

**В. В. Фролькис, В. А. Кордюм, Л. Н. Богацкая, С. Н. Новикова,
В. Н. Шульженко, И. Е. Костецкий, Т. Г. Мозжухина,
Р. И. Потапенко, В. Е. Сабко, Г. И. Парамонова**

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ИМПЛАНТАЦИИ ГЕНА apoA1 ЧЕЛОВЕКА НА РАЗВИТИЕ ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Введение гена apoA1 человека в составе молекулярной конструкции, обеспечивающей его экспрессию, в печень взрослых и старых крыс приводит к появлению в их крови человеческого белка и сопровождается изменениями в содержании ЛПВП, подклассов ЛПВП₁ и ЛПВП₂, сдвигами в их белковом и липидном составе. Синтез apoA1 человека в организме крыс более выражен у взрослых животных, а геннорегуляторные сдвиги — в большей степени у старых.

Введение. Общеизвестно, что развитие атеросклероза определяется сложным комплексом факторов (изменение реактивности сосудистой стенки, сдвиги в нейро-гуморальной регуляции, образование иммунных комплексов и др.), среди которых большое значение имеют дислиппротеидемии (ДЛП). Они характеризуются изменениями в составе, содержании и соотношении отдельных липидов и липопротеидов (ЛП) в крови [1]. ДЛП в значительной степени определяют взаимосвязь между старением и развитием атеросклероза [2]. Нарастание частоты ДЛП у людей пожилого и старческого возраста способствует развитию у них атеросклероза и определяется генно-регуляторными механизмами старения и развитием на этой основе изменений синтеза различных белков, в том числе и апопротеинов в старости [3].

Представление о роли ЛП высокой плотности (ЛПВП) как антиатерогенных факторов послужило основанием для исследования возможности устранения дефицита этого класса ЛП путем генной коррекции с помощью увеличения содержания аполипопротеина A1 (apoA1) — главного белкового компонента ЛПВП. При этом предполагалось, что внутрипеченочное введение гена apoA1 приведет через его экспрессию к увеличению содержания этого белка и тем самым, возможно, к повышению концентрации ЛПВП.

Целью настоящей работы явилось изучение возрастных особенностей влияния введения гена apoA1 человека экспериментальным животным на белковый и липидный состав ЛПВП.

Материалы и методы. Для клонирования гена apoA1 человека использована библиотека генов человека, сконструированная на основе λ -вектора Харон 4А. Скрининг рекомбинантных фагов проводили, как описано в [4]. В качестве зонда применяли химически синтезированный 40-членный олигонуклеотид, комплементарный структурной части гена apoA1 человека.

Выбор молекулярной конструкции, в составе которой ген apoA1 человека вводили крысам, определялся результатами наших экспериментов по изучению экспрессии гена в культуре мышечных фибробластов. Наличие в составе рекомбинантной молекулы одного Alu-повтора человека с 5'-конца гена apoA1 человека усиливало его экспрессию [5], а гетерологичная ARS-последовательность ДНК генома кукурузы обеспечивала большую длительность сохранения плазмидной ДНК в культуре клеток. Такая рекомбинантная ДНК получила обозначение pAA (apo-Alu-ARS) и вводилась лабораторным животным.

В работе использовали ферменты производства НПО «Фермент» (Вильнюс) и НИКТИ БАВ (Бердск). Выделение плазмидной ДНК,

обработку ДНК ферментами, электрофорез в агарозном геле проводили по общепринятым методикам [4]. Первичную структуру ДНК определяли по Максаму—Гилберту [6]. Липосомы состава фосфатидилхолин : холестерин : дицетилфосфат (7 : 2 : 1) готовили методом упаривания с обращением фаз, ДНК заключали в них методом [7].

Экспериментальным животным — взрослым (6—8 месяцев) и старым (26—28 месяцев) крысам генетический материал вводили в печень посредством частичной лапаротомии, проводимой под эфирным наркозом. Контрольным животным проводили ложную операцию с введением физиологического раствора и липосом без генетического материала. Суспензию липосом вводили из расчета 100 мкл на 100 г массы. Суспензия в 1 мл содержала 13 мг липидов и 400 мкг плазмидной ДНК. Доля заключенной в липосомы ДНК составляла 7—8 %.

Экспрессию введенного гена оценивали с помощью ракетного иммуноэлектрофореза плазмы со специфической антисывороткой к человеческому апоА1 и последующего количественного определения уровня белка по контрольной сыворотке человека, содержащей 125 мг/дл апоА1 [8].

ЛП различных классов выделяли методом препаративного ультрацентрифугирования в градиенте плотности NaBr [9]. В выделенных ЛП определяли содержание белка [10], общего холестерина (ХС), эфиров ХС [11], фосфолипидов (ФЛ) [12] после предварительной экстракции [10].

Белковый состав подфракций ЛПВП₂ и ЛПВП₃ исследовали с помощью электрофореза в градиенте полиакриламидного геля (ПААГ, 3—27 %) в присутствии DS-Na в Na-фосфатном буфере по методу [13]. Белки ЛПВП₂ и ЛПВП₃ после делипидизации смесью хлороформ—метанол растворяли в буфере [14], содержащем 0,125 М трис-HCl, pH 6,8, 5 % β-меркаптоэтанола, 2 % DS-Na, прогревали 2—3 мин в кипящей бане и наносили в ячейки вертикального блока ПААГ (16×18×2) по 30 мкл (30 мкг суммарного белка). Электрофорез проводили при 25—30 °С в течение 15—18 ч. Гель фиксировали, окрашивали 0,1 %-ным кумасси С-250 и обесцвечивали до выявления электрофоретических зон. Гели денситометрировали на регистрирующем микрофотометре ИФО-451.

Микросомную фракцию печени выделяли методом дифференциального центрифугирования при 105 000 g [15]. Содержание цитохрома Р-405 определяли методом двухлучевой дифференциальной спектрофотометрии на спектрофотометре «Perkin-Elmer» [16]. Моноскингеназную активность микросом выявляли *in vitro* путем добавления субстратов гидроксигидроксилирования — аминопирина и анилина [15].

Все исследования проводили через 48 ч после имплантации гена апоА1. В опытах исследованы 36 взрослых и 39 старых животных.

Статистическую обработку данных осуществляли с вероятностью прогноза 95 % по [17].

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что при внутрипеченочном введении используемой молекулярной конструкции, содержащей ген апоА1 человека, взрослым и старым крысам в крови этих животных появляется апоА1 человека. Последний обнаруживается методом количественного иммунофореза в агарозном геле со специфической антисывороткой к данному белку человека. В крови контрольных животных преципитации не происходит. Содержание апоА1 человека в крови колеблется от 4—6 мкг/мл у старых крыс до 8—10 мкг/мл у взрослых животных. Такая же закономерность обнаружена нами ранее при введении клонированного гена апоА1 кроликам разного возраста [18]. Следует отметить, что через 7 дней после введения гена апоА1 человека в крови как старых, так и взрослых крыс апоА1 не обнаруживается. Это объяснялось особенностью рекомбинантной молекулы, рассчитанной на транзиторную экспрессию.

Появление в сыворотке крови крысы апоА1 человека сопровождается изменениями концентрации в ней различных классов ЛП, в час-

тности ЛПВП, их липидном и белковом составе, соотношения подклассов ЛПВП₂ и ЛПВП₃ (табл. 1). Так, на вторые сутки после введения клонированного гена apoA1 человека в сыворотке крови крыс прослеживалась тенденция увеличения содержания ЛПВП, особенно заметная у старых животных. Количество белка ЛПВП у взрослых животных возрастает на 20 %, у старых — на 30 %. «Пустые» липосомы также несколько повышали уровень ЛПВП, однако для старых животных разница была достоверной. Поскольку определение ЛПВП, как и других ЛП, проводили по количеству белка, то на основании полученных данных можно предположить, что увеличение содержания ЛПВП происходит как за счет образования apoA1 человека, так и в результате стимулирования в условиях введения гена apoA1 человека синтеза ЛПВП крысы.

В пользу предположения о влиянии транзиторной экспрессии гена apoA1 человека на синтез ЛП в печени крысы свидетельствует и значительный прирост у взрослых (на 36 %) и особенно у старых животных (на 52 %) количества ЛПОНП.

Введение гена apoA1 приводит не только к суммарному росту уровня ЛПВП в крови животных, но и к изменению содержания и соотношения подклассов этих ЛП-ЛПВП₃ и ЛПВП₂, причем изменения эти у старых и взрослых крыс неодинаковы. Так, в условиях введения гена apoA1 в печень крыс только у старых животных значительно увеличивается (на 44 %) концентрация ЛПВП₂. В то же время содержание ЛПВП₃ растет, причем примерно в равной степени как у старых, так и у взрослых крыс соответственно на 26 % и на 24 %. В результате этого у старых крыс соотношение ЛПВП₂/ЛПВП₃ повышается, а у взрослых, наоборот, падает (на 13,8 %).

Как известно, ЛПВП₃ обладают способностью акцептировать ХС из периферических клеток, превращаясь при этом в ЛПВП₂, которые и передают избыток ХС клеткам печени. Различные изменения содержания и соотношения субфракций ЛПВП в условиях введения гена apoA1 человека у взрослых и старых крыс свидетельствуют о возрастных изменениях холестерин-акцепторной функции ЛПВП в старости.

При введении крысам apoA1 человека изменяется не только количество ЛПВП, но и их белковый и липидный составы. В табл. 2 представлены данные, свидетельствующие об изменении белкового состава подклассов ЛПВП под воздействием введения в печень крысы гена apoA1 человека. Видно, что в условиях имплантации гена у взрослых и старых животных наблюдается явная тенденция к увеличению (на 18,2 и 30 % соответственно) относительного содержания субкласса apoA1 в ЛПВП₂. Увеличение содержания этой подфракции обнаружено и в ЛПВП₃, однако только у старых животных. У взрос-

Таблица 1

Влияние введения гена apoA1 человека в печень интактных крыс на концентрацию фракций липопротеидов и подклассов ЛПВП в сыворотке крови крыс разного возраста
Effect of human apoA1 gene introduction into intact rats liver on lipoprotein and HDL subfamilies concentration in serum of animals of different age

Липопротеиды, мг/мл белка	6—8 месяцев		26—28 месяцев	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
ЛПВП	0,512±0,040	0,616±0,024**	0,517±0,026	0,672±0,032**
ЛПВП ₃	0,397±0,035	0,491±0,020**	0,393±0,020	0,494±0,033**
ЛПВП ₂	0,116±0,004	0,125±0,006	0,124±0,007	0,179±0,009**
ЛПОНП	0,073±0,006	0,099±0,004**	0,102±0,010*	0,155±0,030**
ЛПНП	0,073±0,002	0,083±0,005	0,079±0,006	0,093±0,010

* Статистически значимые различия между взрослыми и старыми животными; ** различия между контролем и опытом ($P < 0,05-0,01$).

лых животных содержание апоА1 в ЛПВП₂ снижается. Одновременно происходит снижение относительного содержания апоЕ в этой подфракции ЛПВП. У старых крыс содержание апоЕ (аргинин-богатый белок) остается без изменений. Что касается других субфракций спектра белков ЛПВП₂ и ЛПВП₃ (апоС, апоАIV, апоА1₂, высокомолекулярные белки), то они претерпевают в условиях транзитной экспрессии гена лишь некоторые незначительные изменения.

Сдвиги в белковом составе ЛПВП, выделенных из крови крыс, сопровождаются выраженными изменениями и в их липидном составе (табл. 3). Так, в ЛПВП, выделенных из сыворотки крови старых животных, увеличивается (на 34 %) содержание фосфолипидов и свободного ХС (на 69,5 %). При этом обнаруживается явная тенденция к уменьшению содержания эфиров ХС (на 18,4 %). Однако общее содержание ХС—ЛПВП не изменяется, что позволяет исключить возможное предположение об усилении в условиях введения генетического материала синтеза ХС.

Таким образом, у старых крыс в условиях имплантации гена апоА1 человека происходит наряду с увеличением содержания ФЛ перераспределение фракций ХС и в результате рост почти в два раза соотношения СХС/ЭХС, что подтверждает значительное снижение в мицелле ЛП количества эфиров ХС. Складывающиеся соотношения свидетельствуют о возможном повышении акцепторных и транспортных свойств этого класса ЛП у старых животных.

Изменениям липидного состава ЛПВП в условиях введения гена отвечают сдвиги соответствующих показателей в подклассах ЛПВП₂ и ЛПВП₃ (табл. 3). У старых крыс при имплантации гена апоА1 человека в ЛПВП₂ значительно (на 67,3 %) растет содержание фосфолипидов, изменяется соотношение между фракциями ХС в пользу свободного ХС (его количество увеличивается на 29,9 %, а содержание

Таблица 2

Влияние введения гена апоА1 человека в печень интактных крыс на белковый спектр липопротеидов высокой плотности крыс разного возраста

Effect of human apoA1 gene introduction into intact rats liver on HDL protein contents in animals of different age

Белок	м.м·10 ³	Отношение к общей оптической плотности, %			
		6—8 месяцев		26—28 месяцев	
апоС	12,5				
к		1	3	1	3
о		1	7,6±1,3	1	3
апоА1					
к		58,2±3,0	36,1±4,7	20,0±2,2	14,0±1,2
о		68,8±4,5	22,3±4,8	26,1±2,4	21,0±2,3*
Аргинин-богатый белок	35				
к		25,3±3,0*	10,0±2,3	40,8±4,8	23,5±3,2
о		15,0±3,2	23,4±5,7	50,3±6,1	29,1±3,3
апоАIV	51				
к		8,8±0,6	15,9±2,0	30,1±2,2	13,4±2,1
о		8,1±1,2	13,3±0,5	17,8±1,2*	15,2±2,5
апоА1 ₂					
к		6,1±1,6	19,0±4,3	8,0±2,7	42,2±2,5
о		8,3±1,9	20,1±4,9	9,3±1,2	25,1±4,5*
Высокомолекулярные белки	80				
к		2	16,1±3,3	1	6,4±1,1
о		1	13,3±3,8	5,1±1,0	7,2±1,3

* Статистически значимые отличия в опыте (о) по сравнению с контролем (к) (P<0,05).

эфиров ХС уменьшается на 21,4 %). В результате у старых крыс значительно (на 60 %) растет отношение СХС/ЭХС. Учитывая значительное повышение белковой массы ЛПВП₂, можно предположить, что в условиях имплантации гена у старых крыс усиливается отток ХС из клеток в составе ЛПВП₂, менее обогащенных эфирами ХС.

Полученные данные свидетельствуют о том, что введение гена апоА1 человека в печень крыс приводит не только к увеличению содержания ЛПВП в крови подопытных животных (гипер-альфа-липопротеидемии), сдвигам в соотношении их подклассов, но и к изменению их белкового и липидного составов. У старых животных обнаруженные сдвиги выражены больше.

Таблица 3

Влияние введения гена апоА1 человека в печень интактных крыс на липидный состав ЛПВП и их подклассов в сыворотке крови крыс разного возраста

Effect of human apoA1 gene introduction into intact rats liver on HDL and their subfamilies lipid contents in serum of animals of different age

Липиды, мкмоль/мл белка	ЛПВП		ЛПВП ₁		ЛПВП ₂	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
6—8 месяцев						
ФЛ	0,97±0,08	0,82±0,06	1,03±0,10	0,45±0,05**	1,52±0,11	1,61±0,10
ОХС	2,84±0,09	2,87±0,14	1,94±0,18	2,05±0,21	3,51±0,06	3,79±0,36
СХС	0,58±0,03	0,50±0,03	0,30±0,04	0,23±0,02	0,53±0,03	0,33±0,04**
ЭХС	2,26±0,12	2,35±0,09	2,10±0,19	1,82±0,20	2,90±0,19	3,08±0,32
ФЛ/ОХС	0,34±0,02	0,29±0,01	0,30±0,01	0,22±0,03	0,43±0,02	0,47±0,04
ФЛ/СХС	1,95±0,14	1,86±0,21	2,40±0,30	1,92±0,34	2,87±0,35	4,83±0,49**
СХС/ЭХС	0,26±0,02	0,21±0,02	0,14±0,02	0,13±0,02	0,18±0,02	0,11±0,03
26—28 месяцев						
ФЛ	0,63±0,04*	0,85±0,08**	0,90±0,09	0,56±0,07**	0,68±0,13*	1,13±0,15**
ОХС	3,45±0,20*	3,22±0,14	2,58±0,29*	2,78±0,30	4,91±0,51*	3,94±0,40
СХС	0,46±0,06	0,78±0,06**	0,36±0,05	0,40±0,03	0,42±0,05	0,55±0,03
ЭХС	2,99±0,26	2,44±0,14	2,65±0,27*	2,37±0,28	4,25±0,54*	3,38±0,39**
ФЛ/ОХС	0,18±0,02*	0,26±0,01**	0,43±0,08	0,20±0,03**	0,22±0,05*	0,20±0,04
ФЛ/СХС	1,59±0,10*	1,62±0,21	2,30±0,25	1,49±0,16**	1,62±0,35*	2,05±0,29
СХС/ЭХС	0,15±0,02	0,32±0,03**	0,15±0,02	0,17±0,01	0,10±0,01	0,16±0,01

* Статистически значимые различия между взрослыми и старыми животными; ** различия между контролем и опытом ($P < 0,05-0,01$)

Таблица 4

Влияние введения гена апоА1 человека в печень интактных крыс на концентрацию цитохрома P-450, аминопириндиметилазную и анилингидроксилазную активности микросом печени контрольных и опытных крыс разного возраста

Effect of human apoA1 gene introduction into intact rats liver on cytochrome P-450 concentration and liver microsome aminopyrindimethylase and anilinhydroxylase activity in different age animals of control and experimental groups

Исследуемый показатель	Контроль	Опыт	Исследуемый показатель	Контроль	Опыт
Взрослые крысы			Старые крысы		
P-450, нмоль·мг ⁻¹	0,79±0,20	1,24±0,29	P-450, нмоль·мг ⁻¹	0,78±0,14	1,14±0,35
Аминопириндиметилаза, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹	2,41±0,94	7,57±4,5	Аминопириндиметилаза, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹	2,01±0,67	4,19±2,34
Анилингидроксилаза, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹	0,119±0,037	0,291±0,103	Анилингидроксилаза, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹	0,101±0,039	0,167±0,062

Следует отметить, что введение гена apoA1 не ограничивается только транзиторной экспрессией данного гена. По-видимому, оно оказывает влияние на работу других генетических локусов. Так, очевидно, этим можно объяснить значительный прирост как у взрослых крыс (на 36 %), так и особенно у старых животных (на 52 %) содержания ЛПОНП, в состав апопротеинов которых, хоть и в значительно меньшем количестве, чем в ЛПВП, входит apoA1. Кроме того, при введении гена apoA1 человека экспериментальным животным наблюдается рост содержания и активности цитохрома P-450. Количество его значительно увеличивается, причем в большей степени у взрослых животных по сравнению со старыми (на 54 и 46 % соответственно) (табл. 4). Это может свидетельствовать в пользу генетической индукции в этих условиях монооксигеназной системы. Однако не исключено, что подобные изменения интенсивности микросомального окисления в условиях введения гена могут быть реакцией на увеличение концентрации свободного ХС.

Таким образом, введение гена apoA1 человека крысам приводит к экспрессии введенного гена и появлению в крови экспериментальных животных apoA1 человека. Это сопровождается повышением уровня, особенно в крови старых крыс, ЛПВП, увеличением содержания в них apoA1. Причем у старых животных количество apoA1 растет за счет прироста его в подфракции ЛПВП₃.

Очевидно, во всем комплексе сдвигов после введения клонированного гена apoA1 человека экспериментальным животным следует выделить: во-первых, изменения, связанные с синтезом самого apoA1 человека и появлением его в организме крысы; во-вторых, комплекс генно-регуляторных сдвигов (рост содержания ЛПОНП, изменение соотношения апопротеинов, изменение качественного состава ЛП) и, в-третьих, генерализованную реакцию клетки (индукция микросомального окисления). При этом обращает на себя внимание тот факт, что синтез apoA1 человека в организме крыс более выражен у взрослых животных, а генно-регуляторные сдвиги — в большей степени у старых. По-видимому, это связано с тем, что в процессе старения регуляция генома изменяется сама по себе, являясь фундаментальным звеном в механизмах старения [2].

Результаты проведенной работы свидетельствуют о перспективности исследований зависимых от возраста реакций организма на введение клонированного гена apoA1 человека экспериментальным животным с целью дальнейшего поиска возможных путей использования этого подхода для генно-терапевтической коррекции атеросклероза.

Резюме

Введення гену apoA1 людини у складі молекулярної конструкції, що забезпечує його експресію, в печінку дорослих і старих крыс приводить до появи у їх крові білку людини та супроводжується змінами у вмісті ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), підкласів ЛПВЩ₃ та ЛПВЩ₂, зрушеннями у їх білковому та ліпідному складах. Синтез apoA1 людини в організмі крыс більш виражений у дорослих тварин, а зрушення, які регулюються генами — в більшій мірі у старих.

Summary

After introduction of human apo A1 gene as in an expression vector into liver of adult and old rats we could reveal this human protein in the serum of the animals. Changes in HDL, HDL₃ and HDL₂ subfamilies its protein and lipid contents could be observed also. A higher apo A1 gene expression was observed in adult young animals while old animals showed greater differences in protein and lipid contents.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Репин В. С.* Атеросклероз человека: клеточные и молекулярные механизмы // Успехи соврем. биологии.— 1990.— **109**, № 1.— С. 120—129.
2. *Фролькис В. В.* Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
3. *Дислиппротеидемии* у людей старших возрастов при основных клинических формах атеросклероза / О. В. Корнушко, Л. Н. Богацкая, С. Н. Новикова и др. // Дислиппротеидемии при атеросклерозе у пожилых и старых людей.— Киев, 1985.— Вып. 7.— С. 11—32.
4. *Манкитис Т., Фрич Э., Сембрук Д.* Молекулярное клонирование.— М.: Мир, 1984.— 479 с.
5. *Клонирование гена апоА1 человека и его экспрессия в фибробластах мыши* / В. Н. Шульженко, Л. Л. Лукаш, Л. Н. Шуляк и др. // Биополимеры и клетка.— 1984.— 5, № 5.— С. 105—107.
6. *Maxam A. M., Gilbert W.* Sequencing end-labelled DNA with base-specific chemical cleavages // Meth. Enzymol.— 1980.— **65**, pt 1.— P. 499—560.
7. *Марсольс Л. Б., Бергельсон Л. Д.* Липосомы и их взаимодействие с клетками.— М.: Наука, 1986.— 240 с.
8. *Гааль Э., Медьеш Г., Верещи Л.* Электрофорез в разделении биологических макромолекул.— М.: Мир, 1982.— 446 с.
9. *Выделение* аполипопротеинов А-I, А-II и Е, их определение методом ракетного иммунофореза в плазме крови больных дисальфа-липопротеидемии / А. Н. Климов, М. С. Усатенко, А. Л. Денисенко и др. // Биохимия.— 1980.— **46**, № 4.— С. 589—602.
10. *A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples* / M. Markwell, S. M. Haas, L. L. Riber et al. // Anal. Biochem.— 1978.— **87**, N 1.— P. 206—210.
11. *Кейтс М.* Техника липидологии.— М.: Мир, 1975.— 332 с.
12. *Scanborg A., Svenerholm L.* Plasma lipid, cholesterol, phospholipids and fatty acids in healthy scandinavian population // Acta med. scand.— 1961.— **109**, N 1.— P. 43—49.
13. *Swaney I. B., Kuehl K. S.* Separation of apolipoproteins by an acrylamide-gradient sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis system // Biochim. et biophys. acta.— 1976.— **446**, N 2.— P. 561—565.
14. *Laemmli U. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature.— 1970.— **227**, N 5259.— P. 680—685.
15. *Карузина И. И., Арчаков А. И.* Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // Соврем. методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 49—62.
16. *Gmura T., Sato R.* The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties // J. Biol. Chem.— 1964.— **239**, N 7.— P. 2379—2385.
17. *Бирюкова Р. Н.* К вопросу о вычислении среднего квадратного отклонения по размаху (амплитуде) // Гигиена и санитария.— 1962.— № 7.— С. 43—46.
18. *Имплантация* клонированного гена апоА1 человека взрослым и старым крысам / В. Н. Шульженко, С. Н. Новикова, И. Е. Костецкий и др. // Биополимеры и клетка.— 1990.— 6, № 2.— С. 71—76.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Получено 30.07.90

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев