

Влияние ингибитора синтеза белка (оливомицина) на развитие экспериментального атеросклероза у кроликов

В. В. Фролькис, Л. Н. Богацкая, С. Н. Новикова

В соответствии с современными представлениями важную роль в патогенезе атеросклероза играют нарушения состава и обмена липопротеидов (ЛП) — липидно-белковых комплексов, одной из наиболее важных функций которых является направленный транспорт липидов в организме [6]. Накоплены данные, свидетельствующие о том, что специфические белки липопротеидных частиц — апопротеины — не только структурные компоненты, но и функционально важные ключевые регуляторы метаболизма ЛП. При развитии в организме атерогенной ситуации установлено, что в крови значительно повышается содержание апопротеина В (апо-В), являющегося основным белковым компонентом наиболее атерогенного класса ЛП — липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). Кроме того, изменению структуры белковой части липопротеидной частицы придается существенное значение в создании аутоиммунных комплексов, характерных для развития атеросклеротического процесса [2, 5]. Это обосновывает предположение о значимости нарушений не только липидного, но и белкового метаболизма в патогенезе атеросклероза.

Исходя из изложенного, обоснованной является попытка экспериментальной терапии атеросклероза с использованием веществ, избирательно действующих на биосинтез белка. С этой целью мы использовали ингибитор биосинтеза белка — оливомицин. Он соединяется одновременно с двумя цепями ДНК, препятствуя движению РНК-полимеразы, блокирует транскрипцию генетической информации [1].

Методика

Опыты проведены на 28 молодых половозрелых кроликах-самцах массой 2—3 кг. Животных условно разделяли на четыре группы: 1-я — животные (10 кроликов), которые в течение 4 мес получали холестерин (10 %-ный раствор в подсолнечном масле) из расчета 0,25 г холестерина на 1 кг массы животного; 2-я — животные (8 кроликов), которые на фоне нагрузки холестерином получали оливомицин внутривбрюшинно (50 мкг/кг); 3-я — животные (5 кроликов), которые получали только оливомицин и 4-я — животные (5 кроликов), которые были контрольными. Каждые 4 нед у животных из краевой вены уха брали пробы крови для биохимического исследования. При забое животных проводили морфологический контроль.

В сыворотке крови определяли: концентрацию общего холестерина (ХС) [3]; холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП), холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), выделенных методом двойной преципитации [3]; триглицеридов (ТГ) [9], суммарное содержание ЛПНП и ЛПОНП [4]; относительную концентрацию фракций ЛП методом электрофореза в агарозном геле с последующей денситометрией [12]; неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) [10]. Концентрацию ХС, ТГ, НЭЖК и ЛП в тканях печени, сердца, мозга и аорты определяли методами, указанными выше, после предварительного получения экстракта общих липидов по методу Folch и соавт. [11].

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, у животных, получавших холестерин, происходят существенные изменения концентрации изучаемых компонентов липидного обмена. Так, уже через 4 нед после начала введения ХС концентрация общего холестерина у животных увеличивается на 221 %, а через 12 нед — на 351 % и составляет $(450 \pm 22,5)$ мг/дл, оставаясь такой же высокой до конца эксперимента. Значительно увеличивается концентрация ХС и в ЛП атерогенных классов. Причем наиболее выраженные изменения происходят с концентрацией ХС в ЛПНП, содержащих апо-В. Через 12 нед после начала нагрузки ХС концентрация холестерина в ЛП этой фракции возрастает на 420 % и составляет $(250 \pm 11,4)$ мг/дл. Концентрация ХС в ЛПОНП максимально увеличивается через 16 нед после начала нагрузки (в 6 раз), по сравнению с исходным ее значением. Обращает на себя внимание некоторое увеличение концентрации ХС в «антиатерогенной» фракции ЛПВП, достигающее максимальных значений через 8 нед после начала эксперимента. Однако на 12-й неделе его концентрация начинает снижаться, и на 16-й — возвращается к исходной. Увеличение концентрации ХС в ЛП атерогенных фракций на фоне низкой концентрации ХС в ЛПВП приводит к значительному нарастанию коэффициента атерогенности $[(ХС-ЛПНП) + (ХС-ЛПОНП)] / (ХС-ЛПВП)$, характеризующего создание в организме атерогенной ситуации [6].

Из результатов, представленных в табл. 1, видно, что во время нагрузки ХС происходит диссоциация изменений фракций ЛП: снижение относительной концентрации в сыворотке крови ЛПВП и повышение ЛПНП. Выраженность этих изменений достигает максимальных значений через 16 нед. Абсолютная концентрация ЛП, содержащих апо-В, к этому сроку увеличивается почти в 5 раз, по сравнению с исходной. Нагрузка ХС приводит к увеличению содержания ТГ и НЭЖК, являющихся источником синтеза ТГ. Так, если исходная концентрация ТГ и НЭЖК в сыворотке крови составляла $(35,8 \pm 2,8)$ мг/дл и $(336,8 \pm 18,7)$ ммоль/л соответственно, то после 4-месячной нагрузки

Таблица 1. Содержание липидов и липопротеидов в сыворотке крови кроликов в условиях

Условия эксперимента	Концентрация холестерина, мг/дл			нагрузка
	общий	ЛПНП	ЛПОНП	ЛПНП
Контроль:				
исходное состояние	112,2 ± 10,3	50,5 ± 4,2	34,8 ± 1,9	23,1 ±
через 4 нед	110,4 ± 6,3	52,4 ± 3,9	31,7 ± 1,7	21,5 ±
через 16 нед	115,1 ± 11,2	54,3 ± 2,9	36,7 ± 2,1	24,8 ±
Нагрузка холестерином:				
исходное состояние	99,5 ± 3,2	48,3 ± 2,4	32,6 ± 1,5	17,5 ±
через 4 нед	318,5 ± 21,2**	82,2 ± 7,1**	65,1 ± 4,2**	24,3 ±
через 8 нед	354,7 ± 28,5**	102,4 ± 8,7**	78,9 ± 5,4**	54,3 ±
через 12 нед	450,1 ± 22,5**	250,4 ± 11,4**	105,4 ± 8,3**	49,8 ±
через 16 нед	478,2 ± 29,8**	271,8 ± 24,5**	199,1 ± 9,6**	15,4 ±
Нагрузка холестерином и оливом:				
исходное состояние	106,3 ± 9,2	61,2 ± 6,9	23,8 ± 2,5	20,7 ±
через 4 нед	218,1 ± 13,4**	88,4 ± 7,5	79,4 ± 6,3**	41,2 ±
через 8 нед	215,4 ± 18,1**	85,3 ± 6,4	76,5 ± 5,8**	48,9 ±
через 12 нед	180,8 ± 10,2**	79,7 ± 6,5	60,4 ± 4,7	45,2 ±
через 16 нед	135,2 ± 9,8	70,4 ± 6,1	45,8 ± 3,1	23,5 ±
Нагрузка оливом:				
исходное состояние	101,5 ± 8,4	48,9 ± 3,2	26,8 ± 1,1	21,3 ±
через 4 нед	98,9 ± 8,7	51,2 ± 6,4	25,5 ± 1,3	18,6 ±
через 8 нед	113,5 ± 7,9	56,2 ± 4,8	29,7 ± 1,3	26,4 ±
через 16 нед	95,1 ± 7,6	46,4 ± 3,2	22,4 ± 1,2**	20,5 ±

* — $P < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем; ** — $P < 0,05$ по сравнению с контролем.

ХС значения концентрации этих показателей достигали $(70,8 \pm 6,5)$ мг/дл и $(686,7 \pm 20,6)$ ммоль/л соответственно.

Таким образом, у кроликов во время нагрузки холестерином развивается выраженная гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, нарастание ЛП, содержащих апо-В, увеличение концентрации ХС в ЛПНП и ЛПОНП, уменьшение концентрации ХС в ЛПВП, снижение относительной концентрации ЛПВП и повышение концентрации ЛПНП, что характерно для развития атеросклероза как у экспериментальных животных [8], так и у людей [6].

Иная картина динамики различных показателей липидного обмена обнаруживается в группе кроликов, получавших оливомицин на фоне нагрузки холестерином. Если в 1-й группе животных увеличение концентрации общего холестерина происходило на 218 % уже через 4 нед после начала эксперимента, то у животных, получавших оливомицин, это увеличение составляло всего 100 %. Абсолютная концентрация общего холестерина в этой группе кроликов значительно и достоверно ниже, чем в группе, получавшей нагрузку ХС. Через 8 нед концентрации общего холестерина во 2-й группе остается такой же, как и на 4-й неделе исследования. А через 12 нед концентрация общего холестерина начинает снижаться, почти достигая к концу 16-й недели значения исходной.

Как видно из табл. 1, нарастание концентрации общего холестерина у животных, получавших оливомицин, происходит в основном за счет увеличения его содержания во фракции ЛПОНП, тогда как во фракции ЛПНП достоверных изменений концентрации ХС даже в первые 8 нед исследования не обнаружено. Содержание ХС во фракции ЛПВП, начиная с 4-й недели и заканчивая 12-й, в 2 раза превышает исходное. Такое перераспределение ХС между фракциями ЛП под влиянием оливомицина в условиях нагрузки ХС приводит к тому, что коэффициент атерогенности не только не нарастает, но даже снижается. Это свидетельствует о том, что введение ингибитора белка на фоне нагрузки холестерином предотвращает развитие атерогенной ситуации в организме. Введение оливомицина препятствует нарастанию концент-

нагрузки холестерином и оливомицином ($M \pm m$)

нагрузка, мг/дл	Коэффициент атерогенности		Относительная концентрация, %	
	ЛПВП	Концентрация апо-В-содержащих ЛП, г/л	ЛПНП	ЛПВП
23,1 $\pm$ 1,2	3,8 $\pm$ 0,2	0,95 $\pm$ 0,08	41,2 $\pm$ 4,1	47,0 $\pm$ 3,1
21,5 $\pm$ 0,9	4,1 $\pm$ 0,1	0,98 $\pm$ 0,07	35,5 $\pm$ 2,4	49,1 $\pm$ 2,7
24,8 $\pm$ 1,3	3,6 $\pm$ 0,2	0,99 $\pm$ 0,1	37,4 $\pm$ 2,1	45,1 $\pm$ 2,1
17,5 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,2	26,7 $\pm$ 1,7	32,4 $\pm$ 1,9
24,3 $\pm$ 1,9	12,1 $\pm$ 0,9**	4,1 $\pm$ 0,3**	30,1 $\pm$ 2,2	16,7 $\pm$ 1,5**
54,3 $\pm$ 5,2**	5,5 $\pm$ 0,74*	4,7 $\pm$ 0,4**	35,7 $\pm$ 1,9	11,2 $\pm$ 1,4**
49,8 $\pm$ 3,4**	8,0 $\pm$ 0,5**	5,6 $\pm$ 0,4**	41,5 $\pm$ 3,2	13,4 $\pm$ 1,8**
15,4 $\pm$ 1,2	30,0 $\pm$ 1,1**	7,1 $\pm$ 0,6**	48,5 $\pm$ 2,7*	4,8 $\pm$ 1,0**
20,7 $\pm$ 1,8	4,4 $\pm$ 0,2	0,97 $\pm$ 0,06	35,4 $\pm$ 1,5	41,0 $\pm$ 3,2
41,2 $\pm$ 3,1	4,3 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,1**	41,2 $\pm$ 1,9	32,4 $\pm$ 2,4
48,9 $\pm$ 2,1	3,4 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,1**	40,4 $\pm$ 2,4	29,6 $\pm$ 1,9
45,2 $\pm$ 1,9	3,0 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,2**	39,4 $\pm$ 2,9	30,2 $\pm$ 2,1
23,5 $\pm$ 1,6	4,7 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,2*	36,9 $\pm$ 2,8	32,2 $\pm$ 2,0
21,3 $\pm$ 1,4	3,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	33,2 $\pm$ 1,5	40,1 $\pm$ 2,3
18,6 $\pm$ 0,9	4,3 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,2	29,8 $\pm$ 1,3	38,4 $\pm$ 1,7
26,4 $\pm$ 1,8*	3,3 $\pm$ 0,2	0,98 $\pm$ 0,07	31,2 $\pm$ 1,3	36,1 $\pm$ 1,5
20,5 $\pm$ 1,2	3,5 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,09	27,1 $\pm$ 1,2**	40,0 $\pm$ 2,3

рации ТГ и НЭЖК. Интересно отметить, что сам по себе оливомицин приводит к достоверному повышению концентрации ХС во фракции ЛПВП на фоне снижения этого показателя во фракции ЛПНП. Вместе с тем во время эксперимента достоверных изменений других изученных показателей липидного обмена не происходит. Вероятно, оливомицин оказывает ингибирующее действие на белковый компонент липопротеидной частицы только в условиях его усиленного образования. Известно, что при развитии атеросклероза усиливается синтез апо-В [2].

Развитие экспериментального атеросклероза сопровождается изменениями не только липидного состава крови, но и различных тканей, в том числе и сосудов, что является основным патогенетическим звеном развития атеросклероза. Используемый нами ингибитор биосинтеза белка — оливомицин — оказывал действие на содержание липидов в исследуемых тканях (табл. 2). Из результатов, представленных в табл. 2, видно, что введение оливомицина на фоне нагрузки ХС задерживало накопление липидов и их фракций. Так, если содержание холестерина в печени у животных, получавших нагрузку ХС, по сравнению с его содержанием у контрольных животных, увеличилось в 4 раза, мозгу и аорте — в 2,5 раза, то у кроликов, получавших оливомицин, достоверных изменений, по сравнению с контролем, не обнаружено. В группе животных с экспериментальным атеросклерозом обнаружено существенное нарастание концентрации атерогенных ЛП во всех изученных тканях. В то же время у животных, получавших оливомицин, содержание ЛП, по сравнению с его содержанием у контрольных, не только возросло, но даже снизилось. Следует отметить, что во всех изученных группах животных не обнаружено достоверных изменений содержания триглицеридов.

Таблица 2. Содержание липидов в тканях различных органов кроликов в условиях нагрузки холестерином и оливомицином ($M \pm m$), мг/г

Показатель	Контроль (n=5)	Нагрузка холестерином (n=10)	Нагрузка холестерином и оливомицином (n=8)	Нагрузка оливомицином (n=5)
Холестерин (общий)				
в ткани:				
печени	$3,0 \pm 0,2$	$12,7 \pm 0,9^*$	$5,4 \pm \pm 0,6$	$3,1 \pm 0,2$
сердца	$3,1 \pm 0,3$	$8,0 \pm 0,7^*$	$4,3 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,4$
мозга	$5,9 \pm 0,3$	$10,5 \pm 1,2^*$	$5,7 \pm 0,4$	$5,6 \pm 0,7$
аорты	$2,9 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,6^*$	$3,4 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,3$
Триглицериды в ткани:				
печени	$2,8 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,3$
сердца	$2,5 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,4$
мозга	$2,8 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,5$	$2,9 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,4$
аорты	$3,3 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,4$	$3,1 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$
ЛПНП и ЛПОНП (суммарно) в ткани:				
печени	$0,9 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,09$	$0,7 \pm 0,09$
сердца	$0,78 \pm 0,08$	$0,89 \pm 0,09^*$	$0,59 \pm 0,08$	$0,58 \pm 0,08$
мозга	$0,57 \pm 0,07$	$0,97 \pm 0,06^*$	$0,61 \pm 0,07$	$0,60 \pm 0,07$
аорты	$0,67 \pm 0,08$	$0,86 \pm 0,07^*$	$0,53 \pm 0,07$	$0,39 \pm 0,05^*$
НЭЖК в ткани:				
печени	$6,0 \pm 0,9$	$6,4 \pm 0,7$	$5,4 \pm 0,6$	$6,4 \pm 0,7$
сердца	$3,6 \pm 0,8$	$5,4 \pm 0,6^*$	$4,5 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,5$
мозга	$7,2 \pm 0,9$	$7,1 \pm 0,8$	$6,3 \pm 0,7$	$7,1 \pm 0,9$
аорты	$5,7 \pm 0,6$	$5,8 \pm 0,7$	$5,6 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,6$

* — $P < 0,05$, по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что введение оливомицина предупреждает нарастание содержания в крови и тканях липидов и ЛП, препятствует развитию экспериментального атеросклероза. Высокая терапевтическая эффективность оливомицина подтверждается тем, что коэффициент атерогенности, который

резко возрастал в условиях нагрузки холестерином, практически не изменялся при введении оливомицина на фоне холестерина. Существеннее всего оливомицин предупреждал развитие изменений содержания и соотношения ЛП атерогенных классов. Описанный терапевтический эффект оливомицина связан с его влиянием на биосинтез белка. Это подтверждается тем, что введение этого препарата предотвращает существенные изменения ЛП, не влияя значительно на содержание триглицеридов в тканях. Следует иметь в виду, что оливомицин может блокировать синтез не только апопротеинов, но и некоторых ферментных белков. Ранее мы показали, что введение определенной дозы оливомицина приводит к выраженному ингибированию биосинтеза белка у экспериментальных животных [7].

Полученные результаты о благотворном влиянии оливомицина на течение экспериментального атеросклероза сами по себе могут быть использованы как доказательство того, что в формировании атеросклероза большое значение имеют не только нарушения липидного и липопротеидного обменов, но и нарушения системы биосинтеза белка. Как известно, частота атеросклероза нарастает при старении. Развитие старения во многом определяется изменениями, происходящими в регуляции генетического аппарата клетки, интенсивности синтеза различных белков. Можно предположить, что изменение биосинтетической активности некоторых белков ЛП способствует развитию атеросклероза.

Выполненная работа делает возможным поиск средств, влияющих на биосинтез белка с целью терапевтического воздействия на развитие атеросклероза.

THE EFFECT OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITOR (OLIVOMYCIN) ON THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS IN RABBITS

V. V. Frolkis, L. N. Bogatskaya, S. N. Novikova

Cholesterol and olivomycin have been administered to young puberal rabbits during four months. Cholesterol administration results in the development of pronounced hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and hyperlipoproteidemia, which is characteristic of the development of atherosclerosis both in experimental animals and human beings. Olivomycin introduction against the cholesterol background prevents the development of atherogeneity in the organism. Olivomycin is the most effective in preventing the development of changes in the content and ratio of atherogenic classes of lipoproteids. The study performed promotes the search of agents, influencing the protein biosynthesis with the purpose of therapeutic control of the atherosclerosis development.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

1. Ашмарин И. П., Ключкарев Л. А. Ингибиторы биосинтеза.— Л.: Медицина, 1975.— 208 с.
2. Готто А., Поунолл Х. Д. Роль белково-липидных взаимодействий в структуре и функции липопротеидов плазмы человека // Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз.— М.: Медицина, 1983.— С. 79—88.
3. Киряков А., Тинтерова З. Определение холестерина и триглицеридов в липопротеидах сыворотки крови, выделенных методом двойной преципитации // Лаб. дело.— 1979.— № 7.— С. 398—402.
4. Климов А. Н., Ловягина Т. Н., Баньковская Э. Б. Турбометрический метод определения бета-липопротеидов и хиломикрон в сыворотке крови и тканях // Там же.— 1966.— № 5.— С. 276—280.
5. Климов А. Н., Нагорнев В. А., Зубжицкий Ю. Н., Денисенко А. Д. Иммунохимические факторы в патогенезе атеросклероза.— Л.: Б. и., 1980.— 170 с.
6. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Липопротеиды, дислипидопропротеидемии и атеросклероз.— Л.: Медицина, 1984.— 166 с.
7. Фролькис В. В., Бозаккая Л. Н., Ступина А. С. и др. Ингибиторы биосинтеза белка как средство увеличения продолжительности жизни в эксперименте // Продление жизни: прогнозы, механизмы, контроль.— Киев, 1979.— С. 148—164.
8. Чаяло П. П. Роль нарушений обмена липопротеидов в развитии атеросклероза в

- разном возрасте и пути их нормализации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Киев, 1981.—44 с.
9. Carlson L. A. Determination of serum triglycerides // J. Atheroscler. Res.— 1963.—3, N 4.— P. 334—336.
 10. Duncombe W. G. The colorimetric microdetermination of nonesterified fatty acid in plasma // Clin. chim. acta.— 1964.—8, N 2.— P. 122—125.
 11. Folch G., Lees M., Sloane S. G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem.— 1957.—226, N 1.— P. 497—509.
 12. Киряков А., Титерова З., Стоянова С. Электрофореза на серумните липопротеини върху агарозен гел // Съевр. мед.— 1977.—28, № 4.— С. 29—35.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Поступила 27.06.86

УДК 616.127—005.8

Морфологические изменения в сердце при воспроизведении различных типов аллергических реакций

Л. Ф. Попович, В. Ф. Сагач, А. А. Мойбенко

При различных иммунопатологических процессах, протекающих в организме, сердечно-сосудистая система реагирует в большей или меньшей мере снижением функциональных показателей кардио- и гемодинамики, морфофункциональными изменениями сократительного миокарда и коронарного сосудистого русла [3, 9, 13, 18]. Наибольшее внимание в связи с патогенным воздействием на сердце привлекают к себе аллергические реакции немедленного типа. В настоящее время наиболее широкое распространение получила классификация аллергических реакций, предусматривающая разделение реакций немедленного типа на три группы: анафилактические, цитотоксические и иммунокомплексные [12]. Эти группы реакций различаются иммунологической стадией, а также характером и мерой вовлеченности тех или иных биологически активных веществ [17]. Так, если анафилактические реакции могут развиваться без участия комплемента, то развитие цитотоксических реакций предусматривает обязательное его участие [16]. Уже сама активация комплемента, обладающего способностью лизировать клетки-мишени, может приводить к значительным морфологическим изменениям. Кроме того, недавно получены данные о том, что отдельные компоненты комплемента и анафилатоксины могут существенно стимулировать биосинтез и выделение продуктов арахидоновой кислоты (простагландинов и лейкотриенов) [10, 14]. Последние относятся к чрезвычайно активным, эндогенно синтезирующимся веществам, которые обладают выраженной способностью вызывать спастические реакции коронарных сосудов с последующим развитием ишемии миокарда [11, 15]. Все это создает предпосылки к различиям в морфологических изменениях в зависимости от типа аллергической реакции. В настоящей работе мы попытались выявить и охарактеризовать общие черты и особенности ранних морфологических изменений в миокарде при воспроизведении различных типов аллергических реакций в сердце.

Методика

Аллергические повреждения сердца воспроизводили в острых опытах на беспородных собаках массой 17—22 кг под хлоролозо-уретановым наркозом (0,07 и 0,03 г соответственно). Использовали разработанную модель локального повреждения (преимущественно левого желудочка) сердца, воспроизводимую внутрикоронарным введением патоген-