

Атерогенные рационы питания и показатели липидного обмена у разных видов животных

М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, С. В. Ходько

АО «НПО «Дом фармации»

Абстракт

Развитие атеросклероза у различных животных при использовании диет-индуцированных моделей наиболее близко по этиологии и патогенезу к атеросклерозу человека. Диет-индуцированные модели атеросклероза в основном используются для оценки средств, которые препятствуют всасыванию холестерина, способствуют его деградации, обезвреживанию и выведению. Для моделирования атеросклероза разработан ряд базовых рационов питания для различных групп животных (рацион западного типа, высокожировой рацион, обогащенный холестерином, высокохолестериновые рационы и др.). Большинство атерогенных рационов для экспериментальных животных включает повышенное количество жира за счет разных (в основном животных) источников и холестерина; в некоторых также используется холевая кислота или холат натрия. За рубежом производителями выпускаются готовые стандартные атерогенные рационы питания для разных видов животных, в том числе для грызунов. Атерогенные рационы российского производства отсутствуют. Использование стандартных атерогенных рационов позволяет обеспечивать унификацию проводимых исследований.

При планировании исследований с использованием модели диет-индуцированного атеросклероза необходимо обоснование таких важнейших моментов, как выбор животных, выбор атерогенного рациона питания, выбор длительности исследований, выбор показателей для оценки атеросклеротических изменений и их коррекции. В обзоре представлен анализ существующих атерогенных рационов питания для различных видов животных и даны показатели липидного обмена у них на этих рационах (триглицериды, общий холестерин и липопротеиновые фракции холестерина). Как хорошо видно из представленных в статье данных, разные виды животных неодинаково реагируют на атерогенные рационы. При этом наиболее устойчивы к воздействию атерогенных рационов генетически не измененные мыши и крысы. Несколько сильнее на рационы питания, обогащенные жиром и/или холестерином, реагируют хомяки. Гораздо более чувствительны к действию таких рационов кролики, чилийские белки дегу и карликовые свиньи. Показано, что диет-индуцированные модели атеросклероза могут быть использованы в доклинических исследованиях для оценки лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище.

Ключевые слова: атерогенные рационы питания, триглицериды, холестерин, фракции холестерина, доклинические исследования.

Atherogenic diets and lipid metabolism in different animal species

M. N. Makarova, V. G. Makarov, S. V. Khodko

Research-and-manufacturing company "Home of Pharmacy" Closed Joint-Stock Company, Saint Petersburg, Russia

Abstract

The development of atherosclerosis in different animals when using a diet-induced models closest to the etiology and pathogenesis of human atherosclerosis. Diet-induced models of atherosclerosis are mainly used for the evaluation of the drugs that inhibit the absorption of cholesterol, promote its degradation, neutralization and excretion. For the simulation of atherosclerosis developed a number of basic diets for different animal groups (diet of the Western type,

high-fat diet enriched with cholesterol, high-cholesterol diets, etc.). Most of atherogenic diets for experimental animals include increased amount of fat due to different (mostly animal) sources and cholesterol; some is also used cholic acid or sodium cholat. Foreign manufacturers produced standard atherogenic diets for different animal species, including rodents. Atherogenic diets of Russian production do not exist. The use of a standard atherogenic diets allows you to standardize research.

When planning studies using the model of diet-induced atherosclerosis necessary justification for such important things as choice of animals, the choice of atherogenic diet, the choice of duration of studies, the choice of indicators for the assessment of atherosclerotic changes and their correction. The review presents an analysis of existing atherogenic diets for different animal species and the lipid metabolism they have on these diets (triglyceride, total cholesterol and lipoprotein fraction of cholesterol). As is well seen in the article data, different species react differently to atherogenic diets. The most resistant to the atherogenic diets is genetically no modified mice and rats. Slightly stronger on diets enriched with fat and/or cholesterol, react hamsters. Much more sensitive to the effects of such diets are rabbits, degus and miniature pigs. It was shown that diet-induced model of atherosclerosis can be used in preclinical studies for the evaluation of medicines and biologically active additives to food.

Keywords: *atherogenic diets, triglyceride, cholesterol of blood plasma, fractions of cholesterol, pre-clinical studies.*

Введение

Существует большое количество моделей атеросклероза (механическое или химическое повреждение интимы сосуда, генно-модифицированные, диабетические и др.) [1]. Однако в связи с тем, что в этиологии атеросклероза у человека существенное значение имеет неправильное питание, наиболее адекватными являются диет-индуцированные модели атеросклероза на различных группах животных, от мышей до свиней и обезьян. Диет-индуцированные модели атеросклероза в основном используются для оценки средств, которые препятствуют всасыванию холестерина, способствуют его деградации, обезвреживанию и выведению [1], однако могут применяться и в других случаях. Такие показатели плазмы крови, как триглицериды (ТГ), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) и высокой плотности (ХС-ЛПВП), позволяют судить о липидном обмене и о влиянии на него как атерогенных рационов, так и исследуемых лечебных препаратов.

Рационы питания, используемые для моделирования атеросклероза, и показатели обмена липидов на их фоне у разных видов животных

Первые экспериментальные диет-индуцированные модели атеросклероза появились в России. В 1908 году А. И. Игнатовский обнаружил атеросклеротические изменения в аорте кроликов при кормлении их животной пищей, состоящей из мяса, яиц и молока [2]. Опираясь на исследования А. И. Игнатовского, Н. Н. Аничков и С. С. Халатов вызвали атеросклероз аорты у кроликов, добавляя в их рацион холестерин в растительном масле, о чем в 1912 году на заседании Общества русских

врачей в Санкт-Петербурге ими были сделаны соответствующие сообщения [2]. С тех пор началось создание моделей атеросклероза у разных видов животных с использованием различных количеств как жира, так и холестерина.

Начиная с 1960-х годов для моделирования атеросклероза у мышей линии C57BL/6 использовался рацион с очень высоким содержанием жира (30%), холестерина (5%) и хеновой кислоты (2%), который оказался токсичен, вызывая множество побочных эффектов (интенсивная потеря массы тела, рост инфекций, ранняя смерть и др.) [3]. Позже, как указывают J. Jawień et al. [3], этот рацион был модифицирован коллективом исследователей во главе с В. Paigen, которые уменьшили долю атерогенных компонентов – 15% жира, 1,25% холестерина и 0,5% хеновой кислоты (рацион Пэйгена). Рацион Пэйгена широко использовался в изучении атеросклероза, однако патология поражения не идеально подходила в качестве образца для атеросклероза человека. Так, формирование атеросклеротического поражения на диет-индуцированной модели с рационом Пэйгена даже при длительном кормлении (от 14 недель до 9 месяцев) ограничивалось дугой аорты. Повреждения были совсем небольшие – всего от нескольких сотен до нескольких тысяч квадратных микрон, и они почти полностью состояли из пенных клеток с малой вероятностью последующего включения клеток гладких мышц. Таким образом, экспериментальная модель на рационе Пэйгена в значительной степени ограничивалась стадией отложения жира, и далее этот процесс не прогрессировал подобно промежуточным атеросклеротическим поражениям у человека [3]. Кроме того, большая часть мышей быстро погибала на таком высокохолестериновом атерогенном рационе и у них не успевали развиваться атеросклеротические повреждения, а у тех, кто выживал, очаг поражения не был похож на атеросклероз у человека. Поэтому

мышы в течение последующих многих лет не использовались в качестве экспериментальной модели атеросклероза.

В 1990-х годах были выведены породы apoE-knockout и LDL receptor-knockout мышей, у которых липидный профиль, обмен липидов и формирование атеросклеротической бляшки были более близки к таковым у человека. Одновременно Т. Науек

et al. (цит. по J. Jawień, 2004) [3] разработали для исследований на мышах более физиологичный рацион, чем рацион Пэйгена, типа западного питания (табл. 1), который был близок по составу к рациону питания среднестатистического американца и состоял из 21% жира, 0,15% холестерина и не содержал холевой кислоты, а также другие щадящие рационы (табл. 1). При скормливании

Таблица 1. Некоторые часто используемые атерогенные рационы [5]

Название рациона	Состав рациона	Примечание
РЗТ	21% молочного жира, 0,2% общего холестерина	Наиболее часто используемый рацион
Модифицированный РЗТ	4,4% жира, 1,0% холестерина	Снижение инсулинорезистентности по сравнению с РЗТ
Модифицированный РЗТ	15,8% жира, 1,25% холестерина	Один из рационов с максимальным содержанием холестерина
Рацион с пальмовым маслом	10% пальмового масла, 0,1% холестерина	Одинаковое количество мононенасыщенных и насыщенных жирных кислот
Полусинтетический рацион низко- и высокожировой	2–18% жира, 0–1,25% холестерина	Используется для изучения влияния холестерина и разных видов жиров рациона на развитие атеросклероза
Рацион Пэйгена	15% масла какао, 1,25% холестерина, 1% кукурузного масла, 0,5% холевой кислоты	Холевая кислота может вызывать воспаление

Примечание: РЗТ – рацион западного типа.

рациона западного типа (РЗТ) диким мышам отмечалось двукратное повышение уровня холестерина в плазме, а у apoE-knockout мышей – более чем трехкратное превышение, в основном за счет холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП). Кроме того, на этом рационе формирование атеросклеротической бляшки значительно ускорялось и так же быстрее увеличивались ее размеры. Так, у 10-недельных животных, получавших РЗТ всего 5 недель, очаги поражения были в 3–4 раза больше тех, которые наблюдались у мышей, получавших корм с низким содержанием жиров [3]. Еще более выраженная предрасположенность к атеросклерозу оказалась у дважды нокаутной (apoE/LDLr-DKO) линии мышей, у которых атеросклероз развивался даже на обычном неатерогенном рационе [3]. Рацион Пэйгена в настоящее время, хотя и редко, но используется для быстрого (достаточно 4 недель) моделирования атеросклероза при исследованиях на apoE-дефицитных мышах [4]. В табл. 1 представлены некоторые часто используемые в экспериментах атерогенные рационы.

Использование более низкожировых рационов позволяет решить проблему выживания;

использование инбредных линий, а не выведенных случайным образом мышей, – проблему воспроизводимости результатов (использование восприимчивых линий приводит к тому, что у большинства мышей развиваются атеросклеротические поражения); удлинение времени эксперимента позволяет получить фиброзные нарушения в бляшке, соответствующие таковым у человека [3].

Быстрое развитие атеросклероза, сопровождающееся смертью от сердечно-сосудистой патологии, наблюдается у дважды нокаутных (SRB1-/-, ApoE-/-) гомозиготных мышей на обычном стандартном рационе питания [6]. В последнее время было показано, что наиболее близкими к человеку по стадийности развития атеросклероза являются модели на мышах линии ApoE-/-Fbn1C1039G+/- [7]. У этой породы мышей отмечается высокий уровень холестерина (10,35–15,52 ммоль/л) на стандартном рационе, резко увеличивающийся (более 25,9 ммоль/л) на РЗТ. Кроме того, у них так же, как и у человека, развиваются инфаркт миокарда, инсульт и внезапная смерть из-за отрыва части бляшки. Важным является и более быстрое возникновение и развитие атеросклеротической бляшки по сравнению с другими генетически модифицированными линиями мышей. По данным

других исследователей, наименьшая смертность на атерогенных рационах отмечалась у мышей трех линий – PDZK1/аpoE dKO, eNOS/аpoE dKO и Akt1/аpoE dKO [8].

Для ускоренного воспроизведения атеросклероза у LDLR-/- и ApoE-/- мышей в настоящее время используются сверхвысокожировые рационы. Так, A. Neuhofer et al. (2014) [9] начинали давать с 9-недельного возраста в течение 16 недель LDLR-/- мышам рацион, содержащий 60% ккал за счет жира (преимущественно лярда (англ. lard) – свиного топленого жира) и 20% ккал за счет углеводов, в том числе 6,8% сахарозы, и обогащенный 0,15%

холестерина. Обогащение такого высокожирового рациона сахарозой (17,5% ккал) еще интенсивнее ускоряло формирование атеросклеротической бляшки. При этом в качестве контроля исследователи использовали рацион с низким содержанием жира (10% ккал) [9].

В настоящее время рядом зарубежных фирм производятся стандартные атерогенные рационы питания для животных, некоторые из них представлены в табл. 2.

Следует отметить, что в современных доклинических исследованиях гипохолестеринемических и противоатеросклеротических соединений наряду

Таблица 2. Рационы американской компании Research Diets, предназначенные для моделирования атеросклероза у грызунов

Составные компоненты	Рационы					
	AIN-76A		RD Western Diet		High fat rodent diet with 1,25% cholesterol	
	г%	ккал%	г%	ккал%	г%	ккал%
Белки	20,3	20,8	20	17	23	20
Углеводы	66,0	67,7	50	43	45	40
Жиры	5,0	11,5	21	40	20	40
Общая энергоценность, ккал / 100 г	390,0	100,0	470	100	450	100
Ингредиенты	г	ккал	г	ккал	г	ккал
Казеин	200	800	195	780	200	800
Метионин	3	12	3	12	–	–
L-цистеин	–	–	–	–	3	12
Кукурузный крахмал	150	600	50	200	212	848
Мальтодекстрин			100	400	71	284
Сахароза	500	2000	341	1364	113	452
Клетчатка	50	0	50	0	50	0
Соевое масло	50	450	–	–	25	225
Безводный молочный жир*	–	–	200	1800	–	–
Масло какао	–	–	–	–	155	1395
Минеральная смесь S10021	35	0	35	0	10	0
Карбонат кальция	–	–	4	0	5,5	0
Дикальция фосфат	–	–	–	–	13	0
Цитрат калия	–	–	–	–	16,5	0
Смесь витаминов V10001	10	40	10	40	10	40
Холина битартрат	2	0	2	0	2	0
Холестерин	–	–	1,5	0	11,25	0
Этоксиквин	–	–	0,04	0	–	–
Общее количество	1000	3902	1001,54	4686	897,35	4056

Примечание: * безводный молочный жир, как правило, содержит около 0,3% холестерина.

с генетически измененными мышами широко используются и обычные мыши линий C57BL/6 и BALB/c (табл. 3). При этом, как видно из таблицы, атерогенные рационы за довольно короткое время (8–15 недель) способствуют существенному повышению содержания общего холестерина в основном за счет ХС-ЛПНП.

У диких крыс при использовании РЗТ в течение длительного времени (52 недели) происходят незначительные изменения показателей липидного обмена (табл. 4). Более существенные изменения

как общего холестерина, так и липопротеиновых фракций холестерина, причем за гораздо более короткое время (4–6 недель), выявляются у крыс линий Wistar и Sprague-Dawley (табл. 4).

Введение в стандартный рацион для крыс линии Sprague-Dawley 1% холестерина, 10% лярда и 0,3% холата натрия способствовало постепенному достоверному повышению в динамике за 28 дней как общего холестерина плазмы крови, в основном за счет ХС-ЛПНП, так и триглицеридов (табл. 5) [19].

Таблица 3. Показатели липидного обмена у разных линий мышей на различных рационах (ммоль/л)

Показатели	Рационы							
	Стандартный				1% холестерин, 0,5% холевая кислота	1,25% холестерин, 0,5% холевая кислота	1,25% холестерин, 0,5% холат натрия	
	Линии мышей							
	C57BL/6		BALB/c	C57BL/6CR	C57BL/6		BALB/c	C57BL/6CR
ТГ	1,47 ± 0,11	1,37 ± 0,09	0,61 ± 0,09	0,33 ± 0,03	0,56 ± 0,13	0,76 ± 0,06	0,28 ± 0,06	0,07 ± 0,02
Общий ХС	3,28 ± 0,10	3,47 ± 0,07	1,89 ± 0,05	1,78 ± 0,75	4,17 ± 0,74	9,08 ± 0,12	4,14 ± 0,36	7,68 ± 0,83
ХС-ЛПВП	2,51 ± 0,10	3,01 ± 0,07	–	1,09 ± 0,03	1,39 ± 0,21	1,88 ± 0,08	–	0,62 ± 0,05
ХС-ЛПНП	0,54 ± 0,05	0,58 ± 0,44	–	–	–	6,54 ± 0,15	–	–
ХС-ЛПОНП	0,22 ± 0,026	–	–	–	–	–	–	–
Время на рационе	2 недели	8 недель	14 недель	14 недель	15 недель	8 недель	14 недель	14 недель
Источник	[11]	[12]	[13]	[13]	[14]	[12]	[13]	[13]

Примечание: ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности.

Таблица 4. Показатели липидного обмена у разных линий крыс на различных рационах (ммоль/л)

Показатели	Рационы							
	Стандартный				21% жир, 1,25% холестерин	10% лярд, 0% сухой желток	4% холестерин, 1% холевая кислота	20% лярд, 1% холестерин
	Линии животных							
	Дикие	Sprague-Dawley		Wistar	Дикие	Sprague-Dawley		Wistar
ТГ	–	1,24 ± 0,17	0,37 ± 0,02	0,41 ± 0,04	–	1,87 ± 0,28	0,73 ± 0,03	0,65 ± 0,08
Общий ХС	–	2,53 ± 0,12	1,66 ± 0,06	2,33 ± 0,15	–	3,56 ± 0,25	2,52 ± 0,04	3,63 ± 0,16
ХС-ЛПВП	1,78 ± 0,28	1,52 ± 0,13	0,76 ± 0,02	0,50 ± 0,03	1,40 ± 0,13	1,32 ± 0,08	0,50 ± 0,07	0,44 ± 0,02
ХС-ЛПНП	2,43 ± 0,41	0,45 ± 0,03	1,07 ± 0,04	0,93 ± 0,05	3,60 ± 0,31	1,39 ± 0,08	2,35 ± 0,05	1,09 ± 0,05
ХС-ЛПОНП	0,26 ± 0,03	–	–	0,83 ± 0,04	0,75 ± 0,16	–	–	0,95 ± 0,04
Время на рационе	52 недели	6 недель	4 недели	4 недели	52 недели	6 недель	4 недели	4 недели
Источник	[15]	[16]	[18]	[17]	[15]	[16]	[18]	[17]

Примечание: ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности.

Таблица 5. Динамика показателей липидного обмена (ммоль/л) у крыс на высокохолестериновом рационе ($M \pm m$)

Показатели	День 0	День 7	День 14	День 21	День 28
Общий ХС	$4,72 \pm 0,16$	$4,91 \pm 0,44$	$5,20 \pm 0,32^a$	$5,40 \pm 0,42^a$	$5,48 \pm 0,43^a$
ХС-ЛПНП	$2,46 \pm 0,13$	$2,55 \pm 0,32$	$3,14 \pm 0,30^a$	$3,11 \pm 0,27^a$	$3,20 \pm 0,34^a$
ТГ	$0,52 \pm 0,06$	$0,51 \pm 0,07$	$0,55 \pm 0,07^a$	$0,57 \pm 0,08^a$	$0,59 \pm 0,12^a$

Примечание: ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ^a $P < 0,05$ в сравнении с нулевым днем.

Таблица 6. Некоторые часто используемые атерогенные рационы в исследованиях на кроликах

Название рациона	Состав рациона	Ссылка
Высокохолестериновый	Стандартный рацион, дополненный 0,5; 1,0 или 1,5% холестерина	[20], [22]
Высокожировой и высокохолестериновый	Стандартный рацион, дополненный 5% лярда и 0,25% холестерина	[23]
Высокожировой и высокохолестериновый	Стандартный рацион, дополненный 5% кукурузного масла и 1% холестерина	[21]
РЗТ	1% холестерина, 8% лярд и 7% порошок яичного желтка	[20]
Высокохолестериновый с холевой кислотой	Стандартный рацион, дополненный 1% холестерина и 0,5% холевой кислоты	[24]
Полусинтетический высокожировой и высокохолестериновый	Стандартный полусинтетический рацион, дополненный 12–13% кокосового масла, 1–2% кукурузного масла и 0,1–0,2% холестерина	[25]

Моделирование атеросклероза у кроликов проводят обычно на 8–20-недельных животных в течение 6–8, реже до 24 недель [20, 21], используя разные варианты атерогенных рационов (табл. 6).

У новозеландских белых кроликов, получающих обычный (стандартный) рацион, содержание холестерина в плазме крови находится в пределах 1,9–2,3 ммоль/л (табл. 7). Вместе с тем добавление к стандартному рациону холестерина повышает у них содержание общего холестерина в плазме крови в 10 и более раз (табл. 7). Причем, как видно из этой же таблицы, показатели липидного обмена у новозеландских кроликов на фоне атерогенных рационов существенно изменяются в динамике в зависимости от срока применения рациона. При этом, как указывают В. Emini Veseli et al. [7], для образования атеросклеротических бляшек на рационах, содержащих более 1% холестерина, достаточно 8 недель. Однако строение таких бляшек существенно отличается от наблюдаемых у человека, поэтому в исследованиях часто используют более длительное кормление (20–26 недель) рационами, в которых содержание холестерина не превышает 0,3%. При этом содержание холестерина в плазме

крови достигает 20,7 ммоль/л и более, а к концу наблюдения возможна кальцификация бляшки, что весьма схоже с протеканием атеросклероза у человека [7].

Показатели липидного обмена у новозеландских кроликов на фоне рациона с 5% лярда и 0,25% холестерина существенно изменяются в динамике в зависимости от срока применения рациона (табл. 7) [23].

Некоторые исследователи указывают на высокую эффективность моделей атеросклероза на фоне рациона с высоким содержанием жира и сахарозы на разных видах животных – мышах линии C57BL/6, кроликах и мини-свиньях [28].

В моделях атеросклероза на хомяках чаще всего используется РТ, содержащий разные количества жира и холестерина [20]: 0,2% холестерина и 10% кокосового масла; 0,12% холестерина, 10% кокосового масла и 1% сафлорового масла; 0,2% холестерина и 10% кокосового масла; 0,2% холестерина, 20% гидрогенизированного кокосового масла и 2% сафлорового масла. Иногда применяют стандартные или полусинтетические рационы питания для грызунов, обогащая их либо кокосовым



Таблица 7. Показатели липидного обмена у новозеландских кроликов на различных рационах (ммоль/л)

Рационы	Показатели					Источник
	ТГ	Общий ХС	ХС-ЛПВП	ХС-ЛПНП	Время на рационе	
Стандартный	–	2,07 ± 0,60	–	1,13 ± 0,54	13 недель	[26]
	0,63 ± 0,29	2,28 ± 1,11	1,09 ± 0,44	–	12 недель	[22]
	0,40 ± 0,03	1,91 ± 0,21	6,89 ± 0,61	5,16 ± 0,61	4 недели	[27]
	–	3,29 ± 0,07	0,63 ± 0,09	–	2 недели	[23]
5% лярд, 5% сухой желток, 2% холестерин	–	24,15 ± 5,36	–	10,73 ± 3,32	8,5 недель	[26]
	–	34,74 ± 10,40	–	31,62 ± 3,68	13 недель	[26]
1% холестерин	1,51 ± 0,56	25,32 ± 7,09	13,09 ± 7,22	–	12 недель	[22]
	1,90 ± 0,18	17,82 ± 0,52	0,94 ± 0,09	16,06 ± 0,54	4 недели	[27]
5% лярд, 0,25% холестерин	–	8,86 ± 1,15	1,45 ± 0,14	–	12 недель	[23]
	–	11,76 ± 0,28	1,20 ± 0,19	–	24 недели	[23]

Таблица 8. Пример состава нормального и атерогенного рационов для хомяков (г/кг рациона)

Компоненты	Нормальный рацион (контроль)	Атерогенный рацион
Казеин	200	139
Кукурузный крахмал	650	680
Клетчатка	50	50
Соевое масло	50	80
Минералы	35	35
Витамины	10	10
L-цистеин	3	1
Холина битартрат	2	2
Холестерин		2
Холевая кислота		1

маслом (10–20%), сафлоровым маслом (1–2%) и холестерином (0,1–0,12%), либо сливочным маслом (20%) и холестерином (0,12%), либо пальмовым маслом (10%) и холестерином (0,1%) [25]. В свою очередь, исследователи из Тайваня для моделирования атеросклероза у золотистых сирийских хомяков использовали в течение 8 недель полусинтетический рацион для грызунов, разработанный Американским институтом питания (AIN-76), с увеличением в нем количества жира и обогащением холестерином и холевой кислотой (табл. 8) [29]. При этом у них в плазме крови на 62% увеличивалось содержание триглицеридов,

на 80% – общего холестерина и в 2 раза ХС-ЛПНП (табл. 9). Вместе с тем W. Yin с соавт. [11] приводят более высокие показатели липидного обмена у хомяков как на обычном, так и на высокожировом рационе, хотя тенденция к его ухудшению сохраняется: в 2,4 раза увеличивается содержание триглицеридов, на 30% повышается уровень общего ХС и т.п. (табл. 9). По данным С. Н. Chiu et al. (2006) [30], увеличение в стандартном для грызунов рационе AIN-76 в 2 раза растительного масла и обогащение его 5% холестерина в течение 8 недель также приводило к существенным изменениям в концентрации липидов у хомяков (табл. 9).

Таблица 9. Изменение показателей концентрации липидов и липопротеинов в ммоль/л у хомяков на атерогенном рационе ($M \pm m$)

Показатели	Хомяки на стандартном рационе (контрольные)		Хомяки на рационах с высоким содержанием жира и/или ХС		
Триглицериды	0,89 + 0,25	2,55 + 0,12	1,45 + 0,28	6,03 + 0,49	1,54 + 0,04
Общий ХС	2,3 + 0,33	3,65 + 0,18	4,16 + 0,51	4,76 + 0,10	5,17 + 0,91
ХС-ЛПВП	1,39 + 0,22	2,43 + 0,16	2,13 + 0,48	2,84 + 0,08	2,44 + 0,58
ХС-ЛПНП	1,03 + 0,41	0,80 + 0,05	2,21 + 0,84	1,01 + 0,08	2,08 + 0,53
ХС-ЛПОНП	–	0,41 + 0,026	–	0,91 + 0,05	–
Время на рационе	8 недель	2 недели	8 недель	2 недели	1 месяц
Источники	[29]	[11]	[29]	[11]	[30]

Примечание: ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности.

Таблица 10. Изменение показателей липидного и углеводного обмена у чилийских белок дегу на рационе с пальмовым маслом и высоким содержанием холестерина за 16 недель ($M \pm m$)

Показатели, ммоль/л	Стандартный рацион		Атерогенный рацион	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
Триглицериды	2,24 + 0,15	2,31 + 0,21	9,95 + 2,59	11,75 + 1,44
Общий холестерин	5,12 + 0,34	5,28 + 0,49	22,79 + 2,59	26,90 + 3,28
ХС-ЛПОНП	0,36 + 0,05	0,54 + 0,08	4,60 + 1,42	6,54 + 1,47
ХС-ЛПНП	1,60 + 0,13	1,76 + 0,18	14,72 + 2,61	15,62 + 3,67
ХС-ЛПВП	3,18 + 0,21	2,95 + 0,26	3,52 + 0,47	4,63 + 0,70
Глюкоза	13,16 + 1,17	16,38 + 2,05	11,70 + 0,56	12,94 + 0,40

Примечание: ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности.

Для моделирования нарушений липидного обмена и атеросклероза у чилийской белки дегу (лат. *Octodon degus*) 10–12-месячного возраста использовали стандартный для грызунов рацион питания с дополнительным введением холестерина в количестве 0,25% и пальмового масла – 6% (изготовлен Research Diets, Inc., New Brunswick, NJ) [31]. Указанный рацион вызывал существенные изменения показателей липидного обмена по сравнению с животными, получавшими стандартный рацион (табл. 10). После 16-недельного пребывания на атерогенном рационе атеросклеротические изменения наблюдались как в аорте, так и в брахиоцефальных артериях. Кроме того, было показано, что даже стандартный для грызунов рацион вызывает у дегу гипергликемию, которая может ускорять развитие атеросклероза, что является одним из преимуществ моделей атеросклероза на чилийской белке дегу.

Свиньи, в том числе и карликовые, являются отличной моделью для исследования атеросклероза, в связи с тем что развитие, морфология и функция сосудистой системы у свиней напоминают таковые у человека [28]. Свиньи, аналогично людям, всеядны, у них спонтанное развитие атеросклероза также растет с возрастом, они имеют сходный липидный профиль и метаболизм липидов. Для моделирования атеросклероза S. Xi и соавт. [28] кормили карликовых свиней в течение 6 месяцев рационом с высоким содержанием жира и сахарозы без обогащения холестерином и холевой кислотой (табл. 11), что способствовало развитию у них жировых отложений в аорте.

Датские ученые для моделирования атеросклероза у геттингенских мини-свиней использовали специальный высокожировой рацион, содержащий 1–2% холестерина (5B4L, TestDiet®, St. Louis, Missouri, US) [32], контрольные животные

**Таблица 11.** Состав атерогенного рациона для карликовых свиней

Компоненты	Контрольный рацион (%)	Рацион с высоким содержанием жира и сахарозы (%)
Рис	64,11	33,98
Пшеничные отруби	10,51	5,57
Соевый шрот (мука)	11,98	6,35
Мука (шрот) семян хлопчатника	4	2,12
Рапсовая мука (шрот)	4	2,12
Рыбный порошок	2	1
Костный порошок	1,1	0,5
Кальция бикарбонат	0,8	0,8
Соль	0,5	0,5
Микроэлементы	0,5	0,5
Витамины	0,5	0,5
Свиной смалец (лярд)	–	10
Сахароза	–	37
Общая энергия (Мдж/кг)	16,48	18,46
Метаболизируемая энергия (Мдж/кг)	13,34	15,95
Общий белок (%)	15,98	16,48
Общий жир (%)	4,71	12,50
Углеводы (%)	62,19	69,59

Таблица 12. Содержание общего холестерина и его фракций на 12-й неделе эксперимента у карликовых свиней на атерогенном рационе

Группы животных	Холестерин, ммоль/л				Соотношение ЛПНП/ЛПВП
	Общий	ЛПОНП	ЛПНП	ЛПВП	
Контрольная	2,04 ± 0,08	0,02 ± 0,01	0,89 ± 0,09	0,84 ± 0,05	1,08 ± 0,1
На атерогенном рационе	9,26 ± 1,47*	0,08 ± 0,02*	5,10 ± 1,09*	3,29 ± 0,31*	1,53 ± 0,2*

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой, ЛПВП – липопротеины высокой плотности, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности.

получали стандартный рацион (Mini-pig diet, Special diet services, Essex, UK).

При сравнении показателей липидного профиля карликовых свиней контрольной группы, находившихся на низкожировом (3% жира) рационе компании «Пурина» (Purina Mills, Inc., St. Louis, MO), и группы на атерогенном рационе питания (21% жира, 2% холестерина и 0,7% холата натрия) установлено достоверное увеличение содержания

в плазме крови натошак как общего холестерина, так и его фракций, особенно ЛПНП (табл. 12) [33].

При моделировании атеросклероза у обезьян (макак) используют стандартный рацион питания, дополненный 6% кукурузного масла и 0,5% холестерина, в течение 7–24 месяцев [34].

Выбор модели атеросклероза в зависимости от целей исследования

Диет-индуцированные модели атеросклероза в основном используются для оценки препаратов, которые препятствуют всасыванию холестерина, способствуют его деградации, обезвреживанию и выведению. Так, например, на холестериновой модели атеросклероза у кроликов было предсказано и исследовано холестеринснижающее действие статинов и эзетимиба [21]. Модель на хомяках на рационе с высоким содержанием жира использовалась для оценки гиполипидемического эффекта симвастатина [11].

Для оценки БАД противоатеросклеротического действия используют преимущественно диет-индуцированные модели на ароЕ-дефицитных мышах, золотистых сирийских хомяках и новозеландских кроликах [20]. При этом M. Jove et al. [20] приводят результаты метаанализа влияния на атеросклероз большого числа исследований таких БАД, как конъюгированная линолевая кислота, бетаин, изофлавоноиды, альфа-токоферол, экстракт черники, астаксантин и др. В свою очередь, P. L. Mitchell et al. [25] использовали диет-индуцированные модели атеросклероза на кроликах, хомяках и мышах для оценки лечебно-профилактического влияния конъюгированной линолевой кислоты.

Довольно широко используются крысы линии Wistar и Sprague-Dawley для предварительной оценки лечебно-профилактического действия различных соединений (полифенолов чая, проантоцианов виноградных косточек и др.) [17, 35]. Диет-индуцированные модели на генетически модифицированных крысах могут быть полезны для выяснения взаимосвязи между нарушением толерантности к глюкозе и формированием атеросклеротических бляшек [15].

Заключение

Таким образом, диет-индуцированные модели атеросклероза на животных являются наиболее адекватными этиологии и патогенезу атеросклероза у человека. Для этих целей в настоящее время разработан ряд базовых рационов питания для различных групп животных (рацион западного типа, высокожировой рацион, обогащенный холестерином, высокохолестериновые рационы и др.). Большинство атерогенных рационов для экспериментальных животных включает повышенное количество жира за счет разных (в основном животных) источников и холестерина; в некоторых также используется и холевая кислота. Как отмечалось выше, зарубежными производителями выпускаются готовые стандартные атерогенные рационы питания для разных видов животных, в том числе для грызунов. К сожалению, такие рационы российского производства отсутствуют.

При планировании эксперимента по диет-индуцированному атеросклерозу необходимо обоснование таких важнейших деталей, как:

- выбор животных;
- выбор атерогенного рациона питания;
- выбор длительности исследований;
- выбор показателей для оценки атеросклеротических изменений и их коррекции.

Как хорошо видно из представленных в статье данных, разные виды животных неодинаково реагируют на атерогенные рационы. При этом самыми устойчивыми к воздействию атерогенных рационов из наиболее часто используемых животных являются генетически не измененные мыши и крысы. Несколько сильнее на обогащение рациона питания жиром и холестерином реагируют хомяки. Гораздо более чувствительными к действию таких рационов являются кролики, чилийские белки дегу и карликовые свиньи.

Наряду с этим также важно, чтобы на фоне применения атерогенного рациона у животных была хорошая выживаемость и в наименьшей степени проявлялись другие эффекты на организм, не связанные с развитием атеросклероза, например, токсическое поражение печени. Необходимо учитывать длительность формирования атеросклероза у выбранного вида животных и насколько существенные сдвиги в липидном обмене у этого вида могут развиваться.

Выбор атерогенного рациона, который будет использован при формировании модели заболевания, также крайне важен с точки зрения воспроизводимости модели, получения однородных изменений показателей липидного обмена у всех животных. Необходимо оценить возможность развития токсических эффектов атерогенного рациона, их качественные характеристики и влияние на изучаемые параметры.

Следует отметить, что все приведенные в настоящем обзоре атерогенные рационы способствовали разной степени выраженности изменений липидного обмена, выражавшихся в повышении содержания в плазме крови триглицеридов, общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой и очень низкой плотности, что в итоге приводило к развитию атеросклероза у подопытных животных. Как показывает анализ литературы, диет-индуцированные модели атеросклероза широко используются в доклинических исследованиях для оценки лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище. При этом улучшение показателей метаболизма липидов является одним из важнейших критериев эффективности изучаемых препаратов.

Конфликт интересов

Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.



Список литературы

1. Priyadbarsini RP. Animal models to evaluate antiatherosclerotic drugs. *Fundam Clin Pharmacol*. 2015 Aug;29(4):329–40. doi: 10.1111/fcp.12130. Epub 2015 Jun 29.
2. Klimov AN, Parfenova NS, Golikov JuP. The 100th anniversary of cholesterol model of atherosclerosis. *Biomed chem*. 2012;58(1):5–11. Russian (Климов АН, Парфенова НС, Голиков ЮП. К 100-летию создания холестериновой модели атеросклероза // Биомед. хим. 2012;58(1):5–11).
3. Jawień J, Nastalek P, Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol*. 2004 Sep;55(3):503–17.
4. Jojima T, Uchida K, Akimoto K, Tomotsune T, Yanagi K, Iijima T, Suzuki K, Kasai K, Aso Y. Liraglutide, a GLP1 receptor agonist, inhibits vascular smooth muscle cell proliferation by enhancing AMP-activated protein kinase and cell cycle regulation, and delays atherosclerosis in ApoE deficient mice. *Atherosclerosis*. 2017 Jun;261:44–51. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.04.001.
5. Getz GS, Reardon CA. Animal Models of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 May;32(5):1104–15. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.237693.
6. Maeda N, Givens RC, Reddick L. Cardiovascular Disease: Mouse Models of Atherosclerosis. – In: Fox JG, Davisson MT, Quimby FW, Bartbold SW, Newcomer CE, Smith AL, eds. *The Mouse in Biomedical Research*, 2nd Edition, Vol. III. Academic Press, Elsevier, San Diego, London, 2007. – P. 535–560.
7. Emini Veseli B, Perrotta P, De Meyer GRA, Roth L, Van der Donckt C, Martinet W, De Meyer GRY. Animal models of atherosclerosis. *Eur J Pharmacol*. 2017, May 5. pii: S0014-2999(17)30320-5. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.05.010.
8. Liao J, Huang W, Liu G. Animal models of coronary heart disease. *J Biomed Res*. 2017 31(1):3–10. doi: 10.7555/JBR.30.20150051.
9. Neuberger A, Wernly B, Leitner L, Sarabi A, Sommer NG, Staffler G, Zeyda M, Stulnig TM. An accelerated mouse model for atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Cardiovasc Diabetol*. 2014 Jan 17;13:23. doi: 10.1186/1475-2840-13-23.
10. Feng M, Zou Z, Zhou X, Hu Y, Ma H, Xiao Y, Li X, Ye X. Comparative effect of berberine and its derivative 8-cetylberberine on attenuating atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Int Immunopharmacol*. 2017 Feb;43:195–202. doi: 10.1016/j.intimp.2016.12.001.
11. Yin W, Carballo-Jane E, McLaren DG, Mendoza VH, Gagen K, Geoghagen NS, McNamara LA, Gorski JN, Eiermann GJ, Petrov A, Wolff M, Tong X, Wilsie LC, Akiyama TE, Chen J, Thankappan A, Xue J, Ping X, Andrews G, Wickham LA, Gai CL, Trinh T, Kulick AA, Donnelly MJ, Voronin GO, Rosa R, Cumiskey AM, Bekkari K, Mitnaul LJ, Puig O, Chen F, Raubertas R, Wong PH, Hansen BC, Koblan KS, Roddy TP, Hubbard BK, Strack AM. Plasma lipid profiling across species for the identification of optimal animal models of human dyslipidemia. *J Lipid Res*. 2012 Jan;53(1):51–65. doi: 10.1194/jlr.M019927.
12. Jung MA, Lee SY, Han SH, Hong J, Na J-R, Lee JY, Kim Y, Kim S. Hypcholesterolemic effects of *Curcuma longa* L. with *Nelumbo nucifera* leaf in an in vitro model and a high cholesterol diet-induced hypercholesterolemic mouse model. *Animal Cells and Systems* 2015 19(2): 133–143. doi: 10.1080/19768354.2014.992953.
13. Schreyer SA, Wilson DL, LeBoeuf RC. C57BL/6 mice fed high fat diets as models for diabetes-accelerated atherosclerosis. *Atherosclerosis* Jan 1998;136(1):17–24.
14. Munday JS, Thompson KG, James KA. Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Br J Nutr*. 1999 Mar;81(3):251–5.
15. Hamed-Berair RE, Kalani A, Riggs DW, Bhatnagar A, Srivastava S. Atherogenesis and metabolic dysregulation in LDL receptor-knockout rats. *JCI Insight*. 2017 May 4;2(9). pii: 86442. doi: 10.1172/jci.insight.86442.
16. Xia DZ, Yu XF, Wang H-M, Ren QY, Chen BM. Anti-Obesity and Hypolipidemic Effects of Ethanolic Extract from *Alpinia officinarum* Hance (Zingiberaceae) in Rats Fed High-Fat Diet. *J Med Food* 2010;13(4):785–791. doi: 10.1089=jmf.2009.1235.
17. Thiruchenduran M, Vijayan NA, Sawaminathan JK, Devaraj SN. Protective effect of grape seed proanthocyanidins against cholesterol cholic acid diet-induced hypercholesterolemia in rats *Cardiovasc Pathol*. 2011 Nov-Dec;20(6):361–8. doi:10.1016/j.carpath.2010.09.002.
18. Jo SY, Choi EA, Lee JJ, Chang HC. Characterization of starter kimchi fermented with *Leuconostoc kimchii* GJ2 and its cholesterol-lowering effects in rats fed a high-fat and highcholesterol diet. *J Sci Food Agric*. 2015 Oct;95(13):2750–6. doi: 10.1002/jsfa.7018.
19. Huang Y, Wang J, Cheng Y, Zheng Y. The hypocholesterolaemic effects of *Lactobacillus acidophilus* American type culture collection 4356 in rats are mediated by the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1. *Br J Nutr*. 2010 Sep;104(6):807–12. doi: 10.1017/S0007114510001285.
20. Jové M, Pamplona R, Prat J, Arola L, Portero-Otin M. Atherosclerosis prevention by nutritional factors: A meta-analysis in small animal models. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013 Feb;23(2):84–93. doi: 10.1016/j.numecd.2012.09.006.

21. Baumgartner C, Brandl J, Münch G, Ungerer M. Rabbit models to study atherosclerosis and its complications – Transgenic vascular protein expression in vivo. *Prog Biophys Mol Biol.* 2016 Jul;121(2):131-41. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2016.05.001.
22. Garavelo SM, Higuchi ML, Pereira JJ, Reis MM, Kawakami JT, Ikegami RN, Palomino SA, Wadt NS, Agouni A. Comparison of the Protective Effects of Individual Components of Particulated trans-Sialidase (PTCTS), PTC and TS, against High Cholesterol Diet-Induced Atherosclerosis in Rabbits *Biomed Res Int.* 2017;2017:7212985. doi: 10.1155/2017/7212985.
23. Liaw YW, Lin CY, Lai YS, Yang TC, Wang CJ, Whang-Peng J, Liu LF, Lin CP, Nieh S, Lu SC, Hwang J. A Vaccine Targeted at CETP Alleviates High Fat and High Cholesterol Diet-Induced Atherosclerosis and Non-Alcoholic Steatohepatitis in Rabbit. *PLoS One.* 2014 Dec 8;9(12):e111529. doi: 10.1371/journal.pone.0111529. eCollection 2014.
24. Bhaskar S, Kumar KS, Krishnan K, Antony H. Quercetin alleviates hypercholesterolemic diet induced inflammation during progression and regression of atherosclerosis in rabbits. *Nutrition.* 2013 Jan;29(1):219-29. doi: 10.1016/j.nut.2012.01.019.
25. Mitchell PL, McLeod RS. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: studies in animal models. *Biochem Cell Biol.* 2008 Aug;86(4):293-301. doi: 10.1139/o08-070.
26. Liu L, Mu Y, Han W, Wang C. Association of hypercholesterolemia and cardiac function evaluated by speckle tracking echocardiography in a rabbit model. *Lipids Health Dis.* 2014 Aug 9;13:128. doi: 10.1186/1476-511X-13-128.
27. Nader MA, el-Agamy DS, Suddek GM. Protective Effects of Propolis and Thymoquinone on Development of Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Arch Pharm Res.* 2010 Apr;33(4):637-43. doi: 10.1007/s12272-010-0420-1.
28. Xi S, Yin W, Wang Z, Kusunoki M, Lian X, Koike T, Fan J, Zhang Q. A mini pig model of high-fat/high-sucrose diet-induced diabetes and atherosclerosis. *Int J Exp Pathol.* 2004 Oct;85(4):223-31.
29. Tsai TY, Chu LH, Lee CL, Pan TM. Atherosclerosis-Preventing Activity of Lactic Acid Bacteria-Fermented Milk-Soy milk Supplemented with *Momordica charantia*. *J Agric Food Chem.* 2009 Mar 11;57(5):2065-71. doi: 10.1021/jf802936c.
30. Chiu CH, Lu TY, Tseng YY, Pan TM. The effects of *Lactobacillus*-fermented milk on lipid metabolism in hamsters fed on high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2006 Jun;71(2):238-45. doi: 10.1007/s00253-005-0145-0.
31. Homan R, Hanselman JC, Bak-Mueller S, Washburn M, Lester P, Jensen HE, Pinkosky SL, Castle C, Taylor B. Atherosclerosis in *Octodon degus (degu)* as a model for human disease. *Atherosclerosis.* 2010 Sep;212(1):48-54. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.06.004.
32. Pedersen SF, Ludvigsen TP, Johannesen HH, Löfgren J, Ri pa RS, Hansen AE, Ettrup AJ, Christoffersen BØ, Pedersen HD, Olsen LH, Højgaard L, Kjær A. Feasibility of simultaneous PET/MR in diet-induced atherosclerotic mini-pig: a pilot study for translational imaging. *Am J Nucl Med Mol Imaging.* 2014 Aug 15;4(5):448-58. eCollection 2014.
33. Dixon JL, Shen S, Vuchetich JP, Wysocka E, Sun GY, Sturek M. Increased atherosclerosis in diabetic dyslipidemic swine: protection by atorvastatin involves decreased VLDL triglycerides but minimal effects on the lipoprotein profile. *J Lipid Res.* 2002 Oct;43(10):1618-29.
34. Iwaki T, Mizuma H, Hokamura K, Onoe H, Umemura K. [¹⁸F]FDG Uptake in the Aortic Wall Smooth Muscle of Atherosclerotic Plaques in the Simian Atherosclerosis Model. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8609274. doi: 10.1155/2016/8609274.
35. Bornboeft J, Castaneda D, Nemoseck T, Wang P, Henning SM, Hong MY. The Protective Effects of Green Tea Polyphenols: Lipid Profile, Inflammation, and Antioxidant Capacity in Rats Fed an Atherogenic Diet and Dextran Sodium Sulfate. *J Med Food.* 2012 Aug;15(8):726-32. doi: 10.1089/jmf.2011.0258.