

Savitskiy I. V., Sliusar A. A., Miastkovskaja I. V. Мультифакторное моделирование атеросклероза на крысах = Multifactorial modeling of atherosclerosis in rats. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(3):233-240. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.55402> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3577>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 05.03.2016. Revised 20.03.2016. Accepted: 23.03.2016.

УДК 616-092.9

МУЛЬТИФАКТОРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА НА КРЫСАХ

И. В. Савицкий, А. А. Слюсарь, И. В. Мясковская

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Реферат

В статье рассмотрена новая методика экспериментального атеросклероза на крысах линии Wistar, которая берет в своем начале полиэтиологическую теорию развития заболевания. Был проведен эксперимент и полученные результаты оценивали степень взаимодействия факторов нагрузки, которые заключались в одновременной постановке экспериментального гипотиреоза при помощи Мерказолила, иммуносупрессии Метилпреднизолоном на фоне гепатотоксического действия раствора этилового спирта и классической атерогенной диеты. В работе приведены предварительные данные за две недели, которые достигли границы верхней нормы у одной из групп, а так же значительное достоверное повышение уровня ЛПОНП выше нормы.

Ключевые слова: экспериментальный атеросклероз, патогенез заболевания, сердечно-сосудистая патология.

MULTIFACTORIAL MODELING OF ATHEROSCLEROSIS IN RATS

I. V. Savitskiy, A. A. Sliusar, I. V. Miastkovskaja

Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Summary

The article describes a new method of experimental atherosclerosis in rats of Wistar line, which originates in the theory that disease has a multifactorial etiology. Experiment and the results can show the interaction of atherogenic factors, which consisted in the simultaneous staging of experimental hypothyroidism using Mercazolium, methylprednisolone immunosuppression on the background of hepatotoxic action of ethyl alcohol solution and atherogenic diet. This work shows the preliminary data for two weeks, in which the upper border of biochemical rate was reached in one of the groups, as well as a significant increase in the level of VLDL above normal.

Keywords: experimental atherosclerosis, the pathogenesis of the disease, cardiovascular disease.

Введение. В последнее время непрерывно растет смертность от сердечно-сосудистых патологий, занимая первое место среди всех видов смертности [1]. Крайне важным в патофизиологии сердечно-сосудистых катастроф являются атеросклероз и тромбоз. Известно множество попыток объяснить механизмы атеросклероза, однако до сих пор не удалось представить единую модель патогенеза данного заболевания. На данный момент ведущей является теория атеросклероза, как о мультифокальном заболевании, в основе которого лежат прогрессирующие нарушения в биохимических, иммунологических и молекулярно-генетических процессах [2]. До сегодня нет экспериментальной модели развития атеросклероза, которая бы базировалась на комплексности патогенетических триггерных механизмов и прогрессирования атеросклероза на самом оптимальном лабораторном животном, крысе.

Установлено, что крысы не реагируют на алиментарный холестерол и гиперлипидемию [3], а для моделирования атеросклероза применяется комбинированная диета: 1-4% холестерина, 0,5% хелевой кислоты, 0,1% тиоурацила, 15-35% насыщенных жирных кислот [4]. Длительность содержания на таких диетах колеблется до 6-8 месяцев [4].

Так же ранее была прослежена роль гипотиреоза, так как тиреоидные гормоны тормозят липогенез, а так же обладают анаболическим и антиатерогенным действием [4, 5, 6]. Тиреоидные гормоны влияют на уменьшение атерогенных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [6].

Длительное исследования так же позволили обнаружить наличие иммунной составляющей, а именно лимфоцитов и макрофагов, в развитии атеросклероза [7], а так же фактора риска – системного воспаления, способствующему ускорению процессов атерогенеза [8, 9]. Ранее было экспериментально доказано, что применение иммуносупрессантов на крысах дает усиление атерогенного эффекта холестероловой диеты [10].

Следует учитывать физиологическую роль печени в процессах превращений холестерина, составляющей гидролиз эфиров холестерина (экзо- и эндогенного), образование липопротеинов очень низкой плотности (ЛПоНП), наличие у крыс, в отличии от людей, в печени активного фермента ацил-КоА-холестеролацилтрансферазы, обеспечивающий значительный экспорт эфиров холестерина в составе новообразовавшихся ЛПоНП, а так же более повышенную экскрецию холестерина из организма с желчью в сравнении с человеком [11, 12].

Необходимо заметить, что наличие высокого эстрогенного фона, свойственное женскому полу, обладает выраженным антиатерогенным воздействием у людей, а так же увеличивает содержание антиатерогенных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [13].

Нами были проработаны все вышеперечисленные факторы атерогенности и представлена новая методика моделирования атеросклероза на крысах.

Объекты. В качестве объектов исследования были выбраны 25 самцов линии Wistar, массой 120..150 гр.

Контингенты. Все крысы были поделены на 5 групп. Контрольная группа – 5 крыс, группа 2/1 – 5 крыс, группа 2/2 – 5 крыс, группа 3/1 – 5 крыс, группа 3/2 – 5 крыс.

Методы. В качестве атерогенной нагрузки были выбраны следующие методики: группа 2/1 получала антитиреоидный препарат Мерказолил в дозировке 25 мг/кг веса животного, гепатотоксичный, 15% водный раствор Этилового спирта в свободном доступе вместо воды.

Группа 2/2 получала Мерказолил (25 мг/кг), 15% водный раствор Этилового спирта и атерогенную диету (4% холестерол, 0,5 % холевой кислоты, 20% насыщенных и ненасыщенных жирных кислот).

Группа 3/1 получала иммуносупрессивный препарат, Метилпреднизолон, в дозировке 0,17 мг/кг веса животного, Мерказолил (25 мг/кг) и 15% водный раствор Этилового спирта.

Группа 3/2 получала Метилпреднизолон (0,17 мг/кг), Мерказолил (25 мг/кг), 15% водный раствор Этилового спирта и атерогенную диету.

Контрольная группа была на стандартной вивариевской диете.

По истечении 2 недель у всех крыс была забрана кровь из хвостовой вены.

Результаты и их обсуждение.

Объем полученной от животных крови, позволил исследовать общий холестерол крови (ХС общ), уровень триглицеридов (ТГ), фосфолипазу (ФЛ), ЛПоНП, ЛПНП, ЛПВП. Полученные данные представлены в Таблице 1.

Полученные данные были статистически обработаны по методике критерия Даннета для малых групп, данные приведены в Таблице 2. Значение $p > 0,05$ означает отсутствие корреляции между показателями с контрольной группой, значение $p < 0,05$ означает наличие слабой корреляции между показателями с контрольной группой, значение $p < 0,01$ говорит о достоверной корреляции показателей с контрольной группой.

Из полученных результатов, можно видеть, что во всех группах значительно вырос уровень ЛПоНП, особенно в группах 3/1 и 3/2 (иммуносупрессивных), где повышение составило более чем в 3 раза по сравнению с контрольной группой. Значительно выросли так же ЛПНП, за исключением группы 2/2, где показатель почти не изменился.

Таблица 1

Показатель (ммоль/л)	крыса 1	крыса 2	крыса 3	крыса 4	крыса 5	Среднее
Контрольная группа						
Холестерин общий	1,91	2,03	1,72	1,56	2,03	1,85
ТГ	0,46	0,39	0,35	0,45	0,47	0,42
ФЛ	3,48	4,09	3,39	3,17	3,42	3,51
ЛПНП	0,29	0,24	0,12	0,13	0,25	0,21
ЛПВП	1,41	1,18	1,55	1,37	1,16	1,33
ЛПоНП	0,2	0,11	0,05	0,06	0,12	0,11
Группа 2-1						
Холестерин общий	1,98	1,9	1,95	1,92	1,93	1,94
ТГ	0,54	0,55	0,48	0,44	0,56	0,51
ФЛ	3,63	3,75	4	3,95	3,91	3,85
ЛПНП	0,27	0,26	0,33	0,36	0,39	0,32
ЛПВП	1,37	1,39	1,4	1,36	1,39	1,38
ЛПоНП	0,24	0,25	0,22	0,2	0,25	0,23
Группа 2-2						
Холестерин общий	2,18	2,21	2,19	2,15	2,21	2,19
ТГ	0,56	0,62	0,57	0,64	0,62	0,60
ФЛ	4,05	4,12	3,97	4,07	4,14	4,07
ЛПНП	0,3	0,27	0,22	0,28	0,33	0,28
ЛПВП	1,63	1,67	1,62	1,58	1,6	1,62
ЛПоНП	0,25	0,27	0,26	0,29	0,28	0,27
Группа 3-1						
Холестерин общий	2,28	2,49	2,25	2,19	2,26	2,29
ТГ	0,65	0,7	0,7	0,86	0,71	0,72
ФЛ	4,37	4,17	4,27	4,23	4,11	4,23
ЛПНП	0,34	0,33	0,33	0,29	0,31	0,32
ЛПВП	1,66	1,7	1,63	1,58	1,65	1,64
ЛПоНП	0,29	0,46	0,3	0,32	0,3	0,33
Группа 3-2						
Холестерин общий	2,42	2,48	2,35	2,33	2,4	2,40
ТГ	0,78	0,77	0,8	0,75	0,82	0,78
ФЛ	4,5	4,49	4,57	4,55	4,6	4,54
ЛПНП	0,38	0,37	0,32	0,34	0,33	0,35
ЛПВП	1,73	1,75	1,68	1,66	1,7	1,70
ЛПоНП	0,34	0,38	0,35	0,35	0,37	0,36

Таблица 2

Группа	ХС общ	ТГ	ФЛ	ЛПНП	ЛПВП	ЛПоНП
Контроль						
2/1	p > 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01	p > 0,05	p < 0,01
2/2	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p > 0,05	p < 0,01	p < 0,01
3/1	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01
3/2	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01

В группах 2/2, 3/1 и 3/2 достоверно выросли, как ответ на атерогенную нагрузку, ЛПВП, что позволило удерживать данным группам значение общего холестерина на верхних границах нормы для крысы (2,6 ммоль/л). Наиболее значимым был подъем в группе 3/2, которая получала полный комплекс предложенной атерогенной модели.

Уровень триглицеридов и фосфолипиды постепенно увеличивались от группы к группе, отображая общую динамику увеличения нагрузки на компенсационные механизмы крысы.

Самой недостоверной оказалась группа 2/1, которая получала исключительно антиатерогенный препарат в комплексе с раствором этилового спирта, что, однако, позволяет нам говорить о том, что при приеме Мерказолила совместно с Этиловым спиртом, возрастают показатели ЛПоНП и ЛПНП в два и полтора раза соответственно. В целом, за две недели у группы 3/2 (иммуно-, тиреосупрессия на фоне атерогенной диеты и раствора этилового спирта), наблюдалось пограничное состояние между компенсацией и декомпенсацией показателей крови, а относительно ЛПоНП было значительное превышение значений нормы.

Список цитированной литературы

1. Центр СМИ ООН. 2015, «Сердечно-сосудистые заболевания. Основные сведения», Информационный бюллетень №317.
2. Нагорнев В.А. 2005, «Методология в изучении проблемы атеросклероза», Мед. Академический ж., Т. 5, № 3, с. 5-10.
3. Farnworth E. R., Kramer J. K., Corner A. H., Thompson B. K. 1983, «The methionine and choline status of rat diets and their effects on nutrition and myocardial lesions», J. Nutr., Vol. 113, pp. 2442-2454.
4. Santillo M., Migliaro A., Mondola P., Laeza C. 1999, «Dietary and hypothyroid hypercholesterolemia induces hepatic apolipoprotein E expression in the rat: direct role of cholesterol», FEBS Letters, Vol. 463, pp. 83-86.

5. Meir C. 2001, «TSH-controlled L-thyroxine therapy reduces cholesterol levels and clinical symptoms in subclinical hypothyroidism: a double blind placebo-controlled trial (Base thyroid study)», *The Journal of Clinical Endocrinology & metabolism*, #86, pp. 104860-104866.
6. Boucher P., Lin I. 2002, «Platelet – derived growth factor mediates tyrosine phosphorylation of the cytoplasmic domain of the low density lipoprotein receptor related protein in carotid», *J. Biol. Chem.*, Vol. 277, pp. 15507-15513.
7. Keaney J. F. 2011, «Immune modulation of atherosclerosis», *Circulation*, Vol. 124: e559-60.
8. Leuven S. L. 2008, «Systemic inflammation as a risk factor for atherothrombosis», *Rheumatology*, Vol. 47, pp. 3-7.
9. Рагино Ю.И., Чернявский А. М. 2012, «Активность воспалительного процесса в разных типах нестабильных атеросклеротических бляшек», *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, Т. 153, с. 150-153.
10. Дзидзигури Л. М. 1989, «Значение иммунной системы в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца», Автореф. дис. д-ра мед. наук, с. 46.
11. Chao Y.-S., Windler E. E. 1979, «Hepatic catabolism of rat and human lipoproteins in rats treated with 17-ethinyl estradiol», *J. Biol. Chem.*, Vol. 254, pp. 11360-11366.
12. Singh V., Tiwari R. L., Dikshit M., Barthwal M. K. 2009, «Models to study atherosclerosis: a mechanistic insight», *Curr. Vasc. Pharmacol.*, Vol. 7, pp. 75-109.
13. Fluiter K., Van Der Westhuyzen D. R., Van Berkel T. J. 1998, «In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells», *J. Biol. Chem.*, V.273, pp. 8434–8438.

References

1. UN Media Center. 2015 "Cardiovascular disease. Basics ", Newsletter №317.
2. Nagornev VA 2005 "Methodology in the study of atherosclerosis," *Honey. Academic g.*, Т. 5, number 3, pp. 5-10.
3. Farnworth E. R., Kramer J. K., Corner A. H., Thompson B. K. 1983, «The methionine and choline status of rat diets and their effects on nutrition and myocardial lesions», *J. Nutr.*, Vol. 113, pp. 2442-2454.

4. Santillo M., Migliaro A., Mondola P., Laeza C. 1999, «Dietary and hypothyroid hypercholesterolemia induces hepatic apolipoprotein E expression in the rat: direct role of cholesterol», *FEBS Letters*, Vol. 463, pp. 83-86.
5. Meir C. 2001, «TSH-controlled L-thyroxine therapy reduces cholesterol levels and clinical symptoms in subclinical hypothyroidism: a double blind placebo-controlled trial (Base thyroid study)», *The Journal of Clinical Endocrinology & metabolism*, #86, pp. 104860-104866.
6. Boucher P., Lin I. 2002, «Platelet – derived growth factor mediates tyrosine phosphorylation of the cytoplasmic domain of the low density lipoprotein receptor related protein in cecidia», *J. Biol. Chem.*, Vol. 277, pp. 15507-15513.
7. Keaney J. F. 2011, «Immune modulation of atherosclerosis», *Circulation*, Vol. 124: e559-60.
8. Leuven S. L. 2008, «Systemic inflammation as a risk factor for atherothrombosis», *Rheumatology*, Vol. 47, pp. 3-7.
9. Ragino YI, Cherniavsky AM 2012 "The activity of the inflammatory process in different types of unstable atherosclerotic plaques," *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, T. 153, p. 150-153.
10. Dzidziguri LM 1989 "The importance of the immune system in the pathogenesis of atherosclerosis and coronary heart disease", *Cand. Dis. Dr. med. Science*, p. 46.
11. Chao Y.-S., Windler E. E. 1979, «Hepatic catabolism of rat and human lipoproteins in rats treated with 17-ethinyl estradiol», *J. Biol. Chem.*, Vol. 254, pp. 11360-11366.
12. Singh V., Tiwari R. L., Dikshit M., Barthwal M. K. 2009, «Models to study atherosclerosis: a mechanistic insight», *Curr. Vasc. Pharmacol.*, Vol. 7, pp. 75-109.
13. Fluiter K., Van Der Westhuijzen D. R., Van Berkel T. J. 1998, «In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells», *J. Biol. Chem.*, V.273, pp. 8434–8438.