

LIPIDNI PROFIL U SERUMU KUNIĆA SA EKSPERIMENTALNOM ATEROSKLEROZOM

Danijela Vučević¹, Tatjana Radosavljević¹, Dušan Mladenović¹, Jovana Šteković¹, Predrag Gajin²,
Ivan Milovanović¹, Jasna Todorović¹, Branislav Pešić¹

¹Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

²Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

SERUM LIPID PROFILE IN RABBITS WITH EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS

Danijela Vučević¹, Tatjana Radosavljević¹, Dušan Mladenović¹, Jovana Steković¹, Predrag Gajin²,
Ivan Milovanović¹, Jasna Todorović¹, Branislav Pešić¹

¹Institute of Pathophysiology, School of Medicine, Belgrade, Serbia

²Institute for Cardiovascular Diseases Dedinje, School of Medicine, Belgrade, Serbia

SAŽETAK

S obzirom na uticaj lipidnog profila na patogenezu ateroskleroze, cilj našeg rada je bio da se ispita koncentracija ukupnog holesterola, triglicerida, lipoproteina male gustine i lipoproteina velike gustine u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom izazvanom hiperholesterolskom dijetom (4% kristalni rastvor holesterola u jestivom ulju). Ispitivane životinje su podeljene u tri grupe: kontrolna grupa na ishrani uobičajenoj za ovu životinjsku vrstu (n=7), kontrolna grupa na uljanoj dijeti (n=7) i eksperimentalna grupa na hiperholesterolskoj dijeti (n=7). Nakon dvomesečnog tretmana životinjama je određivana serumska koncentracija lipida enzimskim kolorimetrijskim metodom. Eksperimentalna ateroskleroza je patohistološki potvrđena. U serumu ispitivanih grupa nađeno je, u odnosu na kontrolnu grupu, visoko statistički značajno povećanje ($p<0.01$) koncentracije ukupnog holesterola i lipoproteina male gustine i visoko statistički značajno sniženje ($p<0.01$) triglicerida. Sniženje vrednosti lipoproteina velike gustine u serumu uljane kontrolne grupe i eksperimentalne grupe tretirane holesterolom u odnosu na kontrolnu grupu, kao i sniženje vrednosti ove lipidne frakcije u serumu eksperimentalne grupe tretirane holesterolom u odnosu na uljanu kontrolnu grupu je na nivou statističke značajnosti ($p<0.05$). Naši rezultati ukazuju na značajnu ulogu lipidnog profila u patogenezi eksperimentalne ateroskleroze.

Cljučne reči: eksperimentalni animalni model, kunići, ateroskleroza, dijeta, aterogena.

UVOD

Ateroskleroza je progresivno, višefaktorsko, difuzno, multisistemska, hronično, zapaljenjsko oboljenje zida arterijskog krvnog suda, čije najčešće posledice, a to su koronarna bolest i cerebralni infarkt, predstavljaju vodeće uzroke mortaliteta širom sveta (1–5). Ova bolest dovodi do očvršćavanja i sužavanja velikih arterija (aorte, karotidnih i ilijačnih arterija, arterija mozga, koronarnih arterija) i arterija srednje veličine, sa predilekcionom lokalizacijom na mestima račvanja, odnosno njihovog odvajanja. Početne patološke promene se nalaze u intimi

ABSTRACT

Having in mind the influence of lipid profile in initiation and development of atherosclerosis, we examined the concentration of total cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins and high density lipoproteins in the serum from rabbits with experimental atherosclerosis induced by a hypercholesterolemic diet (4% solution of crystalline cholesterol in edible oil). For this study three groups of rabbits were used: a control group fed on the standard diet for this species (n=7), control group fed on an oil-containing diet (n=7) and experimental group fed on a hypercholesterolemic diet (n=7). After two months of treatment we examined the serum concentration of lipids by using enzymatic colorimetric method. Experimental atherosclerosis was confirmed pathohistologically. The levels of concentration of total cholesterol and low density lipoproteins were highly significantly increased ($p<0.01$) in the sera of the investigated groups compared to the control group. In comparison with the control group the concentration of triglycerides was highly significantly decreased ($p<0.01$) in the serum of investigated groups. The level of high density lipoproteins was significantly decreased in the serum of the investigated groups compared to the control group, as well as in the serum of experimental group fed on a hypercholesterolemic diet compared to the control group fed on an oil-containing diet ($p<0.05$ respectively). Our findings indicate that lipid profile has an important role in the pathogenesis of experimental atherosclerosis.

Key words: experimental animal model, rabbits, atherosclerosis, diet, atherogenic.

arterija. Osnovna karakteristična lezija je aterosklerozna ploča (plak /franc. *plaque*/), tj. *aterom* (gr. *atheroma*) (6). Uprkos brojnim naučnim teorijama, kao i funkcijskim, eksperimentalnim i kliničkim studijama koje pokušavaju da objasne nastanak i razvoj ateroskleroze, pokretač primarnog patološkog događaja je još uvek nepoznat (7). U tom smislu posebno polje istraživanja predstavljaju lipidne frakcije u serumu, imajući u vidu ulogu dislipidemija u aterogenezi.

Centralnu ulogu u razvoju ateroskleroznog plaka, posebno u ranim fazama njegovog stvaranja, imaju potencijalno reverzibilni činioci (poremećena sinteza NO), odgovor na vazodilatacijske supstance, inflamacija, aktivnost makrofaga i metaloproteinaza, agregacija trombocita i proliferacija glatkih mišićnih ćelija (8–11). Dalje napredovanje i rast ateroskleroznog plaka odvija se kao posledica interakcije različitih frakcija lipida, partikula oksidovanih lipoproteina male gustine (engl. oxidized low density lipoproteins, ox-LDL), reverznog transporta lipoproteina velike gustine (engl. high density lipoproteins, HDL) i lokalnih faktora endotela (12–16).

Ateromi predstavljaju metabolički veoma dinamične tvorevine, sastavljene od centralnog lipidnog jezgra, fibroznog omotača i osnove koju čine glatke mišićne ćelije (17). Centralni deo je lipidno jezgro u kome se nalaze penaste ćelije, ekstracelularni lipidi i nekrotični detritus. Dominantni lipidi su holesterolskog porekla, u obliku estara holesterola (plak sa „mekim“ središtem) ili kristala holesterola (plak sa „tvrdim“ središtem). Lipidi jednim delom potiču iz penastih ćelija, a drugim delom iz krvi. Središte plaka formira se procesima nekroze i apoptoze monocitno-makrofagnih i glatkih mišićnih ćelija, koje zatvaraju specifičan circulus vitiosus. Naime, oksidovani lipidi dovode do stimulacije fagocitnih ćelija, koje ih uklanjaju uz pomoć receptora „čistača“ klase A (engl. scavenger receptors class A, SRA). Međutim, tokom tih procesa pojačava se oksidacijski stres, koji može da oksiduje lipide i da na taj način poveća njihovo taloženje u zidu krvnog suda. Ovaj patofiziološki sled događaja, osim što omogućava stvaranje i rast lipidnog jezgra, utiče i na aktivnost endotelnih i glatkih mišićnih ćelija. Oksidovani lipoproteini ispoljavaju toksično dejstvo na glatke mišićne ćelije tako da i one ulaze u sastav nekrotičnog detritusa (18, 19). Međutim, faktori rasta, oslobođeni iz aktiviranih monocitno-makrofagnih ćelija i trombocita, dovode do migracije i proliferacije glatkih mišićnih ćelija i promene arhitektonike krvnog suda. Parakrina interakcija između glatkih mišićnih ćelija i endotelnih ćelija pojačava regrutovanje leukocita ka području ateroma i dodatno rasplamsava inflamacijski proces, koji leži u osnovi progresije bolesti (3, 5, 20–24).

Ishrana bogata holesterolom dovodi do povećanja koncentracije triglicerida (TG) i lipoproteina male gustine (engl. low density lipoproteins, LDL), a smanjenja koncentracije HDL u serumu. Ove promene doprinose pogoršavanju endotelne disfunkcije i još većem ulasku lipida u intimu (5, 17). Interesantno je napomenuti da LDL imaju sposobnost prodora ispod intime, čak i kada endotel nije oštećen (17).

S obzirom na uticaj lipidnog profila na patogenezu ateroskleroze, cilj našeg rada je bio da se ispita koncentracija ugljenih hidrata (UH), TG, LDL i HDL u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom.

MATERIJAL I METODE

U eksperimentalnom modelu ateroskleroze korišćeni su kunići rase Činčila (*Chinchilla*) (Vojna farma, Torlak), oba pola, telesne težine 1600–2000g na početku eksperimenta. Životinje su čuvane u istim smeštajnim uslovima (prostorije temperirane na 16–18°C), hranjene *ad libitum* briketiranom hranom za kuniće (Veterinarski zavod, Zemun), uz svakodnevni unos sveže vode. Sve eksperimentalne procedure su izvedene u skladu sa standardima dobre laboratorijske prakse (engl. Good Laboratory Practice, GLP) i Pravilnikom o radu sa eksperimentalnim životinjama Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Ispitivane životinje (n=21) su podeljene u tri grupe:

1. K grupa (n=7) – životinje na standardnoj ishrani za tu životinjsku vrstu;
2. U grupa (n=7) – životinje koje su uz standardnu ishranu dobijale po 6 mL jestivog ulja „Dijamant“, pet puta nedeljno;
3. H grupa na hiperholesterolskoj dijeti (n=7) – životinje koje su uz standardnu ishranu dobijale po 6 mL 4% rastvora kristalnog holesterola (ICN Galenika) u jestivom ulju „Dijamant“, pet puta nedeljno.

Ishrana kunića U grupe jestivim uljem i kunića H grupe rastvorom holesterola u jestivom ulju vršena je per os putem gastrične sonde. Nakon dvomesečnog tretmana životinjama je uzimana krv i izdvajan serum, koji je čuvan na -20°C do vršenja planiranih analiza lipidnog statusa. Posle toga, životinje su žrtvovane, a potom su uzimani isecci tkiva aorte radi histološke analize.

Histološke analize uzoraka tkiva aorte vršene su na iseccima tkiva bojenim hematoksilin eozinom (hematoxylin eosin) uz pomoć svetlosnog mikroskopa (uvećanje 100 x).

U serumu su određivane koncentracije TG, UH, LDL i HDL.

Koncentracija TG određivana je enzimskim kolorimetrijskim testom firme „Lighthing“ (Yu Medica), u kome je primenjena modifikovana metoda po Trinderu (Trinder) (25). U prvoj fazi reakcije vršena je enzimska hidroliza TG lipazom, a u drugoj fazi su korišćeni specifični enzimi GK, GFO HPO i hromogeni sistem za jednostavno merenje stvorene boje. Nagrađeni H₂O₂ oksiduje hromogen u prisustvu HPO u kinoniminsku boju, čija se ekstinkcija meri kolorimetrijski (višekanalni analizator „Monarch plus“) na talasnoj dužini 540 nm. Ekstinkcija je direktno proporcionalna koncentraciji TG u uzorku.

Koncentracija UH određivana je enzimskim kolorimetrijskim testom firme „Lighthing“ (Yu Medica) u kome je primenjena modifikovana PAP metoda po Trinderu (Trinder) (26, 27). Prema ovoj metodi najpre

holesterolski estri hidrolizuju HE u slobodni holesterol i masne kiseline. Slobodni holesterol se zatim oksiduje u prisustvu HO u holesterol-3-OH. H₂O₂, koji se tom prilikom oslobađa, reaguje sa hromogenom u prisustvu HPO gradeći purpurnu boju kinonimina, čiji je intenzitet proporcionalan koncentraciji holesterola. Očitavanje ekstinkcije je vršeno na kolorimetru (više kanalni analizator „Monarch plus“) na talasnoj dužini 500 nm.

Koncentracija HDL određivana je precipitacijskom metodom iste firme, koja se zasniva na selektivnom taloženju LDL i VLDL sulfatnim polianjonima u prisustvu dvovalentnih katjona, sa kojima ove lipidne čestice grade nerastvorljive komplekse. Prema preporuci Odbora za ispitivanje lipida koji pripada Američkom centru za kontrolu bolesti (*USA Center of Disease Control - Lipid Reference Section*), u tu svrhu koriste se heparin i mangan hlorid, fosfovolframova kiselina i magnezijum hlorid. Takođe se mogu koristiti dekstran sulfat i magnezijum sulfat, koji su primenjeni u našem testu. Nakon centrifugiranja, HDL ostaju u supernatantu koji se izdvaja i u kome se određuje koncentracija holesterola modifikovanom PAP metodom. Kao kalibratori koriste se holesteroli čije su koncentracije 1.3 mmol/L i 2.6 mmol/L.

Koncentracija LDL izračunata je korišćenjem Fridvaldove (*Friedewald*) jednačine, pri čemu se vodilo računa o njenim ograničenjima (TG ne smeju biti veći od 3.6 mmol/L).

Analiza rezultata istraživanja vršena je na osnovu odgovarajućih statističkih metoda (ANOVA i Fisher-post hock test), korišćenjem računarskih statističkih programa (STATISTICA 7.0 Professional Edition, SPSS 10.0 Professional Edition).

REZULTATI

Lipidne frakcije u serumu ispitivanih grupa životinja prikazane su na slici 1.

Statistička značajnost razlika lipidnih frakcija u serumu ispitivanih grupa životinja takođe je prikazana na slici 1.

Kao što se može uočiti, u odnosu na kontrolnu grupu u serumu ostalih grupa nađeno je visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) koncentracije UH i LDL. Visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) ovih lipidnih frakcija nađeno je i u serumu kunića na hiperholesterolskoj dijeti u odnosu na uljanu kontrolnu grupu.

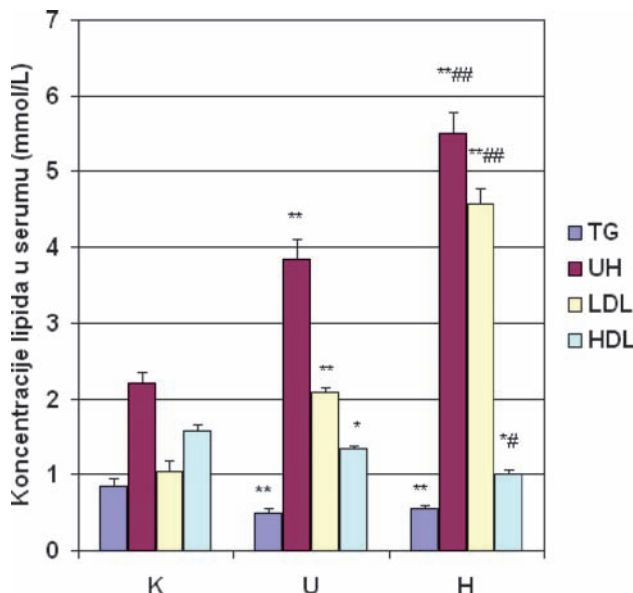
U odnosu na kontrolnu grupu u serumu ostalih grupa nađeno je visoko statistički značajno sniženje ($p < 0.01$) koncentracije TG (slika 1).

Sniženje vrednosti HDL u serumu U i H grupe u odnosu na K grupu, kao i sniženje vrednosti ove lipidne frakcije u serumu H grupe u odnosu na U je na nivou statističke značajnosti ($p < 0.05$) (slika 1).

U odnosu na uljanu kontrolnu grupu u serumu kunića na hiperholesterolskoj dijeti registrovano je nesignifikantno sniženje ($p > 0.05$) koncentracije TG (slika 1).

Rezultati histoloških analiza uzoraka tkiva torakalne aorte ispitivanih životinja prikazani su na slikama 2-4.

Tkivo torakalne aorte kunića K grupe, koje je bez patoloških promena, prikazano je na slici 2.



Slika 1. Lipidne frakcije u serumu ispitivanih grupa životinja

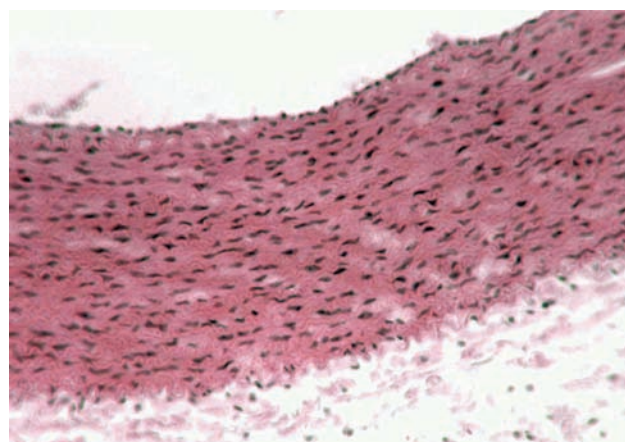
p- nivo statističke značajnosti;

** - $p < 0.01$ visoko statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

* - $p < 0.05$ statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

- $p < 0.01$ visoko statistički značajna razlika u odnosu na uljanu kontrolnu grupu (U);

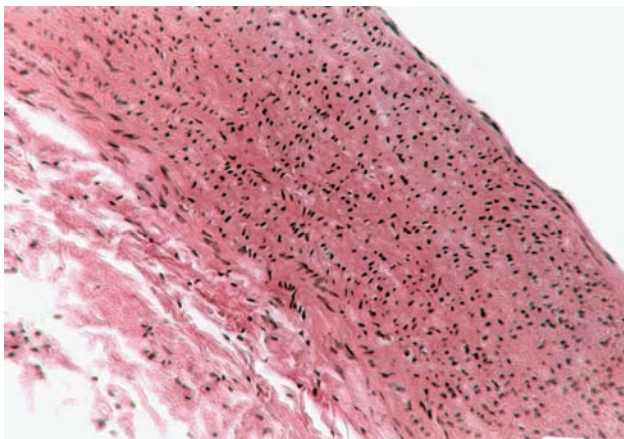
- $p < 0.05$ statistički značajna razlika u odnosu na uljanu kontrolnu grupu (U).



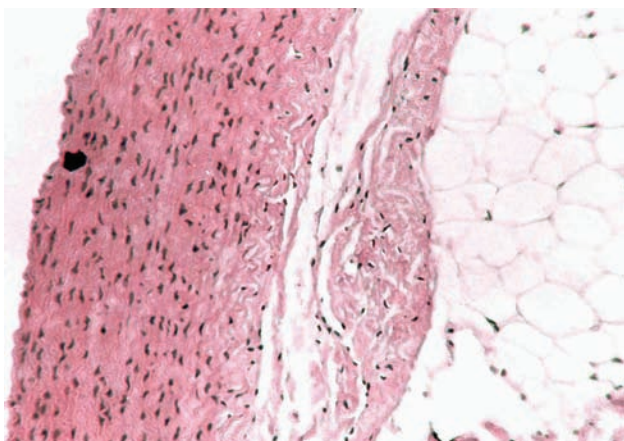
Slika 2. Torakalni deo aorte kontrolnog kunića (K)
 Tkivo torakalne aorte je bez patoloških promena.

Na slici 3 je prikazano tkivo torakalne aorte kunića na uljanoj dijeti (U). Uočava se početna faza ateroskleroze.

Na slici 4 je prikazano tkivo torakalne aorte kunića na hiperholesterolskoj dijeti (H) sa izraženom aterosklerozom.



Slika 3. Torakalni deo aorte kunića na uljanoj dijeti (U)
Uočava se početna faza ateroskleroze.



Slika 4. Torakalni deo aorte kunića na
hiperholesterolskoj dijeti (H)

U aterosklerotski izmenjenom tkivu uočavaju se umnožene endotelne ćelije. Spoljašnja ivica intime je izvijugana. Između endotela i subendotelnog tkiva uočavaju se nakupine stranog sadržaja. Unutrašnja elastična membrana je izvijugana.

DISKUSIJA

U našem istraživanju u serumu kunića na uljanoj i hiperholesterolskoj dijeti nađeno je visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) koncentracije UH i LDL (slika 1) u odnosu na kontrolnu grupu. Ovaj rezultat može biti povezan sa povećanim stvaranjem RKV, s obzirom da povećan broj aktiviranih zapaljenjskih ćelija u aortnom tkivu i povećane količine veoma toksičnih RKV (O_2^- i H_2O_2), koje ove ćelije spontano oslobađaju, umnogome doprinose endotelnom oksidacijskom stresu (1–3, 5, 16).

Dokazano je da oksidansi oslobođeni iz fagocita mogu da inaktiviraju inhibitor $\alpha 1$ -proteaza, omogućavajući time proteazama da dovedu do znatnog oštećenja vezivnog tkiva (10, 11). RKV mogu takođe dovesti do peroksidacije lipida na ćelijskom nivou, koja može da prouzrokuje poremećaje u prenosu signala kao i poremećaje funkcije plazma membrane i membrana ćelijskih organela. Masne kiseline fosfolipida i masne kiseline esterifikovane sa glicerolom i holesterolom su najčešće zahvaćene lipidnom peroksidacijom (20, 23, 28).

Mehanizmi održavanja nivoa holesterola u plazmi reflektuju procese sinteze lipoproteina nosilaca holesterola i efikasnost receptorskog puta metabolizma ovih lipoproteina (12, 13, 15). S tim u vezi, porast UH u serumu ispitivanih grupa životinja u odnosu na kontrolnu grupu je očekivan nalaz, s obzirom na način izazivanja eksperimentalne ateroskleroze. Naš nalaz je u skladu sa podacima iz literature da su kunići posebno osetljivi na holesterol unet putem hrane. Ishrana bazirana na ovom aterogenom činiocu u serumu kunića dovodi do povećanja koncentracije holesterola. Apsorpcija velikih količina holesterola iz hrane, bez kompenzacijskog porasta njegove razgradnje i ekskrecije, je odgovorna za nastanak izrazite hiperholesterolemije u serumu kunića nakon dijete bogate holesterolom (29).

Holesterol je imunostimulacijski lipid, pa izrazita hiperholesterolemija indukovana hiperholesterolskom dijetom kod kunića može doprineti povećanju lokalnog limfoproliferativnog odgovora (30). Povećan broj zapaljenjskih i imunskih efektnih ćelija u neposrednoj okolini razorenog tkiva torakalne aorte može da ukaže da je nakupljanje ovih ćelija udruženo sa patogeneom ateroskleroze (9, 12, 23). Moguće je da u našem eksperimentalnom modelu u H grupi životinja povećan broj i izmenjena aktivnost zapaljenjskih i imunskih efektnih ćelija, kao i imunostimulacijsko delovanje holesterola takođe utiču na nastanak oštećenja tkiva torakalne aorte. Patohistološke analize tkiva ovog krvnog suda kunića H grupe nakon dvomesečne dijete bogate holesterolom pokazuju izmene karakteristične za razvijenu aterosklerozu (slika 4).

Hiperholesterolemija dovodi do hroničnog prisustva LDL čestica u arterijskom zidu. LDL čestica je najaterogenija, jer je glavni nosilac holesterola u cirkulaciji (16).

Svaka aterogena dijeta kod kunića, koja se temelji na holesterolu, neizostavno podstiče endogenu proizvodnju LDL-a. Pored toga, lokalne promene u osnovnoj mukopolisaharidnoj supstanci (prvenstveno glikozamoglikanima) dovode do akumulacije lipida. Pretpostavlja se da spajanje ovih makromolekula sa proteinom unutar intime može promeniti propustljivost intime i pomoći nakupljanju lipida (2).

U eksperimentalnom modelu ateroskleroze koja je indukovana dijetom bogatom holesterolom monociti su prve ćelije koje se nalaze uz endotel, posle čega migriraju u subendotelni prostor gde „gutaju“ oksidovani holesterol i pretvaraju se u penaste ćelije (1). Osim toga, nedvosmisleno je utvrđeno da inflamacijski odgovor u mnogome utiče na kretanje lipoproteina unutar arterijskog zida. Medijatori inflamacije, kao što su faktori nekroze tumora (engl. tumor necrosis factors, TNFs), interleukin 1 (IL-1) i faktor koji stimulise kolonije makrofaga (engl. macrophage colony stimulating factor, M-CSF), povećavaju vezivanje LDL-a za endotel i glatke mišićne ćelije i ubrzavaju transkripciju gena za LDL receptore. Na taj način, zahvaljujući prisustvu ovih lipida, u arteriji se može održavati začarani krug inflamacije, modifikacije lipoproteina i dalje inflamacije (2). Međutim, još uvek je nejasno da li je najviše aterogen sam nivo holesterola, fizičko-hemijska konfiguracija lipida, ili relativni nivoi lipoproteinskih frakcija.

LDL čestice mogu biti modifikovane oksidacijom, glikozilacijom, agregacijom, udruživanjem sa proteoglikanima ili inkorporacijom u imunske komplekse (2). Oksidacijska modifikacija LDL-a je izrazito kompleksna, jer obuhvata oksidaciju svih klasa lipida (sterola, masnih kiselina u fosfolipidima, holesterolskih estara i TG) i proteinskih čestica. Ox-LDL čestice podstiču migraciju monocita u subendotelni prostor i njihovo diferenciranje u makrofage, i pri tome, inhibiraju migraciju makrofaga iz zida krvnog suda u cirkulaciju. Ox-LDL indukuju nakupljanje holesterola u glatkim mišićnim ćelijama krvnog suda. Oksidacijski produkti holesterola iz LDL čestica aktiviraju HMG-CoA reduktazu, a suprimiraju gen za sintezu LDL receptora, što pogoduje održavanju povišenog nivoa LDL u cirkulaciji (31).

Visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) koncentracije LDL, koje je zabeleženo u serumu kunića na uljanoj i hiperholesterolskoj dijeti u odnosu na kontrolnu grupu, predstavlja rezultat naše studije (slika 1). Slične rezultate pokazuju Klarkson i njegovi saradnici, koji ističu da najveći udeo u porastu serumskog holesterola čini upravo LDL frakcija, čiji porast može biti četvorostruk (30).

S druge strane, u serumu životinja uljane kontrolne grupe i životinja tretiranih holesterolom registrovano je visoko statistički značajno sniženje ($p < 0.01$) koncentracije TG u odnosu na kontrolne vrednosti (slika 1). Ovaj naš nalaz verovatno ukazuje na aktivaciju antioksidacijskih procesa u tkivu aorte životinja U i H grupe u odnosu na životinje u kontrolnoj grupi, čime se smanjuje odlaganje triglicerida u tkivo zidova krvnih sudova. Naime, prema podacima iz literature, nezasićene masne kiseline omega šest ($\Omega 6$), koje su osnova biljnih ulja, kao i omega tri ($\Omega 3$) kiseline prisutne u ribljem ulju, utiču na smanjenje aterogenih serumskih lipidnih frakcija i povećanje nivoa HDL, koji uklanja holesterol iz ćelije (32, 33).

Statistički značajno sniženje ($p < 0.05$) vrednosti HDL, koje je u našem istraživanju ustanovljeno u serumu U i H grupe u odnosu na K grupu, kao i u serumu H grupe u odnosu na U grupu (slika 1), u saglasnosti je sa nađenim statistički značajnim sniženjem sadržaja ove najmanje i najgušće lipoproteinske partikule u serumu životinja na hiperholesterolskoj dijeti. Pad nivoa HDL uz porast LDL frakcije predstavlja glavnu izmenu lipoproteina u plazmi ovih životinja (29). Takođe, ovi naši rezultati se mogu posmatrati u svetlu uspostavljanja određenih mehanizama sadejstva serumskih lipidnih frakcija koji izostaju u normalnim uslovima.

U našem radu registrovano je visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) koncentracije UH i LDL, kao i nesignifikantno smanjenje ($p > 0.05$) koncentracije TG (slika 1) u serumu kunića na hiperholesterolskoj dijeti u odnosu na uljanu kontrolnu grupu, što ukazuje na poremećaj fizioloških regulacijskih mehanizama održavanja koncentracije ovih lipidnih frakcija pod dejstvom holesterola kao etiološkog činioca.

Delotvornost metodološkog pristupa korišćenog u našem radu potvrđena je i histološki.

Tkivo torakalne aorte kunića kontrolne grupe, koje je prikazano na slici 2 je, prema očekivanjima, očuvane strukture.

Početna faza ateroskleroze, koja se zapaža u tkivu torakalne aorte životinja hranjenih uljem ide u prilog pretpostavci o imunogenom uticaju jestivog ulja (34). Infiltracija tkiva torakalne aorte kunića uljane kontrolne grupe inflamacijskim ćelijama i uljana dijeta narušavaju homeostatske mehanizme u ovom krvnom sudu (34–39), što može biti povezano sa našim rezultatima (slika 3).

Kod kunića na hiperholesterolskoj dijeti torakalna aorta je predilekciono mesto nastanka ateroskleroze (slika 4).

Naši rezultati ukazuju na značajnu ulogu lipidnog profila u nastanku i razvoju eksperimentalne ateroskleroze.

LISTA SKRAĆENICA

GFO – glicerolfosfat oksidaza

GK – glicerol kinaza

GLP – dobra laboratorijska praksa (engl. Good Laboratory Practice)

H – eksperimentalna grupa kunića na hiperholesterolskoj dijeti

HDL – lipoproteini velike gustine (engl. high density lipoproteins)

HE – holesterol esteraza

HMG-CoA reduktaza – hidroksimetil glutaril-koenzim A reduktaza

HO – holesterol oksidaza

H₂O₂ – vodonik peroksid
HPO – vodonik peroksidaza
IL-1 – interleukin-1
K – kontrolna grupa kunića
LDL – lipoproteini male gustine (engl. low density lipoproteins)
M-CSF – faktor koji stimulira kolonije makrofaga (engl. macrophage colony stimulating factor)
NO – azot monoksid
O₂·- – superoksidni anjon
ox-LDL – oksidovani lipoproteini male gustine (engl. oxidized low density lipoproteins)
RKV – reaktivne kiseoničke vrste
SRA – receptori „čistači” klase A (engl. scavenger receptors class A)
TG – trigliceridi
TNFs – faktori tumorske nekroze (engl. tumor necrosis factors)
U – kontrolna grupa kunića na uljanoj dijeti
UH – ukupan kolesterol
VLDL – lipoproteini vrlo male gustine (engl. very low density lipoproteins)

LITERATURA

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801–9.
2. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115–26.
3. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420(19/26):868–74.
4. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D. The burden of cardiovascular mortality in Europe: task force of the European society of cardiology on cardiovascular mortality and morbidity statistics in Europe. *Eur Heart J* 1997;18:1231–48.
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685–95.
6. Kanjuh V, Lastić-Maletić S, Velimirović D. Ateroskleroza. U: Maksimović Ž, ur. Osnove vaskularne hirurgije i angiologije. Beograd: CIBID, 2004:93–5.
7. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Ateroskleroza u svetlu postojećih naučnih teorija. *Medicinska istraživanja* 2008;42(2):29–36.
8. Naseem KM. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med* 2005;26:33–65.
9. Tselepis AD, Chapman MJ. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipaseA2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002;3:57–68.
10. Dollery CM, Libby P. Atherosclerosis and proteinase activation. *Cardiovasc Res* 2006;69:625–35.
11. Gorenne I, Kavurma M, Scott S, Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2006;72:9–17.
12. Napoli C, Lerman LO. Involvement of oxidation-sensitive mechanisms in the cardiovascular effects of hypercholesterolemia. *Mayo Clin Proc* 2001;76:619–31.
13. Rodriguez-Porcel M, Lerman LO, Herrmann J, Sawamura T, Napoli C, Lerman A. Hypercholesterolemia and hypertension have synergistic deleterious effects on coronary endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:885–91.
14. Shaw PX, Horkko S, Tsimikas S, Chang MK, Palinski W, Silverman GJ. Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1333–9.
15. Kadl A, Bochkov VN, Huber J, Leitinger N. Apoptotic cells as sources for biologically active oxidized phospholipids. *Antioxid Redox Signal* 2004;6:311–20.
16. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91:7A–11A.
17. Đukić A. Poremećaji metabolizma organskih materija. U: Živančević-Simonović S, ur. Opšta patološka fiziologija, Kragujevac: Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski fakultet, 2002:423–40.
18. Ariyo AA, Thach C, Tracy R. Lp(a)lipoprotein, vascular disease and mortality in the elderly. *N Engl J Med* 2003;349:2108–15.
19. Kottke BA, Pineda AA, Marvin T. Hypercholesterolemia and atherosclerosis: Present and future therapy including LDL-apheresis. *J Clin Apheresis* 2006;4:35–6.
20. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol* 2007;39:44–84.
21. Martinet W, Kockx MM. Apoptosis in atherosclerosis: focus on oxidized lipids and inflammation. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:535–41.
22. Morasawa S, Asahara T. Endothelial progenitor cells for vasculogenesis. *Physiology* 2005;10:36–42.
23. Kockx MM, Cromheeke KM, Knaapen MW. Phagocytosis and Macrophage Activation Associated with Hemorrhagic Microvessels in Human Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(3):440–6.

24. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel Risk Factors for Systemic Atherosclerosis: a Comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein (a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001;285(19):2481–5.
25. Trinder P. PAP method. *Ann Clin Biochem* 1983;6:485.
26. Allain CC, Poon LS, Richmond W. Plasma lipid determination. *Clin Chem* 1974;20(4):470–5.
27. Meiphttini F. Lipid profile. *Clin Chem* 1978;24(12):2161–5.
28. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Rad Biol Med* 2001;30(5):456–62.
29. Velkovski S. Bazična istraživanja ateroskleroze i eksperimentalni modeli. U: Đurić MD, ur. *Ateroskleroza: faktori rizika, patogeneza, terapija, prevencija: sa međunarodno prihvaćenim preporukama za prevenciju ateroskleroze*. Beograd: Društvo fiziologa Srbije (Kragujevac: Grafičar), 2005: 73–8.
30. Clarkson TB, Lehner NDM, Bullock BC. Specialized research applications. *Arteriosclerosis research*. In: Weisbroth SH, Flatt RE, Kraus AL, eds. *The biology of the laboratory rabbit*. New York: Academic press, 1974: 155–65.
31. Steinberg D, Lewis A. Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 1997;95(4):1062–71.
32. Plat J, Mensink RP. Vegetable oil based versus wood based stanol ester mixtures: effects on serum lipids and hemostatic factors in non- hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis* 2000;148:101–12.
33. Gylling H, Miettinen TA. Cholesterol reduction by different plant stand mixtures and with variable fat intake. *Metabolism* 1999;48:575–80.
34. Žunić S. Bronhoalveolarna lavaža i oligoelementi u emfizemu pluća kunića izazvanom holesterolskom dijetom. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Beograd, 1997.
35. Vučević D. Značaj gvožđa u patogenezi emfizema pluća kunića izazvanog hiperholesterolskom dijetom i moguća zaštitna uloga vitamina E. Magistarska teza, Medicinski fakultet, Beograd, 1999.
36. Vučević D, Pešić BČ, Đarmati D, et al. The effect of tocopherol on serum iron content in experimental atherosclerosis. *Acta Veterinaria* 2005;55(2-3):131–45.
37. Vučević D, Milovanović I, Mladenović D, et al. The effect of tocopherol on serum lipid profile in pulmonary emphysema induced by hypercholesterolemic diet. *Acta Veterinaria* 2007;57(4): 303–20.
38. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Fibrozni plak kao metabolički stadijum ateroogeneze. *Medicinska istraživanja*, 2009;43(1):35–47.
39. Vučević D, Čolić J, Šljivančanin T, Radosavljević T, Mladenović D. Lipidni profil i sadržaj gvožđa u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Medicinska istraživanja*, 2010;44(2):43–52.