). Животные

фенотипически не отличались от нормальных, но у них отмечено заметное снижение синтеза тромбина, а при скрещивании количество родившихся детенышей с генотипом *ApoH*^{-/-} не соответствовало менделевскому расщеплению [48]. Позже выяснилось, что введение IgG от пациентов с АФС мышам на ранних сроках беременности приводило к значительному снижению у последних числа жизнеспособных плодов [49]. Исходя из этого сделано предположение о возможной роли $\beta 2$ ГП I в эмбриогенезе.

Ген *АРОН*, кодирующий $\beta 2$ ГП I, расположен на 17-й хромосоме в позиции 17q24.2, имеет длину 17,5 тыс. пар нуклеотидов и содержит 8 экзонов. Первый экзон кодирует 5'-нетранслируемый регион и сигнальный пептид, экзоны 2–7 – пять так называемых Sushi-доменов, экзон 8 – С-концевой район белка и 3'-нетранслируемую область. Sushi-домены характеризуются тем, что имеют четыре антипараллельных β -цепи, две короткие α -спирали и длинную, очень гибкую петлю, позволяющую им менять свое положение относительно друг друга [50]. Альтернативный сплайсинг для мРНК этого гена не показан. Основные элементы промотора *АРОН*, находящиеся в позиции –166/+43 от старта трансляции, высоко консервативны у различных видов [51]. В промоторном районе гена *АРОН* предсказаны сайты связывания транскрипционных факторов STAT, CREB, C/EBP β , NF-1, AP-1, NFAT, HNF-3 β и HNF-1 [52]. Экспрессия гена показана в печени [53].

Зрелый белок $\beta 2$ ГП I состоит из 326 аминокислот и является одним из самых пролин-богатых у эукариот [52]. В транскрибируемом полипептиде аминокислоты 1–19 образуют сигнальный пептид, отрезаемый от белка в процессе его выхода из клетки, далее расположены пять консервативных повторов длиной около 60 аминокислот, находящихся в позициях 21–81, 82–139, 140–202, 203–262 и 263–345, эти участки обозначают как D (domain) I–V. Посттранскрипционно полипептид претерпевает существенные изменения, между парами цистеинов в позициях 23–26, 51–79, 84–124, 110–137, 142–188, 174–200, 205–248, 234–260, 264–315, 300–325 и 307–345 образуются дисульфидные мостики таким образом, что внутри каждого из доменов I–IV образуется по два таких мостика, а в DV – три (<https://www.uniprot.org/uniprot/P02749>). Кроме этого, DV отличается от остальных доменов вставкой из шести аминокислот и наличием С-концевой петли [54]. $\beta 2$ ГП I гликозилируется в позициях Thr33, Pro149 и Arg 162, 183, 193 и 253. Гликаны составляют по разным оценкам 16–20 % массы зрелого белка [55].

Несущие положительный заряд аминокислоты в позициях 282–287 белка Lys-Asn-Lys-Glu

Lys-Lys в DV ответственны за связывание с фосфолипидами, аминокислоты в позициях 314-320 Ala-Phe-Trp-Lys-Thr-Asp-Ala – за связывание бактериальных липополисахаридов; эпитоп, распознаваемый АФА, находится в DI [34, 56].

Показано, что β 2ГП I может существовать в так называемых закрытой, или кольцевой, и открытой формах. Кольцевая форма образуется за счет связывания DI-DV, при этом эпитоп, взаимодействующий с АФА, оказывается внутри молекулы и недоступен аутоантителам. Открытая форма формируется при связывании DV с отрицательно заряженными поверхностями [34, 57]. Существует предположение, что в норме DI открытой формы β 2ГП I распознается специальными рецепторами фагоцитов, а в случае АФС – Fc-рецепторами системы комплемента, которые запускают воспалительные каскады и выработку аутоантител к β 2ГП I [36, 58]. Однако последовательность событий, приводящая к связыванию β 2ГП I с поверхностью клетки, изменению его структуры с кольцевой на открытую и прикреплению к нему АФА, по-прежнему не ясна и вызывает споры [59].

Анализ *in vitro* ранее описанных двенадцати ОНП в промоторной области гена *АРОН* методом смещения электропроводности выявил три варианта, $-1219G>A$ (rs8178819), $-643T>C$ (rs3760292) и $-32C>A$ (rs8178822), потенциально снижающие экспрессию гена. Вариант $-32C>A$, встречающийся с частотой около 12 %, оказался ассоциирован с уменьшением экспрессии гена за счет нарушения связывания транскрипционного фактора TFIIID и достоверным снижением уровня β 2ГП I в плазме крови [51, 60]. Для него также была показана ассоциация с уровнем ЛПНП [61].

Большое число ОНП в кодирующих и некодирующих областях этого гена ассоциирует с уровнем холестерина и ЛПНП, тромбозом и содержанием других аполипопротеинов в крови, но большинство выявленных ассоциаций расо-, этно- и гендерноспецифично. Продемонстрировано, что ОНП rs1801690 (Trp316Ser) нарушает связь белка с фосфолипидами, он ассоциирован с повышенным риском тромбоза у китайцев [62], а у европеоидов имеет протективный эффект против продукции АФА [63] и связан с уровнем β 2ГП I [47, 64] и ЛПНП [65]. У латиноамериканцев этот ОНП ассоциирован с содержанием ЛПВП [66], у китайских мужчин из этнических групп Хань и Мулао – с содержанием общего холестерина и ТГ [67].

Замена rs1801689 (Cys306Gly) приводит к исчезновению одной из дисульфидных связей в белке [62, 63], она коррелирует с уровнем β 2ГП I у европеоидов [64]. Ее связь с концентрацией ТГ в плазме показана только для лати-

ноамериканцев [66]. ОНП rs1801692 (Ser88Asn) ассоциирован с уровнем β 2ГП I у европеоидов [62], а rs4581 (Val247Leu) – с повышенным риском АФС и связанного с ним тромбоза [62, 68]. Носительство одновременно двух полиморфизмов rs178847 (Arg135His) и rs1803122 (Ile122Thr) ассоциировано с концентрацией общего холестерина и ЛПНП в крови в монголоидной выборке, а также с ТГ у итальянских мужчин и африканских женщин [66, 69,70]. ОНП rs3760291 ($-700C>A$) коррелирует со значительным уменьшением содержания β 2ГП I [64], а у афроамериканцев – общего холестерина и ЛПНП в плазме крови [66]. Интронный вариант rs3785617 ассоциирован с уровнями ОХ и ЛПНП в монголоидной выборке [66].

Таким образом, можно предположить, что влияние полиморфизма гена *АРОН* на развитие атеросклеротических поражений сосудов связано в большей степени с интенсивностью воспалительных процессов и тромбозом, чем с составом и количеством липопротеинов в плазме крови. По-видимому, фенотипическое проявление вариантов этого гена зависит от других генетических факторов, которые определяют наблюдаемое расо-, этно- и гендерноспецифическое разнообразие его ассоциаций.

Конфликт интересов. Авторы заявляют 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 – в рамках государственного задания № АААА-А17-117072710029-7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Norata G.D., Tsimikas S., Pirillo A., Catapano A.L. Apolipoprotein C-III: from pathophysiology to pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* 2015; 36 (10): 675–687.
2. van Dijk K.W., Rensen P.C., Voshol P.J., Havekes L.M. The role and mode of action of apolipoproteins CIII and AV: synergistic actors in triglyceride metabolism? *Curr. Opin. Lipidol.* 2004; 15 (3): 239–246.
3. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C., Cox D.R., Fruchart J.C., Krauss R.M., Rubin E.M. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science.* 2001; 294 (5540): 169–173.
4. 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 (174): 1–12.
5. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Krauss R.M., Rubin E.M., Cohen J.C. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11 (24): 3031–3038.
6. Shu X., Nelbach L., Ryan R.O., Forte T.M. Apolipoprotein A-V associates with intrahepatic lipid drop-

- lets and influences triglyceride accumulation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010; 1801 (5): 605–608.
7. O'Brien P.J., Alborn W.E., Sloan J.H., Ulmer M., Boodhoo A., Knierman M.D., Schultze A.E., Konrad R.J. The novel apolipoprotein A5 is present in human serum, is associated with VLDL, HDL, and chylomicrons, and circulates at very low concentrations compared with other apolipoproteins. *Clin. Chem.* 2005; 51 (2): 351–359.
 8. Alborn W. E., Johnson M.V., Prince M.J., Konrad R.J. Definitive N-terminal protein sequence and further characterization of the novel apolipoprotein A5 in human serum. *Clin. Chem.* 2006; 52 (3): 514–517.
 9. Guardiola M., Alvaro A., Vallvé J.C., Rosales R., Sola R., Girona J., Serra N., Duran P., Esteve E., Masana L., Ribalta J. *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 (9): 756–762.
 10. van der Vliet H.N., Schaap F.G., Levels J.H., Ottenhoff R., Looije N., Wesseling J.G., Groen A.K., Chamuleau R.A. Adenoviral overexpression of apolipoprotein A-V reduces serum levels of triglycerides and cholesterol in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 295 (5): 1156–1159.
 11. Schaap F.G., Rensen P.C., Voshol P.J., Vriens C., van der Vliet H.N., Chamuleau R.A., Havekes L.M., Groen A.K., van Dijk K.W. ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (27): 27941–27947.
 12. Guardiola M., Ribalta J. Update on *APOA5* genetics: toward a better understanding of its physiological impact. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2017; 19 (7): 30.
 13. The Human Gene Mutation Database. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
 14. Yuan G., Al-Shali K.Z., Hegele R.A. Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *CMAJ.* 2007; 176 (8): 1113–1120.
 15. Oliva C.P., Pisciotto L., Volti G.L., Sambataro M.P., Cantafora A., Bellocchio A., Catapano A., Tarugi P., Bertolini S., Calandra S. Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25 (2): 411–417.
 16. Dussailant C., Serrano V., Maiz A., Eyheramendy S., Cataldo L.R., Chavez M., Smalley S.V., Fuentes M., Rigotti A., Rubio L., Lagos C.F., Martinez J.A., Santos J.L. *APOA5* Q97X mutation identified through homozygosity mapping causes severe hypertriglyceridemia in a Chilean consanguineous family. *BMC Med. Genet.* 2012; 13: 106.
 17. Priore O.C., Carubbi F., Schaap F.G., Bertolini S., Calandra S. Hypertriglyceridaemia and low plasma HDL in a patient with apolipoprotein A-V deficiency due to a novel mutation in the *APOA5* gene. *J. Intern. Med.* 2008; 263: 450–458.
 18. Melegh B.I., Duga B., Sümegi K., Kisfali P., Maász A., Komlysi K., Hadzsiev K., Komoly S., Kosztolányi G., Melegh B. Mutations of the apolipoprotein A5 gene with inherited hypertriglyceridaemia: Review of the current literature. *Curr. Med. Chem.* 2012; 19 (36): 6163–6170.
 19. Marçais C., Verges B., Charrière S., Pruneta V., Merlin M., Billon S., Perrot L., Draï J., Sassolas A., Pennacchio L.A., Fruchart-Najib J., Fruchart J.C., Durlach V., Moulin P. ApoA5 Q139X truncation predisposes to late-onset hyperchylomicronemia due to lipoprotein lipase impairment. *J. Clin. Invest.* 2005; 115 (10): 2862–2869.
 20. Kisfali P., Mohás M., Maász A., Polgár N., Hadarits F., Marky L., Brasnyy P., Horvatovich K., Oroszlán T., Bagosi Z., Bujtor Z., Gasztonyi B., Rinfel J., Wittmann I., Melegh B. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with the metabolic syndrome. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2010; 20 (7): 505–511.
 21. Horvatovich K., Bokor S., Baráth A., Maász A., Kisfali P., Járomi L., Polgár N., Tyth D., Répásy J., Endreffy E., Molnár D., Melegh B. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in obese pediatric patients. *Int. J. Pediatr. Obes.* 2011; 6 (2-2): e318–e325.
 22. Chandak G.R., Ward K.J., Yajnik C.S., Pandit A.N., Bavdekar A., Joglekar C.V., Fall C.H., Mohankrishna P., Wilkin T.J., Metcalf B.S., Weedon M.N., Frayling T.M., Hattersley A.T. Triglyceride associated polymorphisms of the *APOA5* gene have very different allele frequencies in Pune, India compared to Europeans. *BMC Med. Genet.* 2006; 7: 76.
 23. Havasi V., Szolnoki Z., Talián G., Bene J., Komlysi K., Maász A., Somogyvári F., Kondacs A., Szabó M., Fodor L., Bodor A., Melegh B. Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131C polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischemic stroke. *J. Mol. Neurosci.* 2006; 29 (2): 177–183.
 24. Maasz A., Kisfali P., Jaromi L., Horvatovich K., Szolnoki Z., Csongei V., Safrany E., Sipeky C., Hadarits F., Melegh B. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke. *Circ. J.* 2008; 72 (7): 1065–1070.
 25. Causy C., Charrière S., Marçais C., Di Filippo M., Sassolas A., Delay M., Euthine V., Jalabert A., Lefai E., Rome S., Moulin P. An *APOA5* 3' HTO variant associated with plasma triglycerides triggers *APOA5* down-regulation by creating a functional miR-485-5p binding site. *Am. J. Hum. Genet.* 2014; 94 (1): 129–134.
 26. Lai C.Q., Tai E.S., Tan C.E., Cutter J., Chew S.K., Zhu Y.P., Adiconis X., Ordovas J.M. The *APOA5* locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *J. Lipid Res.* 2003; 44 (12): 2365–2373.
 27. Maász A., Kisfali P., Szolnoki Z., Hadarits F., Melegh B. Apolipoprotein A5 gene C56G variant confers risk for the development of large-vessel associated ischemic stroke. *J. Neurol.* 2008; 255 (5): 649–654.
 28. Hubacek J., Škodová Z., Adámková V., Lánská V., Poledne R. The influence of *APOAV* polymorphisms (T-1131>C and S19>W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction. *Clin. Genet.* 2004; 65 (2): 126–130.
 29. Oliva I., Guardiola M., Vallvé J.C., Ibarretxe D., Plana N., Masana L., Monk D., Ribalta J. *APOA5* genetic and epigenetic variability jointly regulate circulating triacylglycerol levels. *Clin. Sci. (Lond).* 2016; 130 (22): 2053–2059.
 30. Lee N.S., Brewer H.B. Jr, Osborne J.C. Jr. beta 2-Glycoprotein I. Molecular properties of an unusual apolipoprotein, apolipoprotein H. *J. Biol. Chem.* 1983; 258 (8): 4765–4770.

31. Ho Y.C., Ahuja K.D.K., Körner H., Adams M.J. β 2GPI, anti- β 2GPI antibodies and platelets: key players in the antiphospholipid syndrome. *Antibodies (Basel)*. 2016; 5 (2): 12.
32. Andreoli L., Chighizola C.B., Banzato A., Pons-Estel G.J., Ramire de Jesus G., Erkan D. Estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis: a critical review of the literature. *Arthritis. Care Res. (Hoboken)*. 2013; 65 (11): 1869–1873.
33. Hoshino M., Hagihara Y., Nishii I., Yamazaki T., Kato H., Goto Y. Identification of the phospholipid-binding site of human beta(2)-glycoprotein I domain V by heteronuclear magnetic resonance. *J. Mol. Biol.* 2000; 304 (5): 927–939.
34. de Groot P.G., Meijers J.C. β (2)-Glycoprotein I: evolution, structure and function. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9 (7): 1275–1284.
35. Balasubramanian K., Maiti S.N., Schroit A.J. Recruitment of beta-2-glycoprotein I to cell surfaces in extrinsic and intrinsic apoptosis. *Apoptosis*. 2005; 10 (2): 439–446.
36. Maiti S.N., Balasubramanian K., Ramoth J.A., Schroit A.J. Beta-2-glycoprotein I-dependent macrophage uptake of apoptotic cells. Binding to lipoprotein receptor-related protein receptor family members. *J. Biol. Chem.* 2008; 283 (7): 3761–3766.
37. Gropp K., Weber N., Reuter M., Micklisch S., Kopka I., Hallstrom T. β_2 -glycoprotein I, the major target in antiphospholipid syndrome, is a special human complement regulator. *Blood*. 2011; 118 (10): 2774–2783.
38. Horbach D.A., van Oort E., Lisman T., Meijers J.C., Derksen R.H., de Groot P.G. Beta2-glycoprotein I is proteolytically cleaved *in vivo* upon activation of fibrinolysis. *Thromb. Haemost.* 1999; 81 (1): 87–95.
39. Açar C., de Groot P.G., Levels J.H., Marquart J.A., Meijers J.C. Beta2-glycoprotein I is incorrectly named apolipoprotein H. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7 (1): 235–236.
40. Zhang Y.G., Song Y., Guo X.L., Miao R.-Y., Fu Y.-Q., Miao C.-F., Zhang C. Exosomes derived from ox-LDL-stimulated macrophages induce neutrophil extracellular traps to drive atherosclerosis. *Cell Cycle*. 2019; 18 (20): 2674–2684.
41. Matsuura E., Atzeni F., Sarzi-Puttini P., Turiel M., Lopez L.R., Nurmohamed M.T. Is atherosclerosis an autoimmune disease? *BMC Med.* 2014; 12: 47.
42. Zhang X., Xie Y., Zhou H., Xu Y., Liu J., Xie H., Yan J. Involvement of TLR4 in oxidized LDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI-induced transformation of macrophages to foam cells. *J. Atheroscler. Thromb.* 2014; 21 (11): 1140–1151.
43. Lin K.Y., Pan J.P., Yang D.L., Huang K.T., Chang M.S., Ding P.Y., Chiang A.N. Evidence for inhibition of low density lipoprotein oxidation and cholesterol accumulation by apolipoprotein H (β 2-glycoprotein I). *Life Sci.* 2001; 69 (6): 707–719.
44. Kobayashi K., Kishi M., Atsumi T., Bertolaccini M.L., Makino H., Sakairi N., Yamamoto I., Yasuda T., Khamashta M.A., Hughes G.R., Koike T., Voelker D.R., Matsuura E. Circulating oxidized LDL forms complexes with β 2-glycoprotein I. *J. Lipid Res.* 2003; 44 (4): 716–726.
45. Moestrup S.K., Schousboe I., Jacobsen C., Leheste J.R., Christensen E.I., Willnow T.E. beta2-glycoprotein-I (apolipoprotein H) and beta2-glycoprotein-I-phospholipid complex harbor a recognition site for the endocytic receptor megalin. *J. Clin. Invest.* 1998; 102 (5): 902–909.
46. Lin F., Murphy R., White B., Kelly J., Feighery C., Doyle R., Pittock S., Moroney J., Smith O., Livingstone W., Keenan C., Jackson J. Circulating levels of β 2-glycoprotein I in thrombotic disorders and in inflammation. *Lupus*. 2006; 15 (2): 87–93.
47. Mather K.A., Thalamuthu A., Oldmeadow C., Song F., Armstrong N.J., Poljak A., Holliday E.G., McEvoy M., Kwok J.B., Assareh A.A., Reppermund S., Kochan N.A., Lee T., Ames D., Wright M.J., Trollor J.N., Schofield P.W., Brodaty H., Scott R.J., Schofield P.R., Attia J.R., Sachdev P.S. Genome-wide significant results identified for plasma apolipoprotein H levels in middle-aged and older adults. *Sci. Rep.* 2016; 6: 23675.
48. Sheng Y., Reddel S.W., Herzog H., Wang Y.X., Brighton T., France M.P., Krilis S.A. Impaired *in vitro* thrombin generation in β 2-glycoprotein I null mice. *Arthritis Res.* 2001; 3 (Suppl A): P079.
49. Girardi G., Redecha P., Salmon J.E. Heparin prevents antiphospholipid antibody-induced fetal loss by inhibiting complement activation. *Nat. Med.* 2004; 10 (11): 1222–1226.
50. Hoshino M., Hagihara Y., Nishii I., Yamazaki T., Kato H., Goto Y. Identification of the phospholipid-binding site of human beta(2)-glycoprotein I domain V by heteronuclear magnetic resonance. *J. Mol. Biol.* 2000; 304 (5): 927–939.
51. Suresh S., Demirci F.Y., Lefterov I., Kammerer C.M., Ramsey-Goldman R., Manzi S., Kamboh M.I. Functional and genetic characterization of the promoter region of apolipoprotein H (beta2-glycoprotein I). *FEBS J.* 2010; 277 (4): 951–963.
52. Sodin-Semrl S., Rozman B. Beta2-glycoprotein I and its clinical significance: from gene sequence to protein levels. *Autoimmun. Rev.* 2007; 6 (8): 547–552.
53. Steinkasserer A., Estaller C., Weiss E.H., Sim R.B., Day A.J. Complete nucleotide and deduced amino acid sequence of human beta 2-glycoprotein I. *Biochem. J.* 1991; 277 (Pt 2): 387–391.
54. Shi T., Giannakopoulos B., Iverson G.M., Linnik M.D., Krilis S.A. Domain V of beta2-glycoprotein I binds factor XI/XIa and is cleaved at Lys317-Thr318. *J. Biol. Chem.* 2005; 280 (2): 907–912.
55. Kristensen T., Schousboe I., Boel E., Mulvihill E.M., Hansen R.R., Moller K.B. Molecular cloning and mammalian expression of human beta 2-glycoprotein I cDNA. *FEBS Lett.* 1991; 289 (2): 183–186.
56. Bouma B., de Groot P.G., van den Elsen J.M., Ravello R.B., Schouten A., Simmelink M.J., Derksen R.H., Kroon J., Gros P. Adhesion mechanism of human beta(2)-glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. *EMBO J.* 1999; 18 (19): 5166–5174.
57. Agar C., van Os G.M., Mörgelin M., Sprenger R.R., Marquart J.A., Urbanus R.T., Derksen R.H.W.M., Meijers J.C.M., de Groot P.G. Beta2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2010; 116 (8): 1336–1343.
58. Andreoli L., Fredi M., Nalli C., Franceschini F., Meroni P.L., Tincani A. Antiphospholipid antibodies

- mediate autoimmunity against dying cells. *Autoimmunity*. 2013; 46 (5): 302–306.
59. McDonnell T., Wincup C., Buchholz I., Pericleous C., Giles I., V Ripoll, Cohen H., Delcea M., Rahmana A. The role of beta-2-glycoprotein I in health and disease associating structure with function: More than just APS. *Blood Rev.* 2020; 39: 100610.
 60. Mehdi H., Manzi S., Desai P., Chen Q., Nestlerode C., Bontempo F., Strom S.C., Zarnegar R., Kamboh M.I. A functional polymorphism at the transcriptional initiation site in beta2-glycoprotein I (apolipoprotein H) associated with reduced gene expression and lower plasma levels of beta2-glycoprotein I. *Eur. J. Biochem.* 2003; 270 (2): 230–238.
 61. Global Lipids Genetics Consortium. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat. Genet.* 2013; 45 (11): 1274–1283.
 62. de Laat B., van Berkel M., Urbanus R.T., Siregar B., de Groot P.G., Gebbink M.F., Maas C. Immune responses against domain I of β 2-glycoprotein I are driven by conformational changes: Domain I of β 2-glycoprotein I harbors a cryptic immunogenic epitope. *Arthritis Rheum.* 2011; 63 (12): 3960–3968.
 63. Sanghera D.K., Wagenknecht D.R., McIntyre J.A., Kamboh M.I. Identification of Structural Mutations in the Fifth Domain of Apolipoprotein H (2-Glycoprotein I) Which Affect Phospholipid Binding. *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6 (2): 311–316.
 64. Kamboh M.I., Mehdi H. Genetics of apolipoprotein H (beta2-glycoprotein I) and anionic phospholipid binding. *Lupus.* 1998; 7 (Suppl. 2): S10–S13.
 65. Asselbergs F.W., Guo Y., van Iperen E.P., Sivapalaratnam S., Tragante V., Lanktree M.B., Lange L.A., Almqvera, B., Appelman Y.E., Barnard J., Baumert J., Beitelshes A.L., Bhangale T.R., Chen Y.D., Gaunt T.R., Gong Y., Hopewell J.C., Johnson T., Kleber M.E., Langae T.Y., Dreno F. Large-scale gene-centric meta-analysis across 32 studies identifies multiple lipid loci. *Am. J. Hum. Genet.* 2012; 91 (5): 823–838.
 66. Leduc M.S., Shimmin L.C., Klos K.L., Hanis C., Boerwinkle E., Hixson J.E. Comprehensive evaluation of apolipoprotein H gene (APOH) variation identifies novel associations with measures of lipid metabolism in GENOA. *J. Lipid. Res.* 2008; 49 (12): 2648–2656.
 67. Guo T., Yin R.X., Li H., Wang Y.M., Wu J.Z., Yang D.Z. Association of the Trp316Ser variant (rs1801690) near the apolipoprotein H (β 2-glycoprotein-I) gene and serum lipid levels. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8 (6): 7291–7304.
 68. Iwaniec T., Kaczor M.P., Celińska-Löwenhoff M., Polański S., Musiał J. Clinical significance of anti-domain 1 β 2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome. *Thromb. Research.* 2017; 153: 90–94.
 69. Sepehrnia B., Kamboh M.I., Adams-Campbell L.L., Bunker C.H., Nwankwo M., Majumder P.P., Ferrell R.E. Genetic studies of human apolipoproteins. X. The effect of the apolipoprotein E polymorphism on quantitative levels of lipoproteins in Nigerian blacks. *Am. J. Hum. Genet.* 1989; 82 (2): 118–122.
 70. Cassader M., Ruiiu G., Gambino R., Guzzon F., Pagano A., Veglia F., Pagni R., Pagano G. Influence of apolipoprotein H polymorphism on levels of triglycerides. *Atherosclerosis.* 1994; 110 (1): 45–51.

GENES OF *APOA5* AND *APOH* APOLIPROTEINS AS REGULATORS OF LIPOPROTEIN METABOLISM

N.S. Shirokova¹, S.V. Mikhailova², D.E. Ivanoshchuk^{2,3}, E.V. Shachtshneider^{2,3}

¹Novosibirsk State University
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 1

²Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 10

³Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

Atherosclerosis is main cause of cardiovascular disease leading to disability and death worldwide. Many factors can affect atherogenesis, including hypertension, smoking, diabetes mellitus and inflammatory processes. It is known that disorders of cholesterol and triglycerides. It is known, that violation in cholesterol and triglyceride metabolism caused by substitutions in the structure of apolipoproteins are associated with a predisposition to hyperlipidemia and atherosclerosis. Despite the increased interest in the atherogenesis mechanisms, many participants in this process are not fully understood. In this review, we examined the structure and functions of two proteins – apolipoprotein A5 and apolipoprotein H in connection with their association with impaired lipid metabolism.

Keywords: apolipoproteins, atherosclerosis, triglycerides, *APOA5* gene, *APOH* gene.

Статья поступила 11 июня 2020 г.
Принята к печати 9 сентября 2020 г.