

В. В. Фролькис, В. А. Кордюм, С. Н. Новикова, Л. Н. Богацкая,  
Д. В. Иродов, Л. И. Лихачева, Р. И. Потапенко, Т. Г. Мозжухина,  
М. К. Битнер

## ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ КЛОНИРОВАННОГО ГЕНА *apoA1* ЧЕЛОВЕКА НА РАЗВИТИЕ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ У КРОЛИКОВ

*Изучено влияние имплантации клонированного гена аполипопротеина A1 (apoA1) человека на динамику показателей липидного и ЛП обменов у кроликов в условиях развития экспериментальной гиперхолестеринемии.*

*Показано, что имплантация гена apoA1 кроликам приводит к появлению человеческого apoA1 в крови экспериментальных животных, к изменению содержания холестерина (ХС) и его распределения по фракциям ЛП, соотношения различных классов ЛП в пользу ХС-ЛПВП и ЛПВП.*

*Сделано предположение о том, что трансфекция гена apoA1 человека и его транскрипционная экспрессия оказывают не только изолированное действие на систему биосинтеза соответствующего белка, но и влияют на работу всего генома через генорегуляторные механизмы.*

**Введение.** В соответствии с современными представлениями о роли нарушений липидного и ЛП метаболизма в развитии атеросклероза многочисленные клинические и экспериментальные попытки профилактики и лечения этого заболевания основываются на использовании средств, снижающих уровень липидов в крови [1]. Вместе с тем известно, что развитие атеросклероза сопряжено с изменениями не только липидной, но и белковой части ЛП — апопротеинов [2]. Было высказано предположение о том, что взаимосвязь старения и атеросклероза определяется возрастными изменениями соотношения синтеза и деградации различных апопротеинов, развитием в старости атерогенных дислипидемий (ДЛП) [3].

Особое значение в качестве независимого фактора, обуславливающего развитие ИБС, имеет снижение содержания ЛПВП и их основного апопротеина — ApoA1, низкий уровень которого в крови является главным предиктором заболевания [4, 5].

Это определяет новые подходы к поиску антиатерогенных препаратов среди веществ, усиливающих синтез ЛПВП. В частности, перспективной представляется попытка устранения дефицита ЛПВП с помощью генно-терапевтической коррекции — введения в организм гена apoA1 для увеличения эндогенного синтеза указанного апопротеина.

Для оценки подобного подхода на предыдущем этапе исследований была изучена и установлена принципиальная возможность экспрессии клонированного нами гена apoA1 человека на экспериментальных животных *in vivo* [6]. Было показано, что введение сконструированной и отобранной молекулярной конструкции, содержащей ген apoA1 человека, животным (крысам, кроликам) приводит к появлению уже через 24 ч в их крови apoA1, который обнаруживается ракетным иммуноэлектрофорезом. В крови контрольных животных преципитация не проявляется.

В качестве модели экспериментальной гиперхолестеринемии была использована одноразовая нагрузка холестерином (ХС), при которой

© В. В. Фролькис, В. А. Кордюм, С. Н. Новикова, Л. Н. Богацкая, Д. В. Иродов,  
Л. И. Лихачева, Р. И. Потапенко, Т. Г. Мозжухина, М. К. Битнер, 1994

повышение уровня ХС в крови сопровождается типичными для атеросклероза ДЛП. При ряде недостатков этой модели она, по нашим многочисленным наблюдениям, является удобной и адекватной для первичного скрининга антиатерогенных средств [7].

Все это определило цель настоящей работы: изучить влияние имплантации клонированного гена *apoA1* человека на динамику показателей липидного и ЛП обменов у кроликов в условиях развития экспериментальной гиперхолестеринемии.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на взрослых кроликах породы «Шиншилла». В опытах использованы три группы животных: контрольная группа — нагрузка только ХС, вторая группа — введение гена *apoA1* на фоне гиперхолестеринемии (ГХС) и третья — введение липосом без генетического материала на фоне ГХС. ГХС кроликов моделировали одноразовой нагрузкой ХС из расчета 0,3 г/кг массы животного. Животным генетический материал инъецировали в печень.

Рекомбинантная молекула, содержащая ген *apoA1* человека, представляла собой сконструированную нами ранее плазмиду *pA401*, в которой ген *apoA1* человека клонирован в составе *PstI-PstI*-фрагмента геномной ДНК. 5'-Нетранслируемая область данного фрагмента содержит семичленный АТ-богатый участок, выполняющий функцию промотора гена *apoA1* человека.

Конструкцию гена [6], заключенную в липосомы, вводили из расчета 1 мл суспензии на 1 кг массы тела. 1 мл суспензии липосом содержал 13 мг липидов и 400 мг плазмидной ДНК. Доля заключенной в липосомы ДНК составляла 7—8 %.

Забор крови для исследования осуществляли из краевой вены уха кроликов в исходном состоянии, через 24 ч после нагрузки ХС, а затем через 24, 48 и 72 ч после введения генетического материала и «пустых» липосом.

Экспрессию введенного гена оценивали с помощью ракетного иммуноэлектрофореза плазмы со специфической антисывороткой к человеческому *apoA1* и последующей количественной оценкой уровня белка по контрольной сыворотке человека, содержащей 1,25 г/л *apoA1* [8].

Из плазмы крови выделяли липопротеиды (ЛП) различной плотности методами препаративного ультрацентрифугирования в градиенте плотности  $\text{NaBr}$  [9]. В полученных фракциях определяли содержание белка [10], общего и свободного ХС, эфиров ХС [11], фосфолипидов [12]. Белковый состав ЛП низкой (ЛПНП), очень низкой (ЛПОНП), высокой (ЛПВП) плотности и их подклассов (ЛПВП2 и ЛПВП3) исследовали с помощью электрофореза в градиенте концентрации полиакриламидного геля (3—27 %) в присутствии  $\text{DS-Na}$  в  $\text{Na}$ -фосфатном буфере [13].

**Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования показали, что через 24 ч после однократной нагрузки ХС в крови как опытной (с введением гена), так и обеих контрольных групп животных примерно одинаково (на 48,5—61,3 %) растет содержание общего ХС и на 11,2—20,8 % — ХС-ЛПВП. Соответственно в общем пуле ХС увеличивается доля ХС в атерогенных фракциях ЛП. На это указывает повышение соотношения ХС-(ЛПНП+ЛПОНП)/ХС-ЛПВП (коэффициент атерогенности) на 56—76 %.

Введение используемой молекулярной конструкции, содержащей ген *apoA1* человека, кроликам опытной группы приводит, как и при введении одного гена (вне нагрузки ХС), к его появлению в крови исследуемых животных. Наибольшее количество *apoA1* человека в крови кроликов на фоне развивающейся ГХС обнаруживается через 24 ч после введения гена —  $7,1 \pm 0,3$  мг/л, через 48 ч содержание его уменьшается, а к 72-му ч *apoA1* человека был выявлен лишь у одного кролика. Это, по-видимому, связано с особенностями применяемой рекомбинантной молекулы, рассчитанной только на краткосрочную транзиторную экспрессию гена. В крови контрольных животных преципитации, как и

следовало ожидать, не происходило. Появление в крови опытных кроликов ароА1 человека сопровождается изменением динамики показателей липидного, ЛП и белкового обменов по сравнению с контрольными животными.

Через 24 ч после введения гена (спустя 48 ч после нагрузки ХС) в крови животных как опытной, так и контрольных групп продолжает нарастать общий пул ХС. При этом наибольший прирост содержания общего ХС наблюдается у кроликов опытной группы (табл. 1), что, скорее всего, связано с увеличением содержания ХС-ЛПВП. Действительно, значительное возрастание уровня ГХС происходит на фоне повышения содержания в крови ХС-ЛПВП, причем также в наибольшей степени в опытной группе. В то время, когда прирост этого показателя в опытной группе составляет 44,1 %, в группе животных, которым вводили «пустые» липосомы, как и в группе, где вводили только ХС, прирост ХС-ЛПВП был почти в два раза ниже и составил только  $23,0 \pm 1,7$  и  $20,4 \pm 1,5$  % соответственно. Эти различия сохранились и через 72 ч после введения гена ароА1. Прирост содержания ХС-ЛПВП в опытной группе составил 82,8 %, в контрольных группах —  $50 \pm 2,1$  и  $26,7 \pm 1,9$  % соответственно по сравнению с исходным уровнем.

Полученные данные убедительно свидетельствуют о нарастании под влиянием имплантации гена ароА1 человека кроликам в общем пуле ХС доли ХС, связанного с антиатерогенной фракцией ЛП — ЛПВП. Повышение содержания ХС-ЛПВП может быть результатом увеличения количества холестерин-переносящих ЛП за счет включения в этот процесс ароА1 человека, а также и собственных ЛПВП, дополнительно образующихся при трансплантации гена ароА1 человека в печень. В итоге усиливается транспорт ХС из тканей в печень, что и является одной из причин поддержания относительно высокого уровня ГХС, в условиях которой печень не поспевает осуществлять свои холестерин-акцепторные функции. Это подтверждают и перераспределение ХС между атерогенными и антиатерогенными фракциями, а также соответствующие изменения коэффициента атерогенности (табл. 2). Складывающиеся соотношения указывают тем самым на уменьшение под влиянием введения гена ароА1 риска развития в организме атерогенной ситуации.

Эти различия обнаруживаются в еще большей степени при сравнении величин изучаемых показателей с уровнем, характеризующим реакцию животных на нагрузку ХС. Причем наиболее выраженные отличия проявляются через 48 и 72 ч после введения гена. Так, если через 48 ч содержание ХС-ЛПВП в опытной группе растет на 34,5 %, то в контрольных группах — всего на 14,0 и 19,3 % соответственно, т. е. поч-

Таблица 1

Динамика уровня общего ХС и ХС-ЛПВП в крови кроликов с гиперхолестеринемией после имплантации гена ароА1 ( $M \pm m$ ), %

Показатель	Исходный уровень	Через 24 ч после нагрузки ХС	Время после имплантации гена на фоне ГХС.		
			24	48	72
Введение гена (n=4)					
Общий ХС	100	$148,5 \pm 11,2$	$322,1 \pm 13,3^*$	$355,6 \pm 12,4^*$	$352,3 \pm 14,6^*$
ХС-ЛПВП	100	$120,8 \pm 9,3$	$144,1 \pm 10,5^*$	$158,3 \pm 11,4^*$	$182,8 \pm 12,3^*$
Введение липосом (n=4)					
Общий ХС	100	$161,3 \pm 12,4^*$	$252,5 \pm 14,7^*$	$318,6 \pm 15,6^*$	$274,9 \pm 15,8^*$
ХС-ЛПВП	100	$111,2 \pm 10,3$	$123,0 \pm 11,4^{**}$	$144,5 \pm 16,3^*$	$150,0 \pm 12,1^{***}$
Контроль (n=6)					
Общий ХС	100	$157,8 \pm 13,3^*$	$264,3 \pm 12,3^*$	$372,3 \pm 14,2^*$	$265,3 \pm 14,5^{***}$
ХС-ЛПВП	100	$116,2 \pm 11,7$	$120,4 \pm 11,4^{**}$	$125,4 \pm 10,5^{**}$	$126,7 \pm 11,3^{***}$

Здесь и в табл. 2\* — достоверность различий по сравнению с исходным уровнем; \*\*\* — то же относительно введения гена.

ти в два раза меньше. Через 72 ч эти различия увеличиваются и составляют 53,3 % в опытной и соответственно 23,7 и 24,2 % — в контрольной группах.

Полученные данные — накопление сравнительно большого количества ХС-ЛПВП после введения гена *apoA1* человека — указывают на участие генетического материала в формировании ответной реакции на нагрузку ХС. При этом наиболее четкий ответ выявляется не сразу, а только через 72 ч после введения гена. Это позволяет считать, что введение гена включает регуляторные механизмы, ответственные за образование апобелков, участвующих в поддержании холестеринавого гомеостаза в организме. В пользу такого предположения свидетельствуют результаты, полученные при изучении влияния имплантации гена *apoA1* на концентрацию белков в составе различных ЛП и, прежде всего, ЛПВП. В соответствии с данными литературы [14], через 24 ч после нагрузки ХС содержание белка в ЛПВП незначительно уменьшается, а в атерогенных фракциях ЛП — увеличивается. Подобные сдвиги связывают с усилением при нагрузке ХС катаболизма ЛПВП и в то же время с образованием в печени ЛПОНП и их трансформации в ЛПНП.

Как видно из табл. 3, через 24 ч после введения гена *apoA1* продолжается вызванное нагрузкой ХС увеличение белковой массы атероген-

Таблица 2

Динамика коэффициента атерогенности у кроликов с гиперхолестеринемией после имплантации гена *apoA1* ( $M \pm t$ ), %

Показатель	Исходный уровень	Через 24 ч после нагрузки ХС	Время после имплантации гена на фоне ГХС, ч		
			24	48	72
Введение гена ( $n=4$ )	100	156,0 $\pm$ 10,2*	260,2 $\pm$ 11,3*	276,1 $\pm$ 9,7*	236,3 $\pm$ 13,4*
Введение липосом ( $n=4$ )	100	170,2 $\pm$ 12,3*	276,7 $\pm$ 10,4*	313,3 $\pm$ 13,2***	261,3 $\pm$ 14,1***
Контроль ( $n=6$ )	100	176,3 $\pm$ 8,5*	294,3 $\pm$ 11,2***	328,4 $\pm$ 13,4***	270,2 $\pm$ 12,8***

Таблица 3

Содержание ЛП в крови кроликов с гиперхолестеринемией после введения гена *apoA1* ( $M \pm t$ ), мг белка/л

Фракция ЛП	Исходный уровень	Через 24 ч после нагрузки ХС	Время после имплантации гена на фоне ГХС, ч		
			24	48	72
Введение гена ( $n=4$ )					
ЛПНП	247 $\pm$ 88	310 $\pm$ 69	362 $\pm$ 57	300 $\pm$ 88	397 $\pm$ 28*
ЛПОНП	248 $\pm$ 64	294 $\pm$ 53	389 $\pm$ 95	581 $\pm$ 90***	481 $\pm$ 74
ЛПВП	676 $\pm$ 91	625 $\pm$ 98	622 $\pm$ 93	928 $\pm$ 37***	669 $\pm$ 99
ЛПВП2	238 $\pm$ 55	216 $\pm$ 27	209 $\pm$ 42*	265 $\pm$ 19**	200 $\pm$ 36
ЛПВП3	438 $\pm$ 64	408 $\pm$ 59	413 $\pm$ 67	663 $\pm$ 18***	469 $\pm$ 59
Введение липосом ( $n=4$ )					
ЛПНП	321 $\pm$ 91	442 $\pm$ 89	470 $\pm$ 83	444 $\pm$ 99	445 $\pm$ 24*
ЛПОНП	355 $\pm$ 98	252 $\pm$ 94	416 $\pm$ 90	504 $\pm$ 78***	457 $\pm$ 91
ЛПВП	608 $\pm$ 67	659 $\pm$ 96	709 $\pm$ 21	875 $\pm$ 135*	663 $\pm$ 58
ЛПВП2	222 $\pm$ 62	205 $\pm$ 94	242 $\pm$ 85	243 $\pm$ 33	230 $\pm$ 57
ЛПВП3	386 $\pm$ 60	354 $\pm$ 43	477 $\pm$ 96	632 $\pm$ 68***	463 $\pm$ 55
Контроль ( $n=6$ )					
ЛПНП	143 $\pm$ 20	304 $\pm$ 51*	282 $\pm$ 33	187 $\pm$ 24**	156 $\pm$ 31**
ЛПОНП	141 $\pm$ 36	161 $\pm$ 41	204 $\pm$ 126	442 $\pm$ 62***	456 $\pm$ 45**
ЛПВП	696 $\pm$ 65	586 $\pm$ 68	519 $\pm$ 32	843 $\pm$ 71**	646 $\pm$ 53
ЛПВП2	114 $\pm$ 20	108 $\pm$ 27	87 $\pm$ 11*	224 $\pm$ 41**	118 $\pm$ 24
ЛПВП3	582 $\pm$ 41	478 $\pm$ 33	432 $\pm$ 18	519 $\pm$ 48	428 $\pm$ 36

\* Достоверность различий по сравнению с исходным уровнем; \*\* то же относительно нагрузки ХС.

ных ЛП, причем в значительно меньшей степени (на 51,3 %), чем у контрольных животных (на 70,9 %). В ЛПВП, несмотря на высокое в этот период содержание ХС-ЛПВП, общая масса белков не изменяется. Такие соотношения могут свидетельствовать о высокой загруженности в этот период имеющихся частиц ЛПВП холестерином или образовании промежуточных форм переносчиков ХС-ЛПВП, которые не обнаруживаются использованными стандартными методиками. Существенные различия в содержании белковой массы ЛПВП проявляются через 48 ч после введения гена на фоне холестериновой нагрузки. В этот период белковая масса атерогенных ЛП продолжает увеличиваться, причем преимущественно за счет ЛПОНП. При этом количество последних растет в опытной группе животных почти вдвое меньше, чем в контрольной, где вводили один ХС.

Обращает на себя внимание факт увеличения под влиянием гена через 48 ч содержания ЛПВП в большей степени за счет ЛПВП3, количество которых возрастает на 51,3 %. Прирост фракции ЛПВП2 составляет всего 11,3 %. Значительно (на 63,7 %) растет содержание ЛПВП и при введении контрольным животным одних липосом. Однако содержание ЛПВП2 у них не изменяется. В то же время после одной нагрузки ХС достоверные изменения в содержании белковой массы ЛПВП наименее выражены, но происходят за счет ЛПВП2, что соответствует данным литературы [15].

Этот факт дает основание предположить, что введение ароА1 человека кроликам приводит не только к транзиторной экспрессии гена, но и (через генорегуляторные механизмы) к сдвигам в тех звеньях генетического аппарата печеночных клеток, которые ответственны за синтез ЛПВП самих кроликов. Прямым доказательством такого предположения являются данные, полученные при изучении динамики содержания апопротеинов в условиях развития экспериментальной ГХС (табл. 4). Было показано, что через 72 ч после введения гена, хотя и незначительно, но увеличивается относительное содержание ароА1 в ЛПВП кроликов, количество которых по сравнению с исходным уровнем возрастает на 18,3 %, причем в основном за счет ЛПВП2. Прирост относительно такового у животных, которым вводили одни липосомы, составляет 10,3 %, но он статистически недостоверен. АроА1 в ЛПВП3 под влиянием введения гена не изменяется, а при введении «пустых» липосом даже значительно падает (на 46,3 %). Кроме того, что особенно важно, через 72 ч в крови опытных животных прямым методом иммуноэлектрофореза уже не обнаруживается ароА1 человека.

Известно, что функциональная активность ЛПВП, осуществляющих акцепцию и выведение ХС из организма, связана с количеством в плазме частиц ЛПВП2, участвующих в его транспорте в печень, и с их загруженностью ХС.

В наших исследованиях представляется существенным более значительное по сравнению с ростом белковой массы ЛПВП увеличение содержания в сыворотке крови ХС-ЛПВП, которое наблюдается во все периоды после введения кроликам гена ароА1 человека. Подобные, но менее выраженные соотношения складываются в контрольной группе и после введения животным одних липосом. При одной же холестериновой нагрузке растет только уровень ХС-ЛПВП. Увеличение белковой массы ЛПВП у этих животных не обнаруживается. Сопоставление полученных соотношений подтверждает то, что наибольшая загруженность отдельных частиц ЛПВП ХС происходит в условиях развития ГХС при нагрузке одним ХС. При введении контрольным животным липосом загруженность ЛПВП ХС ниже. Что же касается опытной группы животных, то у них, несмотря на самое высокое содержание ХС-ЛПВП, загруженность частиц ЛПВП ХС самая низкая. Это может быть связано с повышением содержания как собственных ЛПВП, так и накоплением ароА1 человека, т. е. появлением дополнительных акцепторов ХС, способных выводить ХС из тканей, в том числе и из сосудистой стенки.

Таким образом, введение гена apoA1 человека, сопровождающееся изменением уровня ЛПВП и ХС-ЛПВП, повышает в крови потенциальные возможности ХС-акцепторной системы организма, снижая тем самым риск атерогенного поражения сосудов.

Однако абсолютная величина содержания ХС, в том числе и ХС-ЛПВП, его относительное распределение в составе атерогенных и антиатерогенных ЛП не исчерпывают возможностей развития атеросклероза. Нельзя исключить и участия в развитии этого процесса вероятных изменений в функции рецепторов, стерин-переносящих белков, ответа плазматических мембран клеток, реакции иммунной системы, которые могут быть связаны с появлением в крови чужеродного белка — ApoA1 человека.

Нельзя также исключить возможности возникновения модифицированных, а то и гибридных промежуточных форм ЛПВП, обладающих качественно и количественно измененной способностью к акцепции и транспорту ХС.

Полученные данные, несомненно, свидетельствуют о том, что имплантация гена apoA1 кроликам в условиях развития экспериментальной ГХС приводит к появлению человеческого апопротеина A1 в крови экспериментальных животных, к изменению содержания ХС и его распределения по фракциям ЛП, соотношения различных классов ЛП в пользу ХС-ЛПВП и ЛПВП. Вместе с тем это указывает на то, что трансфекция гена apoA1 человека и его транзитная экспрессия оказывают не только изолированное действие на систему биосинтеза соответствующего белка, но, очевидно, влияют через генорегуляторные

Таблица 4

Состав апобелков фракций ЛПВП2 и ЛПВП3 сыворотки крови кроликов с гиперхолестеринемией после введения гена apoA1 ( $M \pm m$ ), %

Субфракция Apo-белков	Размер, $\cdot 10^6$	Исходный уровень	Через 24 ч после нагрузки ХС	Время после имплантации на фоне ГХС, ч		
				24	48	72
<b>ЛПВП2</b>						
Введение гена						
Apo-C	12,5	6,2 $\pm$ 1,1	6,3 $\pm$ 1,0	10,0 $\pm$ 1,5	6,1 $\pm$ 1,3	2,4 $\pm$ 0,8
Apo-AI	28	61,5 $\pm$ 3,9	68,0 $\pm$ 3,9	57,3 $\pm$ 3,0	54,3 $\pm$ 2,8	72,8 $\pm$ 3,6*
Apo-E	35	17,7 $\pm$ 2,0	10,9 $\pm$ 2,0*	15,5 $\pm$ 3,1	13,5 $\pm$ 1,4	14,0 $\pm$ 1,1
Apo-AIV	51	9,2 $\pm$ 1,1	2,2 $\pm$ 0,7*	3,1 $\pm$ 0,6*	3,0 $\pm$ 1,0*	4,2 $\pm$ 1,1
Apo-(AI) <sub>2</sub>	68	3,0 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 0,7	4,6 $\pm$ 0,8	11,0 $\pm$ 1,2	3,8 $\pm$ 0,9
BM	>80	1,6 $\pm$ 0,7	4,3 $\pm$ 1,1	9,7 $\pm$ 2,1*	12,2 $\pm$ 2,2*	4,2 $\pm$ 1,0
Введение липосом						
Apo-C	12,5	4,1 $\pm$ 1,0	3,6 $\pm$ 1,1	4,6 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,1
Apo-AI	28	54,9 $\pm$ 2,9	69,5 $\pm$ 3,9	62,1 $\pm$ 4,0	47,5 $\pm$ 4,4	60,6 $\pm$ 3,8
Apo-E	35	21,3 $\pm$ 2,4	8,8 $\pm$ 1,9*	16,0 $\pm$ 3,8	26,4 $\pm$ 3,9	20,1 $\pm$ 3,2
Apo-AIV	51	11,9 $\pm$ 1,8	5,2 $\pm$ 1,0	4,2 $\pm$ 1,1	4,7 $\pm$ 1,2	1,7 $\pm$ 0,6
Apo-(AI) <sub>2</sub>	68	3,3 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 1,9	4,7 $\pm$ 0,9
BM	>80	3,2 $\pm$ 1,0	9,6 $\pm$ 1,7	12,0 $\pm$ 2,2*	15,4 $\pm$ 3,0*	12,5 $\pm$ 3,1*
<b>ЛПВП3</b>						
Введение гена						
Apo-C	12,5	11,2 $\pm$ 2,3	9,9 $\pm$ 3,2	20,0 $\pm$ 3,9	4,5 $\pm$ 1,7	12,2 $\pm$ 3,3
Apo-AI	28	60,8 $\pm$ 3,4	50,2 $\pm$ 5,4	52,4 $\pm$ 6,4	50,0 $\pm$ 5,1	54,5 $\pm$ 3,5
Apo-E	35	21,2 $\pm$ 2,3	30,1 $\pm$ 4,0	13,1 $\pm$ 2,6	26,4 $\pm$ 2,6	20,1 $\pm$ 3,4
Apo-AIV	51	0,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 1,2
Apo-(AI) <sub>2</sub>	68	1,9 $\pm$ 0,2	3,6 $\pm$ 0,4	10,1 $\pm$ 0,9*	12,0 $\pm$ 1,5*	11,6 $\pm$ 2,0*
BM	>80	4,1 $\pm$ 1,2	5,2 $\pm$ 1,2	3,7 $\pm$ 1,1	5,7 $\pm$ 1,4	1,3 $\pm$ 0,2
Введение липосом						
Apo-C	12,5	6,2 $\pm$ 1,3	3,2 $\pm$ 1,0	14,2 $\pm$ 2,2	16,8 $\pm$ 2,0	15,0 $\pm$ 2,1
Apo-AI	28	54,0 $\pm$ 2,9	58,6 $\pm$ 4,4	42,9 $\pm$ 4,4	47,5 $\pm$ 4,2	29,0 $\pm$ 5,3*
Apo-E	35	25,8 $\pm$ 2,7	31,5 $\pm$ 3,0	34,8 $\pm$ 1,1	20,4 $\pm$ 2,2	22,1 $\pm$ 1,9
Apo-AIV	51	1,4 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,4	3,6 $\pm$ 1,0
Apo-(AI) <sub>2</sub>	68	9,7 $\pm$ 1,2	1,9 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,9	19,0 $\pm$ 2,1	19,7 $\pm$ 2,2
BM	>80	2,8 $\pm$ 0,7	4,6 $\pm$ 0,9	3,1 $\pm$ 0,9	6,0 $\pm$ 1,1	9,8 $\pm$ 1,4

\* Достоверность различий по сравнению с исходным уровнем.

механизмы на работу всего генома. Причем эти изменения обнаруживаются в условиях нагрузки ХС, который сам по себе является сигнальной молекулой, взаимодействующей с ДНК клеток, и регулятором синтеза ApoA1.

Такое предположение находится в полном соответствии с генорегуляторной теорией старения, развиваемой Фролькисом [3], согласно которой взаимосвязь между старением и болезнью, механизмы развития возрастной патологии во многом определяются сдвигами в последовательности экспрессии и репрессии генов, в регуляции этого процесса.

С этих позиций можно объяснить, с одной стороны, нарастание с возрастом частоты развития атеросклероза и его клинических проявлений (ИБС, инсульты, инфаркты), с другой — наметить принципиально новые подходы к их лечению путем воздействия на генорегуляторный аппарат клеток.

*В. В. Фролькис, В. А. Кордюм, С. М. Новикова, Л. М. Богацька, Д. В. Іродов, Л. І. Лихачова, Р. І. Потепенко, Т. Г. Мозгухіна, М. К. Бітнер*

### ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ КЛОНОВАНОГО ГЕНА ApoA1 ЛЮДИНИ НА РОЗВИТОК ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ У КРОЛЯ

#### Резюме

Вивчено вплив імплантації клонованого гена аполіпопротеїна А1 (apoA1) людини на динаміку показників ліпідного і ЛП обмінів у кролів за умов розвитку експериментальної гіперхолестеринемії.

Показано, що імплантація гена apoA1 кролям призводить до появи apoA1 людини у крові експериментальних тварин, до зміни вмісту холестерину (ХС) та його розподілу по фракціях ЛП, співвідношення різних класів ЛП на користь ХС-ЛПВЩ і ЛПВЩ.

Зроблено припущення про те, що трансфекція гена apoA1 людини і його транзиторна експресія не лише ізольовано діють на систему біосинтезу відповідного білка, але й впливають на роботу всього геному через генорегуляторні механізми.

*V. V. Frolikis, V. A. Kordyum, S. N. Novikova, L. N. Bogatskaya, D. M. Irodov, L. I. Likhacheva, R. I. Potapenko, T. G. Mozguchina, M. K. Bitner*

### THE INFLUENCE OF THE IMPLANTED CLONING HUMAN'S apoA1 GENE ON THE DEVELOPMENT OF RABBIT HYPERCHOLESTERINEMY

#### Summary

The effect of the implanted cloning human's apoA1 gene on the dynamic of rabbit's lipid and lipoprotein metabolism in conditions of development of experimental hypercholesterinemia was investigated.

The implantation of apoA1 gene results in the appearance of human apolipoprotein A1 in the blood of experimental animals, the changes in the content of cholesterol and its shifts in different fractions of LP, the changes in the ratio of different classes of LP in favour of Chs-HDLp and HDLP.

It is supposed that transfection of apoA1 human's gene and its transitory expression leads not only to the biosynthesis of respective protein but also to a change in the work of total genome via gene-regulatory mechanisms.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gotto A. M., Pownall H. J. Manual of lipid disorders.— New York: Williams and Wilkins, 1992.— P. 125—161.
2. Репин В. С. Современные молекулярно-клеточные основы липопротеидной теории атеросклероза.— М.: ВНИИМИ, 1987.— 68 с.
3. Фролькис В. В. Генорегуляторные механизмы старения — основа развития возрастной патологии // Физиол. журн.—1990.—36, № 5.— С. 3—11.
4. Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз / Под ред. А. Н. Климова, Р. И. Леви.— М.: Медицина, 1983.—318 с.
5. Sing Ch. F., Boerwinkle E., Moll P. P. Apolipoproteins and cardiovascular risk: genetics and epidemiology. I. Davignon // Annu. Biol. Clin.—1985.— Vol. 43.— P. 411—417.
6. Шульженко В. Н., Новикова С. Н., Костецкий И. Е. и др. Импантация клонированного гена apoA1 человека взрослым и старым кроликам // Биополимеры и клетка.—1990.—6, № 2.— С. 71—76.

7. *Frolkis V. V., Bogatskaya L. N., Novikova S. N., Muradian K. K.* Effects of protein biosynthesis inhibitors on lifespan and development of experimental atherosclerosis // Modification of the rate aging // Eds A. Ruiz-Torres, G. Hofecker.—Wien. 1992.—P. 69—77.
8. *Гааль Э., Медьешу Г., Берецки Л.* Электрофорез в разделении биологических макромолекул.—М.: Мир, 1982.—446 с.
9. *Lindgren F. G., Gensen L. C., Hatch F. T.* The isolation and analysis of serum lipoproteins // Blood lipids and lipoproteins: Quantitation, composition and metabolism / Ed. G. J. Nelson.—New York: J. Wiley and Sons, 1990.—P. 181—274.
10. *Markwell M. A., Haas S. M., Bieber L. L., Tolbert N. E.* A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples // Anal. Biochem.—1978.—87.—P. 43—48.
11. *Кейтс М.* Техника липидологии.—М.: Мир, 1975.—332 с.
12. *Svanborg A., Svennerholm L.* Plasma lipid, cholesterol, phospholipids and fatty acids in healthy Scandinavian population // Acta Med. Scand.—1961.—169.—P. 43—48.
13. *Swaney A., Reese H., Eder H. A.* Polypeptide composition of red high density lipoprotein: characterization by SDS-electrophoresis // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1974.—59, N 2.—P. 513—519.
14. *Чаяло П. П.* Нарушения обмена липопротеидов.—Киев: Здоровье, 1990.—182 с.
15. *Перова Н. В., Усатенко М. С.* Состав апопротеинов плазмы крови при дисальфалипопротеидемии // Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз.—М.: Медицина, 1983.—С. 200—212.

Ин-т геронтологии АМН Украины, Киев  
 Ин-т молекуляр. биологии и генетики НАН Украины, Киев

Получено 20.07.94