

ПРИМЕНЕНИЕ ЖИВОТНЫХ СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

УДК 616-008.9+ 616-092.9

© М. А. Ковалева, М. Н. Макарова, А. И. Селезнева, В. Г. Макаров

Санкт-Петербургский институт фармации

Ключевые слова:

животные со спонтанной гипертензией; метаболический синдром; артериальное давление.

Резюме:

При использовании в течение 11 недель рациона «диета кафетерия» у спонтанно-гипертензивных животных удалось вызвать увеличение систолического артериального давления на 9%, устойчивую гипергликемию, повышение концентрации в крови триглицеридов и холестерина, а также увеличение относительного содержания висцерального жира. У нормотензивных животных линии Wistar-Kyoto длительное применение «диеты кафетерия» сопровождалось только увеличением в крови концентрации глюкозы, холестерина и триглицеридов. Таким образом, спонтанно-гипертензивные животные при применении высококалорийной диеты демонстрируют три патогенетических критерия метаболического синдрома: гипергликемию, гипертензию и висцеральное ожирение, что позволяет использовать эту модель для исследования препаратов, направленных на лечение метаболического синдрома.

ВВЕДЕНИЕ

По современным представлениям, метаболический синдром (МС) представляет собой совокупность гормональных и метаболических нарушений, взаимосвязанных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета, которые объединяет общий патофизиологический механизм — инсулинорезистентность (ИР). В настоящее время компоненты, составляющие МС, включают: абдоминально-висцеральное ожирение, ИР и гиперинсулинемию, нарушение толерантности к глюкозе, ранний атеросклероз, дислипидемию, артериальную гипертензию [1].

Как известно, для спонтанно-гипертензивных животных характерно наличие устойчивой гипертензии, что связано со структурными и функциональными изменениями в сосудах, детерминированными молекулярными механизмами аналогичными при развитии гипертонической болезни у человека. В то же время снижение калорийности рациона питания у животных со спонтанной гипертензией приводит к уменьшению артериального давления [2].

Поэтому целью нашего исследования явилось создание экономичной экспериментальной модели максимально соответствующей клиническим проявлениям МС, с использованием спонтанно-гипертензивных животных.

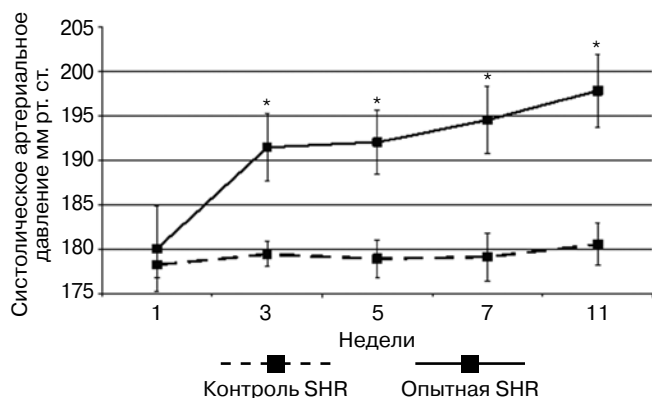
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 24 крысах-самцах линии SHR и 24 крысах-самцах линии Wistar-Kyoto средний вес животных к началу эксперимента составлял 250 ± 20 г.

Животные были получены из питомника лабораторных животных Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными ГОСТ Р 53434–2009 г., по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

Животные были распределены на 4 группы по 12 голов в каждой: 1 группа — нормотензивные крысы-самцы линии Wistar-Kyoto, получавшие стандартный рацион (контроль WKY), 2 группа — нормотензивные крысы-самцы линии Wistar-Kyoto, получавшие рацион «диета кафетерия» (опытная WKY), 3 группа — крысы-самцы со спонтанной гипертензией линии SHR, получавшие стандартный рацион (контроль SHR), 4 группа — крысы-самцы со спонтанной гипертензией линии SHR, получавшие рацион «диета кафетерия» (опытная SHR). Каждая группа включала две подгруппы по 6 голов: 1 — контроль артериального давления; 2 — анализ крови (контроль метаболических сдвигов). Данное деление было неизбежным, поскольку забор крови является инвазивной процедурой, ведущей к нарушению целостности сосудистой стенки, что влечет за собой искажение регистрируемых показателей давления.

Контрольные животные содержались на стандартном рационе, опытные получали высококалорийный рацион «диета кафетерия», содержащий такие продукты как чипсы, крекеры, шоколад и т. д., общей калорийностью 108 ккал на животное. Формирование МС проводили в течение 11 недель. В ходе данного эксперимента у животных еженедельно оценивали уровень глюкозы в периферической крови, массу тела, показатели липидного спектра, в частности, общий холестерин (ХС) и триглицериды



■ Рисунок 1. Динамика систолического артериального давления у животных со спонтанной гипертензией; * — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой SHR ($p < 0,05$, t — критерий Стьюдента)

(ТГ), один раз в две недели проводили контроль артериального давления не прямым методом — нагнетательную манжету со встроенным датчиком располагали на проксимальном отделе хвоста животного (AD Instruments, Австралия). Уровень глюкозы оценивали экспресс-методом при помощи глюкометра OneTouch Horizon («Lifescan», США), осуществляя забор капли крови из хвостовой вены. Показатели липидного обмена оценивали с использованием соответствующих тест-наборов («Витал-Диагностик», Россия) на биохимическом анализаторе «Stat Fax 1904 Plus» (США), забор крови осуществляли из хвостовой вены в пробирки типа эппендорф в объеме не менее 1 мл. Постмортально, спустя 11 недель эксперимента, у животных оценивали массу висцерального жирового депо.

Полученные результаты обрабатывались методами базисного статистического анализа в программе STATISTICA/w6.0 (StatSoft, Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено, что на фоне применения рациона «диета кафетерия», превышающего калорийность стандартного рациона вивария в 4 раза, у SHR животных наблюдалось увеличение САД за 11 недель на 9%

■ Таблица 1. Динамика уровня глюкозы в цельной крови крыс-самцов, ммоль/л, $M \pm t$, $n = 6$

| Группа | Недели | | | | | |
|-----------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 5 | 7 | 11 |
| Контрольная WKY | 5,3±0,3 | 4,5±0,2 | 5,1±0,3 | 4,6±0,2 | 5,2±0,2 | 5,1±0,1 |
| Опытная WKY | 5,9±0,3 | 6,4±0,3× | 6,0±0,6 | 6,8±0,7× | 8,2±0,5× | 8,8±0,6× |
| Контрольная SHR | 4,6±0,2 | 4,6±0,4 | 4,3±0,2 | 4,0±0,3 | 4,1±0,3 | 4,5±0,1 |
| Опытная SHR | 5,4±0,3 | 6,6±0,6* | 7,9±0,4* | 7,9±0,3* | 8,5±0,3* | 9,2±0,8* |

* — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой SHR ($p < 0,05$); × — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой WKY ($p < 0,05$), t — критерий Стьюдента

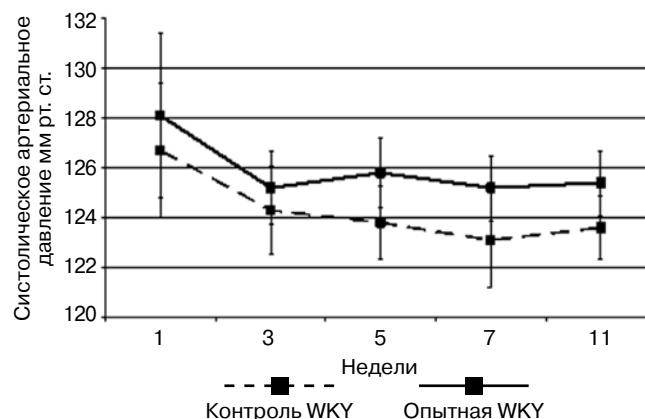
(рис. 1), наиболее выраженный рост АД наблюдали с 1 по 3 неделю. Полученные данные хорошо коррелируют с работой H. I. Olebogeng и соавторов [3], где отмечено повышение артериального давления на 1%, спустя 5 месяцев применения высококалорийной диеты (калорийность превышала нормальный рацион вивария в 1,5 раза), менее выраженные изменения, зарегистрированные этими авторами, вероятно, связаны с более низкой калорийностью рациона.

У нормотензивных животных линии WKY, применение рациона «диета кафетерия», в отличие от животных со спонтанной гипертензией, не привело к статистически значимому повышению САД по отношению к контрольным животным той же линии (рис. 2).

Параллельно с изменением АД наблюдалось увеличение концентрации глюкозы в периферической крови у SHR крыс, уже после первой недели применения рациона «диета кафетерия» на 43%, по отношению к контрольным SHR животным (табл. 1).

Гипергликемию в крови у нормотензивных и спонтанно-гипертензивных крыс-самцов наблюдали после первой недели применения рациона «диета кафетерия». Однако существенных отличий между опытными WKY и SHR группами не наблюдалось и к концу исследования значения уровня глюкозы превышали таковые у контрольных животных в 1,7–2 раза.

Для оценки липидного спектра, был проведен анализ уровня триглицеридов и общего холестерина в плазме крови (табл. 2).



■ Рисунок 2. Динамика систолического артериального давления у нормотензивных животных

■ Таблица 2. Динамика уровня триглицеридов и холестерина в сыворотке крыс-самцов, ммоль/л, $M \pm m$, $n = 6$

| Группа | ТГ | ХС |
|-----------------|------------|------------|
| Контрольная WKY | 0,64±0,05 | 1,31±0,13 |
| Опытная WKY | 1,36±0,17× | 3,03±0,18× |
| Контрольная SHR | 0,55±0,07 | 1,44±0,06 |
| Опытная SHR | 1,54±0,15* | 2,94±0,18* |

* — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой SHR ($p < 0,05$); × — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой WKY ($p < 0,05$), t — критерий Стьюдента

Ранее в нашей лаборатории были проведены исследования биохимических показателей у крыс линий SHR и Wistar [4, 5], которые показывают, что нормальные значения ТГ составляют в среднем 0,70–0,78 ммоль/л, а ХС 1,5–1,89 ммоль/л соответственно, при этом добиться выраженной триглицеридемии и гиперхолестеринемии у крыс крайне сложно, поскольку этот вид животных способен к синтезу α и β -мурихолевой желчной кислоты [6, 7], способствующей интенсивному выведению холестерина из организма [8]. Таким образом, увеличение концентрации ТГ и ХС в 2–3 раза свидетельствует о нарушении липидного обмена на фоне применения рациона «Диета кафетерия» как у нормотензивных животных, так и у крыс-самцов со спонтанной гипертензией.

Для оценки различий процессов ремоделирования жирового депо на фоне применения рациона «Диета кафетерия» было проведено измерение общей массы жировой клетчатки из четырех зон: парапанкреатической, мезентериальной, параренальной и эпидидимальной. Данные выражены с помощью массовых коэффициентов (МК) ($МК = (\text{масса висцерального жира}/\text{масса тела животного}) \times 100\%$) и приведены в таблице 3.

У нормотензивных животных на фоне применения рациона «диета кафетерия» не выявлено признаков висцерального ожирения. У крыс-самцов со спонтанной гипертензией, получавших рацион «диета кафетерия» на протяжении 11 недель, мас-

совые коэффициенты висцерального жирового депо в 1,5 раза превышали значения контрольных животных той же линии.

В работе [5], на фоне применения высококалорийной диеты увеличение массы висцерального депо у спонтанно-гипертензивных крыс было в 1,8 раз по отношению к контрольным животным той же линии, так же увеличение висцерального жира (в 1,5 раза по отношению к контрольным животным той же линии) наблюдали и у нормотензивных животных.

Данные результаты позволяют предположить, что в случае продления применения рациона «диета кафетерия» мы могли бы наблюдать более выраженные изменения липидного обмена. Однако увеличение сроков эксперимента является не всегда оправдано.

ВЫВОДЫ

Использование крыс линии SHR позволяет моделировать ключевые звенья патогенеза метаболического синдрома (гипергликемию и артериальную гипертензию).

Увеличение калорийности диеты по отношению к стандартному рациону вивария в 4 раза позволяет за 11 недель моделировать стабильный патологический процесс, схожий с клиническими проявлениями МС.

■ Таблица 3. Массовые коэффициенты висцерального жирового депо, $M \pm m$, $n = 6$

| Группа | МК |
|-----------------|-----------------------|
| Контрольная WKY | 5,1±1,2 |
| Опытная WKY | 5,5±0,7 |
| Контрольная SHR | 2,9±0,2× ³ |
| Опытная SHR | 4,5±0,7×* |

* — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой SHR ($p < 0,05$); × — различия статистически значимы по сравнению с контрольной WKY ($p < 0,05$); 3 — различия статистически значимы по сравнению с опытной группой WKY ($p < 0,05$), t — критерий Стьюдента

EXPEDIENCY OF APPLICATION OF ANIMALS WITH THE SPONTANEOUS HYPERTENSIA FOR MODELLING OF THE METABOLIC SYNDROME

Kovaleva M. A., Makarova M. N., Selezneva A. I., Makarov V. G.

◆ **Summary:** When used within 11 weeks of diet “cafeteria diet” in spontaneously-hypertensive animals could lead to an increase in systolic blood pressure by 9%, sustained hyperglycemia, increased blood concentrations of triglycerides and cholesterol, as well as an increase in the relative content of visceral fat. In normotensive animals line Wistar-Kyoto prolonged use of “cafeteria diet” was accompanied only by an increase in blood glucose, cholesterol and triglycerides. Thus, the spontaneously hypertensive animals, the application of high-calorie diet demonstrated by three criteria pathogenesis of the metabolic syndrome: hyperglycemia, hypertension and visceral obesity, which allows you to use the model for the study of drugs aimed at treatment of metabolic syndrome.

◆ **Key words:** spontaneously hypertensive rats; metabolic syndrome; arterial pressure.

◆ Информация об авторах

Ковалева Мария Александровна — младший научный сотрудник кафедры биохимии. Северо-западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д.47/33. E-mail: makarov@ipharm.sp.ru

Макарова Марина Николаевна — к. б. н., доцент кафедры биологической и общей химии. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет И.И. Мечникова» Минздравсоцразвития России. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47/33. Заместитель директора по науке, Санкт-Петербургский институт фармации. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47/5. E-mail: mmn2410@yandex.ru.

Селезнева А.И. — Санкт-Петербургский институт фармации. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47/5. E-mail: alexs79@mail.ru.

Макаров Валерий Геннадьевич — д. м. н., профессор кафедры биологической и общей химии. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздравсоцразвития России. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47/33. Генеральный директор, Санкт-Петербургский институт фармации. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47/5. E-mail: makarov@ipharm.sp.ru.

Kovaleva Maria Alexandrovna — junior researcher, Dept. Biochemistry. Saint-Petersburg institute of pharmacy. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/5. E-mail: makarov@ipharm.sp.ru

Makarova Marina Nikolayevna — PhD. Mechnikov North-West State Medical University. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/33. Deputy director in science, Saint-Petersburg Institute of Pharmacy. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/5. E-mail: mmn2410@yandex.ru.

Selezneva A. I. — Saint-Petersburg institute of pharmacy. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/5. E-mail: alexs79@mail.ru.

Makarov Valeriy Gennadyevich — PhD, ScD, professor. Mechnikov North-West State Medical University. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/33. General director, Saint-Petersburg institute of pharmacy. 195067, Saint-Petersburg, Piskarevskiy pr., 47/5. E-mail: makarov@ipharm.sp.ru.