

БИОХИМИЯ

УДК 616.153.915-008.9-097-092.4

ИММУННЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ

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

Тверская государственная медицинская академия

На экспериментальной модели гиперлипидемии у кроликов показано развитие атерогенной дислипидемии, а также нарастание уровней С-реактивного белка и эндогенных токсических субстанций – лактата и перекисей, также способствующих атерогенезу.

Ключевые слова: гиперлипидемия, экспериментальная модель, кролики.

Введение. Результаты клинических исследований последних лет свидетельствуют, что прогрессирование хронической сердечной недостаточности (ХСН) ассоциировано с развитием системного воспаления [1; 2], которое проявляется повышением уровней провоспалительных цитокинов, белков острой фазы, молекул межклеточной адгезии в системном кровотоке [4; 5; 7]. При этом остается открытым вопрос о факторах, которые индуцируют активацию иммунной системы. Учитывая, что ХСН часто развивается на фоне ишемической болезни сердца, имеющей в основе атеросклеротические изменения сосудов, представляется интересным изучить реакцию иммунной системы на ранних стадиях атерогенеза, предшествующих клиническим проявлениям сердечной недостаточности. В связи с этим целью исследования явилось определение в крови уровней факторов системного воспаления (эндотоксина (ЭТ), фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и С-реактивного белка (СРБ)) и изменений биохимических параметров (липидного спектра, лактата и общего количества перекисей) у кроликов при экспериментальной гиперлипидемии.

Материал и методика. Эксперимент выполнен на 20 беспородных кроликах-самцах, массой тела $3,75 \pm 0,1$ кг. Гиперлипидемию моделировали внутривенным введением 10% жировой эмульсии для парентерального питания «Липофундин» производства Braun Medical (Германия) ежедневно по 0,5 мл/кг в течение 30 дней [3]. При работе с кроликами руководствовались требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных [6].

Липидный спектр сыворотки крови (общий холестерин – ОХС,

триглицериды – ТГ, липопротеиды высокой плотности – ЛПВП) исследовали, используя реактивы производства Bioscon® (Германия). Рассчитывали концентрацию липопротеидов низкой плотности – (ЛПНП), очень низкой плотности – (ЛПОНП) и коэффициент атерогенности (КА). Уровень лактата сыворотки крови кроликов определяли энзиматическим методом с применением реактивов производства Bioscon® (Германия). Количественное определение общей концентрации перекисей в плазме крови проводили колориметрическим методом с использованием тест-системы «Oxystat» (Biomedica, Австрия). Биохимические исследования выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе Flexor E (Vital Scientific, Нидерланды).

Концентрации TNF α и СРБ в плазме крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем производства Bender MedSystems® (Австрия) и ООО «Хема» (Россия). Результаты ИФА учитывали с помощью микропланшетного мультидетектора Zenyth 1100 (Anthos, Австрия). Уровень эндотоксинемии определяли хромогенным LAL-тестом по конечной точке в плазме крови, используя тест-систему фирмы Charles River Endosafe® (США).

Лабораторные исследования крови выполняли дважды: исходное значение показателей – перед первым введением и конечный уровень – через сутки после последнего введения препарата. Показатели липидного спектра сыворотки крови контролировали также через одну, две и три недели от начала эксперимента.

Во всех выделенных группах рассчитывался средний уровень (M) и ошибка репрезентативности (m) анализируемых показателей. Достоверность изменения показателей в ходе эксперимента оценивалась по t-критерию Стьюдента для парных переменных.

Результаты и обсуждение. Проведенное исследование показало, что курс многократной липидной парентеральной нагрузки кроликов 10% жировой эмульсией, содержащей масло соевых бобов, яичный лецитин, глицерол, триглицериды со средней длиной цепи, вызвал развитие гиперлипидемии (таблица).

Изучение динамики параметров липидного спектра в процессе эксперимента показало, что начальные сдвиги показателей, за исключением ЛПНП, появились уже через неделю от начала процедуры (рисунок). Через две недели эксперимента произошли изменения концентраций всех изучаемых параметров: повышение уровней ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПОНП, КА и снижение ЛПВП. Спустя три недели наблюдений разнонаправленное изменение концентраций липопротеинов усугубилось, и к окончанию эксперимента выявленные изменения показателей стали статистически значимы. Разнонаправленное изменение уровней липопротеинов, произошедшее в

результате эксперимента, можно охарактеризовать как дислипидемию, формирующую условия для атерогенеза, о чем свидетельствует высоко достоверное повышение коэффициента атерогенности.

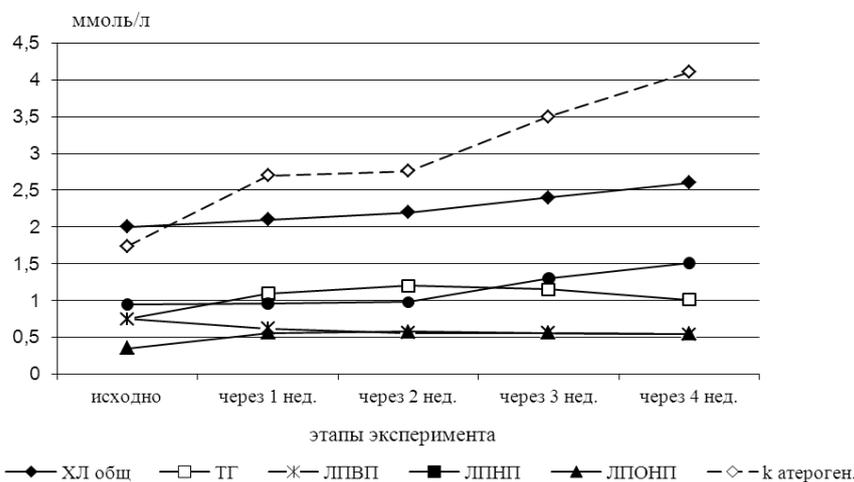
Таблица

Биохимические и иммунологические показатели при экспериментальной гиперлипидемии у кроликов

Показатель	Исходное значение	Значение после курса
ОХС, ммоль/л	2,0±0,18	2,6 ±0,2*
ТГ, ммоль/л	0,75±0,03	1,01±0,09*
ЛПВП, ммоль/л	0,75±0,05	0,54±0,04*
ЛПНП, ммоль/л	0,95±0,14	1,51±0,16*
ЛПОНП, ммоль/л	0,35±0,01	0,55±0,05*
КА, ед.	1,7± 0,12	4,1±0,41**
Лактат, ед/л	8,7±0,32	15,7±0,5**
Общее количество перекисей, кмоль/л	347±11	503±15**
Эндотоксин, ед/мл	0,04±0,003	0,05±0,003
TNFα, пг/мл	39±1,5	41±1,2
СРБ, мг/л	0,04±0,01	1,0±0,09**

Примечание. Статистическая значимость различий относительно предыдущей группы * – p<0,05; ** – p<0,01.

Изучение других биохимических и иммунологических показателей, проведенное параллельно с определением показателей липидного обмена, выявило достоверное нарастание уровней лактата, общего количества перекисей и СРБ. Концентрации ЭТ и TNFα при этом увеличились незначительно.



Р и с у н о к . Динамика показателей липидного спектра сыворотки крови кроликов при экспериментальной гиперлипидемии

Нарастание уровня СРБ при отсутствии реакции со стороны провоспалительного цитокина TNF α и индуктора иммунных реакций ЭТ можно объяснить повышением активности процессов перекисного окисления, в том числе, и липидов, в частности ЛПНП, которые, как известно, поглощаются макрофагами с образованием «пенистых клеток», участвующих в процессе атерогенеза. Активированные макрофаги, в свою очередь, формируют инициальное системное воспаление и включаются в атеросклеротический процесс.

Заключение. Показано, что у кроликов при экспериментальной гиперлипидемии развивается атерогенная дислипидемия, происходит нарастание уровней СРБ и эндогенных токсических субстанций – лактата и перекисей, также способствующих атерогенезу. Таким образом, гиперлипидемия за счет биохимических и иммунных сдвигов на самых начальных этапах атерогенеза может иметь значение для индукции системного воспаления, усугубляющегося по мере прогрессирования хронического системного воспаления.

Список литературы

1. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Журавлева Ю.А., Соломатина Л.В., Зубова Т.Э. Варианты развития хронического системного воспаления // Медицинская иммунология. 2009. Т. 11, № 2–3. С. 131–140.
2. Егорова Е.Н., Кузьмина М.И., Мазур В.В., Калинин М.Н., Мазур Е.С. Динамика факторов системного воспаления и аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида при лечении хронической сердечной недостаточности // Терапевтический архив. 2011. № 1. С. 56–59.
3. Калинин М.Н., Волков В.С., Заварин В.В. Атеросклероз: патофизиология, лечение, первичная профилактика. Тверь: РИЦ ТГМА, 2009. 215 с.
4. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Беленков Ю.Н., Фукс Д. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов // Кардиология. 1999. № 3. С. 66–73.
5. Anker S.D., Egerer K., Volk H-D., Koh W.J., Poole-Wilson P.A., Coats A.J.S. Elevated soluble CD 14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure // Am. J. Cardiol. 1997. Vol. 79, № 5. P. 1426–1430.
6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe, 1986. 51 p.
7. Levine B., Kalman J., Mayer I., Fillit H.M., Packer M. Elevated circulating level of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure // New Engl. J. Med. 1990. Vol. 223, № 3. P. 236–241.

**IMMUNE AND BIOCHEMICAL SHIFTS
AT THE EXPERIMENTAL LIPIDEMIA**

**E.N. Egorova, M.N. Kalinkin, O.V. Volkova,
M.A. Demidova, I.A. Savtchuk**

Tver State Medical Academy

An experimental model of a lipidemia in rabbits has shown a development of an atherogenous dyslipidemia, and also increase of levels of C-reactive protein and endogenous toxic substances – a lactate and the peroxides also promoting an atherogenesis.

Keywords: *a lipidemia, experimental model, rabbits.*

Об авторах:

ЕГОРОВА Елена Николаевна—кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: enegor@mail.ru

КАЛИНКИН Михаил Николаевич—доктор биологических наук, профессор кафедры патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: mnkalinkin@yahoo.com

ВОЛКОВА Ольга Викторовна—кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: ovvolkova@mail.ru

ДЕМИДОВА Марина Александровна—доктор медицинских наук, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, профессор, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: mademidova@rambler.ru

САВЧУК Ирина Александровна—аспирант кафедры управления и экономики фармации, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: iasavtchuk@mail.ru