

Abstract

A. V. Biloshytska,
*M. Pirogov National Medical
University, 56 Pirogov str.,
Vinnytsya, Ukraine, 21018*

**EFFECT OF APOE GENE TRANSFECTION ON HEPATOCYTE
STRUCTURE IN EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS**

Topicality. Atherosclerosis is the most common and most threatening disease in the world and in Ukraine. Pathology of the digestive system including the liver may worsen disease. All current treatments have only a temporary effect. Gene therapy is becoming more promising treatment for multifactorial diseases. Search is being carried in the world for more effective and convenient mechanism for transferring the desired DNA segments to target organs.

Goal. To study the preventive effect of apoE gene transfection on the hepatocyte structure in experimental atherosclerosis.

Materials and methods. Experimental atherosclerosis was simulated by the classical Anichkov's method by feeding animals with cholesterol. All experimental animals were divided into 3 groups: 1 – intact rats, 2 – rats which simulated atherosclerosis, 3 – rats for which prevention of atherosclerosis was conducted. As a preventive measure, apoE gene transfection was used (at a dose of 50 mkg DNA for the animal). The animals were taken out of the experiment by decapitation under light ether anesthesia. To investigate the fate we always used the right slice of the rat's liver. Further research conducted by the conventional method. Histological sections were stained; ultrathin sections were studied by electron microscope.

Results. Experimental atherosclerosis leads to fatty hepatocytes. Violated microscopic and ultramicroscopic structure of hepatocytes. We watched a lot of necrotic cells and non-nuclear hepatocytes. Ultramicroscopic study of damaged cells showed a lot of lipofuscin and mielin structures. The number of mitochondrias and glycogen was sharply reduced. Lipids were in a large number of almost cells. Transfection of apoE gene promotes better recycling of exogenous lipids that were morphologically manifested in reducing the number of large lipid droplets in cytosol, reducing of lipofuscin granules and myelin structures, preserves the structure of the hepatocyte nucleus.

Conclusions. ApoE gene transfection protects the hepatocyte structure during the experimental atherosclerosis.

Keywords: experimental atherosclerosis, apoE gene, transfection, hepatocytes.

Corresponding author: *alina.biloszycka@gmail.com*

Резюме

А. В. Білошицька,
*Вінницький національний медичний
університет ім. М. І. Пирогова,
вул. Пирогова, 56, м. Вінниця,
Україна, 21018*

**ВПЛИВ ТРАНСФЕКЦІЇ ГЕНУ АРОЕ НА СТРУКТУРУ
ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
АТЕРОСКЛЕРОЗІ**

Мета. Вивчити профілактичну дію трансфекції гену apoE на структуру гепатоцита при експериментальному атеросклерозі.

Матеріали та методи. Експериментальний атеросклероз моделювався за класичною методикою Анічкова шляхом згодовування

тваринам холестеролу з соняшниковою олією. В якості профілактичного заходу використовувалась внутрішньом'язова трансфекція гену аполіпопротеїну Е (ген ароЕ в дозі 50мкг ДНК на тварину).

Результати. Екзогенне холестеролове навантаження веде до жирової інфільтрації гепатоцита. Трансфекція гену ароЕ сприяє кращій утилізації екзогенних ліпідів, що морфологічно проявляється в зменшенні кількості великих краплин ліпідів у цитозолі, зменшенню гранул ліпофусцину та мієліноподібних структур, збереженню структури ядра гепатоцита.

Висновки. Трансфекція гену ароЕ має виражений гепатопротекторний ефект.

Ключові слова: експериментальний атеросклероз, ген ароЕ, трансфекція, гепатоцит.

Резюме

А. В. Белошицкая,
Винницкий национальный медицинский университет
им. Н. И. Пирогова, г. Винница,
ул. Пирогова, 56, Украина, 21018

ВЛИЯНИЕ ТРАНСФЕКЦИИ ГЕНА АРОЕ НА СТРУКТУРУ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Цель. Изучить профилактическое действие трансфекцией гена аро Е на структуру гепатоцита при экспериментальном атеросклерозе.

Материалы и методы. Экспериментальный атеросклероз моделировался по классической методике Аничкова. путем скармливания животным холестерина с подсолнечным маслом. В качестве профилактической меры использовалась внутримышечная трансфекция гена аполипопротеина Е (ген АРОЕ в дозе 50 мкг ДНК на животное).

Результаты. Экзогенная холестероловая нагрузка ведет к жировой инфильтрации гепатоцита. Трансфекция гена ароЕ способствует лучшей утилизации экзогенных липидов, морфологически это проявляется уменьшением количества крупных капель липидов в цитозоле, уменьшением гранул липофусцина и миєліноподібних структур, сохранением структуры ядра гепатоцита

Выводы. Трансфекция гена ароЕ имеет выраженный гепатопротекторный эффект.

Ключевые слова: экспериментальный атеросклероз, ген ароЕ, трансфекция, гепатоцит.

Автор, відповідальний за листування: alina.biloszycka@gmail.com

Вступ

На сьогоднішній день атеросклероз є найзагрозливішим захворюванням і становить важливу медико-соціальну проблему через значну поширеність, хронічний перебіг, серйозні ускладнення, що призводять до інвалідації хворих та високої смертності внаслідок ураження судин і серця. Враховуючи тенденцію до постійного зростання кількості пацієнтів, це захворювання є найбільшою загрозою людству у ХХІ столітті. На даний час у світі нараховується за різними оцінками близько 2 млрд. хворих на атеросклероз та його ускладнення зі сторони

серцево-судинної системи (інфаркту міокарду, інсульту, ішемічну хворобу серця), центральної нервової системи, травної, ендокринної, тощо [1, 2]. Одним з органів-мішеней при атеросклерозі є печінка [3, 4].

При екзогенному надмірному навантаженні холестеролом (ХС) перш за все його вплив на печінку можна розглядати як агресивну дію токсичної речовини, оскільки він викликає в печінці жирову дистрофію. Стеатоз є наслідком аномального накопичення тригліцеридів всередині гепатоцитів, причому частіше виникає крапельна жирова дистрофія. Розрізняють два її



види: дрібнокрапельну та крупнокрапельну. Крупнокрапельна жирова дистрофія розвивається при хронічному навантаженні тригліцеридами та характеризується наявністю великих кульок тригліцеридів, які зміщують ядро гепатоцита до периферії. Дрібнокрапельний стеатоз характеризується наявністю дрібних краплин тригліцеридів в гепатоцитах, що не зміщують ядро [5, 6, 7]. В основі мікровезикулярного стеатозу лежить порушення токсичними речовинами β -окислення жирних кислот і енергопродукції клітини, що супроводжується посиленням етерифікації жирних кислот до тригліцеридів та їх накопиченням [5, 6, 8]. Порушення тонкої архітектоники печінки, викликане надмірним екзогенним навантаженням ХС, провокує порушення ліпідного обміну, за який безпосередньо і відповідає печінка – «центральна біохімічна лабораторія організму» [9].

В нормі в печінці синтезується та метаболізується більша частина ліпопротеїдів (ЛП), в тому числі – пре- β -ліпопротеїдів (пре- β -ЛП), β -ліпопротеїдів (β -ЛП), та α -ліпопротеїдів (α -ЛП). Вони містять такі класи ліпідів як тригліцериди (ТГ), фосфоліпіди (ФЛ), ефіри ХС та вільний ХС. Білковий компонент ЛП представлений різноманітними класами апобліків. Біосинтез та розпад ліпідів в організмі контролюється печінкою за допомогою механізму зворотнього зв'язку: надлишок ліпідів гальмує синтез ФЛ в печінці і стимулює синтез ТГ, а відсутність, навпаки. Після всмоктування в кишківнику ХС, ТГ та інші ліпіди транспортуються до периферійних тканин та печінки за допомогою хіломікронів та пре- β -ЛП. Потім ці транспортні часточки розчиняються ЛП-ліпазою судинної стінки, а їх залишки (ремнанти хіломікронів та β -ЛП) метаболізуються гепатоцитами через рецепторний механізм. Біля половини пре- β -ЛП в гепатоцитах перетворюються в β -ЛП, які і є основною транспортною формою ХС, регулюють його обмін. Вважається, що саме β -ЛП та в меншій мірі пре- β -ЛП являються атерогенними фракціями [9].

Під впливом атерогенної дієти та при надлишку ХС з їжею в гепатоцитах посилюється синтез білків АРО-В та АРО-Е, на мембранах гепатоцитів збільшується кількість β -ЛП-рецепторів (β -ЛП-Р), а також збільшується вміст β -ЛП в плазмі. Цей механізм гальмує синтез ХС гепатоцитами [10], та підтримує нормальний рівень ліпідемії. Було доведено, що головна функція гепатоцитів в підтриманні ліпідного гомеостазу полягає в синтезі апобліків та ЛП, їх рецепторів, а

також в регуляції їх метаболічного балансу. В умовах довготривалого холестеролового навантаження, а також під дією інших стресових чинників ці функції гепатоцитів порушуються або блокуються, чому сприяє порушення функціонального стану клітин макрофагально-моноцитарного ряду в організмі, і перш за все в самій печінці [4].

При довготривалому холестероловому навантаженні та високій концентрації ХС в плазмі крові порушується ліпорегуляторна функція гепатоцитів. Перш за все гальмується синтез β -ЛП-Р на мембранах гепатоцитів. При цьому в гепатоцитах виникає надлишок холестеролу, який блокує активність гена, відповідального за синтез β -ЛП-Р [11]. У мишей, нокаутованих по гену apoE, при надлишковому холестероловому навантаженні з їжею швидко розвивається важкий атеросклероз. Навпаки, введення рекомбінантного apoE, чи його надекспресія у тварин із змодельованим атеросклерозом, призводить до зниження рівня ХС, атерогенних ЛП та регресії атеросклеротичних змін [12]. Таким чином, при розвитку атеросклерозу з'являється порушення кооперативної взаємодії ліпорегуляторних функцій печінки. Порушення взаємодії між гепатоцитами, що розвиваються в умовах стресу та прогресування системного запального процесу, є результатом розвитку дисфункції імунорегуляторної системи [13].

За останні роки розробляються нові методи лікування атеросклерозу і великий інтерес викликає генна терапія. Цей метод розглядає введення до організму (за допомогою вірусних, клітинних або інших векторів) тих чи інших генів, які експресують білки, що впливають на обмін ліпідів. Найчастіше це гени, що кодують аполіпопротеїни та β -ЛП-Р, так як всі вони вже картовані та клоновані [12, 14, 15]. На сьогоднішній день генна терапія атеросклерозу знаходиться на етапі експериментальних досліджень [16, 17]. Дослідниками було показано, що після трансплантації генної конструкції в організмі спостерігається короточасне зниження рівня загального ХС сировотки крові та значне зменшення площі та інтенсивності атеросклеротичного враження аорти. Всі дослідники в повідомленнях мають позитивний результат, що свідчить про велику перспективу методу [12, 25].

Takis Athanasopoulos [12] розроблене пряме введення ДНК-конструкції в клітини-мішені шляхом ін'єкцій є самим простим методом доставки трансгена в клітини *in vivo*, за якого ДНК вводиться безпосередньо в тканину шляхом



ін'єкції. Застосування даного методу поки що обмежується такими тканинами як шкіра, тимус, поперечно-смугасті м'язи, деякі солідні пухлини. Для здійснення прямого введення потрібні великі кількості ДНК. Досить тривала (до року) експресія трансгена спостерігається переважно в м'язовій тканині [12]. Ефективність такого способу трансфекції зазвичай низька (складає менше 1 %), але достатня, наприклад, для генетичної імунізації.

Перспективним способом прямого введення ДНК-конструкції в клітини-мішені є доставка генетичної конструкції в ліпосомах [18]. Зокрема в катіонних ліпосомах з позитивним зарядом, негативно заряджена молекула ДНК утворює ДНК-ліпідний комплекс – ліпокомплекс. Переваги застосування таких комплексів, порівняно з вірусними векторами, полягають у здатності нести більший об'єм інформації, неможливості виникнення рекомбінацій та появи інфекційних властивостей. Такі конструкції мають нижчу вірогідність ініціації імунної відповіді або реакції запалення, вони простіші та дешевші у виготовленні.

Ген ароЕ локалізується у хромосомному локусі 19q13.2 та має три алельних варіанти [19, 20]. Результати досліджень вказують на існування множинних незалежних регуляторних елементів контролю гену ароЕ людини в різних тканинах, що забезпечує регуляцію експресії як відпо-

відь на внутрішньо- та позаклітинні стимули, такі як гормони та метаболіти [6, 20, 21, 22]. Також відомо, що тканинноспецифічний дистальний контроль експресії ароЕ існує у всіх тканинах [12, 23].

Враховуючи, що в патогенезі атеросклерозу провідну роль відіграють зміни печінки, що виникають в результаті порушення метаболізму ліпідів, одним із способів корекції патологічних змін в паренхімі органа може бути активація рецептор-опосередкованого поглинання холестеролу гепатоцитами. Це досягається вибраним нами методом генної терапії, що ґрунтується на введенні гену ароЕ, скерованого на активацію синтезу білка АРОЕ.

Мета. Вивчення структурних змін гепатоцитів при експериментальному атеросклерозі та в умовах його профілактики трансфекцією гену ароЕ.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 30 статевозрілих щурах-самцях масою 150–170 грамів. Модель експериментального атеросклерозу створювали шляхом згодовування тваринам холестеролу з соняшниковою олією. Протягом 30 днів щурам внутрішньошлунково за допомогою зонду з оливою вводили холестерол в дозі 0,5 г/кг і додатково 4(6)-метил-2-тиоурацил в дозі 12 мг/кг для пригнічення функції щитоподібної залози [24]. Піддослідні тварини були розділені на 3 групи (табл. 1).

Таблиця 1 – Розподіл тварин по групах дослідження

Групи тварин \ Препарати	Метилтіоурацил 12 мг/кг	Холестерол 0,5 г/кг	Ген ароЕ 50 мкг ДНК в 1-й день
Інтактна	–	–	–
Експериментальний атеросклероз	+	+	–
Експериментальний атеросклероз з профілактичним введенням гену ароЕ	+	+	+

1 група – інтактні тварини, які утримувались в звичайних умовах експериментальної клініки; 2 група – тварини з експериментальним атеросклерозом; 3 група – тварини з експериментальним атеросклерозом, яким в перший день моделювання атеросклерозу вводили внутрішньом'язово ген аполіпопротеїну Е (ген ароЕ в дозі 50 мкг ДНК на тварину).

В дослідженні була використана клонована ДНК (кДНК) гена ароЕ. Препарат катіонних ліпосом/ДНК виготовлявся за допомогою реактива DOTAP Methosulfate виробництва SIGMA-

ALDRICH (США) в відповідності до інструкції виробника.

Результати. Факт активної роботи гену ароЕ перевірявся традиційним методом зворотньотранскриптазної полімеразної ланцюгової реакції (зПЛР). Візуалізація продуктів ампліфікації (295 п.н. та 180 п.н., відповідно для першої та другої пари праймерів) проводилася за допомогою електрофорезу у 2 % агарозному гелі. Розрахунок рівня експресії виконували за допомогою калібровочної кривої позитивного контролю даного гену. Результати представлені на рис. 1.



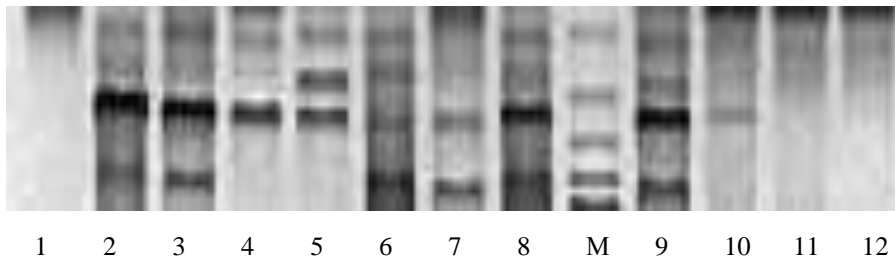
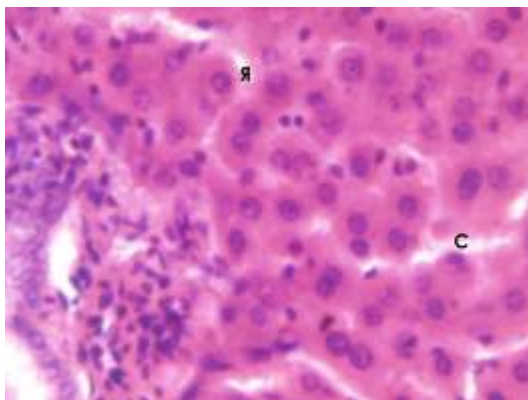


Рисунок 1 – Електрофореграма продуктів ампліфікації РНК apoE-гена (230 п.н.):

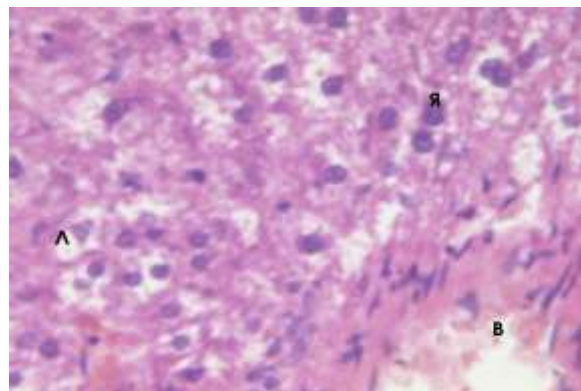
- № 1 – «-» контроль;
- №№ 2–9 – зразки ткани м'язів щурів, яким вводилась плазміда, що несе apoE-ген людини;
- № 10 – «+» контроль;
- №№ 11–12 – зразки тканини м'язів контрольних щурів (без введення плазмідної ДНК)

При світловій мікроскопії в печінці інтактних щурів ідентифікували строму і паренхіму. Строма представлена тонкою сполучнотканиною капсулою та прошарками сполучної ткани з кровоносними та лімфатичними судинами та жовчними протоками. Паренхіма печінки представлена епітеліальними клітинами – гепатоцитами, які компонується в класичні печінкові часточки. Часточки печінки цієї групи щурів ототожнюються досить важко, оскільки вони чітко не відділені одна від одної сполучнотка-

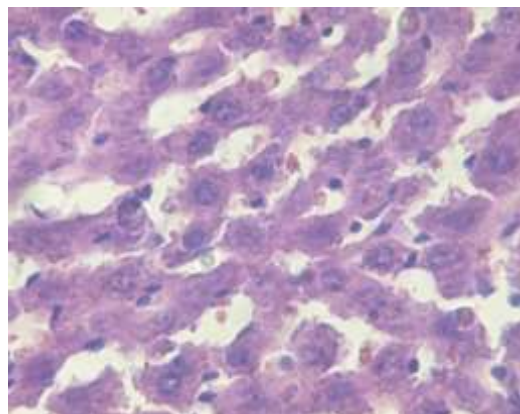
нинними прошарками, що характерно для цього виду тварин. Форма класичних печінкових часточок нагадує п'яти- або шестикутники із закругленими кутами, в яких можна спостерігати портальну зону, або тракт, що складається з поперечно зрізаних гілок міжчасточкової печінкової артерії, ворітної вени, жовчного протоку та лімфатичних судин разом із нервами та пухкою сполучною тканиною, в якій вони всі знаходяться (рис. 2 А).



А – Інтактна група



В – Група з експериментальним атеросклерозом



С – Група з профілактичним веденням гену apoE

Рисунок 2 – Структура гепатоцитів при забарвленні гематоксилин-еозіном; Я – ядро гепатоцита, Л – краплини ліпідів, С – синусоїдні капіляри, В – центральна вена

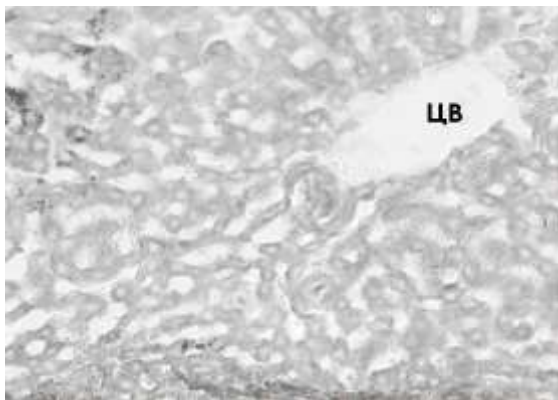
В центрі класичних печінкових часточок розташовані центральна вена з округлим отвором, часом заповнена форменими елементами крові. Від центральної вени в радіальному напрямку розташовуються неправильними розгалуженими рядами гепатоцити.

Цитоплазма гепатоцитів має гомогенний характер. Ядра гепатоцитів, як правило, мають округлу форму, по 1–2 ядерця, які можна добре розрізнити. Найчастіше в класичних часточках зустрічаються гепатоцити з одним ядром, але поблизу портальних трактів зустрічаються і дво-ядерні клітини. В печінкових пластинках гепатоцити розташовуються двома рядами, між якими знаходяться синусоїди у вигляді щільних просторів. Стінку синусоїдів створюють зірчасті ендотеліоцити та макрофагоцити. Ядра ендотеліоцитів мають вигляд коротких тонких паличок, а ядра макрофагів – трикутну, призматичну, або витягнуту овальну форму. Зрідка зустрічаються жиронакопичувальні клітини (рис. 2 А).

При мікроскопічному дослідженні препаратів печінки щурів з експериментальним атеросклерозом виявлено, що гепатоцити мають цитоплазму з оптично пустими вакуолями та базофільною зернистістю. Помітно порушення двохшаровості структури печінкових пластинок, розширення простору синусоїдних капілярів. При експериментальному атеросклерозі найбільш значні зміни спостерігаються в гепатоцитах перипортальної зони. Тут переважають клітини набряклі, збільшені в об'ємі, з великою кількістю оптично пустих вакуолей. Ядра та цитоплазма багатьох гепатоцитів не мають чіткої структурованості (рис. 2 В).

При мікроскопічному світлооптичному дослідженні печінки щурів з експериментальним атеросклерозом та профілактичному введенні гену ароЕ в стромі визначали макрофаги, лімфоцити, клітини фібробластного ряду, незначне порушення двохшаровості структури печінкових балок, незначне розширення простору синусоїдних капілярів (рис. 2 С). Профілактичне введення гену ароЕ мало позитивний вплив, а саме: гепатоцити мали світлу цитоплазму, зрідка з оптично пустими вакуолями.

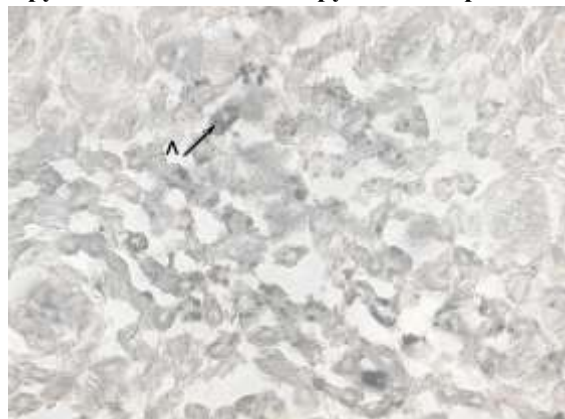
При мікроскопічному світлооптичному дослідженні печінки щурів з експериментальним атеросклерозом та профілактичному введенні гену ароЕ в стромі визначали макрофаги, лімфоцити, клітини фібробластного ряду, незначне порушення двохшаровості структури печінкових балок, незначне розширення простору синусоїдних капілярів (рис. 2 С). Профілактичне введення гену ароЕ мало позитивний вплив, а саме: гепатоцити мали світлу цитоплазму, зрідка з оптично пустими вакуолями.



А – Інтактна група



В – Група з експериментальним атеросклерозом



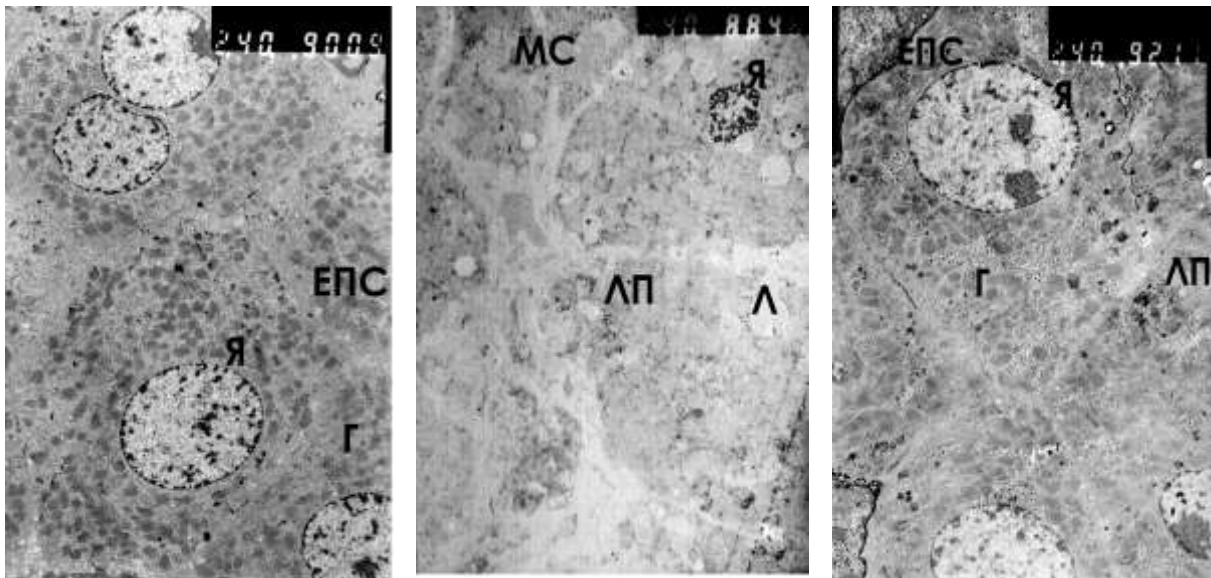
С – Група з профілактичним веденням гену ароЕ

Рисунок 3 – Структура гепатоцитів при забарвленні суданом чорним; Л – краплини ліпідів, ЦВ – центральна вена

При гістохімічному дослідженні печінки інтактних тварин ліпіди розподілялись в гепатоцитах рівномірно, у вигляді ніжної суданофілії (рис. 3 А). При гістохімічному дослідженні в препаратах печінки щурів з експериментальним атеросклерозом ми спостерігали накопичення ліпідів в гепатоцитах у вигляді крупних крапель переважно в зоні центральної вени (рис.3 В). В групі з профілактичним введенням гену ароЕ на тлі експериментального атеросклерозу спостерігалось накопичення ліпідів і у вигляді великих крапель, і у вигляді дрібних крапель. Великі краплі, як і при експериментальному атеросклерозі, накопичувались в ділянці центральної ве-

ни, а в інших зонах ліпіди виявлялись у вигляді ніжної суданофілії (рис. 3 С).

При електронномікроскопічному дослідженні печінки інтактних тварин було встановлено, що в гепатоцитах спостерігаються одно-два ядра з ядерцями і цитоплазма, в якій знаходяться гранули глікогену, агранулярна ендоплазматична сітка, гранулярна ендоплазматична сітка, велика кількість мітохондрій, комплекс Гольджі, лізосоми, зрідка дрібні включення краплин ліпідів. Дрібні краплі ліпідів переважно знаходяться в агранулярній ендоплазматичній сітці (рис. 4 А, 5А, 6А).



А – Інтактна група

В – Група з експериментальним атеросклерозом

С – Група з профілактичним введенням гену ароЕ

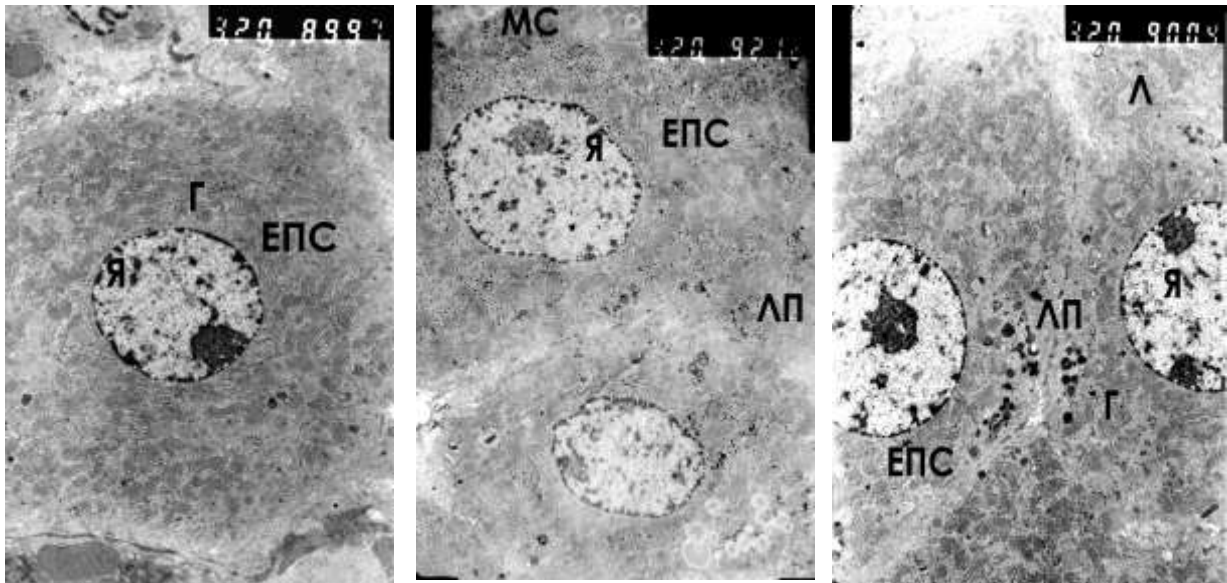
Рисунок 4 – Структура гепатоцита за даними електронномікроскопічного дослідження (36.2400); Я – ядро гепатоцита, Г – гранули глікогена, Л- краплі ліпідів, ЛП- ліпофусцин

При експериментальному атеросклерозі ми спостерігали як пошкоджені, без'ядерні гепатоцити, так і гепатоцити з пікнотичними, зморщеними ядрами, з високою концентрацією гетерохроматину, у деяких ядерця не виявлялись. В усіх клітинах спостерігали велику кількість великих та дрібних крапель ліпідів. Дрібні краплі були розташовані в гранулярній ендоплазматичній сітці, а великі безпосередньо в цитозолі. Ми звернули увагу на той факт, що кількість мітохондрій є меншою, ніж в інтактній групі, а мієліноподібні структури спостерігаються майже в усіх досліджених клітинах. Дуже часто зустрічаються дрібні гранули ліпофусцину. Просвіт між сусідніми гепатоцитами дещо розширений (рис. 4В, 5В, 6В).

В гепатоцитах тварин з профілактичною трансфекцією гену ароЕ на тлі експериментального атеросклерозу добре візуалізуються ядра, іноді з двома ядерцями, гранулярний та агранулярний ендоплазматичний ретикулум, велика кількість мітохондрій, полісом, комплекс Гольджі, вакуолярні структури, зрідка спостерігаються поодинокі гепатоцити з невеликими краплинами ліпідів, які знаходяться в гранулярній ендоплазматичній сітці.

Просвіт між сусідніми гепатоцитами не змінений. На біліарній поверхні гепатоцитів добре видно велику кількість коротких виростів цитолем, саме тут спостерігається скупчення гранул ліпофусцину (рис. 4С, 5С, 6С).



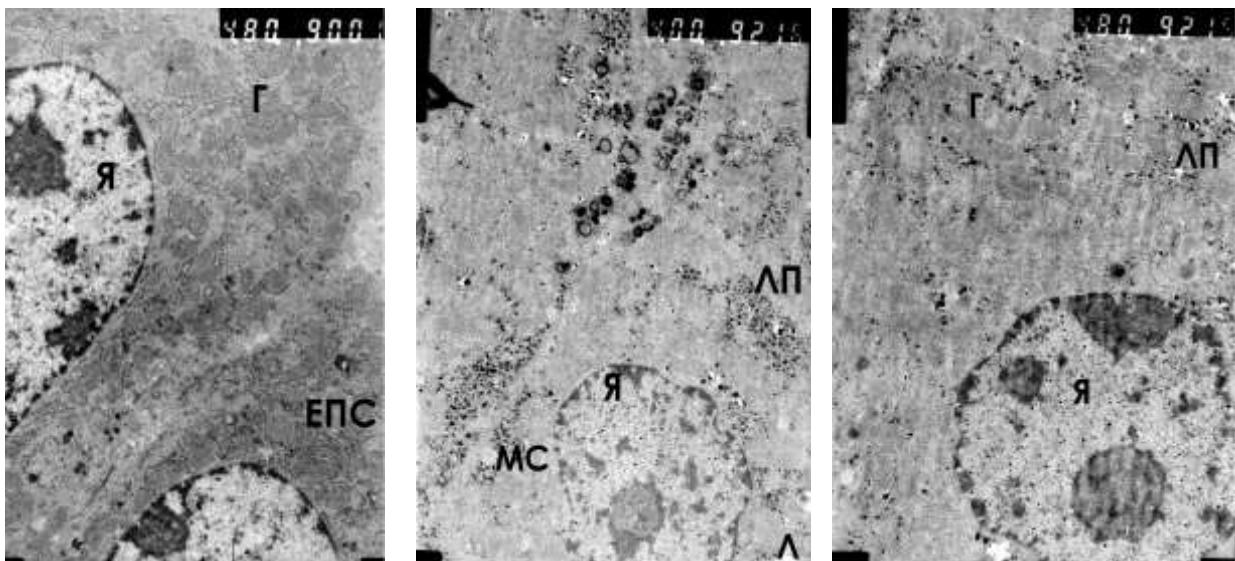


А – Інтактна група

В – Група з експериментальним атеросклерозом

С – Група з профілактичним веденням гену аррЕ

Рисунок 5 – Структура гепатоцита за даними електронімікроскопічного дослідження (36.3200); Я – ядро гепатоцита, Г – гранули глікогена, Л- краплі ліпідів, ЛП – гранули ліпофусцину



А – Інтактна група

В – Група з експериментальним атеросклерозом

С – Група з профілактичним веденням гену аррЕ

Рисунок 6 – Структура гепатоцита за даними електронімікроскопічного дослідження (36.4800); Я – ядро гепатоцита, Г – гранули глікогена, Л- краплі ліпідів, ЛП – гранули ліпофусцину, ЕПС – ендоплазматична сітка, МС – мієліноподібні структури

Висновки

1. Таким чином, нами встановлено, що екзогенне холестеролове навантаження веде до жирової інфільтрації гепатоцита у вигляді накопичення великих крапель ліпідів у цитозолі, які при світловій мікроскопії виявляються у вигляді

оптично прозорих вакуоль, зернистості цитоплазми клітин (при забарвленні гематоксилін-еозином), або у вигляді великих чорних краплин ліпідів (при забарвленні суданом чорним). Електронна мікроскопія дозволяє визначити, що при експериментальній патології ліпіди знаходяться

прямо в цитозолі, а не в агранулярній ЕПС, як у групі інтактних тварин. Пошкодження гепатоцитів характеризується пікнотичністю або відсутністю ядер, великою кількістю гранул ліпофусцину та мієліноподібних структур з одночасним зменшенням кількості мітохондрій та гранул глікогену. Ми спостерігали деяке розширення простору між сусідніми гепатоцитами,

зменшення кількості виростів цитоліми на білярних полюсах клітин.

2. Трансфекція гену apoE сприяє кращій утилізації екзогенних ліпідів, що морфологічно проявляється в зменшенні кількості великих краплин ліпідів у цитозолі, зменшенню гранул ліпофусцину та мієліноподібних структур, збереженню структури ядра гепатоцита.

References (список літератури)

1. Amosova JN. [Secondary prevention of coronary heart disease: the role of angiotensin-converting enzyme inhibitors]. *Sertse i sudny.* 2005; 2: 8–12.
2. Amosova JN. [From the treatment of atherosclerosis by modifying the forecast: focus on lipid-lowering therapy. Part 1]. *Sertse i sudny.* 2011; 1: 6–19.
3. Giallourakis CC. The liver in heart failure. *Clin. Liver Dis.* 2002; 6 (4): 947–967.
4. Naschitz JE. Heart diseases affecting the liver and the liver diseases affecting the heart. *Am. Heart J.* 2000; 140 (1): 111–120.
5. Lee DM. Relation of apolipoprotein E polymorphism to clinically diagnosed fatty liver disease. *Taehan. Kan. Hakhol. Chi.* 2002; 8(4): 355–362.
6. Mensenkamp AR. The transport of triglycerides through the secretory pathway of hepatocytes is impaired in apolipoprotein E deficient mice. *J. Hepatol.* 2004; 40(4): 599–606.
7. Salonen JT. Liver damage and protective effect of high density lipoprotein cholesterol. *Biochem. Med. J.* 2003; 327: 1082–1083.
8. D. Hui, W. Brecht, E. Hall. Isolation and characterization of the apolipoprotein E receptor from canine and human liver. *J. Biol. Chem.* 1986; 261(9): 4256–4267.
9. Shevchuc T, Horbatiuk S, Polesya T. The dynamics of lipid exchange indexes of blood serum in experimental atherosclerosis and its correction. *Annales. Lublin.* 2006. 1(19): 163–165.
10. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J. Clin. Invest.* 2003; 111: 795–1803.
11. Zelcer N. ABC transporters in lipid transport. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2000; 14 (6): 128 – 144.
12. Athanasopolus T. Intramuscular injection of a plasmid vector expressing human apolipoprotein E limits progression of xanthoma and aortic atheroma in apo-E deficient mice. *Human Molecular Genetiks.* 2000; 9(17): 2545–2551.
13. Dam-Larsen S. Histology and prognosis in fatty liver patients. *Hepatology.* 2004; 40 (suppl. 1): 170 p.
14. Baker AH. Gene therapy as a therapeutic strategy in coronary heart disease. *Internal medicine.* 2007; 1: 76–80.
15. Bolla MK, Wood N, Humphries SE. Rapid determination of apolipoprotein E Genotype using a heteroduplex generation. *J. Lipid Research.* 1999; 40: 2340–2345.
16. Harris JD. Inhibition of atherosclerosis in apolipoprotein E –deficient mice following muscle transduction with adenoassociated virus vector encoding human apolipoprotein- E. *Gene Therapy.* 2002; 9(1): 21–29.
17. Kazyhiro O, Chan L. Liver-directed gene therapy for dyslipidemia and diabetes. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2004; 6 (3): 203–209.
18. Verma IM, Wiertzman MD. Gene therapy: twenty-first century medicine. *Annual Rev. Biochemistry.* 2005; 74: 415–435.
19. Das HK, Pherson JM, Bruns GA. Isolation, characterization and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J. Biol. Chem.* 1983; 260(10): 6240–6247.
20. Simonet WS. Multiple tissue-specific elements control the apolipoprotein E/C-I gene locus in transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 1991; 266(14): 8651–8654.
21. Dang Q, Taylor J. In vivo footprinting analysis of the hepatic control region of the human apolipoprotein E/C-I/C – IY/C – gene locus. *JBC.* 1996; 271(45): 28667–28676.



22. Edfeldt K, Suedenborg J. Expression of Toll-like Receptors in Human Atherosclerosis Lesions. *Circulation*. 2002; 105: P. 1158–1160.
23. Zelcer NN, Tontoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J. Clin. Invest.* 2006;116: 607–614.
24. Stefanov OV. Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv [Preclinical studies of drugs].– Kyiv: Avitsennas Publ. 2001. 528 p.
25. Velykyi MM. [Medical biotechnology: gene therapy] *Medychna biotekhnolohiia: henna terapiia: materialy naukovo-praktychnoi konferencii* [The latest achievements of biotechnology]. Kyiv, 2010 pp, 14–15 (In Ukrainian).

(received 24.01.2017, published online 29.03.2017)

(одержано 24.01.2017, опубліковано 29.03.2017)

