

Экстраполяции Новых Моделей На Патологические Процессы В Организме Человека И Вероятность Их Проявления С Диет-Индуцированными Моделями Метаболического Синдрома У Животных

А. А. Мавлонов, PhD¹, С. А. Саидов²

Резюме: Диета оказывает влияние на метаболизм всего организма и регуляцию через гормональный, углеводный и липидный метаболизм. Диет-индуцированные модели считаются наиболее адекватными по этиологии и механизмам развития метаболических нарушений у человека. В настоящее время все шире применяют модели на не грызунах – кроликах, мини-свиньях и других. Каждая экспериментальная модель имеет свои особенности, влияющие на конечный результат исследования, поэтому ни одна из них не может быть полностью экстраполирована на человека. Таким образом, выбор модели зависит от поставленных задач эксперимента.

Ключевые слова: Диета, экспериментальная модель, метаболический синдром, эксперимент, экстраполяция на человека.

В настоящее время все большее распространение в научных исследованиях приобретают комбинированные экспериментальные модели Метаболический синдром (МС) с высоким содержанием и жира и углеводов, в том числе так называемая «диета кафетерия» [2]. Считается, что именно такие комбинированные модели наиболее близки к современному питанию человека и адекватны по механизмам развития МС. Показано, что высоко жировой рацион плюс сахара быстрее вызывают МС, чем только высоко жировой [3]. МС характеризуется многофакторными патологическими изменениями, такими, как ожирение, гипергликемия, артериальная гипертензия и дислипидемия. Основными факторами развития синдрома считаются абдоминальное ожирение и инсулинорезистентность. В медицинской практике рекомендуется установление МС у пациента при сочетании абдоминального ожирения и двух из четырех факторов: повышения уровня триглицеридов (ТГ) крови (более 1,7 ммоль/л), снижения уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) (менее 1,3 ммоль/л у мужчин и менее 1,29 ммоль/л у женщин), повышения артериального давления более 130 и 85 мм рт. ст., повышения уровня глюкозы плазмы натощак более 5,6 ммоль/л [1].

Ранее на грызунах были разработаны диет-индуцированные модели МС: с повышенным количеством жиров 30–60% от калорийности рациона, холестерина 0,1–1,25% от калорийности рациона, поваренной соли 8%, сахарозы и фруктозы 60–70% от калорийности рациона как у генетически модифицированных животных (крысы линий ZDF, DahlSS, мыши AKR, A/J), так и у диких пород животных (крысы линии Wistar и Sprague Dawley (SD), мыши линии C57BL/6, золотистые хомячки, морские свинки) [4].

У мышей дикого типа линии C57BL/6J добавление в рацион 45–60% жира способствуют довольно быстрому, в течение 8 недель, развитию ожирения и гипергликемии [5].

Наиболее распространенными лабораторными линиями мышей и крыс для большинства биомедицинских исследований являются аутбредная линия крыс Вистар и инбредные линии мышей C57Black/6 и BALB/C. Показано, что модели метаболического синдрома, полученные на грызунах, в общих чертах воспроизводят основные компоненты данной патологии. Однако в биохимическом плане между грызунами и человеком обнаружены существенные отличия в системах, связанных с метаболизмом липидов, что делает грызунов устойчивыми к развитию атеросклероза и коронарной болезни сердца. В частности, у мышей и крыс отсутствует белок-переносчик эфиров холестерина (СЕТР), обеспечивающий обратный транспорт холестерина [6]. Крупномасштабные геномные исследования у человека обнаружили более значимую корреляцию между полиморфизмами гена СЕТР и концентрацией ХС ЛВП, чем среди других локусов, что в определенной степени оказывает влияние на эффективность терапии гиполипидемическими препаратами [7]. Выявлено, что при недостатке белка - переносчика эфиров холестерина существенно замедляется развитие возрастных атеросклеротических изменений и увеличивается продолжительность жизни [8].

¹ Доцент кафедры Фармакологии и клинической фармакологии Бухарского государственного медицинского института, к.м.н.

² Председатель Фармакологического комитета ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» министерства здравоохранения Республики Узбекистан, д.м.н., профессор

Имеются и другие отличия в метаболизме грызунов и человека. Так, 70% холестерина у человека синтезируется в организме и 30% поступает с пищей, в то время как у грызунов большая часть холестерина происходит из пищи [9]. В плазме крови мышей и крыс преобладают ЛПВП, тогда как у людей и кроликов – ЛПНП. Давно установлен факт, что у кроликов, состоящих на обычной диете, примерно 40% холестерина плазмы крови находится в составе ЛПВП, а у кроликов, находящихся на холестериновой (атерогенной) диете, более 90% холестерина содержится в составе ЛПОНП и ЛПНП [10, 11].

Способность мышей и крыс образовывать желчную кислоту из холестерина и, соответственно, способствовать снижению холестерина, значительно выше, чем у человека и кроликов [7].

Установлено, что реакция на алиментарные дисбалансы у мышей и крыс имеет различия. У крыс в сравнении с мышами отмечалась значительно более выраженная реакция спектра липопротеинов на алиментарные дисбалансы, в особенности на уровень холестерина, что проявляется в возрастании содержания ЛПНП, снижении ЛПВП и увеличении индекса атерогенности. В печени крыс, получавших рационы с холестерином, отмечено развитие стеатоза. У крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6 печень наиболее чувствительна к фруктозе. Изменение уровней гормонов -регуляторов углеводного обмена (GLP, глюкагона), а также грелина вследствие потребления добавки фруктозы было значительно большим у мышей в сравнении с крысами. Влияние сочетания холестерина и фруктозы на уровни лептина у мышей и крыс имело противоположную направленность [12].

В работе [13] проведено сравнительное изучение основных показателей углеводного и липидного обмена при фруктозообогащенной диете и диете с высоким содержанием жира в условиях эксперимента у белых беспородных крыс. Авторы наблюдали увеличение содержания глюкозы, инсулина, показателей липидного обмена в опытных группах. Причем содержание глюкозы и инсулина в условиях обогащенной фруктозой диеты увеличилось на 18,7% ($p=0,009$), 22,2% ($p=0,076$), 21,5% ($p=0,009$), 50% ($p=0,009$), 62,5% ($p=0,009$), 106,3% ($p=0,009$) по дням эксперимента соответственно. Рост показателей липидного обмена был более выражен у опытной группы, имеющей в питании повышенное содержание жира, уже на первом временном отрезке эксперимента: холестерина – на 80,8% ($p=0,009$), липопротеинов низкой плотности — на 100% ($p=0,009$), триглицеридов — на 120% ($p=0,009$), липопротеинов высокой плотности — на 60,9% ($p=0,009$).

В работе [14] на фоне применения высококалорийных диет, содержащих 45 и 60% жира, у аутбредных 8-недельных самцов мышей развивается умеренная гипергликемия, толерантность к глюкозе, уменьшается накопление гликогена и формирование крупно- и мелкокапельного стеатоза в печени, также тенденции к увеличению активности дипептидилпептидазы ДПП-4 через 17 недель на фоне применения 45% содержания жира и 13 нед – на фоне применения содержания жира 60%. Применение более калорийного рациона с содержанием липидов 60% приводит к метаболическим нарушениям не только липидного, но и углеводного обмена.

В отличие от крыс, мыши реже используются в качестве модели для сахарозо- или фруктозоиндуцированной инсулинорезистентности и гипертриглицеридемии. Метаболический ответ на диету, богатую фруктозой и сахарозой, у них очень variabelен и зависит от линии мышей. Например, линия мышей C57Bl/6, используемая для моделирования МС богатой жирами диетой, не развивает инсулинорезистентность, или ее формирование происходит очень медленно после кормления фруктозой [15].

Z.H. Yang et al. исследовали краткосрочное влияние комбинированной высококалорийной диеты, состоящей из молочного жира (21% по весу) и сахарозы (34% по весу), на индукцию развития МС у 8-недельных мышей линии C57Bl/6. Авторы отмечали массивное депонирование липидов во многих органах (мышцы, печень, скелетные мышцы, жировая ткань), что связывают с повышенной экспрессией генов, вовлеченных в синтез ферментов липогенеза в печени, результатом деятельности которых является продукция жирных кислот и триглицеридов. Также отмечалась повышенная активность генов, кодирующих липопротеинлипазу, ответственную за гидролиз хиломикронов и ЛПОНП и ассимиляцию липидов тканями с целью их депонирования. Экспрессия генов, кодирующих белки, которые принимают участие в передаче сигнала инсулина, снижалась, что уменьшало резистентность тканей к инсулину на фоне его повышенной концентрации в крови [16].

Таким образом, вследствие биохимических отличий модели МС на грызунах не всегда позволяют адекватно экстраполировать полученный результат на человека. Также, следует принять во внимание затрудненность проведения длительного динамического эксперимента у мелких животных, разную скорость метаболизма, а также невозможность снятия у мышей электрофизиологических показателей и анатомические и физиологические несоответствия в сердечно-сосудистой и других системах грызунов и человека. Тем не менее, модели МС на грызунах в общих чертах воспроизводят основные проявления метаболического синдрома, в связи с чем они могут использоваться для скрининговых целей, а также для изучения влияния биологически активных веществ на пути метаболизма, сходные у грызунов и человека.

Появление генетически модифицированных моделей грызунов создает новые возможности изучения молекулярных механизмов развития МС и изучения фармакологических агентов. Наиболее известная генетически модифицированная модель МС - крысы линий fa/fa Zucker fatty rats (ZFR) и Zucker diabetic fatty rat (ZDF). Линия животных ZFR имеет мутацию гена рецептора лептина на 5-й хромосоме. Данный дефект приводит к снижению связывания лептина с поверхностью рецептор-экспрессирующих клеток, при этом сродство к лептину не изменяется. Избыточная экспрессия ФНО- α приводит у ZFR к развитию эндотелиальной дисфункции на фоне

индукции НАДФ-оксидазы с последующим образованием супероксид-анионов. Указанная линия животных может быть использована как самостоятельная модель МС, патологические изменения у животных развиваются при содержании на стандартном рационе [17]. Крысы ZDF избирательно инбредные к гипергликемии, являются подштаммом линии ZFR. ZDF несут аутосомно-рецессивный дефект транскрипции β -клеток поджелудочной железы, наследование которого происходит независимо от мутации гена рецептора лептина ($Lepr^f$). Следует отметить, что ген, ответственный за дефект, до сих пор не определен. Установлено, что этого дефекта недостаточно, чтобы вызвать СД, и только в сочетании с мутацией гена $Lepr^g$ может развиваться гипергликемия [18]. ZDF в меньшей степени страдают ожирением, но больше инсулинорезистентны, чем крысы ZFR [17].

К настоящему моменту в различных лабораториях мира получено несколько десятков генетически модифицированных линий грызунов, которые могут использоваться для изучения различных аспектов патогенеза МС и выявления механизмов действия лекарственных препаратов [19, 20].

Экспериментальные диет-индуцированные модели МС на кроликах адекватнее МС человека, чем диет-индуцированные модели на грызунах, поскольку метаболизм кроликов близок к метаболизму человека. В одной из последних работ по данной проблеме Arias-Mutis с соавт. [21] разработали модель метаболического синдрома у кроликов с использованием комбинированной высокожировой и высокоуглеводной диеты (10% гидрогенизированного какао-масла, 5% ярда, 15% раствор сахарозы) в течение 28 недель.

В работе [22] было проведено полифакторное исследование МС у кроликов, находящихся на комбинированной диете с добавлением к дневному рациону кристаллического холестерина в дозе 250 мг/кг массы тела, смешанного с тертой морковью (примерно 100 г) на фоне гиподинамии. В поилку животных каждый день наливали свежеприготовленный 5% раствор сахарозы. Каждые 2 дня со стороны спины подкожно животным вводили инсулин в дозе 0,1 ед. / 100 г массы тела. Эксперимент проводился в течение 60 дней. Исследование показало, что у животных экспериментальной группы с моделью МС увеличению изученные физиологические и биохимические показатели (артериальное давление, абсолютный прирост в весе, уровни С-пептида, сахара, кортизола, фосфора, кальция, триглицеридов, холестерина, ЛПНП и ЛПВП в крови) имели тенденцию к росту.

Renner et al. [23] приводят модель МС у минисвиней, близкая к МС человека. Для создания модели использовались овариэктомизированные самки, которых содержали на высокожировой/высокоэнергетической диете 70 недель. У животных в этих условиях развилось тяжелое подкожное и висцеральное ожирение (жир тела > 50% массы тела по сравнению с 22% у L-GM), повышенный уровень холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот в плазме, резистентность к инсулину (НОМА-IR > 5 по сравнению с 2 в L-GM), нарушение толерантности к глюкозе и учащение пульса в состоянии покоя и активности. Однако концентрация глюкозы натощак оставалась в пределах нормы на протяжении всего исследования. Данную модель можно использовать для оценки новых методов лечения ожирения и сопутствующих заболеваний, для выявления триггеров и механизмов воспаления жировой ткани, а также механизмов, препятствующие полной метаболической декомпенсации, несмотря на патологическое ожирение.

Модели МС получены также у собак. Избыточный вес у собак можно вызвать в течение 4–12 недель путем предоставления избыточного количества пищи в различных формах: стандартная диета из мяса и корма; диета из мяса с добавлением жира или коммерческие диеты с высоким содержанием жира или фруктозы, или и то, и другое. Увеличение потребления энергии наиболее заметно в течение первых 1-2 недель на этих диетах с добавками, но гиперфагия сохраняется на протяжении всего времени, когда животные имеют свободный доступ к диетам. В этих моделях не наблюдается повышенных концентраций глюкозы и инсулина натощак, но метаболические дефекты отчетливо видны во всех из них, несмотря на умеренное увеличение массы тела [24].

К наиболее часто используемым видам в исследованиях метаболических заболеваний относятся макаки-резусы (*Macaca mulatta*), яванские макаки (*Macaca fascicularis*), бабуины (виды *Papio*), африканские зеленые обезьяны (виды *Chlorocebus*) и обыкновенные мартышки (*Callithrix jacchus*), у которых могут быть получены диет-индуцированные модели МС [25].

На сегодняшний день метаболические последствия избыточного накопления жира хорошо изучены, но фактические триггеры и основные механизмы воспаления жировой ткани неясны [23]. Более глубокое понимание триггеров и механизмов воспаления может открыть новые терапевтические цели для лечения ожирения и связанных с ним сопутствующих заболеваний. В этом отношении животные модели, которые проявляют критические аспекты человеческого ожирения и сопутствующих заболеваний, важны для расширения наших знаний о патологических процессах и оценки кандидатов в лекарства для переноса на людей. Модели ожирения, вызванного диетой, у грызунов, чаще всего являются вариантом первой линии для фармакологической оценки (скрининга), но их прогностическая ценность для эффективности и безопасности лекарств у людей небольшая. Учитывая большое сходство анатомии и физиологии человека со свиньями и не человекообразными обезьянами, они могут служить моделями, преодолевающими разрыв между мышью и человеком.

Литература

1. Alberti K.G., Zimmet P., Shaw J., IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome — a new worldwide definition // *Lancet*. — 2005. — Vol. 366, № 9491. — P. 1059–1062

2. Kovaleva M.A., Makarova M.N., Selezneva A.I., Makarov V.G. Primenenie zhivotnyh so spontannoj gipertenziej dlja modelirovanija metabolicheskogo sindroma. *Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*, 2012; 4: 91–94
3. Neuhofer A., Wernly B., Leitner L., Sarabi A., Sommer N.G., Staffler G., Zeyda M., Stulnig T.M. An accelerated mouse model for atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Cardiovasc Diabetol*. 2014 Jan 17;13:23. DOI: 10.1186/1475-2840-13-23
4. Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kuloglu T., Citil C., Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models / Suleyman Aydin [et al.]. *Nutrition*. 2014. Jan; 30 (1): 1–9
5. Chu D.T., Malinowska E., Jura M., Kozak L.P. C57BL/6J mice as a polygenic developmental model of diet-induced obesity. *Physiol Rep*. 2017 Apr; 5 (7)
6. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & metabolism*. 2016; 13:65
7. Звягина М.В., Маль Г.С., Бушуева О.Ю., Быканова М.А., Летова И.М., Грибовская И.А., Солодилова М.А., Полоников А.В. Влияние генотипов белка-переносчика эфиров холестерина на эффективность гиполипидемической терапии розувастатином у больных ишемической болезнью сердца с атерогенными гиперлипидемиями // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1-3. – С. 517-521
8. Nomura A., Won H.H., Khera A.V. et al. (2017) Protein-Truncating Variants at the Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene and Risk for Coronary Heart Disease. *Circ. Res.*, 121(1): 81–88
9. Shiomi M., Koike T., Ito T. Contribution of the WHHL rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia, to elucidation of the anti-atherosclerotic effects of statins. *Atherosclerosis*. 2013, vol. 231. no. 1. P.39-47
10. Roberts D.C.K., West C.E., Redgrave T.G., Smith J.B. Plasma cholesterol concentration in normal and cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*. 1974. vol. 19. no. 3. P. 369-380
11. Tall A.R. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J. Lipid Res*. 1993. vol. 34. no. 8. P. 1255-1274
12. Апрятин С.А., Мжельская К.В., Трусов Н.В., Балакина А.С., Кулакова С.Н., Сото С.Х., Макаренко М.А., Ригер Н.А., Тутьельян В.А. Сравнительная характеристика in vivo моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6. *Вопр. питания*. 2016. № 6. С. 14-23
13. Гилева О.Г., Бутолин Е.Г., Терещенко М.В., Иванов В.Г. Оценка показателей углеводного и липидного обмена у крыс в зависимости от вида высококалорийного питания // *Ожирение и метаболизм*. — 2022. — Т. 19. — № 1. — С. 47-52
14. Ковалева М.А., Гушин Я.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Сравнительное исследование использования высококалорийных диет, обогащенных разным количеством липидов, для моделирования метаболического синдрома. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019; 1
15. Ricci M.R., Ulman E.A. DietInduced Metabolic Syndrome in Rodent Models animal // *LABNEWS*. – 2007. – March.
16. Yang Z.H., Miyahara H., Takeo J., Katayama M. Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signaling and inflammation in mice // *Diabetology & Metabolic Syndrom*. – 2012. – V. 4, № 32. doi:10.1186/1758-5996-4-32.
17. Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Генетически модифицированные линии лабораторных животных, используемые в качестве модели метаболического синдрома и сахарного диабета. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018; 1
18. Wang B., Chandrasekera C., Pippin J.J. Leptin- and Leptin Receptor-Deficient Rodent Models: Relevance for Human Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reviews*. 2014. Vol. 10: 131–45.
19. Р.А.Клѣсов, О.И.Степанова. Генетические биомодели метаболического синдрома. *Биомедицина*, №1, 2017, с.50-58
20. Е.Н. Кравчук, М.М. Галагудза. Экспериментальные модели метаболического синдрома. *Артериальная гипертензия*, Том 20, № 5, 2014, с.377-383
21. Arias-Mutis OJ, Marrachelli VG, RuizSauri A, Alberola A, Morales JM, Such-Miquel L, et al. (2017) Development and characterization of an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit. *PLoS ONE* 12(5): e0178315
22. Ж.О. Мирсултанов, А.А.Мавлонов, О.О. Бабаханов, Ш.У.Солиев. Усовершенствование экспериментального моделирования метаболического синдрома у кроликов. *Фармация и фармакология*, №1, 2022, с.56-59
23. Renner S, Blutke A, Dobenecker B, Dhom G, Müller TD, Finan B, Clemmensen C, Bernau M, Novak I, Rathkolb B, Senf S, Zöls S, Roth M, Götz A, Hofmann SM, Hrabě de Angelis M, Wanke R, Kienzle E, Scholz AM, DiMarchi R,

Ritzmann M, Tschöp MH, Wolf E. Metabolic syndrome and extensive adipose tissue inflammation in morbidly obese Göttingen minipigs. *Mol Metab.* 2018 Oct;16:180-190.

24. Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, Moore MC, Renner S, Woods SC, Huypens P, Beckers J, de Angelis MH, Schürmann A, Bakhti M, Klingenspor M, Heiman M, Cherrington AD, Ristow M, Lickert H, Wolf E, Havel PJ, Müller TD, Tschöp MH. Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Mar;14(3):140-162. doi: 10.1038/nrendo.2017.161
25. Pound, L. D., Kievit, P. & Grove, K. L. The nonhuman primate as a model for type 2 diabetes. *Curr. Opin. Endocrinol., Diabetes Obes.* 21, 89–94 (2014)