

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ У МЫШЕЙ

С.А. Старовойтова^{1,2}, Л.П. Бабенко¹, Л.Н. Шинкаренко¹, Л.Н. Лазаренко¹, Н.Я. Спивак¹

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

²Национальный университет пищевых технологий, ул. Владимирская, 68, Киев, 01033, Украина

E-mail: svetik_2004@mail.ru

Разработано модель экспериментальной гиперхолестеринемии (повышенный уровень сывороточного холестерина) у мышей, которая независимо от: породы, возраста, пола и массы тела животных позволяет в среднем на 46,54% повысить уровень сывороточного холестерина у мышей. Данную модель предполагается использовать в практической медицине и биологии для оценки терапевтической эффективности гипохолестеринемических лекарственных средств.

Ключевые слова: гиперхолестеринемия, холестериноз, гипохолестеринемия, уровень холестерина.

Введение. Термин гиперхолестеринемия или холестериноз (Лопухин Ю.М. и др., 1983) определяет патологическое состояние, характеризующееся повышенным уровнем холестерина в организме (Мосійчук та ін., 2006).

В основе возникновения гиперхолестеринемии могут быть причины и/или набор следующих факторов:

- накопление экзогенного холестерина, вследствие повышенного употребления пищи с высоким его содержанием, превышающее компенсаторные возможности регуляторных механизмов гомеостаза этого стерина в организме;
- увеличенный синтез холестерина клетками органов и тканей хозяина;
- нарушение физиологической границы скорости перехода экзогенного и эндогенного холестерина через пищеварительный тракт;
- изменение скорости и степени абсорбции холестерина и его производных из кишечника;
- нарушение процесса трансформации холестерина в желчные кислоты и стероидные гормоны;
- нарушение процесса трансформации холестерина и его производных в неадсорбированные формы нейтральных стеринов или разложение стеринов в конечные формы (Мосійчук та ін., 2006).

В настоящее время для лечения пациентов с гиперхолестеринемией широко используются различные препараты снижающие концентрацию холестерина по средствам различных механизмов (Suckling K.E. et al., 1991), но

побочные действия при использовании таких препаратов ограничивают их терапевтическое использование (Erkelens et al., 1988). Таким образом, вопрос создания и оценки эффективности препаратов способных снижать уровень холестерина в организме хозяина остается актуальным и сегодня. Поэтому целью исследования было создание модели экспериментальной гиперхолестеринемии у мышей для дальнейшего ее использования при оценке эффективности препаратов с гипохолестеринемическим эффектом.

Ближайшим аналогом предлагаемой модели является модель гиперхолестеринемии у свиней (Gilliland et al., 1985). К недостаткам этой модели следует отнести следующее:

- невозможность воспроизведения в лабораторных условиях, поскольку свиньи являются достаточно крупными животными и требуют соответствующих условий для их жизнедеятельности;
- необходимы огромные объемы питательного субстрата.

Перечисленные выше недостатки полностью нивелируются при использовании в качестве объектов исследований лабораторных мышей. Данная модель легко воспроизводится в лабораторных условиях и является более эффективной.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали: белых беспородных лабораторных мышей массой 16-18 г и 18-20 г, самцов мышей линии *Balb/c* возрастом 2,5 месяца, а также самок мышей линии *Balb/c* возрастом 3 месяца.

Забор крови для анализа на уровень холестерина проводили из хвостовой вены животных. Определение общего и свободного холестерина в сыворотке крови мышей проводили микрометодом прямого определения по Н. Станкевичене (Колб В.Г. и др., 1976).

Все исследования проводили не менее чем в трех повторах с использованием соответствующих контролей. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами (Бондарь А.Г., Статюха Г.А., 1976, Бейли Н., 1962)

Результаты и их обсуждение. Для моделирования гиперхолестеринемии мышей кормили высококалорийной диетой по схеме описанной ниже.

В течении первой недели лабораторных мышей кормили диетой на основе кукурузной муки ГОСТ 14176-69 (табл.1).

Экспериментально доказано, что дальнейшее кормление мышей данной диетой не приводит к увеличению концентрации как свободного, так и связанного холестерина в сыворотке крови мышей.

Начиная со второй недели мышей кормили высококалорийной диетой на основе кукурузной муки (табл.1) с добавлением кристаллического холестерина

химической чистоты >99% (Sigma-Aldrich, США) из расчета 1,775 мг/кг. Экспериментально доказано, что добавление большей концентрации кристаллического холестерина в состав корма приводит к гибели животных, начиная с третьих суток кормления, в тоже время, добавление меньших концентраций холестерина – не приводит к значительному увеличению уровня сывороточного холестерина у животных (табл.2).

Установлено, что добавление к корму кристаллического холестерина в концентрациях 1,50 и 1,65 мг/кг приводит к увеличению сывороточного холестерина у белых лабораторных мышей в пределах 103 – 112,4% на седьмые сутки наблюдения, что является не существенным. В тоже время 1,85 мг/кг кристаллического холестерина в корме приводит к гибели животных на четвертые – шестые сутки наблюдения, в то время как на третьи сутки - кровь животных становится непригодной для анализа, поскольку она становится очень вязкой консистенции. Также изменяется поведение мышей, животные становятся вялыми, малоподвижными, отказываются от пищи, шерсть слипается и теряет блеск.

Наилучшие результаты по увеличению уровня сывороточного холестерина у мышей наблюдались для концентрации 1,75 мг/кг кристаллического холестерина в корме. Данная концентрация холестерина позволила повысить уровень холестерина в сыворотке крови животных на седьмые сутки наблюдения до 157% по сравнению с контрольной группой мышей. Поэтому в последующих опытах была использована именно эта концентрация кристаллического холестерина.

Далее изучали зависимость накопления сывороточного холестерина у мышей под действием диеты с добавлением кристаллического холестерина от породы, пола, массы тела и возраста животных (табл.3). Наиболее чувствительными к повышенным концентрациям холестерина в диете оказались белые беспородные лабораторные мыши массой 16-18 г, на седьмые сутки наблюдения концентрация общего холестерина в их сыворотки крови составила 157,08% по сравнению с контрольной группой. В тоже время было показано, что для линии мышей *Balb/c* не зависимо от массы тела, возраста и пола уровень сывороточного холестерина на седьмые сутки наблюдения колебался в пределах 144,72 – 147,68% по сравнению с интактными мышами. Менее чувствительными из исследованных к повышенному уровню холестерина оказались белые лабораторные мыши массой 18-20 г, для них уровень общего холестерина в сыворотке составил 136,68% на седьмые сутки наблюдения.

Таблица 3

Зависимость уровня сывороточного холестерина от породы, пола, массы тела и возраста мышей

Объект исследования	Концентрация сывороточного холестерина, %	
	свободного	общего

	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Диета без добавления кристаллического холестерина						
Контрольная группа мышей*	100	100	100	100	100	100
Белые лабораторные мыши массой 18-20 г	103,75	111,82	119,16	106,11	113,78	122,18
Белые лабораторные мыши массой 16-18 г	102,63	108,39	120,27	104,88	112,42	128,45
Мыши линии <i>Balb/c</i> самцы возрастом 2,5 месяца	105,69	114,73	118,95	109,52	118,34	120,79
Мыши линии <i>Balb/c</i> самки возрастом 3 месяца	103,91	111,13	116,28	108,15	118,11	121,31
Диета с добавлением кристаллического холестерина						
Контрольная группа мышей	100	100	100	100	100	100
Белые лабораторные мыши массой 18-20 г	117,11	126,85	131,96	122,41	130,20	136,68
Белые лабораторные мыши массой 16-18 г	114,43	125,77	132,87	120,39	139,41	157,08
Мыши линии <i>Balb/c</i> самцы возрастом 2,5 месяца	120,88	127,49	133,72	127,81	138,76	147,68
Мыши линии <i>Balb/c</i> самки возрастом 3 месяца	122,54	126,17	130,95	126,18	135,98	144,72

Примечание: * - в качестве контрольной группы мышей, выступали интактные мыши тех же линий, что и в опыте, но которые вместо диеты получали стандартный комбикорм, используемый в виварии для вскармливания мышей ($P < 0,05$).

Выводы. Таким образом, предложенный способ дает стабильное увеличение сывороточного холестерина у мышей на 7-ые сутки наблюдения в среднем на 46,54% по сравнению с интактными мышами, что на 11,54% выше по сравнению с моделью гиперхолестеринемии у свиней, которая позволяет повысить уровень сывороточного холестерина до 35% (Gilliland S.E. et al., 1985). Полученные экспериментальные данные позволяют рекомендовать разработанную модель гиперхолестеринемии у мышей для широкого внедрения в практическую медицину и биологию для оценки терапевтической эффективности гипохолестеринемических лекарственных средств.

Список литературы

1. Бейли Н. Статистические методы в биологии.-М.: Из-во иностранной литературы, 1962.-260 с.
2. Бондарь А.Г., Статюха Г.А. Планирование экспериментов в химической технологии (основные положения, примеры, и задачи).-Киев: Вища школа, 1976.-184 с.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия (Пособие для врачей-лаборантов).-Минск: Беларусь, 1976.-311с.
4. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Холестериноз (Холестерин биомембран. Теоретические и клинические аспекты). Москва: Медицина, 1983.-352с.
5. Мосійчук С.М., Хоменко М.Б., Михайлова Т.С., Кігель Н.Ф., Карпов О.В. Пробиотики: можливість застосування при гіперхолестеринемії // Український медичний часопис.-2006.-№2 (52).-С.10-23.
6. Erkelens D.W., Baggen M.G., Van Doormaal J.J., Kettner M., Koningsberger J.C., Mol M.J. Clinical experience with simvastatin compared with cholestyramine //Drugs.-1988.-Vol.39, Suppl.3.-P.87-92.
7. Gilliland S.E., Nelson C.R., Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus* //Applied and Environmental Microbiology.-1985.-Vol.49, №2.-P.377-381.

8. Suckling K.E., Benson G.M., Bond B. et al. Cholesterol lowering and bile acid excretion in the hamster with cholestyramine treatment //Atherosclerosis.-1991.-Vol.89, №2-3.-P.183-190.

Таблица 1

Состав диеты на основе кукурузной муки для вскармливания мышей

Компоненты	Количество, г
Кукурузная мука	153,5
Масло сливочное	27,2
Отруби пшеничные	72,6
Соевая мука	98,0
Соль поваренная пищевая	0,9
CaHPO ₄	5,4
CaCO ₃	3,3
Витамины, макро- и микроэлементы*	1,5

Примечание: В состав диеты входят следующие витамины, макро и микроэлементы: рибофлавин – 1,76 мкг; пантотеновая кислота – 8,80 мкг; ниацин – 8,80 мкг; витамин В₁₂ – 8,80 мкг; холин хлорид – 176,00 мкг; витамин А – 1760 IU; витамин D₃ – 176 IU; витамин Е – 4,4 IU; а также комплекс макро- и микроэлементов: селен – 39,6 мкг, йод – 300 мкг; железо – 19,8 мг; марганец – 11 мг, медь – 2,2 мг, цинк 39,6 мг из расчета на 1 кг корма.

Таблица 2

Зависимость уровня сывороточного холестерина у мышей от концентрации кристаллического холестерина в составе диеты

Концентрация холестерина в корме, мг/кг	Концентрация сывороточного холестерина, %					
	свободного			общего		
	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
0,00	100	100	100	100	100	100
1,50	100,9	104,5	108,7	103,4	106,3	111,5
1,65	101,4	106,1	108,8	104,5	109,7	112,4
1,75	114,43	125,77	132,87	120,39	139,41	157,08
1,85	122,4	*	**	157,1	*	**

Примечание: * - кровь животных очень вязкая непригодна для анализа, животные вялые, малоподвижные, шерсть животных слипшаяся;

** - животные погибли ($P < 0,05$).

DEVELOPMENT OF THE MODEL OF EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERONEMIA IN MICE

S.A. Starovoitova, L.P. Babenko, L.N. Shynkarenko, L.N. Lazarenko, N.Ya. Spivak

The model of experimental hypercholesterolemia (increasing level of serum cholesterol) in mice was developed., that did not depend of : breed, age, sex and weight and let to increase the level of serum cholesterol in mice on 46,54%. The model can be used in practice medicine and biology for value of therapeutic effectiveness drugs that decrease the level of serum cholesterol.

Key words: hypercholesterolemia, cholesterinoze, hypocholesterolemia, the level of cholesterol.