

МОДЕЛИРОВАНИЕ АТЕРОГЕННОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ У КРОЛИКОВ

Демидова М.А., Волкова О.В., Егорова Е.Н., Савчук И.А.

ГОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия», Тверь, Россия, e-mail: Itabira@yandex.ru

В экспериментах на кроликах (n=16), была разработана модель гиперлипидемии, вызванная внутривенным введением 10%-ной эмульсии Липофундина в дозе 0,5 мл/кг в течение 30 дней. Экспериментальная модель характеризовалась увеличением уровня триглицеридов и ЛПОНП в 1,4 раза, ЛПНП в 1,2 раза, снижением содержания ЛПВП в 1,4 раза в крови подопытных животных. Одновременно с изменениями липидного спектра крови у подопытных кроликов было выявлено увеличение уровня лактата и С-реактивного белка соответственно в 2,1 раза и в 13,4 раза.

Ключевые слова: гиперлипидемия, экспериментальная модель, кролики.

Modelling of Atherogenic Hyperlipidemia on the example of rabbits

Demidova M.A., Volkova O.B., Egorova E.N., Savchuk I.A.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia, e-mail: Itabira@yandex.ru

In the experiments on rabbits (n=16) there was developed a model of hyperlipidemia, caused by intravenous injection of a 10% Lipofundina's emulsion in a dose of 0,5 ml/kg within 30 days . The experimental model was characterized by the increase in triglycerides and VLDL (Very Low Density Lipoprotein) level by 1,4 times, the increase in LDL (Low density lipoprotein) by 1,2 times and decrease in HDL cholesterol content by 1,4 times in blood of experimental animals. With changes of lipid spectrum of blood at experimental rabbits the growth of lactate level and the S-reactive protein accordingly in 2,1 times and in 13,4 times has been found out.

Key words: hyperlipidemia, experimental model, rabbits.

Введение

Сердечно-сосудистая патология (ишемическая болезнь сердца, цереброваскулярные нарушения, окклюзивные заболевания периферических артерий) вывела Россию на первые позиции среди индустриально развитых стран мира по частоте заболеваемости, смертности и инвалидности трудоспособного населения. В России ежегодно более 1 млн человек умирают от сердечно-сосудистых заболеваний, из них половина – от ИБС и еще 40% от поражения мозговых сосудов [3]. Согласно рекомендациям ВНОК 2009 г. в основе первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний лежат мероприятия, направленные на коррекцию основных факторов риска: низкой физической

активности, курения, повышенного артериального давления, ожирения и липидных нарушений [4].

Нарушения липидного обмена являются одним из важнейших факторов риска развития атеросклероза. Многочисленные клинические и эпидемиологические научные исследования убедительно показали, что не только гиперхолестеринемия, а любая гиперлипидемия может способствовать возникновению и дальнейшему развитию атеросклероза [3]. В настоящее время выделяют несколько типов гиперлипидемий. Так, например, в соответствии с общепринятой систематизацией гиперлипидемии делят на 6 типов, включая выделение подтипов Па и Пб [1]. Разные типы гиперлипидемий обладают различным атерогенным потенциалом, наибольшее атерогенное влияние оказывают гиперлипидемии, характеризующиеся повышением уровня общего и свободного холестерина.

В связи с тем, что современные медикаментозные способы лечения должны разрабатываться с учетом характера дислипидемии, необходимо создание новых моделей, наиболее полно соответствующих различным вариантам нарушений липидного спектра крови.

При оценке эффективности новых гиполипидемических средств используют различные экспериментальные модели гиперлипидемии. Среди них можно выделить холестериную, генетическую, перекисную модели атеросклероза; модель А.Н. Климова и соавт. (1966, 1969), основанную на получении атеросклеротических бляшек на аорте кроликов путем парентерального введения гомологичной сыворотки от животных с экспериментальной гиперхолестеринемией и т. д. [1]. Данные модели, вместе с рядом преимуществ, обладают и существенными недостатками, связанными с трудоемкостью и длительностью воспроизведения модели (холестериновую модель воспроизводят в течение 3–4 месяцев). Недостатком экспериментальных моделей с использованием мелких лабораторных животных (крыс, морских свинок) является невозможность забора достаточного количества крови для проведения широких биохимических исследований в течение длительного времени без вреда для подопытных животных. В этом плане кролики являются более перспективными для изучения течения экспериментального атеросклероза. Липидный и липопротеиновый спектры крови экспериментальных животных разных видов различаются, в связи с этим для более объективной оценки гиполипидемического действия новых веществ опыты рекомендуют проводить с использованием животных 2–3 видов.

Целью настоящего исследования явилась разработка модели атерогенной гиперлипидемии у кроликов.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 16 беспородных кроликах обоего пола, массой $3,8 \pm 0,1$ кг. Гиперлипидемию вызывали внутривенным введением 10%-ной эмульсии Липофундина (состав: соевое масло – 50 г, среднецепочные триглицериды – 50 г, фосфатиды яичного желтка – 12 г, глицерол – 25 г, вода для инъекций – 1000 мл) в дозе 0,5 мл/кг ежедневно в течение 30 дней.

Развитие гиперлипидемии контролировали по содержанию липопротеинов в плазме крови подопытных животных. Биохимические исследования выполняли еженедельно в течение всего эксперимента, забор крови осуществляли из краевой вены уха в объеме 3–4 мл.

Липидный спектр сыворотки крови (холестерин общий, триглицериды, ЛПВП) исследовали, используя реактивы производства Bioscon® (Германия). Концентрацию ЛПНП, ЛПОНП и коэффициент атерогенности определяли расчетным методом.

Содержание ЛПНП рассчитывали по формуле Фридвальда:

$$\text{холестерин ЛПНП} = \frac{\text{холестерин общий} - \text{холестерин ЛПВП} - \text{TГ}}{2,2}$$

Содержание ЛПОНП рассчитывали по формуле:

$$\text{холестерин ЛПОНП} = \frac{\text{холестерин общий} - \text{холестерин ЛПВП} - \text{TГ}}{2,18}$$

Коэффициент атерогенности рассчитывали по формуле:

$$K_a = \frac{\text{холестерин ЛПНП} + \text{холестерин ЛПОНП}}{\text{холестерин ЛПВП}}$$

или

$$K_a = \frac{\text{холестерин общий} - \text{холестерин ЛПНП}}{\text{холестерин ЛПВП}}$$

Уровень лактата определяли энзиматическим методом с применением реактивов производства Bioscon® (Германия).

Биохимические исследования (анализ липидного спектра и уровня лактата) выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе Flexor E (Vital Scientific, Нидерланды).

Концентрацию С-реактивного белка определяли методом иммуноферментного анализа, используя тест-системы производства ООО «Хема» (Россия) с аналитической

чувствительностью 0,05 мг/л. Результаты иммуноферментного анализа учитывали с помощью микропланшетного мультидетектора Zenyth 1100 (Anthos, Австрия).

Для моделирования гиперлипидемии у кроликов выбрали Липофундин на основании имеющихся сведений о том, что жировые эмульсии для парентерального питания могут вызывать повышение уровня липидов в крови [2].

Результаты исследования были обработаны статистически с применением стандартного пакета программ «MS Excel 2007». Размер выборки для сравнительного исследования при 5%-ном уровне значимости рассчитывали с использованием программы «COMPARE 2 Version 2.57 WinPEPI 11.0».

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования было обнаружено, что при внутривенном введении 10%-ной эмульсии Липофундина (0,5 мл/кг) в течение 30 дней у подопытных кроликов развивалась выраженная дислипидемия, которая характеризовалась увеличением уровня триглицеридов, ЛПНП и ЛПОНП и снижением содержания ЛПВП. Достоверных изменений содержания общего холестерина в крови кроликов, получавших липофундин, в течение всего срока наблюдения обнаружено не было (таблица 1).

Таблица 1 – Изменения содержания холестерина общего, триглицеридов и липопротеинов в плазме крови кроликов при внутривенном введении Липофундина (0,5 мл/кг)

n	Исследуемые показатели	Содержание в плазме крови; ммоль/л				
		до опыта	через 1 неделю	через 2 недели	через 3 недели	через 4 недели
1	Холестерин общий	2,21±0,62	1,94±0,61	1,39±0,41	2,02±0,64	2,24±0,57
2	Триглицериды	0,76±0,05	0,89±0,38	0,94±0,25	0,98±0,31	1,06±0,29*
3	ЛПВП	0,77±0,17	0,62±0,15	0,55±0,14	0,57±0,17	0,54±0,14*
4	ЛПНП	1,09±0,53	0,92±0,56	0,41±0,19	1,01±0,57	1,22±0,39*
5	ЛПОНП	0,35±0,02	0,41±0,17	0,43±0,11	0,45±0,14	0,48±0,14*

* – различия с контролем (до начала введения Липофундина) достоверны.

Было отмечено, что уровень триглицеридов в крови кроликов при введении Липофундина постепенно увеличивался и через 4 недели наблюдения был в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$) выше, чем у интактных животных. Содержание ЛПНП и ЛПОНП в крови подопытных животных возросло на 4-й неделе исследования соответственно в 1,2 ($p < 0,05$) и 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Обращает на себя внимание тот факт, что уровень ЛПВП в крови подопытных кроликов снизился уже на 2-й неделе

эксперимента и через 4 недели исследования был в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$) ниже, чем у интактных животных.

Следует отметить, что развившаяся под влиянием Липофундина выраженная дислипидотеинемия имела атерогенный характер, о чем свидетельствовало увеличение коэффициента атерогенности у подопытных животных с экспериментальной гиперлипидемией в среднем в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными (таблица 2).

Таблица 2 – Изменения значения коэффициента атерогенности, содержания лактата и С-реактивного белка в плазме крови кроликов при внутривенном введении Липофундина (0,5 мл/кг)

n	Исследуемый показатель	Содержание в плазме крови				
		до опыта	через 1 неделю	через 2 недели	через 3 недели	через 4 недели
1	Ка	1,89±0,4	2,25±0,68	1,58±0,26	2,65±0,42	3,47±0,69*
2	Лактат, Е/л	7,77±0,55	9,35±2,08	13,28±2,71	15,57±1,22*	16,64±2,69*
3	С-реактивный белок, мг/л	0,08±0,08	0,25±0,11	0,39±0,18	0,76±0,38	1,07±0,31*

* – различия с контролем (до начала введения Липофундина) достоверны.

Одновременно с изменениями липидного спектра крови у подопытных кроликов, получавших Липофундин, было выявлено увеличение уровня лактата и С-реактивного белка соответственно в 2,1 раза ($p < 0,05$) и в 13,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с их содержанием у интактных животных. Возрастание уровня молочной кислоты в крови кроликов с экспериментальной гиперлипидемией, вероятно, свидетельствует о развитии тканевой гипоксии. С-реактивный белок, получивший свое название из-за способности вступать в реакцию преципитации с С-полисахаридом пневмококков, стимулирует иммунные реакции, в т. ч. фагоцитоз, участвует во взаимодействии Т- и В-лимфоцитов, активирует классическую систему комплемента, является высокочувствительным и быстрым индикатором повреждения тканей при воспалении, некрозе, травме. Увеличение его содержания при экспериментальной гиперлипидемии, возможно, является отражением повреждения сосудистой стенки у подопытных животных.

Таким образом, нами была разработана экспериментальная модель атерогенной гиперлипидемии у кроликов. Данная модель гиперлипидемии характеризовалась повышением уровней триглицеридов, ЛПНП и ЛПОНП. Известно, что наибольшее атерогенное влияние оказывают гиперлипидемии, относящиеся к подтипам Па, Пб и Пв типу. В соответствии с фенотипической систематизацией гиперлипидемий (Д. Фредрексон, 1967) разработанная модель соответствовала типу Пб.

Данная модель гиперлипидемии у кроликов относится к наиболее атерогенным моделям, что также подтверждает увеличение коэффициента атерогенности.

Разработанная модель является удобной для поиска эффективных антиатерогенных средств, так как характеризуется простотой, надежностью и быстротой выполнения. Выраженная гиперлипидемия развивается уже через 1 месяц после начала введения Липофундина, тогда как другие экспериментальные модели гиперлипидемии у кроликов, связанные с использованием холестериновой нагрузки, требуют 3–4 месяца для моделирования.

Выводы

1. При внутривенном введении Липофундина (0,5 мл/кг) в течение 30 дней у подопытных кроликов развивались выраженные изменения липидного спектра крови, которые характеризовались увеличением уровня триглицеридов и ЛПОНП в 1,4 раза ($p < 0,05$), ЛПНП в 1,2 раза ($p < 0,05$), снижением содержания ЛПВП в 1,4 раза ($p < 0,05$). Коэффициент атерогенности увеличился в среднем в 1,8 раза ($p < 0,05$).
2. Разработанная модель гиперлипидемии у кроликов является высокоатерогенной, по фенотипической систематизации гиперлипидемий соответствует типу Пб.

Список литературы

1. Калинин М.Н., Волков В.С., Заварин В.В. Атеросклероз: патофизиология, лечение, первичная профилактика. – Тверь: РИЦ ТГМА, 2009. – 215 с.: ил.
2. Косарев В.В., Бабанов С.А. Побочные эффекты лекарственной терапии: оценка и прогнозирование // Медицина неотложных состояний. – 2010. – № 6 [Электронный ресурс]. URL: <http://urgent.mif-ua.com/archive/issue-15105/article-15118/> (дата обращения: 8.07.2011).
3. Кухарчук В.В. Лечение дислипидемии как важный фактор профилактики атеросклероза и его осложнений // Системные гипертензии. – 2007. – № 2. – С. 35–43.
4. Нечаева Г.И., Терещенко Ю.В. Профилактика липидных нарушений // Лечащий врач. – 2010. – № 2 [Электронный ресурс]. URL: <http://www.lvrach.ru/2010/07/15081579/> (дата обращения: 8.07.2011).

Рецензенты:

Митрохин Н.М., д.б.н., профессор, зам. директора ОАО «Всероссийский Научный центр по Безопасности Биологически Активных Веществ», Московская обл., г. Старая Купавна.

Слюсарь Н.Н., д.м.н., профессор, директор ИП «Лаборатория профессора Слюсаря Н.Н.», г. Тверь.

Работа получена 22.08.2011