

УДК 577.218

©Коллектив авторов

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ТРАНСПОРТЕРОВ ABCA1 И ABCG1 В ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

**В.В. Мирошникова<sup>1,2\*</sup>, А.А. Пантелеева<sup>1,2</sup>, Е.А. Баженова<sup>2</sup>, Е.П. Демина<sup>1</sup>, Т.С. Усенко<sup>1,2</sup>, М.А. Николаев<sup>1</sup>,  
И.А. Семенова<sup>1</sup>, А.Е. Неймарк<sup>2</sup>, Чж. Хе<sup>2</sup>, О.Д. Беляева<sup>2</sup>, О.А. Беркович<sup>2</sup>, Е.И. Баранова<sup>2</sup>, С.Н. Пчелина<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ “Курчатовский институт”,  
188300 г. Гатчина, Орлова роща; эл. почта: mutantropol@mail.ru

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

Изучена тканеспецифичная экспрессия генов транспортеров холестерина ABCA1 и ABCG1, а также генов, кодирующих наиболее важные транскрипционные регуляторы адипогенеза – LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  и ROR $\alpha$ , в интраабдоминальной жировой ткани (ИЖТ) у лиц без избыточного веса и лиц с ожирением. Показана прямая корреляция содержания белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ с уровнем белка ROR $\alpha$  ( $r=0,480$ ,  $p<0,05$ ;  $r=0,435$ ,  $p<0,05$  соответственно), что позволяет предположить участие транскрипционного фактора ROR $\alpha$  в регуляции уровня белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ. При этом экспрессия генов *ABCA1* и *ABCG1* положительно коррелирует с такими показателями, как индекс массы тела (ИМТ) ( $r=0,522$ ,  $p=0,004$ ;  $r=0,594$ ,  $p=0,001$  соответственно) и обхват талии (ОТ) ( $r=0,403$ ,  $p=0,033$ ;  $r=0,474$ ,  $p=0,013$  соответственно). Развитие ожирения также ассоциировано со снижением уровня мРНК *ROR $\alpha$*  и *LXR $\beta$*  ( $p=0,016$  и  $p=0,002$  соответственно) в ИЖТ. Предполагается, что ядерный фактор ROR $\alpha$  может играть значимую роль в регуляции обмена холестерина и контроле экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ, а уровень экспрессии гена *LXR $\beta$*  в ИЖТ может быть важным фактором, ассоциированным с развитием ожирения.

**Ключевые слова:** интраабдоминальная жировая ткань, транспортеры ABCA1 и ABCG1, транскрипционные регуляторы, экспрессия генов

DOI 10.18097/PBMC20166203283

## ВВЕДЕНИЕ

Абдоминальное ожирение, то есть патологическое разрастание интраабдоминальной жировой ткани (ИЖТ) – фактор риска целого ряда заболеваний, в первую очередь, сердечно-сосудистых и сахарного диабета второго типа, а также онкологических заболеваний пищеварительной системы и других органов [1]. Развитие ожирения сопряжено с изменением экспрессии большого числа генов в жировой ткани, главным образом генов углеводного и липидного обмена, что может лежать в основе патологических изменений метаболизма липидов [1-2]. В частности, абдоминальному ожирению часто сопутствует атерогенная дислипидемия, повышение уровня триглицеридов и нарушение функции антиатерогенных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), что способствует нарушению обмена холестерина и развитию атеросклероза и сердечно-сосудистой патологии [1].

Представляя собой энергетическое “депо” организма и запаса энергию в виде триглицеридов, жировая ткань одновременно служит самым большим “резервуаром” холестерина в организме, что подчеркивает её значимость для поддержания общего гомеостаза холестерина. Жировая ткань, в которой по данным ряда исследований синтезируется до 15% ЛПВП, также может вносить вклад в уровень ЛПВП, вовлечённых в обратный транспорт холестерина [3]. С увеличением массы жировой ткани при ожирении в ней наблюдается избыточное накопление

холестерина, что сопровождается дисфункцией и гипертрофией адипоцитов, повышенной секрецией провоспалительных адипокинов и вазоактивных соединений, усилением процессов липолиза [4, 5]. На уровне целого организма это выражается в снижении уровня ЛПВП, увеличении концентрации циркулирующих насыщенных жирных кислот и развитии инсулинорезистентности. Поскольку синтез эндогенного холестерина в жировых клетках протекает крайне медленно, критическую роль в гомеостазе холестерина в адипоцитах играет его потребление и элиминация.

АТФ-связывающие трансмембранные транспортеры семейства ABC – ABCA1 и ABCG1, координирующие элиминацию холестерина из клеток, исключительно важны для регуляции содержания холестерина в адипоцитах [6, 7]. ABCA1 участвует в биогенезе ЛПВП на этапе формирования незрелых частиц пре- $\beta$ -ЛПВП, в то время как ABCG1 осуществляет насыщение холестерином зрелых ЛПВП [8]. Согласно данным ряда исследований, именно транспортер ABCG1 является основным регулятором содержания холестерина в жировой ткани; он играет важную роль в адипогенезе и вовлечен в молекулярные механизмы накопления триглицеридов в адипоцитах [7-11]. В то же время есть данные, что транспортер ABCA1 может принимать участие в синтезе ЛПВП в жировой ткани [3]. Экспрессия генов *ABCA1* и *ABCG1* увеличивается в процессе дифференцировки преадипоцитов и коррелирует с накоплением триглицеридов и увеличением размера клетки, что указывает на важную роль ABCA1 и ABCG1

\* - адресат для переписки

в адипогенезе [7, 12, 13]. Предполагается, что в зрелых адипоцитах вариации экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* могут приводить к дисбалансу между поступлением холестерина и его элиминацией. Это свидетельствует о том, что уровень экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* может быть значимым фактором, ассоциированным с развитием ожирения.

Причины накопления избыточной жировой массы и нарушения обратного транспорта холестерина в жировой ткани могут объясняться особенностями генетического контроля экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1*. Ядерные рецепторы LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  и ROR $\alpha$ , относящиеся к суперсемейству лиганд-зависимых транскрипционных факторов, считаются основными регуляторами адипогенеза, метаболических и энергетических процессов, протекающих в жировой клетке; они контролируют экспрессию большинства генов, специфичных для адипоцитов [14-16]. Участие ядерных рецепторов LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  в регуляции углеводного и липидного обмена, противовоспалительную активность LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$ , а также важную роль PPAR $\gamma$  в процессе адипогенеза наблюдали во многих экспериментах [16, 17]. Поскольку регуляция экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* с участием LXR $\alpha/\beta$  и PPAR $\gamma$  выявлена в моноцитах/макрофагах и клетках печени, подобный путь активации экспрессии может быть реализован и в адипоцитах [8, 18-20].

Цель настоящей работы состояла в изучении тканеспецифических особенностей экспрессии генов транспортеров холестерина *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ, а также генов транскрипционных регуляторов LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  и ROR $\alpha$  в ИЖТ и определении степени их корреляции с экспрессией генов *ABCA1* и *ABCG1*.

## МЕТОДИКА

### Материал исследования

В исследовании использовали 37 образцов ИЖТ, из них 14 – от лиц без избыточного веса (индекс массы тела (ИМТ) < 25 кг/м<sup>2</sup>, группа I – контрольная), 23 – от лиц с избыточным весом и ожирением (ИМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>, группа II). Антропометрические характеристики групп представлены в таблице 1. При оценке степени абдоминального ожирения до недавнего времени основным критерием считали показатель ИМТ: избыточная масса тела – ИМТ 25-29,9 кг/м<sup>2</sup>; ожирение – ИМТ ≥ 30 кг/м<sup>2</sup>. Однако в настоящее время в повседневной клинической практике степень ожирения и топографические особенности накопления жировой ткани оценивают по величине ОТ (нормальные значения для женщин < 88 см, для мужчин < 102 см). Поэтому с учётом обоих критериев среди лиц группы II была выделена подгруппа с прогрессирующим абдоминальным ожирением (одновременное соблюдение условий ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> и ОТ > 88 см для женщин, > 102 см для мужчин).

Образцы ИЖТ получены из большого сальника путём забора при проведении плановой лапароскопической холецистэктомии в ПСПбГМУ

им. ак. И.П. Павлова. Образцы замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -86°C.

Проведение исследования одобрено этическим комитетом ПСПбГМУ им. ак. И.П. Павлова.

### Оценка относительного уровня мРНК генов

Для выделения тотальной РНК и синтеза кДНК использовали наборы RNeasy Mini columns ("Qiagen", Нидерланды) и набор Revert Aid First cDNA Synthesis kit ("Thermo scientific", Литва). Чистоту препарата РНК оценивали по отношению поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (критерий чистоты 2). Целостность РНК проверяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле по соотношению интенсивности полос, соответствующих 28S и 18S рРНК (2:1 при отсутствии деградации). Относительный уровень мРНК генов *ABCA1*, *ABCG1*, *PPAR $\gamma$* , *CD68*, *LXR $\alpha$* , *LXR $\beta$*  и *ROR $\alpha$*  определяли методом ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 Touch ("Bio-Rad", США). В качестве референсных генов использовали ген  $\beta$ -актина (*ACTB*) и ген *RPLP0*. Уровень мРНК специфического маркера макрофагов *CD68* использовали для оценки содержания макрофагов в образцах ИЖТ [21, 22]. Последовательности праймеров и зондов TaqMan, подобранные таким образом, чтобы праймеры располагались в соседних экзонах, а зонды отжигались в области экзонных стыков, представлены в таблице 2. Измерения для каждой пробы проводили в трёх повторностях. Количество мРНК анализируемого гена нормировали по отношению к мРНК генов *ACTB* и гена *RPLP0* [23, 24]. Относительное значение экспрессии гена вычисляли по формуле:

$$Q = \frac{E^{C_{t_{min}} - C_{t_{exp}}}}{NF} \quad (1)$$

$$NF = \frac{Cp. \text{ геом. } (NF_{ACTB}, NF_{RPLP0})}{Cp. \text{ геом. } (E^{(C_{t_{min}} - C_{t_{exp}})_{ACTB}}, E^{(C_{t_{min}} - C_{t_{exp}})_{RPLP0}})} \quad (2),$$

где *NF* – фактор нормирования, *E* – эффективность реакции, *C<sub>t<sub>min</sub></sub>* – минимальное значение порогового цикла, *C<sub>t<sub>exp</sub></sub>* – значение порогового цикла данного образца.

### Оценка содержания белка

Уровни белков *ABCA1*, *ABCG1*, LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  и ROR $\alpha$  определяли методом Вестерн-блоттинга. Образцы ИЖТ лизировали в растворе (50 мМ Трис, pH 8,0, 150 мМ NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 0,1% додецилсульфат натрия), включающем коктейль из ингибиторов протеаз ("Roche", Швейцария). Количество общего белка определяли по методу Бредфорд. В работе использовали первичные кроличьи поликлональные антитела к *ABCA1* (1:1000; ab18180, "Abcam", Великобритания), *ABCG1* (1:1000; NB400-132, "Novus Biologicals", США), LXR $\alpha$  (1:1000; ab106464, "Abcam"), LXR $\beta$  (1:1000; H00007376-M04, "Novus Biologicals"), PPAR $\gamma$  (1:1000; ab27649, "Abcam"), ROR $\alpha$  (1:1000; ab60134, "Abcam"),  $\beta$ -актину (1:1000; NB600-503, "Novus Biologicals") и вторичные антикроличьи антитела, конъюгированные

Таблица 1. Антропометрические характеристики исследуемых групп

	Нормальные значения	Контрольная группа N=14	Избыточный вес и абдоминальное ожирение N=23
Средний возраст, лет	–	43±3	45±2
Женщины/мужчины (%)	–	57/43	83/17
Индекс массы тела ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	<25	24,0±0,9	34,1±1,7
Обхват талии ОТ, см	<88 – для женщин / <102 – для мужчин	76,2±3,8	105,6±4,0
Обхват бедер ОБ, см	–	99,8±2,1	116,4±4,2
ОТ/ОБ	<0,85	0,77±0,03	0,91±0,02

Примечание: данные представлены как среднее значение ± S.E.M.

Таблица 2. Праймеры и зонды, использованные в работе

Ген	Последовательность (5' - 3') прямого праймера, обратного праймера и зонда	Температура отжига, °C
<i>ABCA1</i>	5'-CTCCTGTGGTGTCTTCTGGATG-3' 5'-CTTGACAACACTTAGGGCACAA-3' 5'(FAM)-AAGCCCGGCGGTTCTTGTGG -3'(RTQ1)	59
<i>ABCG1</i>	5'-CACGTACCTACAGTGGATGT-3' 5'-GTCTAAGCCATAGATGGAGA-3' 5'(FAM)-CTATGTCAGGTATGGGTTTCAAG-3'(RTQ1)	58
<i>RORα</i>	5'-CTTTGATGGGAAGTATGCCAG-3' 5'-ATCTTCAGTCAGGTGCATAGAAC-3' 5'(FAM)-CGTCTTCAAATCCTTAGGTTGTGAAG-3'(RTQ1)	60
<i>LXRα</i>	5'-TCAGAACCCACAGAGATCCG-3' 5'-AGCTCGTTCCCCAGCATT-3' 5'(FAM)-ACAAAAGCGGAAAAGGGGCCA-3'(RTQ1)	58
<i>LXRβ</i>	5'-CTGTTGCTTGGAGAGGGGC-3' 5'-CGTGGTAGGAGAGGACATGG-3' 5'(FAM)-CTGGAGAGAGGCTGCTCCGTGA-3'(RTQ1)	60
<i>PPARγ</i>	5'-GATGTCTCATAATGCCATCACGTT-3' 5'-GGATTTCAGCTGGTCGATATCACT-3' 5'(FAM)-CCAACAGCTTCTCCTTCTCGGCCTG - 3'(RTQ1)	58
<i>CD68</i>	5'-CATGGCGGTGGAGTACAATG-3' 5'-GATCTCGAAGGGATGCATTTC-3' 5'(FAM)-CGCAGCACAGTGGACATTCTCGGC-3'(RTQ1)	59
<i>ACTB</i>	5'-CGTGCTGCTGACCGAGG-3' 5'-ACAGCCTGGATAGCAACGTACA-3' 5'(R6G)-CCAACCGCGAGAAGATGACCCAGAT-3'(BHQ1)	58-60
<i>RPLPO</i>	5'-GATCAGGGACATGTTGCTGG-3' 5'-GACTTCACATGGGGCAATGG-3' 5'(ROX)-CAATAAGGTGCCAGCTGCTGC-3'(RTQ2)	58-60

с пероксидазой хрена (1:3000; ab6721, “Abcam”). Вторичные антитела, связанные с соответствующим белком на фрагментах мембраны, идентифицировали с использованием набора Amersham ECL<sup>TM</sup> Plus System (“Amersham”, Великобритания). Данные вестерн-блотинга анализировали с помощью программы ImageJ (Версия 1.38a для Windows, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Содержание белков нормировали по содержанию β-актина.

#### Статистическая обработка

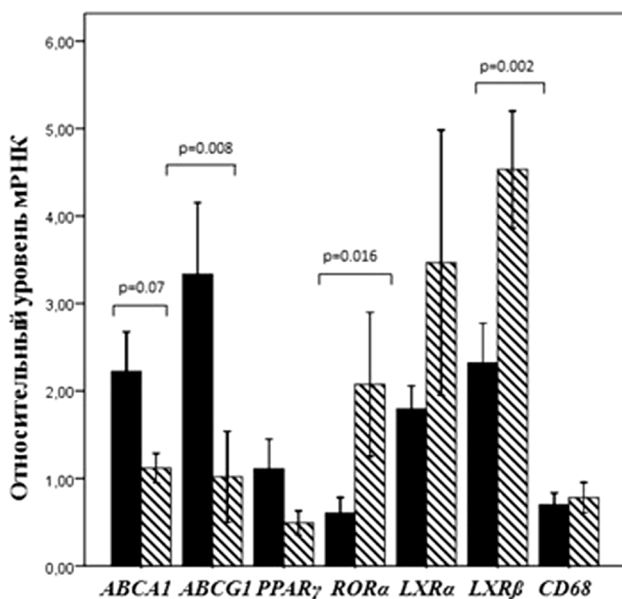
Статистический анализ проводили с использованием пакета программ SPSS 17.0. Для проверки соответствия данных нормальному распределению использовали критерий Шапиро-Уилка.

Для сравнения средних значений численных показателей в группе пациентов и в контрольной группе использовали непараметрический критерий – U-тест Манна-Уитни. Данные представлены как средние значения ± SEM. Корреляцию между количественными характеристиками оценивали методом Спирмана. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время экспрессию генов в жировой ткани человека изучают преимущественно на более доступном материале – подкожной жировой ткани [1, 7]. Однако ИЖТ и подкожная жировая ткань

значительно различаются профилем экспрессии большого числа генов [1]. В то же время именно накопление ИЖТ ассоциировано с метаболическими нарушениями и высоким риском развития сопутствующих патологий [4]. Транспортёры ABCA1 и ABCG1 являются ключевым звеном в поддержании гомеостаза холестерина в клетках жировой ткани [6, 7]. Нами впервые проведён сравнительный анализ уровня мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* и содержания белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ лиц с различной массой тела и в зависимости от избыточного веса и абдоминального ожирения. Показано, что относительный уровень мРНК гена *ABCG1* в группе лиц с избыточным весом и ожирением статистически значимо выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ) (рис. 1). Различия в уровне мРНК гена *ABCA1* в этих группах не достигли статистической значимости (рис. 1). При этом относительный уровень мРНК как гена *ABCG1*, так и *ABCA1* положительно коррелирует с показателями ИМТ (коэффициенты корреляции: для *ABCA1* –  $r = 0,522$ ,  $p = 0,004$ ; для *ABCG1* –  $r = 0,594$ ,  $p = 0,001$ ) и ОТ (коэффициенты корреляции: для *ABCA1* –  $r = 0,403$ ,  $p = 0,033$ ; для *ABCG1* –  $r = 0,474$ ,  $p = 0,013$ ). Таким образом, с увеличением объёма жировой массы уровень экспрессии гена *ABCG1* и гена *ABCA1*, хотя и в меньшей степени, в ИЖТ возрастает.



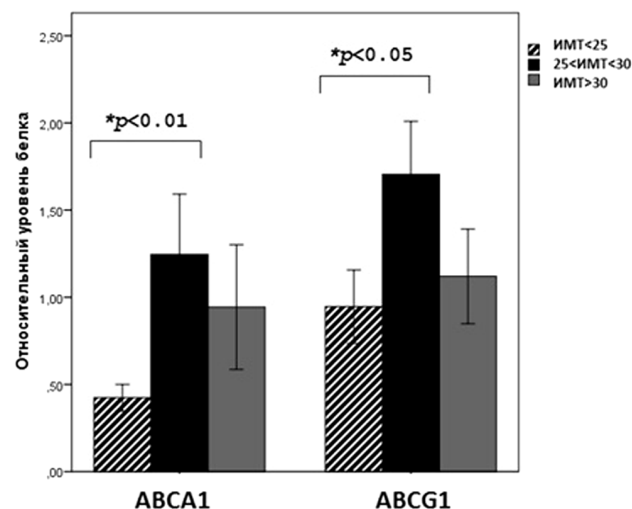
**Рисунок 1.** Относительный уровень мРНК исследуемых генов в ИЖТ в группе лиц с избыточным весом и ожирением (чёрные столбцы) и в контрольной группе (штрихованные столбцы).

Известно, что ожирение сопровождается инфильтрацией жировой ткани макрофагами [21, 22], а макрофаги, в свою очередь, на высоком уровне экспрессируют гены *ABCA1* и *ABCG1* [25]. Однако при учёте дополнительного нормирования полученных данных по количеству макрофагов в образцах ИЖТ, критерием которого служил относительный уровень мРНК гена *CD68*, все выявленные различия

сохранялись. Это свидетельствует об объективном повышении уровня экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ при наборе массы тела.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований, в которых показано участие ABCA1 и ABCG1 в развитии ожирения. На модельных животных установлено, что ожирение у мышей также сопровождается увеличением экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* [12]. Согласно Frisdal и соавт., у лиц с абдоминальным ожирением (ИМТ > 35) уровень экспрессии гена *ABCG1* в подкожной жировой ткани положительно коррелирует с размером адипоцитов и ИМТ [7]. Следует также отметить, что большая степень ожирения характерна для носителей вариантов гена *ABCG1*, ассоциированных с более высоким уровнем экспрессии этого гена [7]. Повышение уровня экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ по мере возрастания ИМТ и ОТ, наблюдаемое нами, может быть связано с физиологической потребностью организма в мобилизации избыточного холестерина, что отражает ассоциированное с ожирением нарушение гомеостаза липидов в жировой ткани. Таким образом, учитывая наши данные, а также опубликованные результаты, можно заключить, что ABCA1 и ABCG1 играют важную роль в развитии абдоминального ожирения.

В результате сравнительного анализа содержания белков ABCA1 и ABCG1 установлено, что в подгруппе лиц с избыточным весом, но без абдоминального ожирения уровень белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ был значимо выше, чем в контрольной группе (рис. 2). Однако в подгруппе лиц с прогрессирующим развитием абдоминального ожирения (ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup>, значительное отклонение от нормы показателей ОТ и/или соотношения ОТ/ОБ (объём бёдер)) такой закономерности не выявлено. Вероятно, по мере накопления ИМТ обнаруженное нами увеличение экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ сопровождается повышенным синтезом соответствующих белков. Тогда как для лиц



**Рисунок 2.** Содержание белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ у пациентов с различной степенью ожирения и в контрольной группе.

с прогрессирующим развитием абдоминального ожирения характерно несоответствие между уровнем мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* и содержанием белков *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ. Можно предположить, что в рамках метаболических нарушений, отмечаемых при развитии абдоминального ожирения, повышение уровня экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* не сопровождается эффективным синтезом соответствующих белков, или же наблюдается нарушение процессинга или ускоренная деградация белков *ABCA1* и *ABCG1*. Это состояние соответствует величине ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> и значительному отклонению от нормы показателей ОТ и/или соотношения ОТ/ОБ и, как известно, характеризуется высоким риском развития сердечно-сосудистой патологии, что может быть связано, в частности, с нарушением обратного транспорта холестерина из ИЖТ.

Нарушение обратного транспорта холестерина в жировой ткани может быть связано с особенностями генетического контроля экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1*. Следует отметить, что в нашей работе наблюдалась прямая корреляция между уровнями мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* ( $r=0,376$ ,  $p<0,05$ ) в ИЖТ, а также между уровнями белков *ABCA1* и *ABCG1* ( $r=0,575$ ,  $p<0,005$ ), что позволяет предположить сходство в механизмах регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в клетках жировой ткани. В то же время известно, что механизмы регуляции экспрессии этих генов в клетках других тканей, например в моноцитах и макрофагах, могут различаться [26, 27]. Снижение уровня мРНК гена *ABCG1* в моноцитах и макрофагах отмечено при метаболическом синдроме, а также у больных атеросклерозом и сахарным диабетом [26, 27], что, однако, не характерно для гена *ABCA1*. При этом показано снижение содержания обоих белков – как *ABCG1*, так и *ABCA1* – в макрофагах при атеросклерозе [26].

С целью определения преимущественных тканеспецифичных механизмов регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ нами изучена экспрессия генов, кодирующих основные транскрипционные регуляторы генов энергетического метаболизма в жировых клетках – *LXRα*, *LXRβ*, *PPARγ* и *RORα*.

Ранее было показано, что ядерные рецепторы *LXRα*, *LXRβ*, могут активировать непосредственно экспрессию генов *ABCA1* и *ABCG1*, однако,

нами не выявлено корреляций между уровнями экспрессии генов *LXRα*, *LXRβ* и их генов-мишеней *ABCA1* и *ABCG1*. Следует заметить, что природными лигандами *LXRα*, *LXRβ* являются оксистеролы, однако, в жировых клетках более 95% холестерина находится в свободном виде [3]. Ранее с помощью рентгеноструктурного анализа было показано, что свободный холестерин является наиболее вероятным лигандом для орфанного рецептора *RORα* [28]. Таким образом, можно предположить, что *LXRα*, *LXRβ* не играют первостепенной роли в регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в жировой ткани. При этом полученные нами данные не исключают потенциальной возможности применения агонистов транскрипционных факторов *LXRα*, *LXRβ* для активации *ABCA1* и *ABCG1* в жировой ткани [29].

Нами выявлена положительная корреляция между содержанием белков *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ и уровнем белка *RORα* (коэффициенты корреляции: для *ABCA1* –  $r=0,480$ ,  $p<0,05$ ; для *ABCG1* –  $r=0,435$ ,  $p<0,05$ ). Можно предположить, что накопление свободного холестерина запускает процессы регуляции экспрессии генов адипогенеза, которые контролирует *RORα*. В регуляторной области гена *PPARγ* обнаружены сайты связывания *RORα*, что свидетельствует о способности *RORα* регулировать, в том числе, экспрессию гена *PPARγ* [30]. Действительно, в нашем исследовании уровень белка *RORα* положительно коррелировал с уровнем мРНК гена *PPARγ* ( $r=0,481$ ,  $p<0,05$ ). Ранее было показано, что транскрипционный фактор *PPARγ* вовлечен в регуляцию экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* [17]. Предполагаемая схема регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ, составленная путём соотнесения наших и опубликованных данных, представлена на рисунке 3.

Согласно нашим данным, относительный уровень мРНК гена *RORα* в ИЖТ у лиц с избыточным весом и ожирением ниже, чем в контрольной группе ( $p<0,02$ ) (рис. 1). Ранее показано, что транскрипционный регулятор *RORα* играет значимую роль в патогенезе и развитии атеросклероза и считается возможной терапевтической мишенью в коррекции сердечно-сосудистых заболеваний [31]. Положительная корреляция между экспрессией гена *RORα* и уровнем ЛПВП плазмы крови [31] указывает на то, что одним из механизмов действия агонистов *RORα*

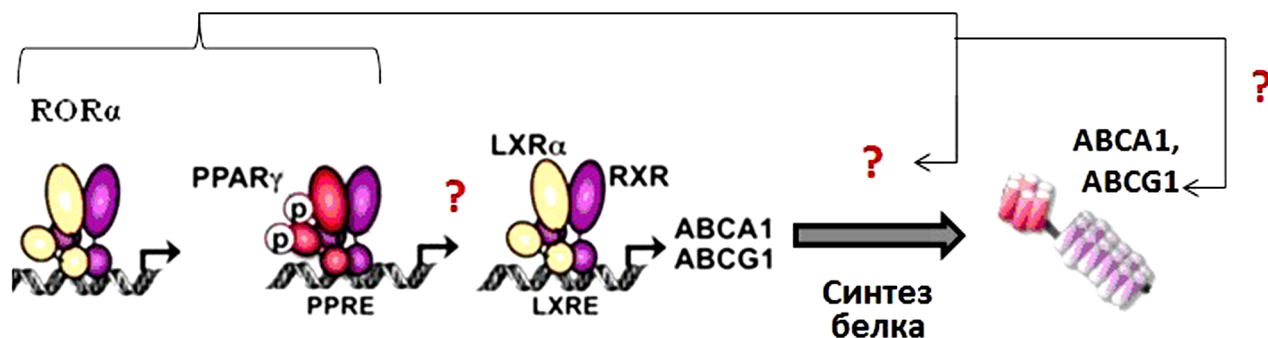


Рисунок 3. Предполагаемая схема регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в интраабдоминальной жировой ткани.

может быть регуляция обратного транспорта холестерина. Следует обратить внимание, что пониженный уровень экспрессии гена *RORα* в ИЖТ у лиц с избыточным весом и ожирением, наблюдаемый в нашем исследовании, согласуется с отсутствием пропорционального увеличения содержания белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ при повышении уровня мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* у лиц с абдоминальным ожирением. Таким образом, в настоящей работе впервые показано, что орфанный рецептор *RORα* вовлечён в регуляцию уровня белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ, однако, механизм этой регуляции представляется неясным (рис. 3).

В то же время не выявлено статистически значимых корреляций между относительным уровнем мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ и уровнем экспрессии изученных транскрипционных факторов. Отсутствие корреляций указывает на то, что механизм регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в адипоцитах, в частности повышение экспрессии при наборе массы, является комплексным и сложным. В целом накопленные данные свидетельствуют об ассоциации экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* с фенотипом избыточного веса у модельных животных [13]. Кроме того, увеличение уровня мРНК гена *ABCG1* в подкожной жировой ткани при ожирении согласуется с данными, полученными нами для ИЖТ [7].

Нами показано, что у лиц с избыточной массой тела и ожирением относительный уровень мРНК гена *LXRβ* снижен по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Кроме того, наблюдалась отрицательная корреляция между уровнем мРНК *LXRβ* и показателями ИМТ и ОТ (ИМТ –  $r=-0,499$ ,  $p=0,006$ ; ОТ –  $r=-0,636$ ,  $p=0,000$ ). Известно, что разрастание ИЖТ инициирует процессы воспаления: на экспрессию гена *LXRβ* негативно воздействуют некоторые провоспалительные факторы, такие как *TNFα* и интерлейкин-1β [16]. В то же время уровень мРНК гена *LXRα* сильно варьировал в проанализированных нами образцах ИЖТ и не различался в контрольной группе и у лиц с избыточным весом и ожирением, что не подтвердило ранее полученные данные об увеличении экспрессии гена *LXRα* в подкожной жировой ткани при ожирении [32]. Таким образом, обобщая опубликованные данные и результаты настоящего исследования, можно предположить, что *LXRα* и *LXRβ* регулируют различные метаболические пути в ИЖТ. Наши данные позволяют предположить, что уровень экспрессии гена *LXRβ* можно рассматривать как важный фактор, ассоциированный с развитием ожирения. Следует также отметить, что *LXRβ* как регулятор уровня клеточного холестерина – предшественника стероидных гормонов, может быть вовлечён в механизмы развития сопутствующих ожирению заболеваний, в частности, гормональных нарушений [33].

В настоящее время изучение агонистов транскрипционных факторов *LXRα*, *LXRβ*, *PPARγ* и *RORα* считается одним из самых перспективных направлений поиска лекарственных средств

для коррекции метаболических и гормональных нарушений при ожирении, сахарном диабете и сердечно-сосудистых заболеваниях. Понимание молекулярных механизмов действия таких препаратов, идентификация их мишеней на молекулярно-клеточном уровне должны обеспечить, с одной стороны, их эффективность и тканевую специфичность, а с другой, предупредить возможные осложнения и побочные эффекты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

В настоящей работе впервые одновременно изучена экспрессия генов транспортеров ABCA1 и ABCG1 и основных возможных регуляторов их тканеспецифической экспрессии в ИЖТ человека как на уровне мРНК, так и на уровне белка. Показано, что увеличение объёма жировой массы ассоциировано с возрастанием уровня мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* и снижением мРНК генов *LXRβ* и *RORα* в ИЖТ. Для лиц с прогрессирующим развитием абдоминального ожирения характерно несоответствие между уровнем мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* и содержанием соответствующих белков в ИЖТ. Уровень белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ коррелирует с уровнем белка *RORα*, указывая на возможную регуляцию ABCA1 и ABCG1 орфанным рецептором *RORα*, которая может осуществляться через ядерный фактор *PPARγ*. По-видимому, ядерный фактор *RORα* может играть значимую роль в регуляции обмена холестерина и контроле экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* и в ИЖТ, а уровень экспрессии гена *LXRβ* в ИЖТ может быть важным фактором, ассоциированным с развитием ожирения.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690.

## ЛИТЕРАТУРА

- Kim J., van de Wall E., Laplante M., Azzara A., Trujillo M.E., Hofmann S.M., Schraw T., Durand J.L., Li H., Li G. et al. (2007) J. Clin. Invest., **117**, 2621-2637.
- Wolfs M., Rensen S.S., Bruin-Van Dijk E.J., Verdam F.J., Greve J.W., Sanjabi B., Bruinenberg M., Wijmenga C., van Haeften T.W., Buurman W.A., Franke L., Hofker M.H. (2010) BMC Med. Genomics, **3**, 34.
- Chung S., Sawyer J.K., Gebre A.K., Maeda N., Parks J.S. (2011) HHS Public Access, **124**, 1663-1672.
- O'Connell J., Lynch L., Cawood T.J., Kwasnik A., Nolan N., Geoghegan J., McCormick A., O'Farrelly C., O'Shea D. (2010) PLoS ONE, **5**(4), e9997.
- Stenson B.M., Rydén M., Venteclef N., Dahlman I., Pettersson A.M., Mairal A., Åström G., Blomqvist L., Wang V., Jocken J.W., Clément K., Langin D., Arner P., Laurencikienė J. (2011) J. Biol. Chem., **286**(1), 370-379.
- Howard A.D., Verghese P.B., Arrese E.L., Soulages J.L. (2010) Mol. Cell. Biochem., **343**(1-2), 115-124.
- Frisdal E., Le Lay S., Hooton H., Poupel L., Olivier M., Alili R., Plengpanich W., Villard E.F., Gilibert S., Lhomme M., Superville A. et al. (2015) Diabetes, **64**, 840-855.
- Tarling E.J. (2013) Curr. Opin. Lipidol., **24**, 138-146.

9. Murphy A.J., Yvan-Charvet L. (2015) Diabetes, **64**, 689-692.
10. Wei H., Tarling E.J., McMillen T.S., Tang C., LeBoeuf R.C. (2015) J. Lipid Res., **56**, 2337-2347.
11. Frisdal E., Le Goff W. (2015) Adipocyte, **4**(4), 315-318.
12. Edgel K.A., McMillen T.S., Wei H., Pamir N., Houston B.A., Caldwell M.T., Mai P.O., Oram J.F., Tang C., Leboeuf R.C. (2012) Biochim. Biophys. Acta, **1821**, 425-434.
13. Le Lay S., Robichon C., Le Liepvre X., Dagher G., Ferre P., Dugail I. (2003) J. Lipid. Res., **44**, 1499-1507.
14. Hummasti S., Laffitte B.A., Watson M.A., Galardi C., Chao L.C., Ramamurthy L., Moore J.T., Tontonoz P. (2004) J. Lipid Res., **45**, 616-625.
15. Marciano D.P., Chang M.R., Corzo C.A., Goswami D., Lam V.Q., Pascal B.D., Griffin P.R. (2014) Cell. Metabolism, **19**, 193-208.
16. Laurencikiene J., Rydén M. (2012) J. Obesity, **36**, 1494-1502.
17. Savage D.B. (2005) Expert Rev. Mol. Med., **7**(1), 1-16.
18. Ogata M., Tsujita M., Hossain M.A., Akita N., Gonzalez F.J., Staels B., Suzuki S., Fukutomi T., Kimura G., Yokoyama S. (2009) Atherosclerosis, **205**(2), 413-419.
19. Murthy S., Born E., Mathur S.N., Field F.J. (2002) J. Lipid Res., **43**, 1054-1064.
20. Kennedy M.A., Barrera G.C., Nakamura K., Baldán A., Tarr P., Fishbein M.C., Frank J., Francone O.L., Edwards P.A. (2005) Cell Metabolism, **1**, 121-131.
21. Fjeldborg K., Pedersen S.B., Moller H.J., Christiansen T., Bennetzen M., Richelsen B. (2014) J. Immunol. Res., Article ID 309548, DOI: 10.1155/2014/309548
22. Harman-Boehm I., Bløher M., Redel H., Sion-Vardy N., Ovidia S., Avinoach E., Shai I., Klötting N., Stumvoll M., Bashan N., Rudich A. (2007) J. Clin. Endocrinol. Metabolism, **92**, 2240-2247.
23. Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F., Poppe B., Van Roy N., De Paeye A., Speleman F. (2002) GenomeBiology, **3**(7), research0034.1-0034.11.
24. McCulloch R.S., Ashwell M.S., O'Nan A.T., Mente P.L. (2012) J. Anim. Sci. Biotechnol., **3**, 36.
25. Wang X., Collins H.L., Ranalletta M., Fuki I.V., Billheimer J.T., Rothblat G.H., Tall A.R. (2007) J. Clin. Invest., **117**, 2216-2224.
26. Мирошникова В.В., Демина Е.П., Майоров Н.В., Давыденко В.В., Курьянов П.С., Вавилов В.Н., Виноградов В.Г., Денисенко А.Д., Шварцман А.Л. (2014) Цитология, **56**(3), 234-240.
27. Tavoosi Z., Moradi-Sardareh H., Saidijam M., Yadegarazari R., Borzuei S., Soltanian A., Goodarzi M.T. (2015) Cholesterol, **2015**, 682904.
28. Kallen J.A., Schlaeppli J.M., Bitsch F., Geisse S., Geiser M., Delhon I., Fournier B. (2002) Structure (Camb.), **10**, 1697-1707.
29. Mostafa A.M., Hamdy N.M., El-Mesallamy H.O., Abdel-Rahman S.Z. (2015) Biochem. Biophys. Res. Commun., **468**, 900-905.
30. Sundvold H., Lien S. (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun., **287**, 383-390.
31. Vieira E., Ruano E.G., Figueroa A.L.C., Aranda G., Momblan D. et al. (2014) PLoS ONE, **9**(11), e111678.
32. Dahlman I., Nilsson M., Jiao H., Hoffstedt J., Lindgren C.M., Humphreys K., Kere J., Gustafsson J.A., Arner P., Dahlman-Wright K. (2006) Pharmacogenet. Genomics, **16**, 881-889.
33. Lee J.H., Gong H., Khadem S., Lu Y., Gao X., Li S., Zhang J., Xie W. (2008) Endocrinology, **149**, 3778-3788.

Поступила: 24. 03. 2016.  
Принята к печати: 17. 05. 2016.

## REGULATION OF ABCA1 AND ABCG1 GENE EXPRESSION IN THE INTRAABDOMINAL ADIPOSE TISSUE

V.V. Miroshnikova<sup>1,2</sup>, A.A. Panteleeva<sup>1,2</sup>, E.A. Bazhenova<sup>2</sup>, E.P. Demina<sup>1</sup>, T.S. Usenko<sup>1,2</sup>, M.A. Nikolaev<sup>1</sup>,  
I.A. Semenova<sup>1</sup>, A.E. Neimark<sup>2</sup>, J. He<sup>2</sup>, O.D. Belyaeva<sup>2</sup>, O.A. Berkovich<sup>2</sup>, E.I. Baranova<sup>2</sup>, S.N. Pchelina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute, National Research Center "Kurchatov Institute",  
Orlova Roshcha, Gatchina, 188300 Russia; e-mail: mutantropol@mail.ru

<sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Tissue specific expression of genes encoding cholesterol transporters ABCA1 and ABCG1 as well as genes encoding the most important transcriptional regulators of adipogenesis – LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\gamma$  and ROR $\alpha$  has been investigated in intraabdominal adipose tissue (IAT) samples. A direct correlation between the content of ABCA1 and ABCG1 proteins with ROR $\alpha$  protein level ( $r=0.480$ ,  $p<0.05$ ;  $r=0.435$ ,  $p<0.05$ , respectively) suggests the role of the transcription factor ROR $\alpha$  in the regulation of IAT ABCA1 and ABCG1 protein levels. *ABCA1* and *ABCG1* gene expression positively correlated with obesity indicators such as body mass index (BMI) ( $r=0.522$ ,  $p=0.004$ ;  $r=0.594$ ,  $p=0.001$ , respectively) and waist circumference ( $r=0.403$ ,  $p=0.033$ ;  $r=0.474$ ,  $p=0.013$ , respectively). The development of obesity is associated with decreased IAT levels of *ROR $\alpha$*  and *LXR $\beta$*  mRNA ( $p=0.016$  and  $p=0.002$ , respectively). These data suggest that the nuclear factor ROR $\alpha$  can play a significant role in the regulation of cholesterol metabolism and control IAT expression of ABCA1 and ABCG1, while the level of IAT *LXR $\beta$*  gene expression may be an important factor associated with the development of obesity.

**Key words:** intraabdominal adipose tissue, ABCA1 and ABCG1 transporters, transcriptional regulators, gene expression