

**Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

**Кисиева Залина Ахсарбековна**

**Функционально-морфологическая характеристика, экспериментальная профилактика и терапия моделей нефропатического типа амилоидоза у сирийских хомяков**

14.03.03 - патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель - заслуженный работник высшей школы РФ,  
заслуженный деятель науки РСО-Алания,  
доктор медицинских наук,  
профессор **В.Б.Брин**

Научный консультант - заслуженный деятель науки РСО-Алания,  
доктор медицинских наук,  
профессор **К.М.Козырев**

## Оглавление

<b>Введение .....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. Современные представления об этиологии, патогенезе, морфологии и способах лечения амилоидоза (обзор литературы)..</b>	<b>11</b>
1.1. Исторические и современные данные об изучении морфологических и биохимических свойств амилоида	
1.2. Клинико-морфологические формы амилоидоза .....	14
1.3. Этиопатогенетическая характеристика и способы воспроизведения экспериментального амилоидоза .....	18
1.4. Способы лечения амилоидоза.....	25
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования .....</b>	<b>31</b>
2.1. Основные варианты опытов.....	
2.2. Используемые методы исследования .....	38
2.3. Методики определения функциональных показателей и концентрации веществ в биологических жидкостях у опытных животных .....	38
<b>Глава 3. Характеристика функционально-морфологических показателей новых моделей нефропатического типа амилоидоза, воспроизводимой введением нативной овечьей плазмы .....</b>	<b>40</b>
3.1. Воздействие многократного введения нативной овечьей плазмы на водо и – электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков .....	
3.2. Гистоструктурные изменения в органах животных, длительно получавших нативную овечью плазму .....	46
3.3. Воздействие однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда на водо и – электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков .....	51

3.4. Гистоструктурные изменения в исследуемых органах у животных, подвергшихся однократному введению нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда .....	57
--	----

<b>Глава 4. Анализ результатов исследования, полученных при введении опытным животным ацизола и милдроната на разных этапах эксперимента, с целью профилактики и лечения нефропатического типа амилоидоза.....</b>	<b>62</b>
--	-----------

4.1. Воздействие милдроната и ацизола на фоне длительных инъекций чужеродного белка на водо и - электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков .....	
---	--

4.2. Морфологические изменения в исследуемых органах у животных, подвергшихся влиянию ацизола и милдроната на фоне многократного введения нативной овечьей плазмы .....	68
---	----

4.3. Влияние одновременного введения милдроната и ацизола на водо и - электролитовыделительную функции почку золотистых сирийских хомяков с развившейся экспериментальной амилоидной нефропатией ...	71
--	----

4.4. Морфологические изменения в органах опытных амилоидных животных, подвергшихся влиянию ацизола и милдроната ...	77
---	----

<b>Глава 5. Обсуждение результатов исследования и заключение.....</b>	<b>82</b>
---	-----------

<b>Общие выводы .....</b>	<b>88</b>
---------------------------	-----------

<b>Список использованной литературы .....</b>	<b>90</b>
---	-----------

<b>Приложения .....</b>	<b>110-119</b>
-------------------------	----------------

## Введение

**Актуальность проблемы.** Амилоидоз как общий патологический процесс относится к стромально-сосудистым диспротеинозам. Характерная для амилоида химическая инертность и иммунологическая толерантность, способствуют накоплению его в различных органах и тканях, с последующим развитием в них необратимых структурных изменений, мало поддающихся лечению [46].

Сложность патогенеза, многообразие висцеральных проявлений, трудность диагностики, малая эффективность терапии, свидетельствуют об актуальности проблемы амилоидоза в целом и нефропатического его типа в частности, что, в конечном итоге, является веским аргументом необходимости комплексного изучения процесса.

Почки поражаются в 80 – 90% случаев вторичного амилоидоза и приблизительно в 30% – первичного амилоидоза. У таких больных наблюдается выраженная протеинурия, как проявление нефротического синдрома, характерного для этого страдания.

Накопление амилоида в почках наблюдается преимущественно в стенках сосудов, капиллярных петлях клубочков, базальных мембранах канальцев и соединительнотканной строме. Макроскопически почки увеличиваются в размерах, приобретая “сальный” вид. По мере нарастания процесса, почки склерозируются, вызывая амилоидное сморщивание почек, что служит критерием развития хронической почечной недостаточности [29;166].

Тяжелое поражение и инвалидизация, отсутствие эффективных методов профилактики и лечения, многообразие его висцеральных проявлений обуславливают чрезвычайную актуальность проблемы, нередко заканчивающейся фатальным исходом.

В этом контексте, создание новой экспериментальной модели нефропатического типа системного амилоидоза и поиск лекарственных средств, для ее профилактики и лечения, предоставляются своевременными.

В настоящее время известен ряд экспериментальных моделей амилоидоза, полученных применением биологических или химических амилоидогенов.

Наиболее распространена казеиновая модель амилоидоза [79], путем введения животным подкожно 5—10% взвеси или раствора казеината натрия.

Положительный результат моделирования амилоидоза почек получен впервые при использовании ряда амилоидогенов: бычьей плазмы крови [98;30], свиной плазмы крови [12;69], нативного яичного альбумина [24], нативной человеческой плазмы [14], а также нативной овечьей плазмы [42;43;44].

Кроме того, известны модели экспериментального амилоидоза, полученных при заражении животных возбудителями хронических инфекций (*Mycobacterium butiricum*), а также, введением белым мышам, нативного яичного альбумина подкожно [35].

Распространение амилоидоза в целом в различных странах неодинаково. Частота его в Испании – 1,9% вскрытий, в Португалии – 1,4%, Израиле – 0,55%, в Японии – только 0,1%, что некоторые авторы склонны объяснять особенностями пищевой предпочтительности населения.

В данном исследовании в качестве амилоидогена нами был выбрана нативная овечья плазма, обладающая для сирийских хомяков более выраженными антигенными свойствами, чем вышеизложенные агенты. Для усиления иммунного ответа, часто применяют адъювант Фрейнда, в связи с чем нами был использован способ однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адъюванта Фрейнда.

Как было отмечено, лечение амилоидоза, до сих пор остается малоэффективным, особенно при поздней его диагностике. С учетом того, что в основе развития амилоидоза лежат механизмы нарушения трофики и гипоксия пораженных органов с нарушением их функций, нами было отдано предпочтение ацизолу и милдронату в качестве профилактирующих

лечебных средств, обладающих антигипоксическим, антиоксидантным и протекторными свойствами в частности.

Ацизол, являясь комплексным цинкорганическим соединением, повышает сродство гемоглобина к кислороду ( $O_2$ ), что позволяет гемоглобину полностью насыщаться кислородом при гораздо меньших значениях парциального давления  $O_2$ , вследствие чего повышается устойчивость организма к недостатку кислорода. Кроме того, обладает иммуномодулирующим, общетонизирующим, адаптогенным, антиоксидантным и регенераторным действиями. Обладая гепатопротекторной активностью, стимулирует процессы регенерации паренхиматозных органов, слизистых оболочек и кожи.

Милдронат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (ТНР), обладает иммуномодулирующим действием посредством повышения уровня интерферона, активизирует гуморальный иммунитет [52]. Милдронат – структурный аналог гамма-бутиробетаина, обладающего вазодилатирующим действием [51]. Во время интенсивных физических нагрузок уравнивает баланс между потребностью тканей в кислороде и его доставкой, препятствует накоплению в клетках и тканях продуктов распада и токсинов, оказывая цитопротекторное действие. Милдронат стимулирует метаболические процессы, повышает работоспособность (умственную и физическую). В ишемизированных тканях (миокарда, сетчатки глаза и головного мозга), перераспределяет кровоток в пользу пораженных участков, замедляя образование зоны некроза. При появлении симптомов сердечной недостаточности он повышает сократительную способность миокардиоцитов, что способствует урежению частоты и продолжительности приступов стенокардии, и кроме того, применяется для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы [10;16;26;77;56;57;58;95], и нарушениях мозгового кровообращения [18].

Описанные механизмы действия предопределили возможность применения указанных фармакологических препаратов для профилактики и лечения экспериментального амилоидоза.

Комбинированное использование милдроната и ацизола ранее не изучалось.

**Цель работы** – создание моделей экспериментального амилоидоза нефропатического типа, изучение их функциональных и гистоструктурных характеристик, анализ возможности корректирующего влияния на амилоидогенез милдроната в сочетании с ацизолом.

#### **Задачи исследования.**

1. Создать модель экспериментального генерализованного нефропатического амилоидоза у сирийских хомяков методом длительного введения нативной овечьей плазмы.

2. Создать модель экспериментального нефропатического генерализованного амилоидоза у сирийских хомяков, методом однократного введения нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда. Сравнить ее функционально-морфологические особенности с первой моделью при длительном введении амилоидогена.

3. Исследовать функционально-морфологические изменения в органах животных, получавших милдронат и ацизол с первых дней моделирования амилоидоза, в целях профилактирующего действия.

4. Исследовать функционально-морфологические изменения в органах животных с моделью амилоидоза получавших милдронат и ацизол в качестве лечебного воздействия при сформировавшемся амилоидозе.

**Научная новизна.** Впервые получена модель системного амилоидоза воспроизведенная длительным (60 дней) подкожным введением золотистым сирийским хомякам нативной овечьей плазмы через день из расчета 0,025 мл/г массы тела животного, с преимущественным поражением почек, а также поражением сердца, печени и селезенки.

Наряду с этим, впервые, получена модель системного амилоидоза, воспроизведенная однократным подкожным введением золотистым сирийским хомякам равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в пять точек инъекций, с преимущественным поражением почек, а также поражением сердца, печени и селезенки.

Выявлены изменения основных показателей мочеобразования и экскреции электролитов, как результат развития амилоидной нефропатии. Показано, что введение милдроната и ацизола животным в конце 2-го месяца создания модели амилоидоза вызывает снижение функциональных и морфологических признаков поражения почек, приводя к снижению уровня протеинурии, частичному восстановлению ионо- и водовыделительной функции, а также регенерации стромально-сосудистых структур исследуемых органов (почки, сердце, печень, селезенка).

Установлено, что применение милдроната и ацизола с первых дней введения нативной овечьей плазмы у сирийских хомяков, способствует развитию менее выраженных нарушений электролито- и водовыделительной функций почек, значительному уменьшению степени протеинурии, а также менее выраженной гистологически подтвержденной картиной повреждения изученных органов (почки, сердце, печень, селезенка).

По теме диссертационной работы, на основании результатов исследования получен патент Федерального института промышленной собственности Российской Федерации № 2536556, зарегистрированный 24 октября 2014 года, а также 2 приоритетные справки на предполагаемые изобретения.

### **Научно-практическая значимость работы.**

Результаты экспериментального моделирования амилоидоза почек, воспроизведенного в 2 группах опытных животных, как с длительным введением амилоидогена, так и с однократным введением амилоидогена с адьювантом Фрейнда, создают возможность для получения новых моделей



амилоидоза почек, вносят вклад в теорию этиологии и патогенеза амилоидоза.

Выявленные эффекты применения милдроната и ацизола, дают возможность апробации изучения их лечебного и профилактического применения у человека с целью восстановления электролитовыводительной функции почек при амилоидозе.

Полученные результаты исследований могут служить дополнительным материалом для изучения врачами клиницистами, а также, применения вышеуказанных лекарственных препаратов для профилактики и лечения амилоидоза.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Многократное введение золотистым сирийским хомякам нативной овечьей плазмы в дозе 0,025 мл/г массы тела подкожно через день, вызывает развитие полисистемного (генерализованного) амилоидоза с поражением почек, сердца, печени, селезенки.
2. Введение равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда в дозе по 0,2 мл в 5 точек инъекций подкожно однократно, также приводит спустя 1 и 2 месяца к развитию генерализованного амилоидоза с преимущественным поражением почек, сердца, печени и селезенки.
3. Проявлениями экспериментального амилоидоза являются протеинурия, и нарушения показателей ионо - и водовыводительной функции почек.
4. Введение милдроната и ацизола животным с моделью амилоидоза нефропатического типа приводит к уменьшению степени протеинурии, некоторому восстановлению ионо - и водовыводительной функции почек, что свидетельствует о положительном протекторном действии примененных препаратов.
5. Введение милдроната и ацизола одновременно с однократным введением равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда уменьшает степень формирования нарушений

водовыделительной и ионовыделительной функции почек.

Таким образом, введение милдроната и ацизола оказывает положительное профилактирующее и корригирующее влияние на морфо-функциональные изменения при экспериментальном амилоидозе.

#### **Апробация диссертационной работы.**

Материалы и результаты исследований доложены и обсуждались на 11-й Юбилейной научной сессии, посвященной 75-летию СОГМА (Владикавказ, 2014), представлены в материалах IV международной научно-практической конференции «Академическая наука-проблемы и достижения»(Nort Charleston, USA 2014) .

## ГЛАВА I.

### СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ЭТИОПАТОГЕНЕЗ, МОРФОЛОГИЮ И МЕТОДЫ КОРРЕКЦИИ АМИЛОИДОЗА

#### (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

#### 1.1. Исторические и современные данные об изучении морфологических и биохимических свойств амилоида.

История изучения амилоидоза началась с описания врачом XVII века Бонетусом «деревянистой селезёнки». К. Рокитанским амилоидоз был описан под именем «сальной болезни» (1844) внутренних органов (ему же принадлежат исторические термины «восковая печень», «саговая селезёнка»). Через 9 лет Р. Вирхов (1893) гистологически охарактеризовал амилоид, открыл некоторые его тинкториальные свойства и ввёл само название этого диспротеиноза. Р. Вирхову посинение йодированного амилоида при обработке препарата серной кислотой напомнило известное свойство крахмала (греч. *amilou*). Так укоренился термин «амилоид», хотя впоследствии было доказано, что в данной субстанции нет крахмала.

В 19 веке после опытов Бёрч-Хиршфельда (1888), воспроизводившего амилоидоз у кроликов с помощью хронической гнойной инфекции, сформировалась теория бактериально-токсического происхождения амилоида [67].

Пониманию природы амилоидоза, как диспротеиноза, способствовала разработка неинфекционной модели этого процесса (с помощью инъекций мышам и кроликам казеината натрия) и доказательство последним белковой природы чистого амилоида [53]. В развитие этой концепции, в XX столетии появляется представление о роли иммунокомплексного процесса в формировании амилоида (теория ЛёшкеХ., ЛеттерераЭ., 1927). Вместе с тем, так как амилоидоз бывает и при агаммаглобулинемии, данная теория не могла, как казалось, удовлетворительно объяснить возникновения всех его форм. Поэтому сформировались представления о локальном клеточном

генезе амилоида (Тейлум Дж., 1954), согласно которым амилоид - комплекс разнородных белков, которые возникают внутри клеток ретикулярного происхождения («амилоидобластов») в преамилоидную фазу, а собираются в амилоид вне клеток, в амилоидную фазу процесса. Сторонникам данной теории удалось зарегистрировать образование амилоида даже в культурах ткани. Роль клеток макрофагального ряда (амилоидобластов) в генезе фибриллярного компонента амилоида при вторичном амилоидозе признают и поныне (Серов В.В, 1986).

Наконец, теория органопротеидоза (Калы В., 1961) обогатила представления об амилоидозе идеей, что решающее значение имеет аномальный, мутантный характер компонентов, составляющих амилоид. Подлинное проникновение в механизмы амилоидоза было обеспечено только с развитием иммуногистохимии и электронной микроскопии.

Как уже упоминалось, амилоид - это не отдельное химическое вещество, но группа белков из фибриллярных и глобулярных белков, связанных с полисахаридами, структурно взаимодействующих между собой характерным образом [4].

Электронная микроскопия являясь наиболее специфичным диагностическим методом, позволила определить амилоид состоящий из ригидных, линейных, неветвящихся соединенных фибрилл шириной от 7,5 до 10 нм и различной длины [140].

Собранная из амилоидных фибрилл  $\beta$  - складчатая конфигурация, определяет оптические и тинкториальные свойства амилоида (АФ) [172]. Также обнаруживаются несобранные в пучки тонкие фибриллы, известные как Р-компонент [116].

Р-компонент - это гликопротеин, ассоциированный с фибриллами при всех известных вариантах амилоидоза, но помимо этого является составной частью соединительной ткани определяющийся при иммунофлюоресцентном исследовании в интактных и измененных мембранах, в том числе в клубочковых мембранах почек. Р-компонент

составляет 15-20% общего белка амилоидных фибрилл [143]. Выяснилось, что *in vitro* Р-компонент в некоторых типах амилоидных фибрилл (АФ) препятствует их ферментному разрушению [175].

Известно, что в некоторых экспериментальных моделях у мышей отсутствие Р-компонента приводит к тому, что у этих животных амилоидоз не развивается [130]. Резистентность амилоидных фибрилл к протеолитическим ферментам и характерная им нерастворимость, способствуют накоплению их в различных органах и тканях, с последующим разрушением нормальной ткани, [32] указывает, что амилоид устойчив даже к гниению. Он не вымывается из тканей солевыми растворами при физиологических концентрациях электролитов. Однако амилоид можно экстрагировать дистиллированной водой, что используется при его химических анализах.

Важнейшим исследованием последних 30 лет стало уточнение биохимической структуры основного белка АФ, представленной особой белковой структурой диаметром 5-10 нм и длиной до 800 нм, состоящую из 2 и более параллельно расположенных филаментов. Способность образовывать при специфических условиях агрегаты, приводящих к образованию и отложению амилоида, служит для них единственным общим признаком.

Для белковых субъединиц амилоидных фибрилл характерна своеобразная пространственная ориентация молекулы - кросс- $\beta$ -складчатая конформация [150;157], которая помимо системного и локального амилоидоза, может служить причиной таких заболеваний, как, сахарный диабет 2 типа и нейродегенеративные заболевания [156].

Именно она определяет присущие амилоиду тинкториальные и оптические свойства. Специфическим для диагностики амилоидоза, является свойство двойного преломления луча при микроскопии окрашенных красным конго препаратов в поляризованном свете, дающее яблочно-зелёное

свечение [164], что объясняет механизм морфогенетических и патогенетических звеньев заболевания.

## **1.2. Клинико-морфологические формы амилоидоза.**

В связи с возможностью точной биохимической идентификации белков, входящих в состав амилоидных фибрилл, выделены типы амилоидоза и определена связь отдельных белков с клиническими формами амилоидоза.

Различают следующие основные формы амилоидоза: 1) первичный амилоидоз [91;37;90;59;68], по-видимому, представляющий собой врожденную ферментопатию, наследуемую аутосомно-доминантным путем (возможно, имеется несколько форм врожденного амилоидоза); 2) вторичный амилоидоз, возникающий на фоне длительных хронических заболеваний, характеризующихся распадом тканей и всасыванием продуктов распада (при туберкулезе легких и других органов, бронхоэктатической болезни, хроническом остеомиелите и других заболеваниях) [60;103] или значительными иммунопатологическими нарушениями (неспецифический язвенный колит, сывороточная болезнь и т. д.); 3) идиопатический амилоидоз [63]; 4) старческий амилоидоз [6;50;88].

Гафни [133] сводит все разнообразие наследственного амилоидоза к трем клинико-морфологическим типам (формам):

- нефропатический, проявляющийся протеинурией, нефротическим синдромом и уреемией в финале заболевания;
- нейропатический, характеризующийся прогрессирующим полиневритом с мышечной атрофией, импотенцией, кишечными расстройствами и кахексией [49]
- кардиопатический, которому свойственна нарастающая сердечная недостаточность [71;72;100].

Проблему развития амилоидоза почек изучают уже более ста лет. Однако до сих пор до конца не выяснено, что же конкретно вызывает поражение абсолютно любых тканей и органов и появление разнообразных клинических симптомов. Амилоидоз почек встречающийся в 90-95%

случаев амилоидоза, еще называют амилоидной дистрофией, амилоидным нефрозом. Амилоидная дистрофия, так же, как и гломерулонефрит, становятся главной причиной появления нефротического синдрома [29;151].

Клинические проявления амилоидоза почек весьма разнообразны: они зависят от локализации отложения амилоида в других органах, длительности заболевания, степени выраженности нарушения структуры и функции пораженного органа, а также от тяжести первичного заболевания, явившегося причиной развития амилоидоза.

Амилоид накапливается:

- в интима или адвентиции мелких кровеносных сосудов;
- в интерстициальной ткани по ходу ретикулярных и коллагеновых волокон;
- в базальной мембране эпителиальных структур.

Амилоид может образовываться как из альбуминов и глобулинов (при первичной патологии), так из других белков.

По данным исследований, женщины более восприимчивы к развитию первичного амилоидоза (AL амилоидоза) [119]. При этом для всех форм амилоидоза почек характерны вполне определенные признаки.

Заболевание возникает в большинстве случаев в раннем детстве [5], болезни свойственно хроническое течение, сменяющееся ремиссиями и обострениями. Наиболее распространенными формами системного амилоидоза являются AL(первичный) и AA(вторичный) амилоидоз [125;152].

Одним из основных органов, чаще всего поражающихся при системном амилоидозе являются почки [119;159], претерпевающая очередность смены стадий (преклиническая, протеинуическая, нефротическая, уремическая).

Кроме этого, известны особые формы отложений амилоида. Описаны клинические случаи, когда экстрамедуллярная плазмоцитома приводила к отложению амилоида, иногда в форме опухолевидного амилоидоза, например в дыхательных путях, желудочно-кишечном тракте и в слизистых оболочках других органов. При наличии *Corpora amyloacea* в легких,

предстательной железе и печени речь идет также об амилоиде. Известны случаи развития заболевания при злокачественных новообразованиях, особенно опухолях эндокринной системы.

Независимо от типа и формы амилоидозной дистрофии при течении болезни осуществляется вытеснение характерных структурных элементов тканей амилоидной субстанцией, сначала снижение, а впоследствии и полная утрата функций пораженных органов.

Внешнее строение органов при амилоидозе, зависит от степени развития процесса. При незначительных отложениях амилоида, амилоидоз диагностируется лишь при микроскопическом исследовании.

В последнее время разработаны современные методы диагностики, основанные на определении и мониторинге концентрации в крови белков-предшественников АА- и АL-амилоидоза, являющихся важным фактором оценки прогноза болезни и эффективности терапии [80;75;62].

При амилоидозе печени и селезенки наблюдается гепатоспленомегалия [136]. Спленомегалия с развитием гипреспленизма и в редких случаях может вызвать разрыв селезенки [126;137].

В кишечнике амилоид выпадает в строме ворсин слизистой оболочки, а также в стенках сосудов как слизистой оболочки, так и подслизистого слоя, что проявляется нарушением моторики, болями в животе, тошнотой, диареей и запорами, механической или паралитической кишечной непроходимостью, желудочно-кишечными кровотечениями, а также нарушением функций и целостности стенок [167].

При локальном амилоидозе кишечника амилоидное вещество откладывается в виде амилоидной опухоли [85;92]. При резко выраженном амилоидозе железистый аппарат кишечника атрофируется. Достоверным диагностическим критерием амилоидоза служит обнаружение его в биоптате слизистой десны и кишечника [40;134], а также в губной слюнной железе и подкожно-жировой клетчатке живота [105;124;127;144;149].

Накопление амилоида может встречаться и органах эндокринной



системы [145;180], в частности в сосудах и строме надпочечников, способствуя при этом развитию артериальной гипотонии [110], щитовидной железы и половых желез вызывая в них функциональную недостаточность [162].

В условиях гипоксии, процессы ишемического повреждения миокарда усугубляются под влиянием повышенного выброса катехоламинов при физическом и эмоциональном напряжении, которые активизируют свободнорадикальное окисление жирных кислот с накоплением промежуточных продуктов, опасных для организма (ацил-КоА, ацилкарнитин). Они повреждают клеточные мембраны и блокируют доставку АТФ из митохондрий к органеллам клетки. В результате этого происходит апоптоз клеток, даже если запасов АТФ достаточно для их функционирования в течение некоторого времени. Для предотвращения этого процесса необходимо либо улучшение их кровоснабжения, либо ограничение синтеза карнитина как основного фактора, определяющего интенсивность использования длинноцепочечных жирных кислот [11;104].

В сердце амилоид обнаруживается под эндокардом, в волокнах и сосудах стромы, а также в эпикарде по ходу вен. Отложение амилоида в сердце ведет к резкому его увеличению, т.е. амилоидной кардиомегалии [27], с последующим развитием систолической и диастолической дисфункции, в том числе и нарушений в проводящей системе сердца [33;81;95;97;128;181].

Отложение амилоида в почках, чаще наблюдается в стенках базальных мембран канальцев и капилляров клубочков [132;143], обуславливая при этом большую чувствительность почек к гемодинамическим нарушениям, вызванных амилоидозом сердца и ортостатической артериальной гипотонией, которые характерны, в частности для системного AL-амилоидоза [48], меньшей степени откладывается в мезангиальном матриксе, базальных мембранах гладкомышечных клеток, стенок артерий и интерстиции [115;135;158]. Особенно неблагоприятным считается, отложение амилоида в клубочках, по сравнению с отложением его в сосудах

и канальцах почек [1;177], при этом значительных изменений размера не происходит на протяжении всех стадий поражения почек, что тем самым предотвращает атрофию почек, развивающуюся зачастую в терминальную стадию почечной недостаточности [119].

Почки увеличиваются в размере, приобретая при этом «сальный» вид. Наиболее распространенным первоначальным проявлением поражения почек при амилоидозе является бессимптомная протеинурия, хотя которая выявляется в 10-30 % случаев на фоне нормальной функции почек [181].

По литературным данным, у пациентов с семейной средиземноморской лихорадкой, на фоне развития вторичного амилоидоза выявлялась протеинурия в 32%, хроническая почечная недостаточность в 28% случаев и нефротический синдром в 40% случаев [176]. Крайне редко при амилоидозе почек развивается гематурия и гипертония.

Хроническая почечная недостаточность является основной причиной смерти больных амилоидозом.

### **1.3. Этиопатогенетическая характеристика и способы воспроизведения экспериментального амилоидоза.**

В 1844 г. венский патолог К.Рокитанский, впервые описал изменения паренхиматозных органов, которые, становясь плотными и ломкими, приобретали сальный вид. Так возникло понятие о "сальной болезни" Рокитанского. Несколько лет спустя Р.Вирхов назвал вещество, появляющееся в органах при "сальной болезни", амилоидом, поскольку под действием йода и серной кислоты оно, подобно крахмалу, окрашивалось в синий цвет. Потребовалось 20 лет для того, чтобы опровергнуть утверждения Р. Вирхова и доказать белковую природу амилоида.

Современные представления об амилоидогенезе предполагают выработку особого белка-предшественника амилоида под влиянием так называемого амилоидвысвобождающего фактора, продуцируемого

макрофагами вследствие генетического дефекта или под воздействием стимулирующего агента [1].

Исследования R.Kisilevsky и соавт., выявили важный фактор амилоидогенеза [112;141;107;146;138], основанный на связывании белка-предшественника с гликозаминогликанами гепарансульфатного типа, причем связывание происходит специфически в определенном сайте гепарансульфата и амилоидогенного белка, в первую очередь изотипа-1.1 белка SAA. Возможность специфического связывания с гепарансульфатами показана также при A $\beta$ , ATTR, A $\beta$ <sub>2</sub>M, AL. Считается, что к формированию амилоидоза приводят разнообразные дефекты в иммунной системе организма [8;39].

Амилоид — гликопротеид, основным компонентом которого является фибриллярный белок (F-компонент), имеющий характерную ультраструктуру. F-компонент связан в амилоиде с плазменными гликопротеидами (P-компонент). Оба эти компонента обладают антигенными свойствами. Амилоидное вещество метахроматично, дает характерную люминесценцию с тиюфлавинами [142].

Белок амилоидных фибрилл синтезируется клетками, которые получили название "амилоидобласты"[85;86;89]. Они представлены при генерализованном амилоидозе макрофагами, плазматическими клетками, кардиомиоцитами, гладкими мышечными клетками сосудов и др. Фибриллы амилоида образуются на цитолемме амилоидобластов вее инвагинатах.

Образующееся амилоидное вещество выпадает по ходу ретикулярных (периретикулярный амилоидоз) либо коллагеновых (периколлагенивый амилоидоз) волокон. Встречается и смешанный вариант выпадения амилоида. Все признаки и симптомы амилоидоза могут быть разделены на две большие группы. С одной стороны, это заболевание относится к системным нозологиям. С другой - амилоид может (что не является редкостью) откладываться в определенном органе.

Выделение таких групп амилоидоза оказалось весьма перспективным: оно показало, что каждая из этих групп представлена этиологически разными его формами [87].

Во-первых, доказана гетерогенность белка амилоидных фибрилл - выделено несколько видов специфического фибриллярного белка амилоида: AA, AL, FAP, ASC. Это значит, что единого амилоида при генерализованном амилоидозе нет, существуют различные его виды. Руководствуясь био(гисто)химическими признаками, определены группы генерализованного амилоидоза: AA-, AL-, FAP-, ASC<sub>1</sub>-амилоидоз.

Предшественником AA-белка амилоидных фибрилл является α-глобулин, названный сывороточным амилоидным белком – SAA, который способен подвергаться абберантному процессингу, и непосредственно является ведущим патогенетическим звеном в развитии AA-амилоидоза [3;47;174]. Доказана возможность трансформации его в AA-белок с образованием амилоидных фибрилл *in vivo*.

У человека и животных SAA ведет себя подобно "острофазному" белку: содержание его в сыворотке после применения воспалительного стимула повышается в несколько сотен раз. Установлены, влияние SAA на активность киллеров, взаимодействие Т-лимфоцитов с макрофагами, синтез антител плазматическими клетками. Таким образом, можно говорить об определенной взаимосвязи между содержанием SAA в сыворотке крови и состоянием систем моноцитарного фагоцита и лимфоцита. Это открывает перспективы изучения патогенеза AA-амилоидоза.

SAA синтезируется главным образом гепатоцитами [178], хотя может синтезироваться и другими клетками - фибробластами и полиморфно-ядерными лейкоцитами. В гепатоцитах помимо синтеза осуществляется и деградация SAA до его субъединиц, что объясняет постоянство содержания SAA в сыворотке крови в ничтожных (до 1 мкг/мл) количествах в нормальных условиях жизнедеятельности. Содержание SAA в сыворотке крови зависит и от активности макрофагальной системы. Часть

циркулирующего SAA фильтруется в почечных гломерулах и реабсорбируется - второй путь метаболизма SAA. Об этом свидетельствует обнаружение SAA в подоцитах и мезангиальных клетках, способных к фагоцитозу.

Второй путь метаболизма SAA позволяет понять особую заинтересованность почек при AA-амилоидозе (нефропатический амилоидоз) при котором сравнительно редко встречается двусторонний тромбоз венозной системы почек. Это осложнение, вероятно, связано с тем, что кровь «отдает» почечному амилоиду значительное количество альбуминов и глобулинов и относительно обогащается фибриногеном. В результате свертываемость крови в венозной системе почек повышается[114]

Больному амилоидозом в любой стадии угрожает острая почечная недостаточность.

Известно, что предшественником AL-белка амилоидных фибрилл, являются g- и L -легкие цепи иммуноглобулинов и, возможно, их фрагменты [165]. Среди них обнаружены определенные более амилоидогенные типы [169]. Способность их к деградации и синтезу белка, лежит в основе механизмов построения амилоидных фибрилл.

Приведенные данные могут обосновать патогенез AA- и AL-форм генерализованного амилоидоза. Основными этапами патогенеза AA-амилоидоза являются:

- 1) стимуляция синтеза SAA (печень) интерлейкином 1 в результате активации системы моноцитарных фагоцитов, что ведет к резкому увеличению содержания предшественника AA-белка в плазме крови [170];
- 2) усиленная, но неполная ферментативная деградация SAA макрофагами, появление белка AA;
- 3) сборка на поверхности макрофагов - амилоидобластов фибрилл амилоида из фрагментов деградирующего SAA (белка AA) под воздействием амилоидстимулирующего фактора (АСФ) и при участии деградирующей активности сыворотки (ДАС). В этой системе следует найти место второму

(почечному) пути метаболизма SAA, о котором уже говорилось и который делает понятным преимущественное поражение почек при AA-амилоидозе.

Основными звеньями патогенеза AL-амилоидоза можно считать: 1) синтез легких цепей иммуноглобулинов как проявление "плазмноклеточной дискразии"; 2) образование амилоидных фибрилл из легких цепей плазматическими, миеломными (опухолевыми) клетками и макрофагами в условиях нарушенной деградации моноклональных легких цепей или появления легких цепей с особыми структурами ("аминокислотные замены").

При этом между клетками-амилоидобластами - миеломными (плазматическими) и макрофагами - возникает подчиненное механизму амилоидогенеза взаимодействие.

Таким образом, можно утверждать, что существует гетерогенность как био(гисто)химических свойств фибриллярного белка амилоида, так и патогенеза генерализованного амилоидоза.

Это связано исходно с различными причинами, т.е. этиологией амилоидоза. Гетерогенностью генерализованного амилоидоза обусловлено огромное разнообразие его клинико-морфологических проявлений в виде самостоятельных заболеваний и осложнений многих других болезней, которые выступают нередко в качестве вторых болезней. Все это позволяет говорить не об амилоидозе, а об амилоидозах, которые, будучи системными (генерализованными), становятся морфологической и патогенетической основой системной дезорганизации соединительной ткани, в основе которой лежит прогрессирующий синтез аномального фибриллярного белка.

Более глубокое изучение звеньев этиопатогенеза и поиск новых способов профилактики и лечения амилоидоза, создают необходимость в воспроизведении моделей экспериментального амилоидоза у животных для решения задач этиологии и патогенеза данной патологии, а также изучения новых средств профилактики и коррекции морфо-функциональных проявлений амилоидоза.

На сегодняшний день известно множество способов воспроизведения моделей амилоидоза, с использованием биологических или химических агентов, вводимых животным как отдельно [111], так и в различных их сочетаниях [106] воздействующих на звенья иммунной системы. Роль нарушений гуморального и клеточного иммунитета в развитии амилоидоза можно считать доказанной, с нарушениями в иммунологическом гомеостазе в ряде случаев можно связать появление пула клеток амилоидобластов, способных секретировать аномальный фибриллярный белок. Однако такое объяснение применимо лишь к экспериментальному амилоидозу и вторичному амилоидозу у человека (исключая параамилоидоз). Механизм же развития идиопатического, генетического (семейного) и старческого амилоидоза иммунологическими нарушениями сегодня трудно объяснить.

В качестве амилоидогена все чаще используются биологические субстраты, например представленные введением лабораторным животным бактериальных вакцин [171]. Описано подкожное введение животным казеината натрия [79]. Однако данный способ имеет некоторые недостатки, обусловленных содержанием большого количества натрия и наличием щелочной реакции, приобретаемых в процессе приготовления раствора казеината натрия, при растворении его в горячем растворе гидроксида натрия, воздействие которых, изменяет достоверность показателей функционального состояния системы кровообращения, почек и, минерального обмена.

В течение последних лет, на базе нашей лаборатории были разработаны новые способы воспроизведения моделей амилоидоза, заключающиеся в введении:

- белым мышам по 1 мл нативного яичного альбумина подкожно через день в течение 30 дней [35].

-золотистым сирийским хомякам, нативной бычьей плазмы из расчета 0,025 мл/г массы тела животного подкожно через день в течение 60

дней [98]. Получена модель кардиопатического типа амилоидоза (Патент РФ №2306617). [30]

- сирийским золотистым хомякам, нативной свиной плазмы из расчета 0,025 мл/г массы тела животного через день в течение 60 дней [12;69]. Получена модель нефропатического типа амилоидоза (Патент РФ №2347279) [70].

- крысам-самцам линии Vistar нативного яичного альбумина [24].

- а также, сирийским хомякам нативной человеческой плазмы [14].

- старым крысам, равнодолевой смеси нативного яичного альбумина с полным адьювантом Фрейнда подкожно по 0,2 мл в 5 точек: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа [94].

- сирийским хомякам нативной овечьей плазмы в дозе 0,025 мл/г массы тела через день в течение 60 дней [42].

- сирийским хомякам равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда подкожно по 0,2 мл в 5 точек: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа [43;44].

Задача подбора удобных экспериментальных животных с целью воспроизведения новых моделей амилоидоза остается не решенной.

В качестве экспериментальных животных нами выбраны самцы золотистых сирийских хомяков, имеющих относительно более крупные по сравнению с размерами белых мышей, и более высокую восприимчивость к амилоидозу, в отличие от крыс, попытки воспроизведения моделей амилоидоза на которых были безуспешны, в связи с малой чувствительностью к развитию диспротеинозов, обусловленных особенностями обменных процессов.

Методика воспроизведения нами новой модели экспериментального амилоидоза заключалась в подкожном введении сирийским хомякам нативной овечьей плазмы животным из расчета 0,025 мг/г массы тела животного через день, в течение 60 дней.



Также, нами применен способ однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда по 0,2 в 5 точек инъекций (внутрибрюшинно, паховые и подмышечные области справа и слева).

#### **1.4. Способы лечения амилоидоза**

При амилоидозе почек лечение до сих пор остается малоэффективным, особенно при поздней его диагностике, но имеющиеся в настоящее время данные о патогенезе амилоидоза позволяют говорить о большом спектре активных терапевтических методов [73]. Патогенетическая терапия направлена на: 1) элиминацию факторов амилоидогенеза; 2) торможение продукции амилоида; 3) резорбцию уже выпавшего амилоида [2;28]. Важное значение имеет активное лечение основного заболевания, при котором развивается амилоидоз, например, лечение хронического остеомиелита и т.д.

С целью лечения AL-амилоидоза используют: алкилирующие цитостатики (мелфалан), иммунодепрессивные препараты (преднизолон, дексаметазон) и, применяемую в последнее время, трансплантацию стволовых клеток [161]. Возможно использование препаратов (мелфалан) в комбинации с преднизолоном [108], с целью угнетения функций некоторых клонов лимфоцитов, в частности, синтезирующих легкие цепи иммуноглобулинов, и участвующих в формировании амилоидной фибриллы, что имеет отношение прежде всего к первичному амилоидозу. Кроме того, по данным литературы применены Тандем циклы высоких доз мелфалана и трансплантации аутологичных стволовых клеток у больных с AL амилоидозом [139;148].

В связи с этим, помимо удаления очага хронической антигенной стимуляции, может обсуждаться применение средств, препятствующих образованию предшественника амилоида (например, торможение образования легких цепей), удаление образующихся предшественников

амилоида плазмаферезом, стимуляция фагоцитоза антисывороткой к амилоиду или его составным частям и т. п.

Развитие ХПН – является показанием к плановому гемодиализу, хотя выживаемость больных с амилоидозом почек, находящихся на гемодиализе, ниже, чем у больных с другими причинами ХПН (годовая выживаемость составляет 60% [22]). Ввиду развивающейся инфильтрации амилоидом сосудистой стенки [76], возможными тромботическими осложнениями а также имеющейся симптоматической гипотонией, проведение гемодиализа, становится невозможным у ряда пациентов. Перитонеальный диализ противопоказан больным с недоеданием и гипоальбуминемией [175]. При проведении лечения гемодиализацией в режиме online (режим ГДФ ONLINE предусматривает использование в качестве замещающего раствора сверхчистого диализата, который готовится непосредственно в аппарате для гемодиализа) позволяет добиться значительного снижения постдиализного уровня бета-2-микроглобулина (на 70% и более) [160].

Наилучшим перспективным методом лечения терминальной стадии почечной недостаточности у пациентов с амилоидозом, может служить трансплантация почек [168]. Отмечается высокая частота рецидивов амилоидоза после трансплантации почки. Причина смерти больных - сердечная или почечная недостаточность.

При этом с целью предупреждения возникновения рецидивов, используют комбинированную трансплантацию печени и почек [120].

К средствам, обладающим выраженным тропизмом к тканевым клеточным элементам, в том числе к элементам ретикуло-эндотелиальной системы, относят препараты 4-аминохинолинового ряда (хингамин, резохин, хлорохин, делагил, плаквенил). Спектр действия этих антималярийных средств далеко не ограничивается только прямым влиянием на малярийный плазмодий. Суммируя проведенные исследования, можно отметить тормозящее влияние 4-аминохинолинов на синтез нуклеиновых кислот, активность ряда ферментов (аденозинтрифосфатаза, моноаминоксидаза,

холинэстераза), образование кислых мукополисахаридов, стабилизацию лизосомальных мембран.

Обоснованность использования препаратов 4-аминохинолинового ряда при амилоидозе подкреплена результатами изучения их действия при экспериментальном (казеиновом) амилоидозе у кроликов (Мухин Н. А., 1966), когда у животных, получавших делагил, были обнаружены заметная задержка появления и меньшая по сравнению с контрольной группой выраженность биохимических и морфологических признаков болезни под влиянием длительного насыщения делагилом.

Также получены экспериментальные данные о тормозящем влиянии на развитие амилоидоза препаратов типа колхицина [118]. Несомненно, эти препараты урежают частоту приступов периодической болезни (ПБ) у человека [74;117;131]. Их влияние на дальнейшее течение амилоидоза требует дальнейшего дополнительного изучения. Появившиеся сообщения о применении колхицина при амилоидозе, связанном с периодической болезнью, являются в этом отношении обнадеживающими, так как колхицин достоверно предотвращает приступы ПБ и развитие амилоидоза [123].

Получены положительные результаты при использовании милдроната при кардиопатическом типе экспериментального амилоидоза [153]; как антиангинальное и антиишемическое средство [84;154;122].

Влияние милдроната на качество жизни пациентов с хронической сердечной недостаточностью [21], а также комплексной терапии больных с хроническим бронхитом [55].

Известны также исследования с применением мелаксена [36], минеральной воды и янтарной кислоты [13;19] и галавита [15]. Разработан метод аутологичной трансплантации, применяемый в гематологии [7], и использование которого в свою очередь ограничено плохим соматическим статусом большинства пациентов, и даже при соблюдении правил отбора больных для проведения вышепредложенного метода, смертность достигает 20% [139].

Также, по некоторым литературным данным, в 16 % случаев метод аутологичной трансплантации осложнялся атравматичным разрывом селезенки [109].

Использование таких препаратов, как талидомид, леналидомид и бортезомиб, в лечении амилоидоза не привело к значительному улучшению результатов терапии [163;179;147]. Это объясняется в первую очередь их высокой токсичностью, а снижение дозы вело к снижению эффективности.

В настоящее время создан препарат Эпродисат (Fibrillex, КИАСТА), конкурентно блокирующий специфические сайты на молекуле гепарансульфата, препятствуя таким образом его соединению с амилоидогенным белком. Уже начато его применение в клинической практике, показана способность препарата замедлять прогрессирование амилоидной нефропатии [129;155], обсуждается также возможность его применения при болезни Альцгеймера (А $\beta$ -амилоидоз).

Таким образом, несмотря на многообразие применяемых препаратов и методов, используемых для лечения амилоидоза, разработка наиболее эффективных и экономически выгодных методов лечения, все еще остается одной из актуальнейших задач в медицине.

В связи с имеющимися патогенетическими звеньями выделенными многими исследователями, на которые необходимо воздействовать с целью профилактики и лечения амилоидоза, нами впервые, использована комбинация препаратов, милдроната и ацизола для профилактики и лечения экспериментальной модели амилоидоза у сирийских золотистых хомяков.

Полученные данные экспериментальных исследований в Северо-Осетинской государственной медицинской академии при введении милдроната, свидетельствовали о мембраностабилизирующем действии на стрессорные и токсические поражения [54].

Было установлено его положительное воздействие на морфофункциональное состояние почек при экспериментальном

генерализованном амилоидозе [34]. Препарат не проявляет мутагенных и канцерогенных свойств [64], увеличивает уровень интерферона, активизирует гуморальный иммунитет [52]. Препарат защищает миокард от токсического воздействия катехоламинов, уменьшает накопление ацилкарнитина и защищает энергетические запасы миокарда [78]. Милдронат, снижая проникновение жирных кислот в митохондрии [38], способствует увеличению транспорта АТФ, и тем самым препятствует гибели клеток. Препарат повышает степень оксигенации эритроцитов, что способствует уменьшению ишемии в поврежденных участках тканей [66].

В результате проведенных исследований, были выявлены: антиангинальная и антиишемическая эффективность [84], а также и антиатерогенное действие [65], обусловленное снижением интенсивности процессов ПОЛ в ЛНП и повышением синтеза NO [19;20;96;102;173].

При острых и хронических ишемических нарушениях мозгового кровообращения улучшает циркуляцию крови в очаге ишемии, способствует перераспределению крови в пользу ишемизированного участка [17;18;83;113], а также лечения сочетанной ишемической болезни сердца с дисциркуляторной энцефалопатией [101].

Регенераторное, мембраностабилизирующее, иммуномодулирующее, а также свойство уменьшать плазматическое пропитывание за счет улучшения микроциркуляции, позволяют использовать этот препарат в целях профилактики и лечения амилоидоза.

В результате многолетних исследований в Иркутском институте химии СО РАН, был разработан высокоэффективный антидот и антигипоксанта - ацизол. Ацизол - оригинальный отечественный препарат, не имеющий аналогов за рубежом по структуре и действию.

Ацизол - высокоэффективный антидот против острого отравления смертельными дозами монооксида углерода и другими продуктами горения [31], а также эффективный антигипоксанта при кислородной недостаточности.

Была установлена его высокая гематологическая и антиоксидантная эффективность [25], при поражении печени хлорированными углеводородами и лекарственными средствами, при введении невысоких доз препарата, что свидетельствовало о его высокой гепатотропной активности [9;99]. Благодаря выраженному антигипоксантному и антиоксидантному действию ацизол используется в реаниматологии, неотложной терапии [82], хирургии с целью коррекции метаболического ацидоза и защиты клеточных мембран от воздействия продуктов перекисного окисления липидов.

Исходя из вышеизложенных механизмов действия милдроната и ацизола, целесообразно исследовать возможность применения этих препаратов для оценки их лечебного и профилактирующего влияния на модели экспериментального амилоидоза, воспроизведенного как с помощью длительного введения нативной овечьей плазмы, так и путем однократного введения смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Опыты проводились на 180 золотистых сирийских хомяках массой 100-120 г. Для эксперимента были отобраны половозрелые самцы, с целью исключения возможных гормональных циклов, и их влияния на водно-солевой обмен. Опытные животные в период эксперимента находились на стандартном рационе и имели свободный доступ к пище и воде. Световой режим - естественный.

При проведении экспериментов руководствовались 11-й статьей Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003).

### 2.1. Основные варианты опытов.

Для решения поставленных задач исследований, были выполнены следующие варианты опытов (Таблица 2.1.).

№ группы	Содержание группы	Кол-во хомяков
1.	Исследования интактных золотистых сирийских хомяков.	30
2.	Исследования в конце 1-го и 2-го месяца подкожного введения нативной овечьей плазмы осуществляемых через день, из расчета 0,025 мл/г массы тела животного.	30
3.	Исследования в конце 1-го и 2-го месяца эксперимента, после однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в 5 точек инъекций (в паховые и подмышечные области слева и справа подкожно и внутрибрюшинно).	30

4.	Исследования в конце 1-го и 2-го месяца эксперимента после единовременных подкожных инъекций золотистым хомякам нативной овечьей плазмы в дозе 0,025 мл/г массы тела через день в течение 60 дней эксперимента и внутривентрикулярного введения ацизола в дозе 30 мг/кг массы тела вместе с подкожным введением милдроната в дозе 5 мг/кг через день на протяжении 2-х месяцев с первого дня моделирования амилоидоза.	<b>30</b>
5.	Исследования после внутривентрикулярного введения ацизола в дозе 30 мг/кг массы тела и подкожного введения милдроната в дозе 5 мг/кг через день амилоидным хомякам, спустя 2 месяца после создания модели амилоидоза путем однократного введения нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда.	<b>30</b>
6.	Контрольные исследования после внутривентрикулярного введения интактным животным ацизола в дозе 30 мг/кг массы тела, и подкожного введения милдроната в дозе 5 мг/кг через день.	<b>30</b>
	Всего:	<b>180</b>

В указанных вариантах определялись следующие показатели:

1. Исследование водовыделительной функции почек осуществляли в течение 6-ти часов в условиях спонтанного диуреза. В конце 1-го и 2-го месяца рассчитывали, скорость клубочковой фильтрации по клиренсу эндогенного креатинина с учётом объёма выделенной жидкости, а также уровень канальцевой реабсорбции воды.

1.1. Исследование водовыделительной функции почек у контрольных золотистых хомяков (определение уровня креатинина в моче - 30 анализов, креатинин в плазме крови - 30 определений) в конце 1-го и 2-го месяца.



1.2. Исследование водовыделительной функции почек при единовременном введении равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда, при внутрижелудочном введении ацизола и подкожном введении милдроната (креатинин мочи 30 исследований, креатинин крови – 10 определений) в конце 1-го и 2-го месяца.

1.3. Исследование водовыделительной функции почек на фоне длительного подкожного введения нативной овечьей плазмы (креатинин мочи - 30 определений, креатинин крови - 10 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

1.4. Исследование водовыделительной функции почек при единовременном введении равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда (креатинин мочи - 30 определений, креатинин крови - 20 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

1.5. Исследование водовыделительной функции почек при одновременном подкожном введении нативной овечьей плазмы, с внутрижелудочным введением ацизола и подкожным введением милдроната (креатинин мочи - 30 определений, креатинин крови - 15 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

1.6. Исследование водовыделительной функции почек при единовременном введении милдроната подкожно и внутрижелудочном введении ацизола (креатинин мочи - 30 определений, креатинин крови - 15 анализов) в конце 1 и 2 месяца.

1.7. Исследование водовыделительной функции почек у сирийских хомяков с созданной моделью амилоидоза, при единовременном введении милдроната подкожно и внутрижелудочном введении ацизола, через 1 и 2 месяца (креатинин мочи – 30 анализов, креатинин крови - 15 анализов)

1.8. Измерение объема спонтанного 6-ти часового диуреза в конце 1-го и 2-го месяца у исследуемых животных.

Всего выполнено 280 исследований.

2. Изучение ионовывделительной функции почек в условиях шестичасового спонтанного диуреза.

2.1. Исследование ионовывделительной функции почек у контрольных животных (определение кальция, натрия и калия в моче - по 30 определений) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.2. Изучение влияния ацизола при единовременном внутрижелудочном введении и милдроната подкожно в условиях однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда на экскрецию электролитов с мочой (определение кальция, натрия и калия в моче – по 30 исследований) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.3. Изучение ионовывделительной функции почек при длительном подкожном введении нативной овечьей плазмы (определение кальция, натрия и калия в моче - по 30 определений) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.4. Исследования влияния однократного подкожного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда на экскрецию элетролитов (определение кальция, натрия и калия в моче - по 30 определений) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.5. Изучение влияния единовременного введения нативной овечьей плазмы подкожно, внутрижелудочного введения ацизола и подкожного введения милдроната на ионовывделительную функцию почек (определение кальция, натрия и калия в моче - по 30 исследований) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.6. Изучение электролитовывделительной функции почек у интактных животных при единовременном введении милдроната подкожно и внутрижелудочном введении ацизола (определение кальция, натрия и калия в моче по 30 исследований) в конце 1-го и 2-го месяца.

2.7. Изучение ионовывделительной функции почек у сирийских хомяков с моделью амилоидоза, при единовременном введении милдроната подкожно

и внутрижелудочном введении ацизола, через 1 и 2 месяца лечения (определение кальция, натрия и калия в моче по 30 определений).

Всего выполнено 630 анализов.

### **3. Определение содержания электролитов в плазме крови.**

3.1. Определение электролитного состава в плазме крови у фоновых животных (кальций - 20 определений, натрий и калий по 20 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.2. Определение показателей электролитов в плазме крови при единовременном внутрижелудочном введении ацизола и милдроната подкожно в условиях однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда (определение кальция 20 анализов, натрия и калия по 20 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.3. Изучение влияния длительного подкожного введения нативной овечьей плазмы на показатели электролитного состава крови (кальций - 20 определений, натрий и калий по 20 исследований) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.4. Исследование электролитного состава крови при однократном подкожном введении равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (кальций – 20 определений, натрий и калий по 20 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.5. Изучение влияния единовременного, длительного подкожного введения нативной овечьей плазмы подкожно, внутрижелудочного введения ацизола и подкожного введения милдроната на содержание катионов в плазме крови (кальций – 20 определений, натрий и калий по 20 исследований) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.6. Изучение влияния единовременного подкожного введения милдроната и внутрижелудочного введения ацизола у интактных животных на концентрацию катионов в крови (кальций - 20 определений, натрий и калий по 20 анализов) в конце 1-го и 2-го месяца.

3.7. Изучение влияния единовременного подкожного введения милдроната и внутрижелудочного введения ацизола на электролитный состав

крови у сирийских хомяков с моделью амилоидоза, через 1 и 2 месяца лечения (кальций - 20 исследований, натрий и калий по 20 определений)

Всего выполнено анализов - 420.

#### **4. Определение содержания белка в моче во всех группах животных в условиях шестичасового спонтанного диуреза.**

4.1. Определение содержания белка в моче у фоновых животных (90 анализов).

4.2. Определение содержания белка в моче через 30 и 60 дней на фоне единовременного внутрижелудочного введения ацизола и милдроната подкожно в условиях однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда (30 анализов).

4.3. Определение содержания белка в моче через 30 и 60 дней при длительном подкожном введении нативной овечьей плазмы (30 анализов).

4.4. Исследование содержания белка в моче через 30 и 60 дней на фоне однократного подкожного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (30 анализов).

4.5. Определение содержания белка в моче через 30 и 60 дней при единовременном введении нативной овечьей плазмы подкожно, внутрижелудочном введении ацизола и подкожном введении милдроната (30 анализов).

4.6. Определение содержания белка в моче через 30 и 60 дней у интактных животных при единовременном подкожном введении милдроната и внутрижелудочном введении ацизола (30 анализов) в конце 1 и 2-го месяца.

4.7. Определение содержания белка в моче через 30 и 60 дней при единовременном подкожном введении милдроната и внутрижелудочном введении ацизола у сирийских хомяков с моделью амилоидоза, через 1 и 2 месяца лечения (30 анализов).

Всего выполнено анализов - 390.

## **5. Изучение морфологических изменений в исследуемых органах, наблюдаемых в каждой группе опытных животных.**

5.1. Морфологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки интактных животных.

5.2. Гистологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки, при единовременном внутрижелудочном введении ацизола и милдроната подкожно в условиях однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда.

5.3. Гистологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки животных с длительным подкожным введением нативной овечьей плазмы.

5.4. Морфологическое исследование тканей животных, с однократным подкожным введением равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (почек, печени, сердца и селезенки).

5.5. Морфологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки животных, после единовременного введения нативной овечьей плазмы подкожно, внутрижелудочного введения ацизола и подкожного введения милдроната.

5.6. Морфологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки интактных животных, с одновременным подкожным введением милдроната и внутрижелудочным введением ацизола, через 1 и 2 месяца.

5.7. Морфологическое исследование тканей почек, печени, сердца и селезенки животных, с одновременным подкожным введением милдроната и внутрижелудочным введением ацизола, спустя 1 и 2 месяца от начала лечения модели амилоидоза.

Сделано 90 препаратов.

На протяжении работы проведено 1810 исследований.

## **2.2. Используемые методы исследования**

На 30-й и 60-й день эксперимента животные помещались в обменные клетки, где на протяжении 6-ти часов у них собиралась моча в условиях спонтанного диуреза.

Определялись в моче концентрация натрия, калия, кальция, креатинина, а также общего белка.

Нативную овечью плазму из расчета 0,025 мл/г массы тела животного вводили подкожно через день в течение 60 дней.

Милдронат из расчета 5 мг/кг массы тела животного вводили подкожно через день, в течение 60 дней. Порошок ацизола растворяли в дистиллированной воде, с последующим его введением через зонд из расчета 30 мг/кг через день в течение 60-ти дней.

Равнодолевую смесь нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда по 0,2 мл вводили однократно подкожно в пять точек инъекций (в подмышечные и паховые области слева и справа и внутрибрюшинно).

По окончании срока эксперимента (60 дней) животные забивались под тиопенталовым наркозом. Проводилось исследование крови и тканей. В плазме крови определялись концентрация креатинина, натрия, калия, кальция и общего белка.

Для морфологических исследований образцы тканей почек, печени, миокарда и селезенки фиксировали в 10% нейтральном формалине, после чего подвергали заливке в парафин с последующим приготовлением срезов толщиной 5-6 микрон. Окрашивание срезов производили гематоксилином, эозином, конго красным. Полученные микропрепараты изучались в проходящем свете при помощи микроскопа Микмед-1 под увеличением 200х400х600.

## **2.3. Методики определения функциональных показателей и концентрации веществ в биологических жидкостях у опытных животных.**

1. Определение натрия и калия.

Концентрацию натрия и калия в моче и плазме крови определяли методом пламенной фотометрии с помощью автоматического пламенного фотометра ФПА,ЮНИКО-СИС.

## 2. Определение кальция.

Содержание общего кальция в моче и плазме крови определяли спектрофотометрически с помощью набора «Кальций» ООО «Агат-Мед» (г. Москва, Россия) на спектрофотометре - UNICO 2800.

## 3. Определение креатинина.

Содержание креатинина в моче и плазме крови определяли спектрофотометрически (Меерзон А.К., Татаренко О.Т., Андреева Е.К., 1990) с помощью набора «Креатинин» ООО «Агат-Мед» (г. Москва, Россия) на спектрометре - UNICO 2800.

## 4. Определение белка.

В моче и крови определяли количество общего белка с помощью спектрофотометра - UNICO 2800,с использованием реактива Фолина.

5. Полученные показатели водо- и ионовывделительной функции почек рассчитывали по общепринятым формулам [61]. Вычисляли:

- скорость клубочковой фильтрации воды по клиренсу эндогенного креатинина;
- уровень канальцевой реабсорбции воды;
- экскрецию, относительную реабсорбцию и фильтрационный заряд электролитов.

Математическую обработку результатов исследований во всех сериях опытов проводили на ПЭВМ Pentium-4 методом вариационного анализа по «t» критерию Стьюдента с использованием программы «Graph Pad Prism 4.0».

**Характеристика функционально-морфологических показателей новых моделей нефропатического типа амилоидоза, воспроизводимой введением нативной овечьей плазмы**

**3.1. Воздействие длительного введения нативной овечьей плазмы из расчета 0,025 мл/г массы тела животного на водо- и электровыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков.**

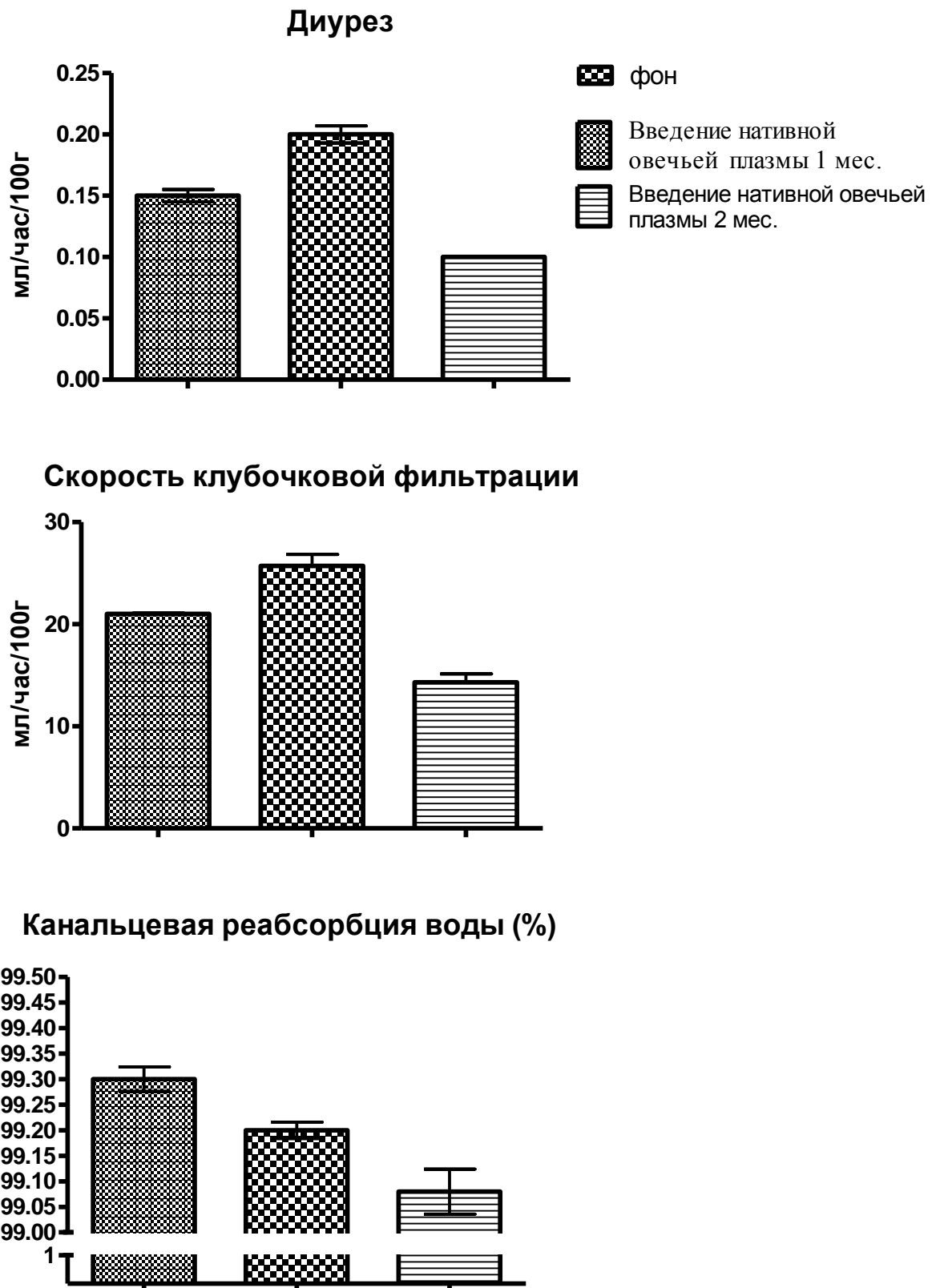
По истечении 1-го месяца подкожных инъекций нативной овечьей плазмы с целью воспроизведения экспериментальной амилоидной нефропатии, было выявлено, увеличение диуреза сравнительно показателей интактных животных, обусловленное уменьшением канальцевой реабсорбции воды и повышением скорости клубочковой фильтрации (рис.3.1).

На 60-й день введения амилоидогена сравнительно с показателями фоновых животных наблюдалось уменьшение диуреза, обусловленное снижением скорости клубочковой фильтрации, хотя одновременно снижалась и канальцевая реабсорбция воды (рис.3.1).

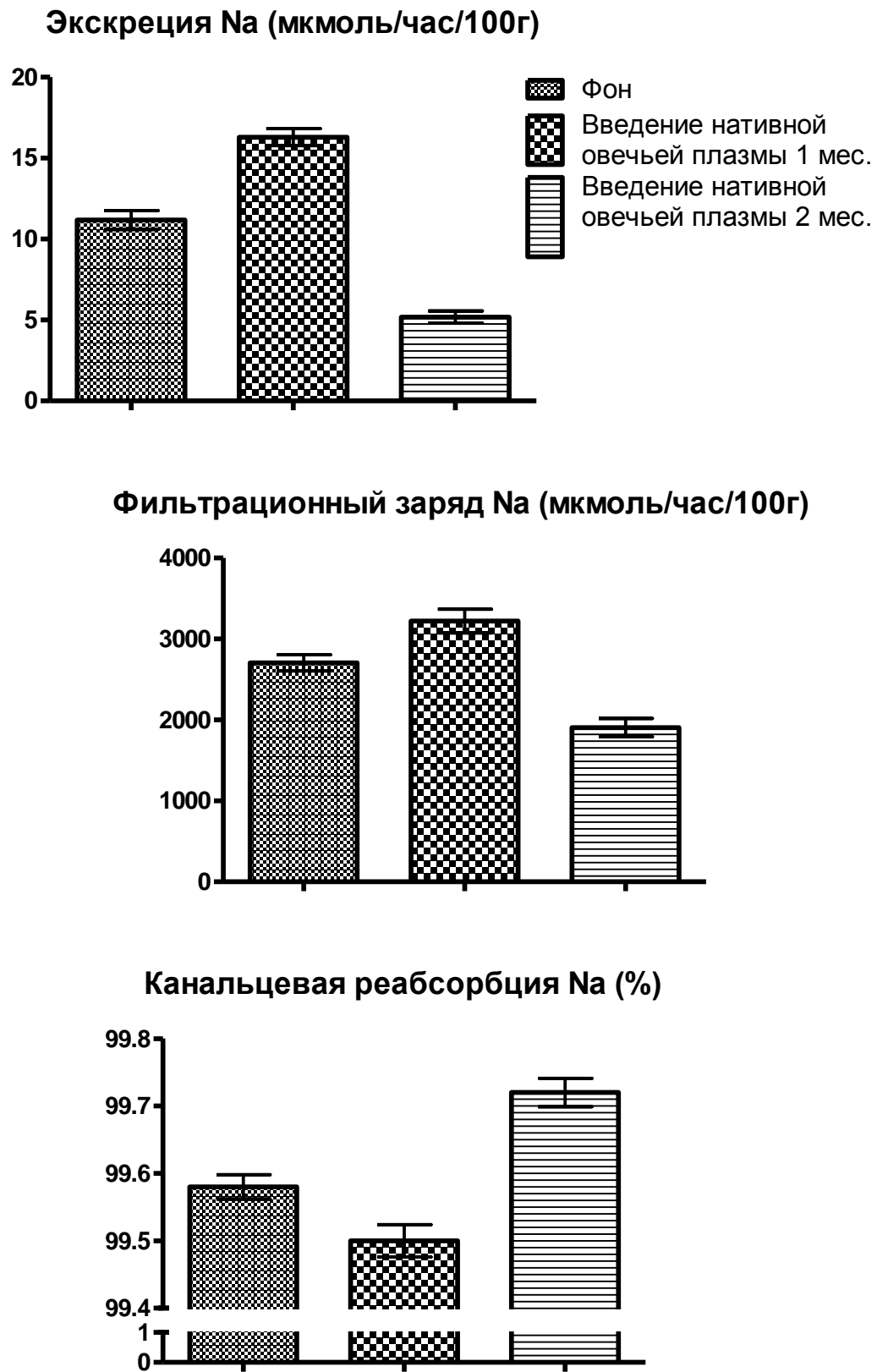
Исследование ионовыделительной функции почек на 30-й день эксперимента, показало увеличение экскреции натрия относительно показателей фоновых животных, обусловленное повышением его фильтрационного заряда и снижением реабсорбции катиона эпителием почечных канальцев (рис.3.2). Увеличение фильтрационного заряда было связано с повышением скорости клубочковой фильтрации воды. При этом содержание его в плазме крови снижалось, очевидно, как следствие натриуреза.

На 60-й день эксперимента экскреция натрия снизилась, в результате выраженного снижения его фильтрационного заряда, хотя канальцевая реабсорбция катиона продолжала также снижаться (рис.3.2). При этом концентрация натрия плазме крови несколько повысилась.



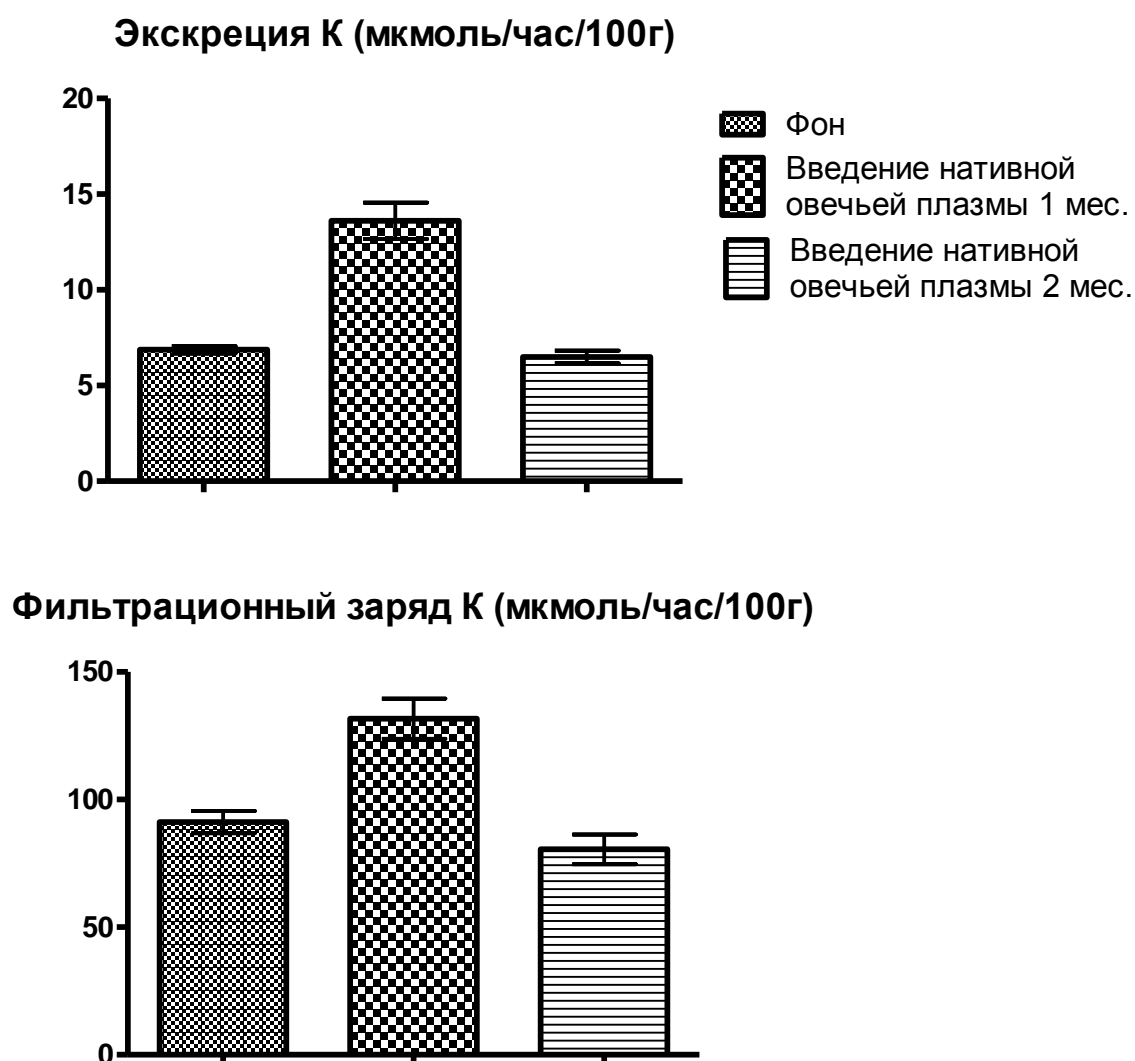


**Рис.3.1.** Влияние длительного введения нативной овечьей плазмы на основные процессы мочеобразования у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.



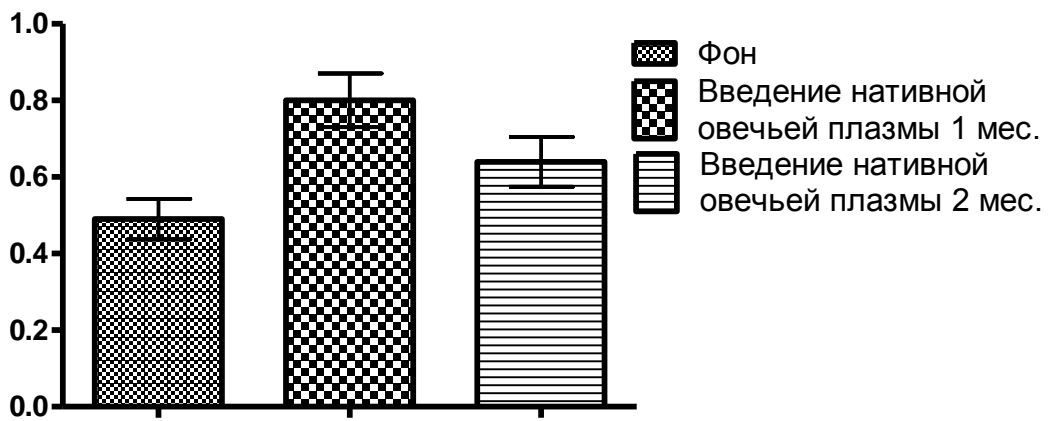
**Рис.3.2.** Влияние длительного введения нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку натрия у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

К концу 1-го месяца эксперимента отмечалось значительное нарастание экскреции калия относительно интактной группы животных (рис.3.3), что сопровождалось увеличением фильтрационного заряда, при повышении содержания калия в плазме крови. Увеличение фильтрационного заряда калия было обусловлено также и повышением скорости клубочковой фильтрации воды. По истечении 2-х месяцев эксперимента по воспроизведению модели амилоидной нефропатии экскреция калия несколько снизилась относительно интактной группы животных, что способствовало развитию гиперкалиемии.

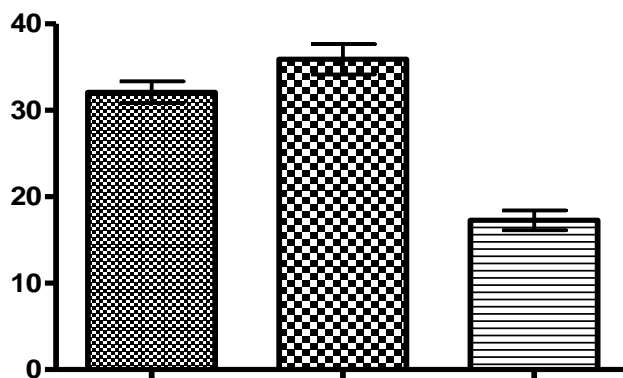


**Рис.3.3.** Влияние длительного введения нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку калия у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

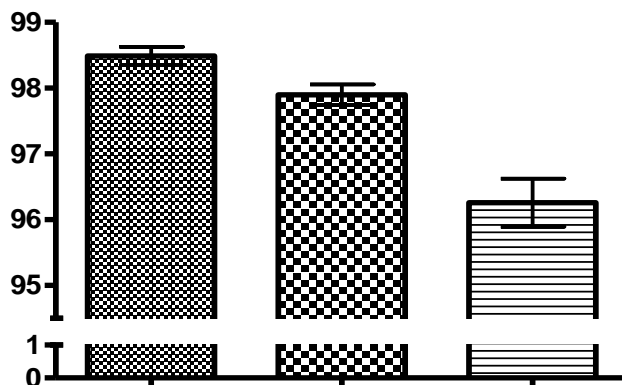
### Экскреция Ca (мкмоль/час/100г)



### Фильтрационный заряд Ca (мкмоль/час/100г)



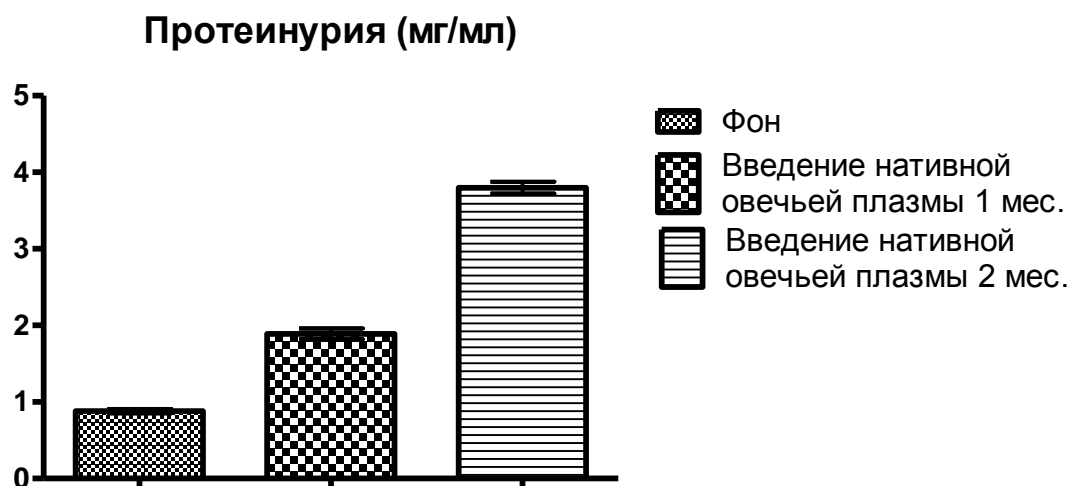
### Канальцевая реабсорбция Ca (%)



**Рис.3.4.** Влияние длительного введения нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку кальция у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

При введении амилоидогена через 1 месяц наблюдается достоверное повышение экскреции кальция (табл.7), что обусловлено увеличением фильтрационного заряда катиона (рис. 3.4). При этом развивалась гипокальциемия. В конце 2-го месяца экскреция кальция несколько снизилась, но относительно фоновых показателей оставалась повышенной, что было обусловлено снижением канальцевой реабсорбции кальция, несмотря на уменьшение фильтрационного заряда катиона, а также еще более выраженной гипокальциемией.

Содержание белка к концу 1 месяца эксперимента в моче достоверно повысилось относительно фоновых показателей (табл.1), а к концу 2 месяца эксперимента потеря белка увеличилась в 4 раза (рис. 3.5)



**Рис.3.5.** Влияние длительного введения нативной овечьей плазмы на содержание белка в моче у сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

Таким образом, длительное подкожное введение нативной овечьей плазмы через день из расчета 0,025 мл/г массы тела животного, способствует развитию выраженной протеинурии, снижению объема 6-ти часового спонтанного диуреза при уменьшении скорости клубочковой фильтрации и экскреции электролитов.

### **3.2 Морфологические изменения в органах животных, длительно получавших нативную овечью плазму.**

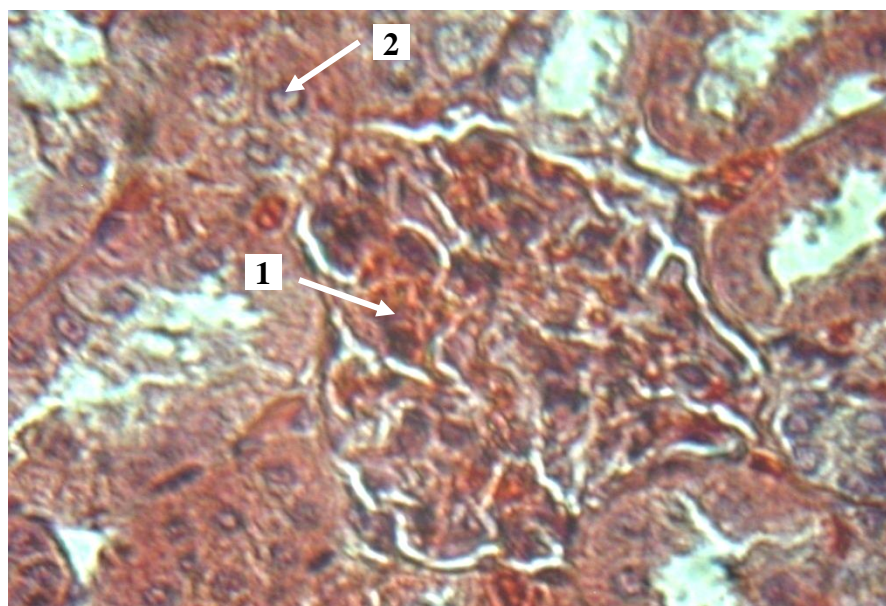
На 60-й день эксперимента в микропрепаратах почек была отмечена конгофилия стенок приносящих и выносящих артериол клубочков, капиллярных петель, мезангия и базальной мембраны клубочковой капсулы. В просвете капсул Шумлянско-Боумана выявлены конгофильные белковые массы. Конгофильные субстанции выявлены в базальных мембранах проксимальных и дистальных отделах канальцев кортикального слоя.

Имели место очаговая дистрофия и некроз эпителия канальцев, и его эксфолиация в просвет канальцев, с наличием здесь же скопления конгофильных субстанций, кистозные расширения отдельных канальцев. Признаки тромбоваскулита сосудов микроциркуляторного русла. Очаговая гиперплазия ЮГА (юстагломерулярного аппарата), тогда как часть клубочков подверглись атрофическим изменениям и замещению их конгофильной субстанцией в петлях Генле, а также в стромально-сосудистых структурах почечного интерстиция.

Аналогичные конгофильные участки очагового характера подтверждены в системе микроциркуляторного русла, чашечно-лоханочного комплекса в сочетании с лимфогистиоцитарной инфильтрацией (рис.3.6)

В конгофильных участках почек, отмечена пролиферация соединительнотканых клеток типа фиброцитов, гистиоцитов, ретикулярных и эпителиоидных клеток, лаброцитов, эндотелиоцитов, содержащих амилоидные фибриллы в цитоплазме.

Возможно, что речь идет об амилоидобластах, как результат трансформации обычных иммунокомпетентных клеточных субстанций в амилоидобласты [86;35].



**Рис.3.6.** Почка у сирийских хомяков на 60-й день введения нативной овечьей плазмы. Отложение амилоида в клубочках (1) и канальцах почек (2) при длительном введении амилоидогена. Выраженная паренхиматозная дистрофия нефроцитов. Окраска красным конго (x600).

В участках повышенной конгофилии отмечено резко выраженная гиперемия, плазматическое пропитывание стенок сосудов микроциркуляторного русла (артериол, прекапилляров, капилляров, посткапилляров и венул) с выраженным периваскулярным отеком. Ряд клеточных элементов характеризовался наличием перицитарного светлого ареола с ярко выраженной конгофилией внутриклеточных структур.

Вероятнее всего сталкиваемся с феноменом амилоидоклазии, описанной еще акад. А.И. Абрикосовым [2]. В особенности гиперемия отмечена в сосудах мозгового слоя почек, сочетающаяся наряду с плазматическим пропитыванием, наличием очагов мукоидного и фибриноидного набухания, фибриноидного некроза их стенок.

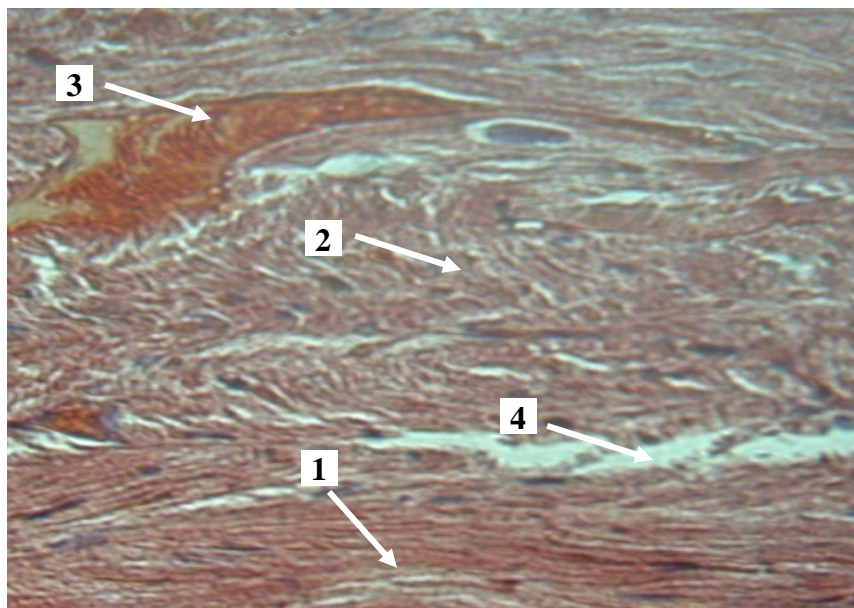
В системе микроциркуляторного русла выявлены, склероз, гиалиноз и тромбоангиопатия в сочетании с облитерацией терминальных отделов ангиоархитектоники почки выявлены конгофильные белковые массы.

Конгофильные субстанции выявлены в базальных мембранах, проксимальных и дистальных отделах канальцев кортикального слоя.

Очаговая дистрофия и некроз эпителия канальцев и его эксфолиация в просвет канальцев с наличием здесь же, скопления конгофильных субстанций, кистозные расширения отдельных канальцев. Признаки тромбоэндовакулита сосудов микроциркуляторного русла. Очаговая гиперплазия юктагломерулярного аппарата.

Аналогичные конгофильные участки очагового характера подтверждены в системе микроциркуляторного русла, чашечно-лоханочного комплекса в сочетании с лимфогистиоцитарной инфильтрацией парапластической субстанции указанных анатомогистоструктур.

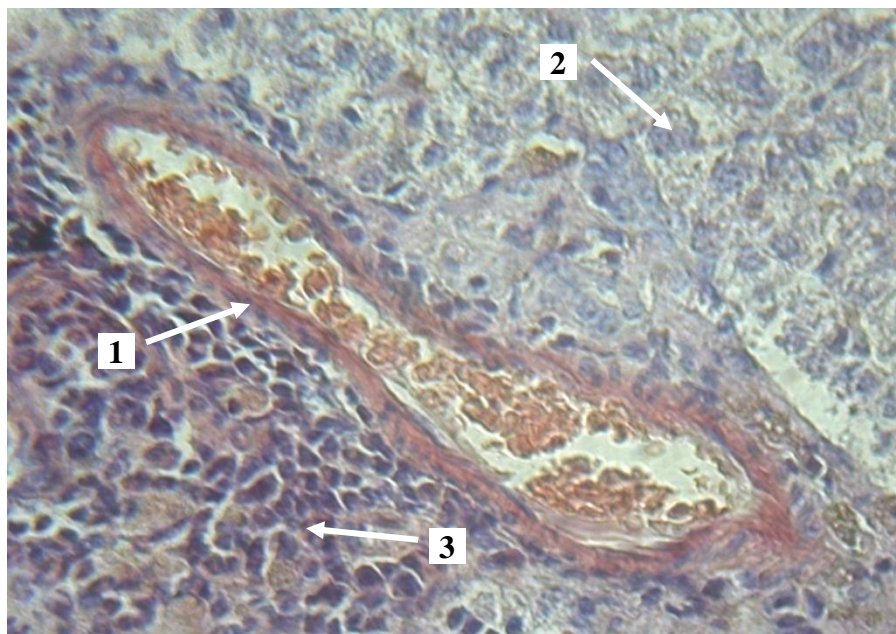
При изучении препаратов сердца у сирийских хомяков на 60-й день подкожного введения амилоидогена (рис.3.7), отмечалась очаговая дистрофия и некроз кардиомиоцитов, конгофилия этих участков. Конгофилия, гиалиноз и склероз сосудов микроциркуляторного русла, периваскулярный отек, расширение тканевых пространств, лимфостазы со скоплением конгофильных мелкодисперсных белковых масс в просвете лимфатически сосудов. Облитерация коллекторов отдельных сосудов (артериол, капилляров).



**Рис.3.7.** Миокард у сирийских хомяков на 60-й день введения нативной овечьей плазмы. Очаговая конгофилия (1), фрагментация и распад кардиомиоцитов (2) на фоне выраженного полнокровия (3) и расширения тканевых пространств (4). Окраска красным конго (x200).



При изучении препаратов печени на 60-й день длительного введения амилоидогена, отмечалась конгофилия стенок центральных вен печеночных долек, межбалочных капилляров и синусоидов, паренхиматозная, белковая и жировая дистрофия гепатоцитов. Расширение синусоидов, атрофия купферовских клеток, мукоидное и фибриноидное набухание, очаговый фибриноидный некроз системы микроциркуляции, а также портальных сосудов, входящих в триады (артерия-вена-желчный проток). Аналогичные конгофильные изменения обнаруживаются в базальных мембранах желчных протоков и желчных капилляров, в том числе, желчных протоков, входящих в состав портальной триады. Мукоидное и фибриноидное набухание с очагами фибриноидного некроза межлочечного вещества портальных трактов. Очаговая желчная апоплексия в результате тромбоза желчных капилляров (рис 3.8).

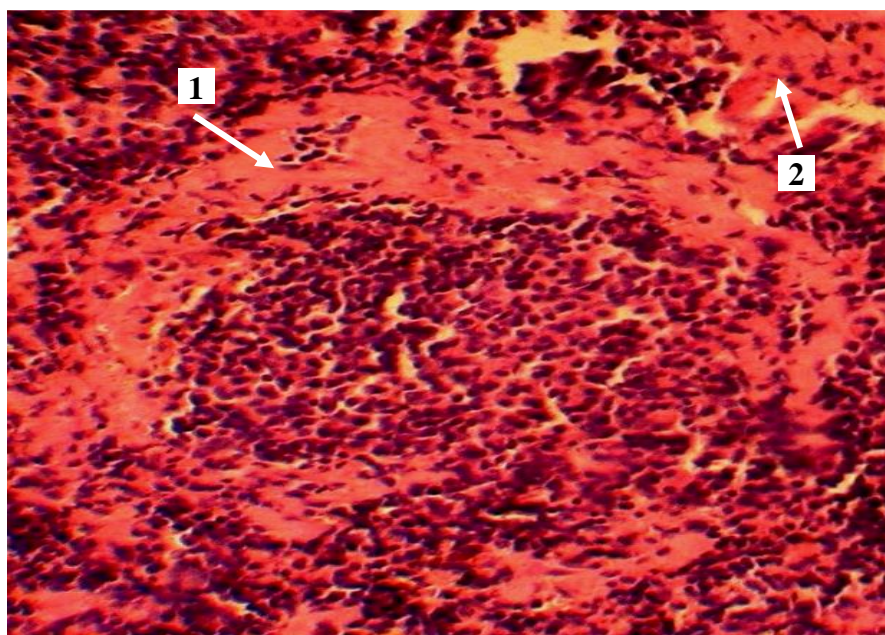


**Рис.3.8.** Печень сирийских хомяков на 60-й день введения нативной овечьей плазмы. Конгофилия сосудистой стенки (1), мелкокапельная жировая дистрофия и некроз гепатоцитов (2), периваскулярный лимфогистиоцитарный инфильтрат (3). Окраска красным конго (x 400).

В селезенке, подтверждением генерализации амилоидного процесса на 60-й день воспроизведения модели амилоидоза, служат обнаруженные изменения в стромально-сосудистых структурах и лимфоидной ткани в виде

перифолликулярного отложения фибриллярных белков, конгофилии стенок и гиалиноза центральных артериол, а также соединительнотканых элементов межучного вещества (интерстиция). Вокруг конгофильных очагов выявлялись клеточные скопления различной функциональной направленности (Т и В-лимфоциты, амилоидобласты, амилоидокласты).

Конгофильные атрофические участки перемежались с очаговой гиперплазией сосудов, плазматическим пропитыванием их стенок, периваскулярным отеком с метохроматической реакцией этих участков. Гиалиноз, атрофия и склероз мелких сосудов сопровождался их окклюзией. Незначительные мелкоочаговые стромально-клеточные пролифераты обнаруживались во всех полях зрения (рис.3.9).



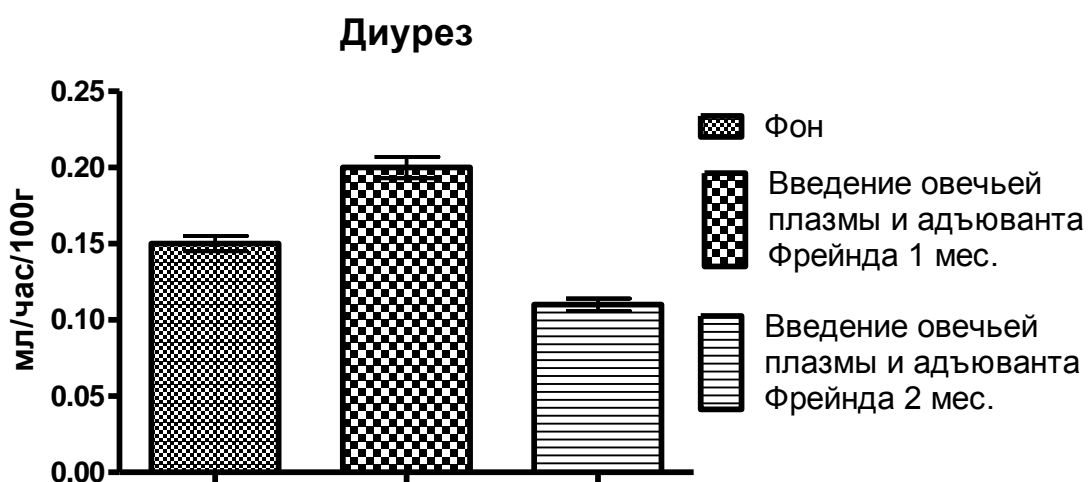
**Рис.3.9.** Селезенка у сирийских хомяков на 60-й день введения нативной овечьей плазмы. Отложение амилоида в лимфоидном фолликуле (1) истроме (2) селезенки. Окраска красным конго (x 200).

**3.3. Воздействие однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда в дозе по 0,2 в пять точек инъекций (подмышечные и паховые области справа и слева, и внутривбрюшинно), на водо и - электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков.**

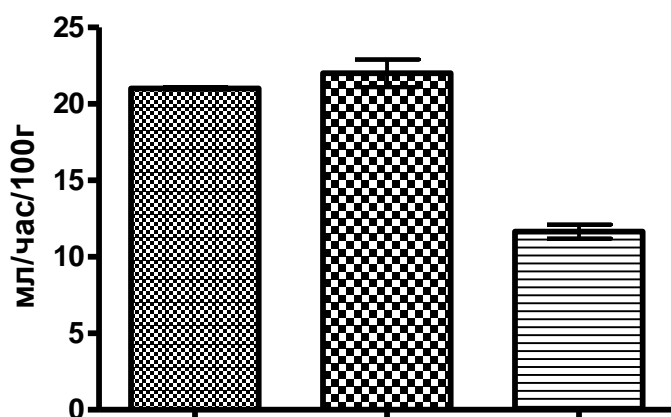
Для воспроизведения новой модели амилоидоза в эксперименте, использован метод однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета 0,2 мл в пять точек инъекций (в подмышечные и паховые области слева и справа и внутривбрюшинно подкожно).

Изучение показателей основных процессов мочеобразования, выявило, что у животных с указанной воспроизведенной моделью амилоидоза на 30-й день эксперимента отмечалось увеличение объема диуреза, обусловленное уменьшением величины канальцевой реабсорбции и ускорением клубочковой фильтрации относительно показателей интактных животных (рис.3.10).

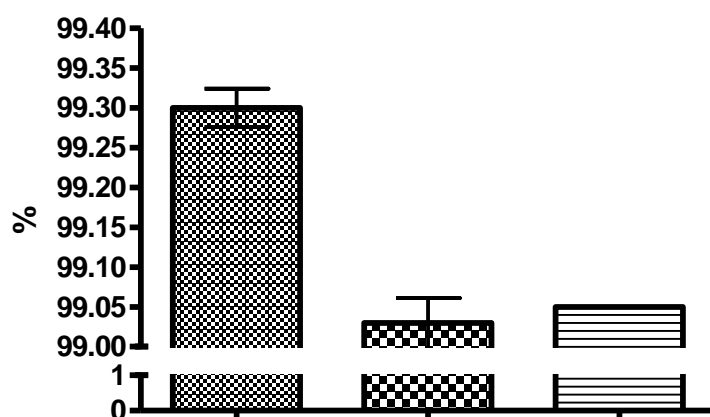
Через 2 месяца эксперимента, выявлено снижение объема диуреза относительно фоновых показателей, обусловленное значительным снижением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на низкую канальцевую реабсорбцию воды (рис.3.10).



### Скорость клубочковой фильтрации

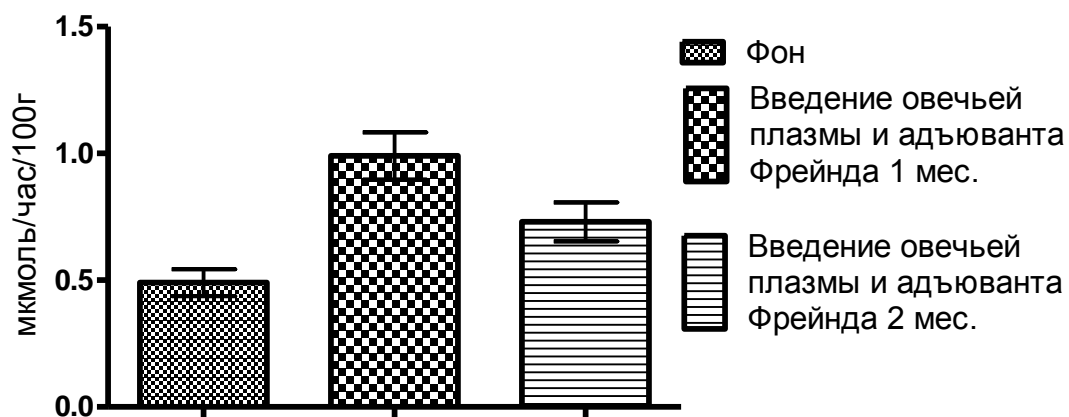


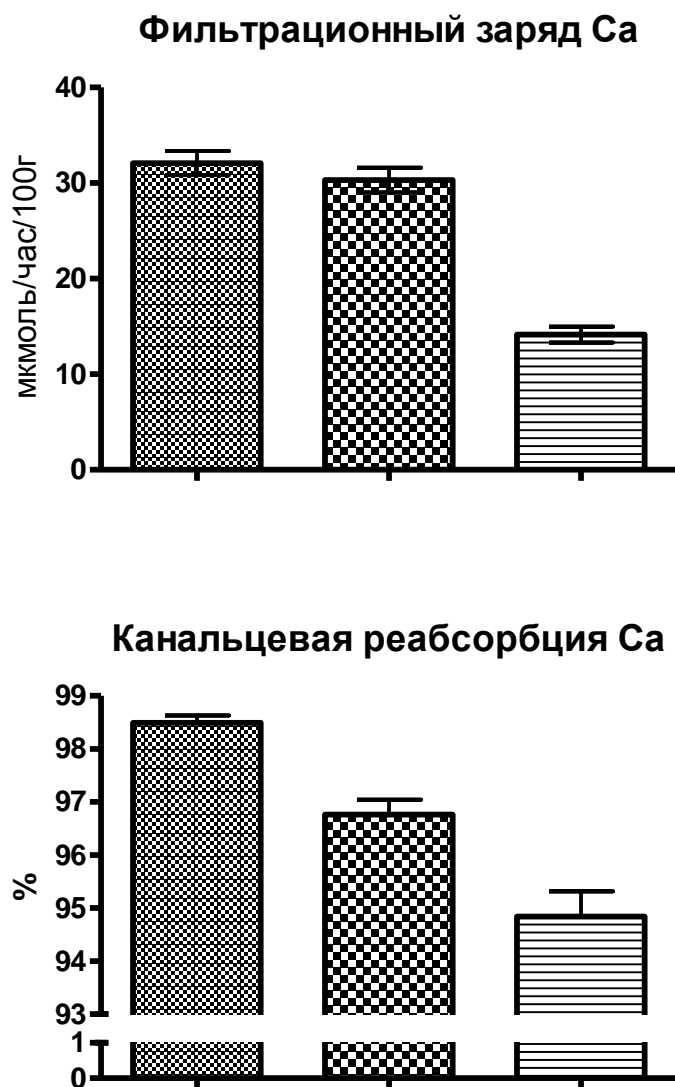
### Канальцевая реабсорбция воды



**Рис.3.10.** Влияние смеси полного адьюванта Фрейнда и нативной овечьей плазмы на основные процессы мочеобразования в условиях спонтанного диуреза у золотистых хомячков.

### Экскреция Са





**Рис.3.11.** Влияние смеси полного адьюванта Фрейнда и нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку кальция у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

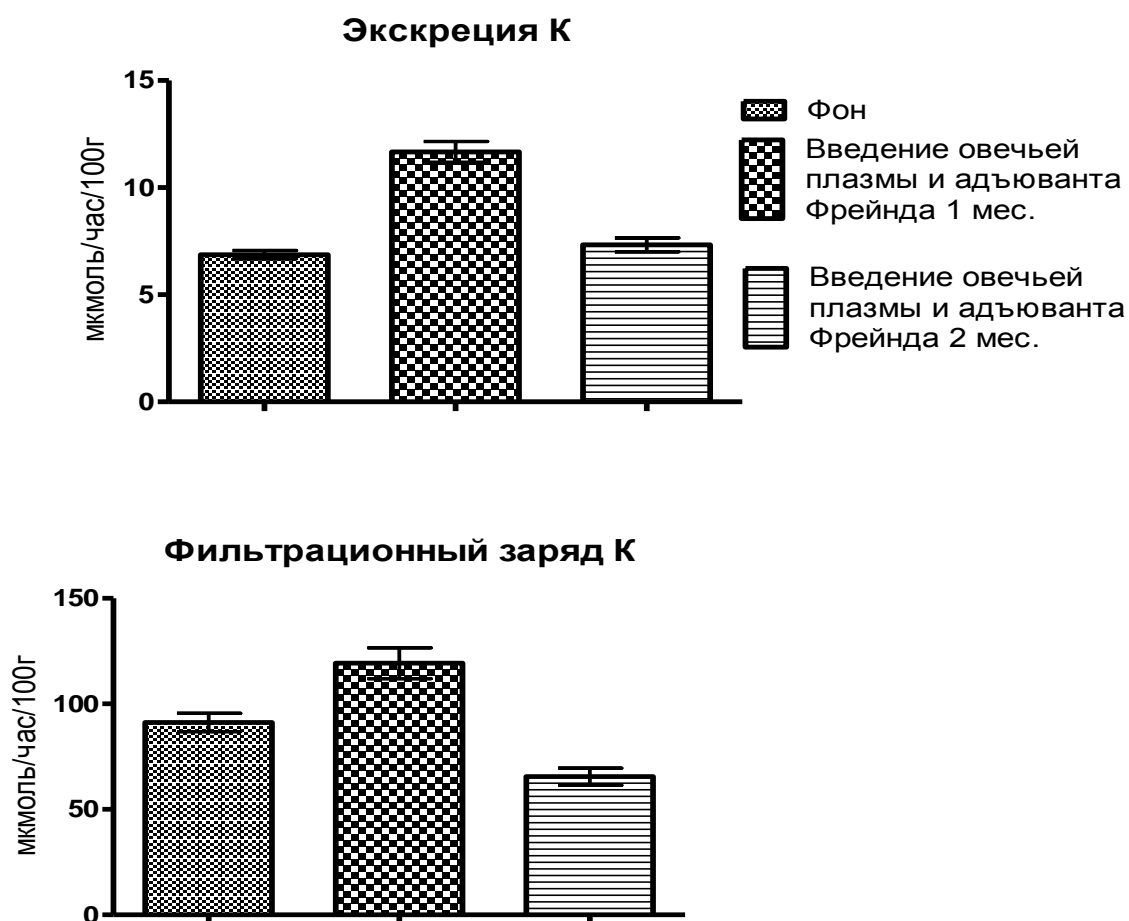
Изучение ионоуретической функции почек экспериментальных животных к концу 1-го месяца эксперимента выявило значительное повышение экскреции кальция по сравнению с данными интактных животных, что было обусловлено снижением канальцевой реабсорбции катиона, несмотря на некоторое снижение его фильтрационного заряда (рис.3.11). Концентрация кальция в плазме крови еще больше снижалась.

Через 2 месяца эксперимента уровень экскреции кальция снизился, но все же оставался повышенным относительно фоновых показателей. Уменьшение экскреции катиона с мочой было связано со снижением

фильтрационного заряда кальция, наряду, с чем уменьшалась и канальцевая реабсорбция катиона (рис.3.11). Содержание кальция в плазме крови продолжало снижаться.

Через 1 месяц эксперимента наблюдалось значительное увеличение экскреции калия относительно показателей интактных животных (рис.3.12), при этом концентрация калия в плазме крови повышалась, что вероятно, было обусловлено увеличением его фильтрационного заряда при развившейся гиперкалиемии.

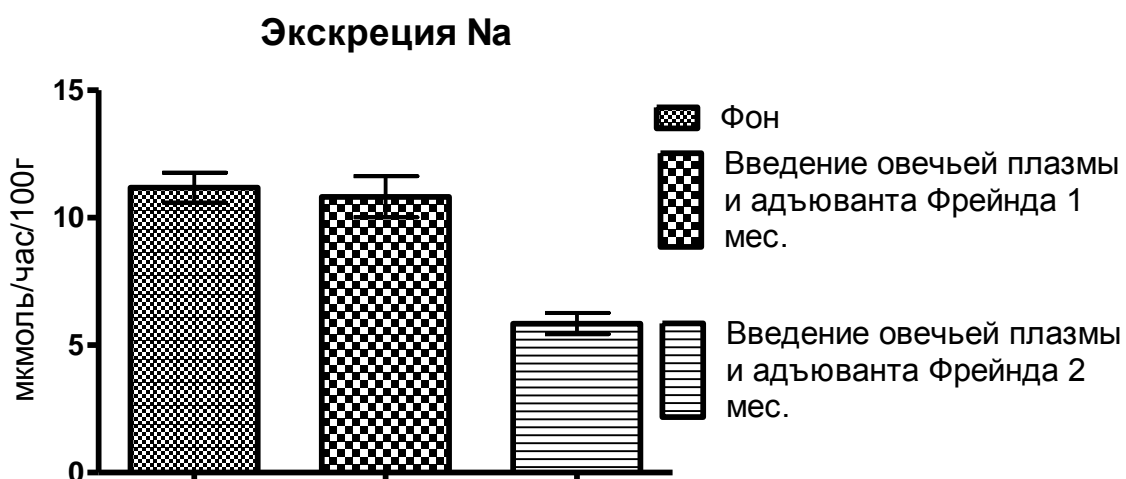
Через 2 месяца эксперимента экскреция калия несмотря на снижение, все же оставалась несколько выше уровня значений катиона по сравнению с фоновыми показателями, хотя фильтрационный заряд катиона продолжал снижаться (рис.3.12).



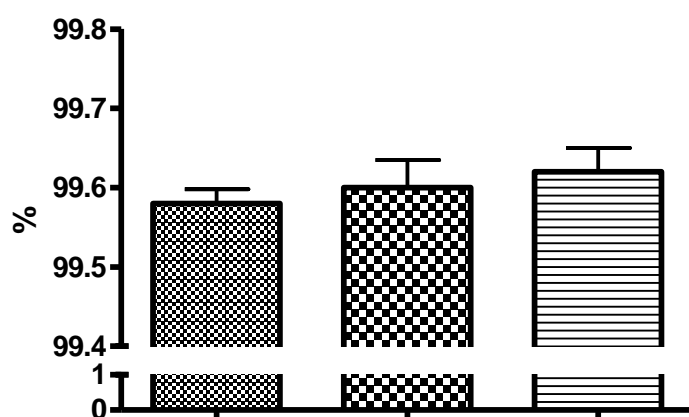
**Рис.3.12.** Влияние смеси полного адьюванта Фрейнда и нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку калия у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

Под влиянием амилоидогена через 1 месяц отмечалось некоторое снижение экскреции натрия, обусловленное повышением его реабсорбции почечными канальцами, несмотря на некоторое увеличение фильтрационного заряда (рис. 3.13). Концентрация натрия в плазме крови при этом снижалась.

Через 2 месяца эксперимента экскреция катиона значительно снизилась, что было обусловлено снижением его фильтрационного заряда, прогрессирующим снижением скорости клубочковой фильтрации, при слабом повышении канальцевой реабсорбции натрия (рис. 3.13). Содержание натрия в плазме крови при этом повышалось.

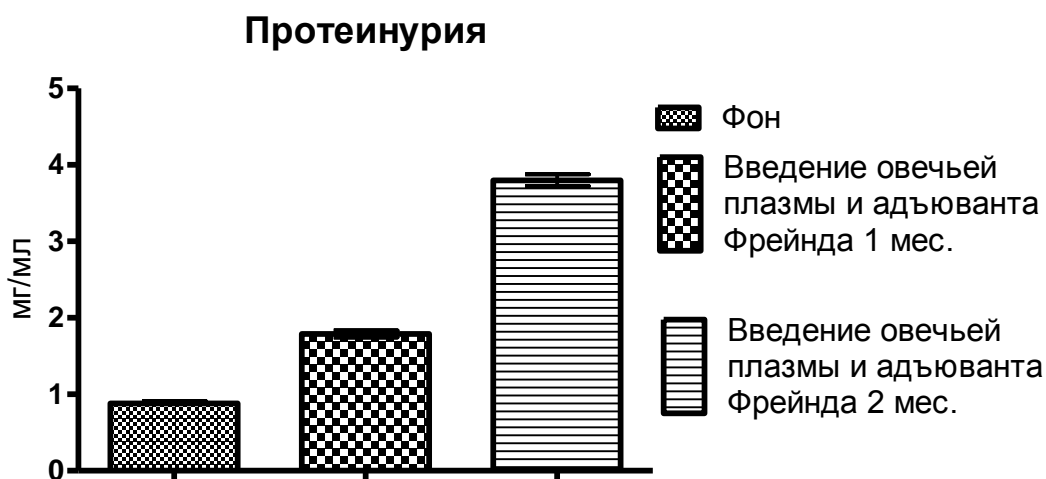


### Канальцевая реабсорбция Na



**Рис.3.13.** Влияние смеси полного адьюванта Фрейнда и нативной овечьей плазмы на экскрецию и почечную обработку натрия у золотистых сирийских хомяков в условиях спонтанного диуреза.

Потеря белка с мочой у амилоидных животных к концу эксперимента превышала в 4 раза показатели у фоновых животных (рис. 3.14).



**Рис.3.14.** Влияние смеси полного адьюванта Фрейнда и нативной овечьей плазмы на содержание белка в моче в условиях спонтанного диуреза у золотистых сирийских хомяков.

Оценка полученных результатов на 60-й день эксперимента после однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда сирийским хомякам из расчета по 0.2 мл в пять точек инъекций, свидетельствует о развитии системного амилоидоза с



выраженными морфо-функциональными признаками амилоидной нефропатии.

### **3.4. Гистоструктурные изменения в исследуемых органах у животных, подвергшихся однократному введению нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда.**

При введении чужеродного белка с адьювантом Фрейнда на 60-й деньу сирийских хомяков, отложение фибриллярных белков амилоида в изучаемых органах, были выражены в большей степени, что коррелирует с интенсивностью органоспецифической конгофилии.

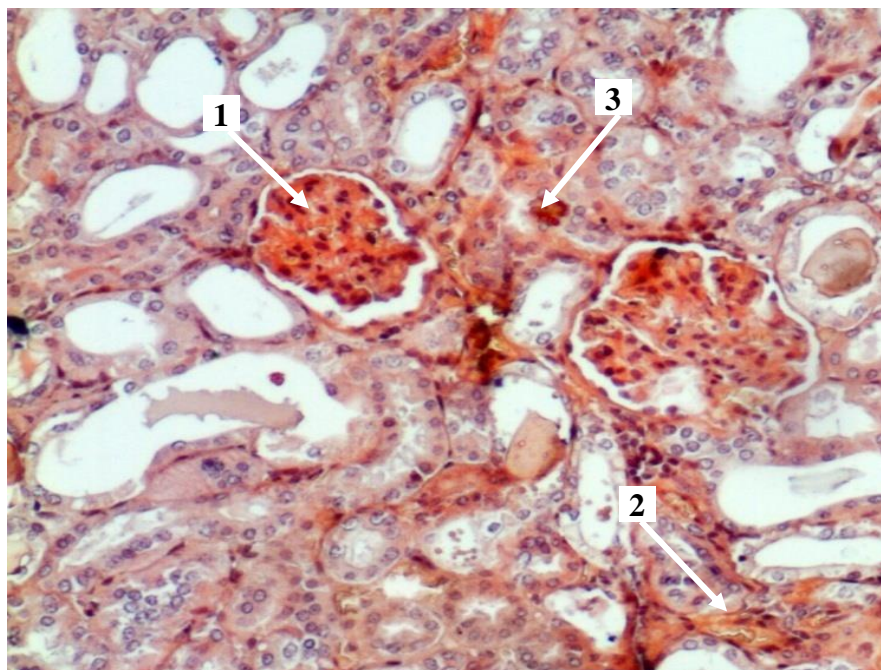
При изучении препаратов почек (рис.3.15) на 60-й день после однократного введения нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда, отмечалась выраженная конгофилия стенок приносящих и выносящих артериол клубочков, капиллярных петель, мезангия и базальной мембраны клубочковой капсулы, а также некроз и кистозные расширения просвета канальцев. В участках повышенной конгофилии отмечено резко выраженная гиперемия, плазматическое пропитывание стенок сосудов микроциркуляторного русла (артериол, прекапилляров, капилляров, посткапилляров и венул) с выраженным периваскулярным отеком.

В системе микроциркуляторного русла, выявлены, склероз, гиалиноз и тромбоангиопатия в сочетании с облитерацией терминальных отделов ангиоархитектоники почки. Признаки тромбоэндовакулита сосудов микроциркуляторного русла сочетались с очаговой гиперплазией юкстагломерулярного аппарата, тогда как часть клубочков и канальцев подверглись атрофическим и некротическим изменениям, замещению конгофильной субстанцией.

Конгофильные участки очагового характера выявлены в системе микроциркуляторного руслачашечно-лоханочного комплекса в сочетании с лимфогистиоцитарной инфильтрацией.

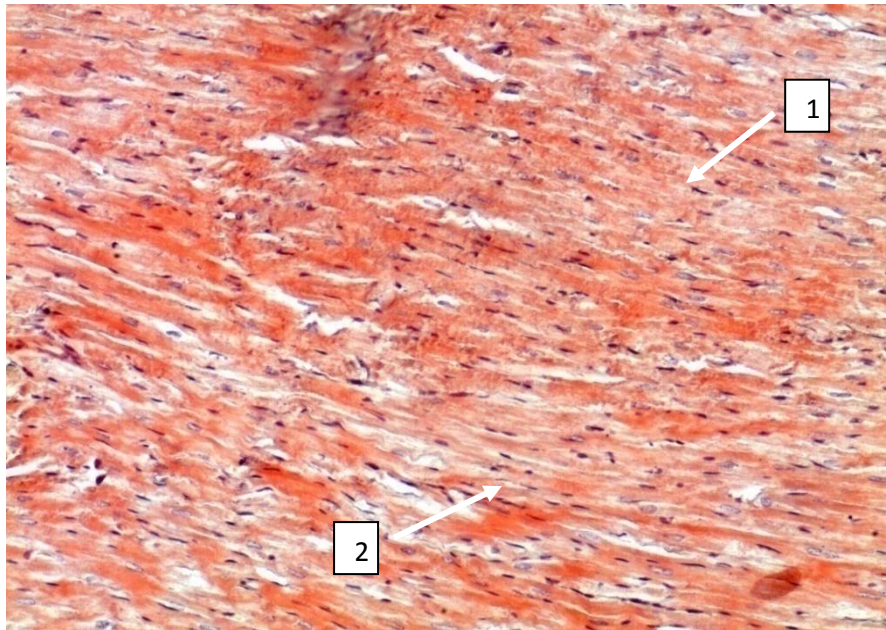
При изучении препаратов сердца (рис.3.16) у сирийских хомяков на 60-й день подкожногвведения амилоидогена, отмечалась очаговая дистрофия и

некроз кардиомиоцитов, конгофилия этих участков. Конгофилия участков миокарда сопровождалась исчезновением поперечной исчерченности кардиомиоцитов. Конгофилия, гиалиноз и склероз сосудов микроциркуляторного русла сопровождалась периваскулярным отеком, расширением тканевых пространств, лимфостазами со скоплением конгофильных мелкодисперсных белковых мас в просвете лимфатических сосудов.

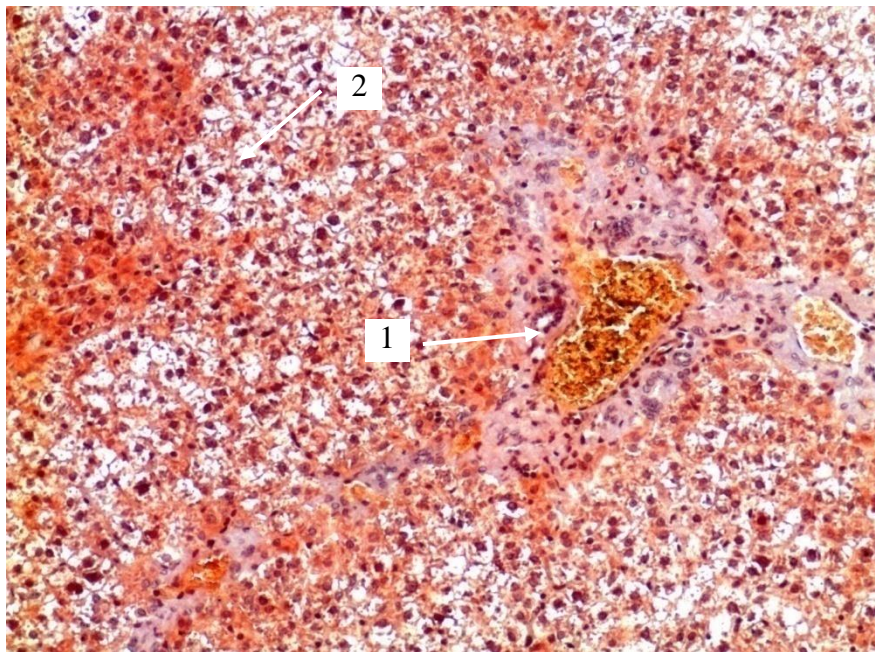


**Рис.3.15.** Морфологические изменения в почках у сирийских хомяков через 60 дней после однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда. Конгофилия сосудистых клубочков (1) и базальных мембран канальцев (2) и стромально – сосудистых структур почки (3). Окраска красным конго (x200).

При изучении препаратов печени на 60-й день создания модели амилоидоза, способом однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом, отмечалась выраженная конгофилия стенок центральных вен печеночных долек, межбалочных капилляров и синусоидов, паренхиматозная, белковая и жировая дистрофия гепатоцитов. Расширение синусоидов, атрофия купферовских клеток.

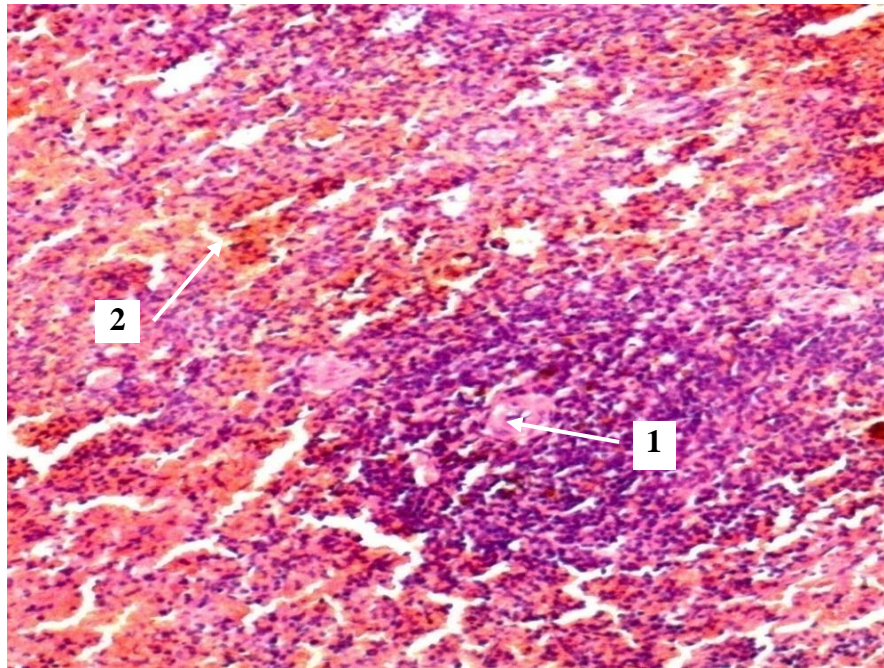


**Рис.3.16.** Миокард через 60 дней у сирийских хомяков, после однократного введения амилоидогена с адьювантом. Фрейнда. Набухание кардиомиоцитов, очаговое исчезновение поперечной исчерченности (1), и очаговая конгофилия отдельных групп кардиомиоцитов (2). Окраска красным конго (x200).



**Рис.3.17.** Печень через 60 дней у сирийских хомяков, после однократного введения амилоидогена с адьюв. Фрейнда. Вокруг центральных вен мелкокапельная жировая дистрофия(1), и некроз гепатоцитов (2). Окраска красным конго (x200).





**Рис.3.18.** Селезенка через 60 дней у сирийских хомяков, после однократного введения амилоидогена с адьювантом Фрейнда. Плазматическое пропитывание стенок центральных артерий лимфоидных фолликулов, периваскулярный отек (1) переходящий на межклеточные пространства с накоплением конгофильных субстанций (2). Окраска красным конго (x200).

Мукоидное и фибриноидное набухание, фибриноидный некроз сосудов системы микроциркуляции, а также портальных сосудов, входящих в триады (артерия-вена-желчный проток). Аналогичные конгофильные изменения обнаруживаются в базальных мембранах желчных протоков и желчных капилляров, в том числе, желчных протоков входящих в состав портальной триады. Выявлены признаки мукоидного и фибриноидного набухания с очагами фибриноидного некроза межучного вещества портальных трактов. Очаговая желчная апоплексия в результате тромбоза желчных капилляров с явлениями холестаза (рис 3.17).

В селезенке, подтверждением генерализации амилоидного процесса на 60-й день воспроизведения модели амилоидоза, служат обнаруженные изменения в стромально-сосудистых структурах и лимфоидной ткани в виде выраженной конгофилии, гиалиноза и склероза сосудов микроциркуляторного русла, периваскулярного отека, расширения тканевых

пространств, а также лимфостазов со скоплением конгофильных мелкодисперсных белковых масс в просвете лимфатических сосудов (рис.3.18).

#### Выводы:

1. Спустя 30 суток подкожного ежедневного введения амилоидогена и однократного введения равнодолевой смеси амилоидогена с полным адьювантом Фрейнда развиваются признаки амилоидной нефропатии в виде протеинурии, полиурии из-за угнетения канальцевой реабсорбции воды и роста скорости клубочковой фильтрации, повышения экскреции электролитов.

2. При 60-дневном подкожном введении нативной овечьей плазмы через день в дозе 0,025 мл/г массы тела, а также после однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда через 2 месяца формируется выраженная нефропатия, обусловленная выраженной протеинурией, уменьшением объема шестичасового спонтанного диуреза, вследствие снижения скорости клубочковой фильтрации, несмотря на ослабление канальцевой реабсорбции воды.

3. При введении амилоидогена через 60 суток происходит увеличение экскреции калия и кальция с мочой, что обусловлено снижением их канальцевой реабсорбции; снижение экскреции натрия, в результате уменьшения фильтрационного заряда катиона.

4. Морфологически при введении нативной овечьей плазмы (как при длительном подкожном, так и при однократном введении равнодолевой смеси с полным адьювантом Фрейнда) в почках экспериментальных животных выявлялись отложение конгофильных белковых масс в базальных мембранах, проксимальных и дистальных отделах канальцев кортикального слоя. Очаговая дистрофия и некроз эпителия канальцев и его эксфолиация в просвет канальцев с наличием здесь же, скопления конгофильных

субстанций, кистозные расширения и некроз канальцев.

Кроме почек, отложения амилоида выявлялись и в миокарде, вызывая тем самым набухание очаговую конгофилию отдельных групп кардиомиоцитов и очаговое исчезновение поперечной исчерченности, в печени - конгофилия стенок центральных вен печеночных долек, межбалочных капилляров и синусоидов, паренхиматозная, белковая и жировая дистрофия гепатоцитов, а также атрофия Купферовских клеток, в селезенке - обнаружены изменения в стромально-сосудистых структурах и лимфоидной ткани в виде перифолликулярного отложения фибриллярных белков, конгофилии стенок центральных артериол и гиалиноза артериол и соединительнотканых элементов межуточного вещества (интерстиция). Вокруг конгофильных очагов выявлялись клеточные скопления различной функциональной направленности (лимфоциты, амилоидобласты, амилоидокласты).

#### **ГЛАВА 4.**

**Анализ результатов исследования, полученных при введении опытным животным ацизола и милдроната на разных этапах эксперимента, с целью профилактики и лечения нефропатического типа амилоидоза.**

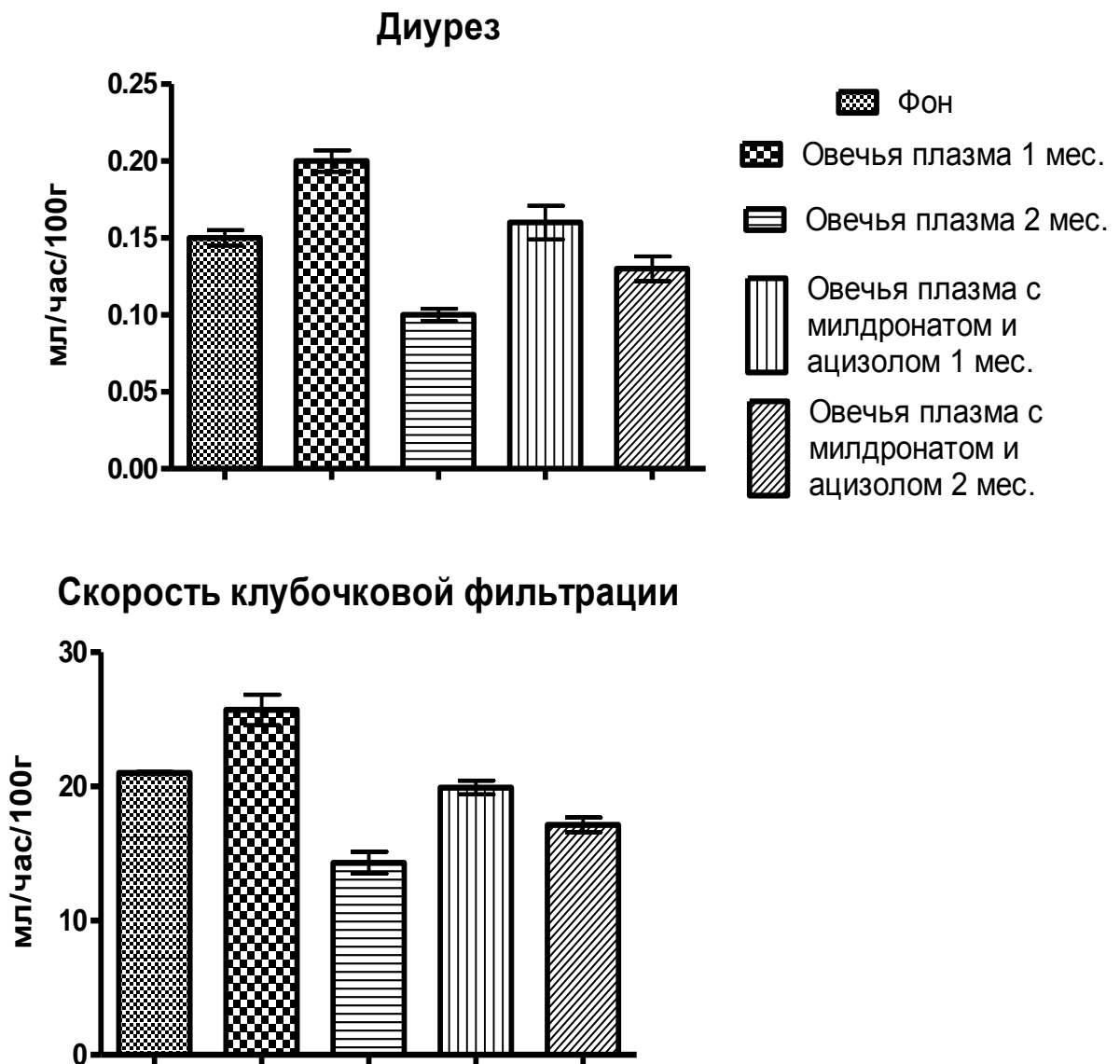
**4.1. Воздействие милдроната в дозе 5 мг/кг и ацизола в дозе 30 мг/кг массы тела животного на фоне длительных инъекций чужеродного белка на водои - электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков.**

Для более глубокого изучения и проведения сравнительной характеристики, нами, наряду с применением ацизола и милдроната у животных с экспериментальной амилоидной нефропатией, смесь ацизола и милдроната вводилась и фоновым (интактным) животным. Причем во второй группе существенных изменений не наблюдалось.

Через 1 месяц введения милдроната и ацизола на фоне длительного введения амилоидогена относительно амилоидной группы

животных, наблюдалось снижение степени нарушений основных процессов мочеобразования, т.е., меньшее увеличение диуреза, обусловленное менее значимым снижением фильтрационной способности почек.

Через 2 месяца диурез снизился ниже показателей интактных животных, что было обусловлено падением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на уменьшение канальцевой реабсорбции воды (рис. 4.1).



### Канальцевая реабсорбция воды

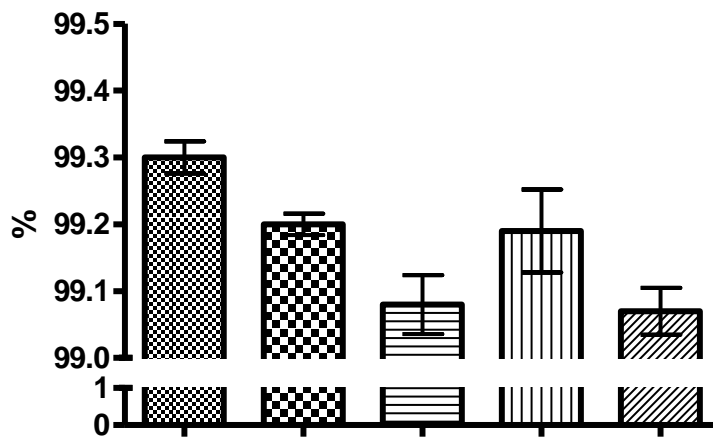


Рис.4.1. Влияние милдроната и ацизола на основные процессы мочеобразования у животных на фоне длительного введения амилоидогена.

При исследовании экскреции кальция с мочой у сирийских хомяков на 30-й день эксперимента, было выявлено, что введение милдроната и ацизола на фоне длительного введения нативной овечьей плазмы, вызывает нормализацию экскреции кальция, что обусловлено уменьшением его фильтрационного заряда, при восстановлении канальцевой реабсорбции катиона (рис. 4.2). Одновременно повысилась концентрация кальция в плазме крови.

На 60-й день эксперимента, наблюдалось еще большее уменьшение экскреции катиона с мочой, обусловленное снижением его фильтрационного заряда, и повышением его реабсорбции почечными канальцами. При этом концентрация кальция в плазме крови еще больше выросла.



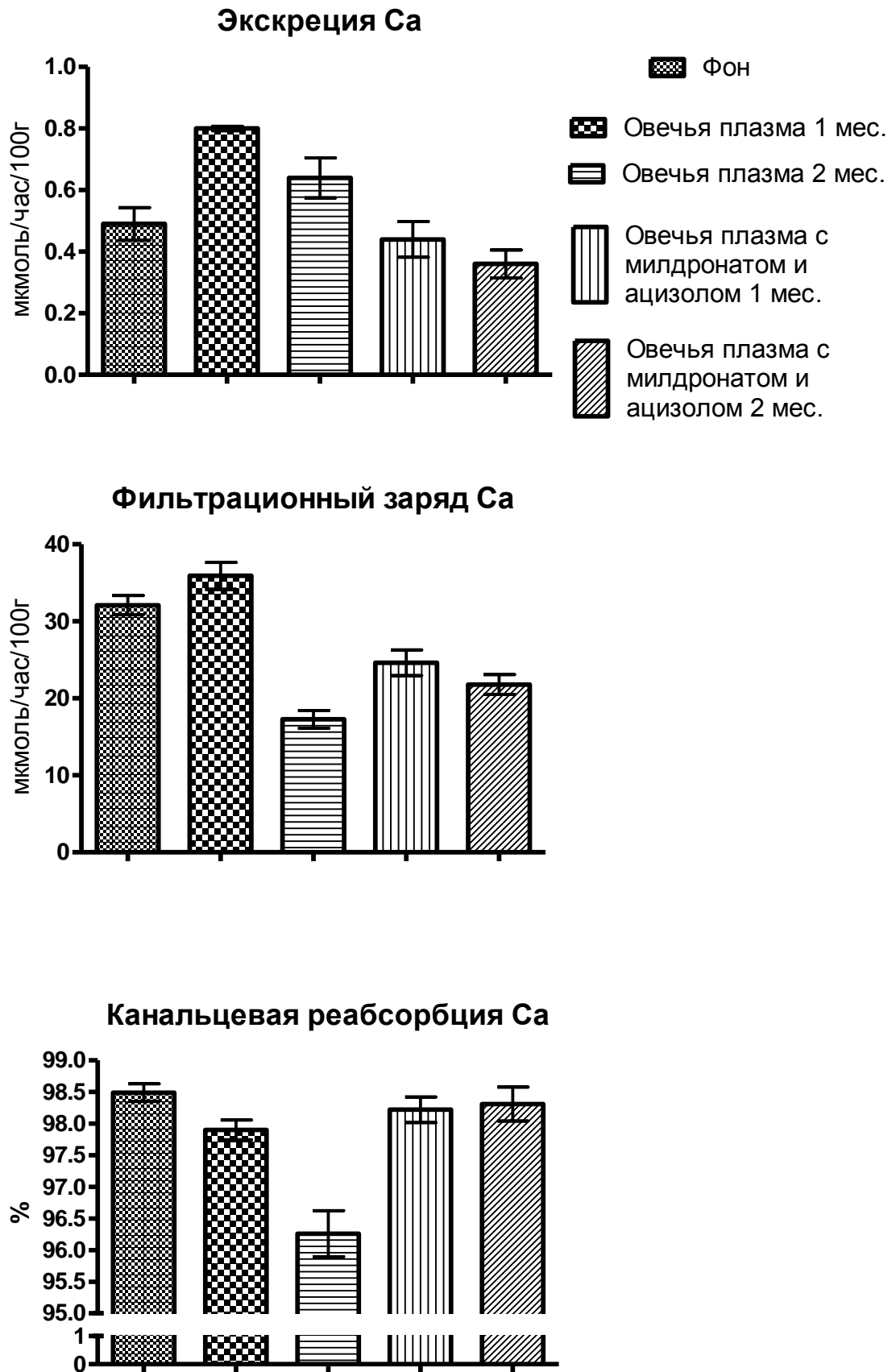


Рис.4.2. Влияние милдроната и ацизола на почечную обработку кальция у животных на фоне длительного введения амилоидогена.

К концу 1 месяца экскреция калия у животных относительно показателей амилоидных животных была достоверно ниже (рис.4.3, табл.6), при этом концентрация в плазме крови снижалась. Через 2 месяца эксперимента экскреция катиона продолжала снижаться, что было обусловлено некоторым уменьшением его фильтрационного заряда (рис.4.3, табл.6).

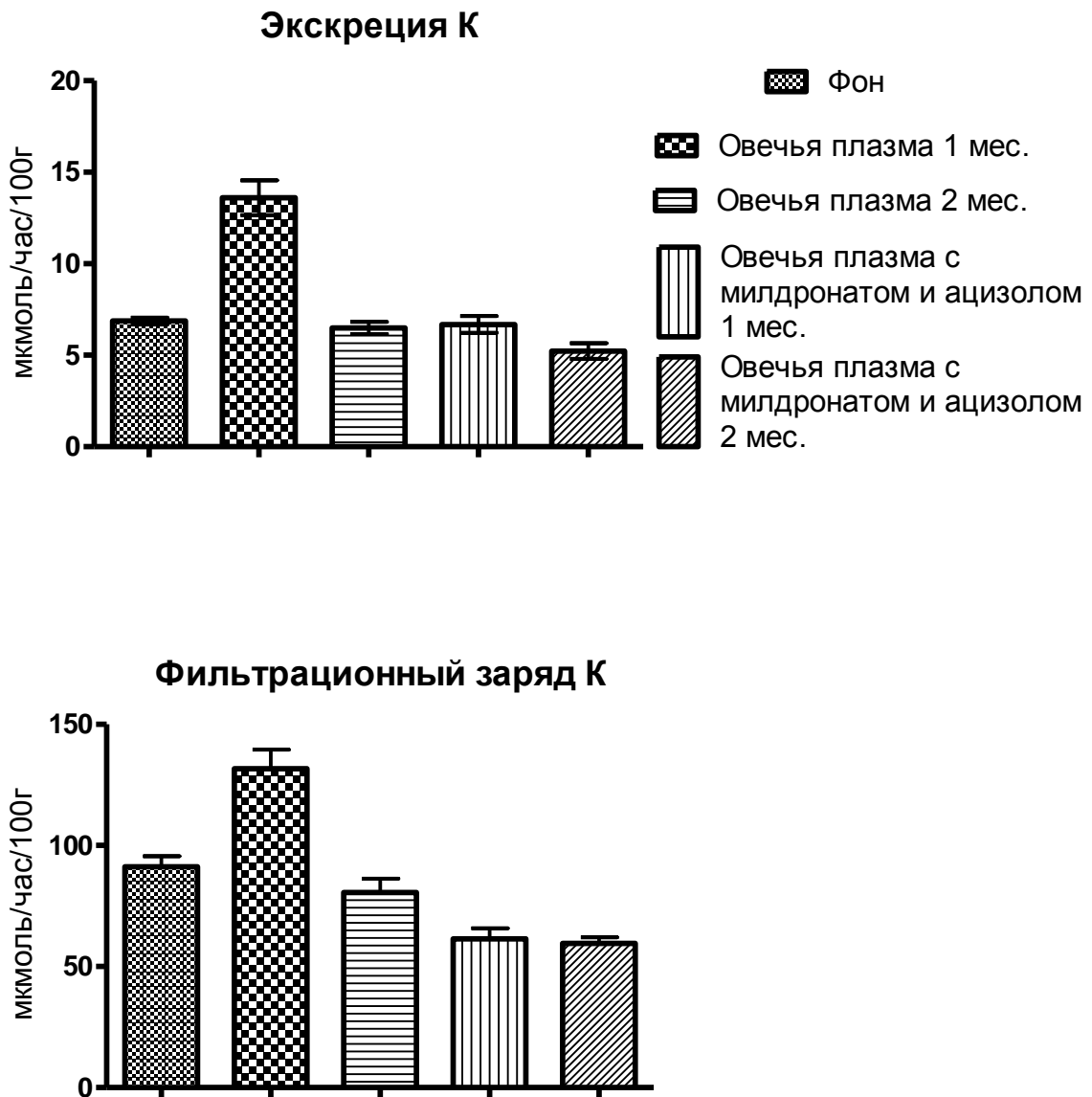
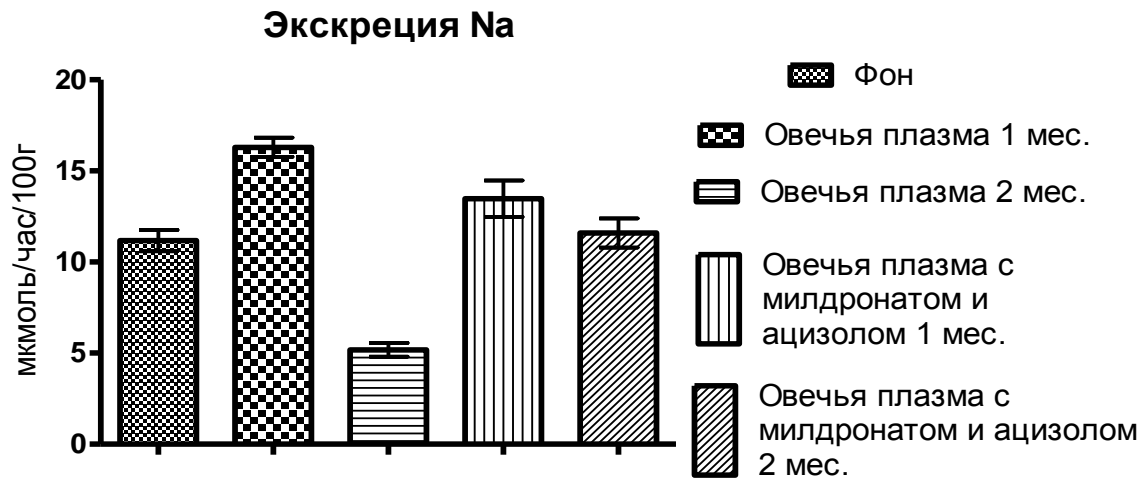


Рис.4.3. Влияние милдроната и ацизола на почечную обработку калия у животных на фоне длительного введения амилоидогена.

При одновременном введении нативной овечьей плазмы с милдронатом и ацизолом к концу 1-го месяца эксперимента относительно амилоидных, отмечалось менее значимое увеличение экскреции натрия, что

было обусловлено меньшим увеличением его фильтрационного заряда (рис. 4.4). Концентрация натрия в плазме крови при этом повышалась.



ME

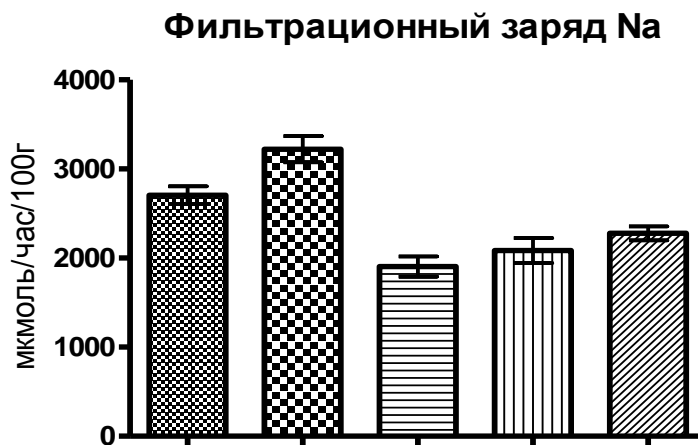


Рис.4.4. Влияние милдроната и ацизола на почечную обработку калия у животных на фоне длительного введения амилоидогена.

Через 2 месяца эксперимента экскреция катиона относительно амилоидной группы животных значительно повысилась, приближаясь к фоновым значениям, что было обусловлено тенденцией к восстановлению его фильтрационного заряда и реабсорбции его канальцами почек (рис. 4.4). Содержание натрия в плазме крови при этом не менялось. Степень протеинурии значительно снизилась, но все же превышая фоновые показатели (рис.4.5).



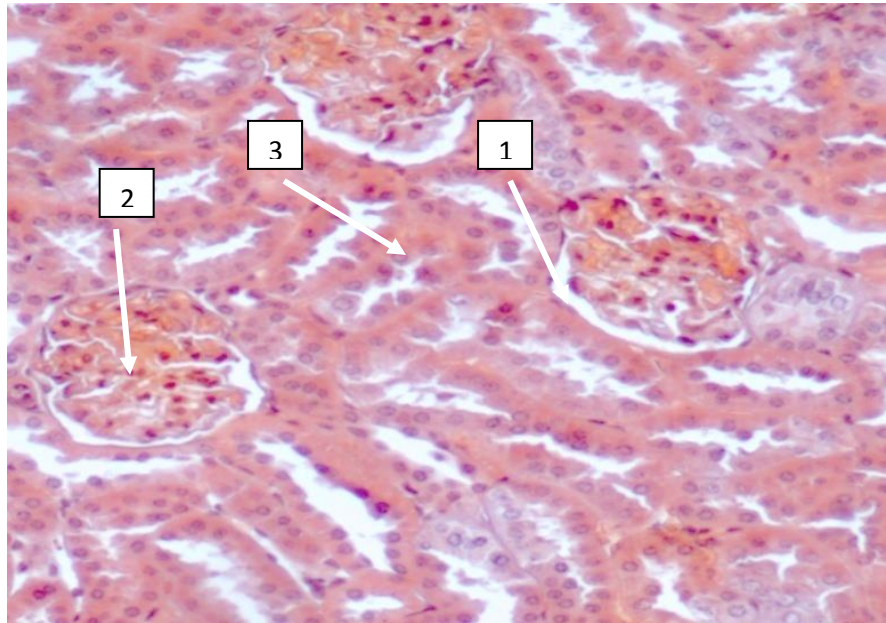
Рис.4.5. Влияние милдроната и ацизола на содержание белка в моче у животных на фоне длительного подкожного введения амилоидогена.

#### **4.2. Морфологические изменения в исследуемых органах у животных, подвергшихся влиянию ацизола и милдроната на фоне многократного введения нативной овечьей плазмы.**

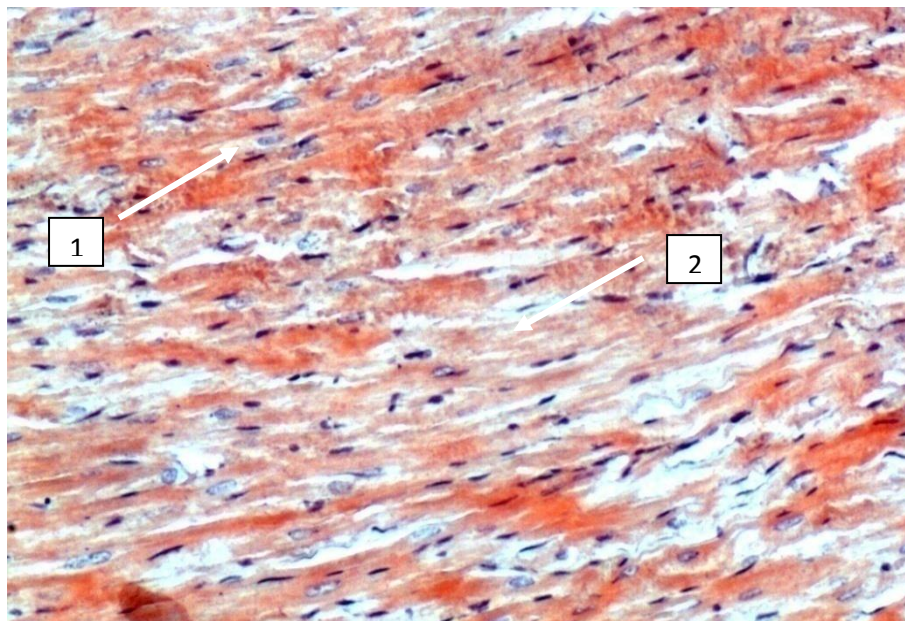
При изучении гистологического материала исследуемых тканей опытных животных (селезенка, миокарда, печень, почки), получавших милдронат и ацизол с первых дней введения амилоидогена, на 60-й день было выявлено:

В почках - достоверные признаки восстановления клеточных и стромально-сосудистых структур, заключающиеся в снижении их конгофильности, активной регенерации нефротелия, гипертрофии отдельных клубочков, пролиферации лимфогистиоцитарных элементов, снижении конгофильных масс в просвете канальцев, уменьшении отека и

лимфостазов(рис.4.6). В гипертрофированных клубочках отмечается гиперплазия элементов юкта-гломерулярного аппарата.

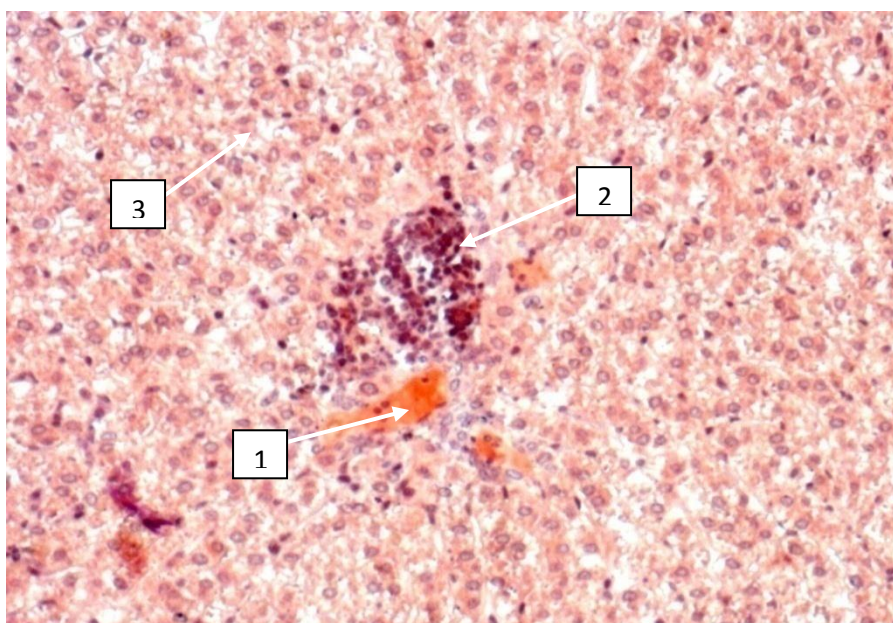


**Рис.4.6.** Почка у сирийских хомяков через 60 дней от начала введения в качестве протектора милдроната и ацизола. Снижение признаков конгофилии базальной мембраны клубочковой капсулы (1) и капиллярных петель сосудистого клубочка (2), восстановление базальной мембраны канальцев (3). Окраска красным конго (x 400).



**Рис.4.7.** Миокард у сирийских хомяков через 60 дней от начала введения в качестве протектора милдроната и ацизола. Очаговая гипертрофия кардиомиоцитов и их ядер(1), уменьшение гиперемии, плазматического пропитывания сосудов системы микроциркуляции, появление поперечной исчерченности (2). Окраска красным конго (x200).

Профилактирующее действие на миокард выражалось активацией эндотелиоцитов, формированием молодых сосудистых структур, гипертрофией кардиомиоцитов с появлением в них поперечной исчерченности. Отмечалось снижение гиперемии, плазматического пропитывания стенок сосудов и стромы, отека миокарда (рис.4.7), что указывает на эффективность применения милдроната и ацизола в качестве средств профилактирующего воздействия.



**Рис.4.8.** Печень у сирийских хомяков через 60 дней от начала введения в качестве протектора милдроната и ацизола. Слабовыраженная конгофилия системы микроциркуляции (1). Очаговые скопления клеточных элементов стромы (2) и частичное нарушение архитектоники печени (3). Окраска красным конго (x200).

В печени спустя 2 месяца от начала введения ацизола и милдроната с первых дней применения амилоидогена, наблюдалась слабо выраженная конгофилия системы микроциркуляции, частичное нарушение архитектоники печени с единично встречающимися участками холестаза, умеренная степень гиперемии, плазматического пропитывания и отека (рис.4.8). Выявлялись очаговые проявления регенераторных процессов гепатоцитов, купферовских клеток, клеточных элементов стромы (плазматических клеток, фибробластов и др.).

### 4.3. Влияние одновременного введения милдроната 5 мг/кг и ацизола 30 мг/кг массы тела животного на водо и - электролитовыделительную функции почек у золотистых сирийских хомяков с развившейся экспериментальной амилоидной нефропатией.

Для проведения сравнительного анализа данных и подтверждения положительного воздействия на воспроизведенную модель у сирийских хомяков, нами были взяты для сравнения животные 2-х групп:

- 1 группа, животные с моделью экспериментальной амилоидной нефропатией, воспроизведенной однократным введением нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда подкожно.

- 2 группа, животные с экспериментальным амилоидозом получающие милдронат и ацизол.

Анализ полученных результатов у 2-й группы животных показал, что на 30-й день лечения имело место увеличение объема диуреза относительно показателя амилоидных животных, обусловленное ускорением клубочковой фильтрации с одновременным повышением величины канальцевой реабсорбции. В конце второго месяца, наблюдалось более выраженное восстановление объема диуреза, обусловленное повышением скорости клубочковой фильтрации более чем в 2,5 раза, несмотря на нарастание величины канальцевой реабсорбции. т.е., милдронат и ацизол оказывали восстановительное воздействие на фильтрационную и реабсорбционную функции почек (рис. 4.10).





Рис.4.10. Влияние милдроната и ацизола на основные процессы мочеобразования у сирийских хомяков с экспериментальной нефропатией, в условиях спонтанного диуреза.

При изучении ионовывделительной функции почек через 1 месяц введения милдроната и ацизола, отмечалось повышение экскреции кальция относительно амилоидной группы, благодаря увеличению его фильтрационного заряда, несмотря на одновременное повышение его реабсорбции канальцами почек.

Через 2 месяца эксперимента экскреция кальция снизилась, приближаясь к фоновым значениям, что было обусловлено значительным повышением ее реабсорбции эпителием почечных канальцев, несмотря на еще большее увеличение фильтрационного заряда катиона (рис.4.11).



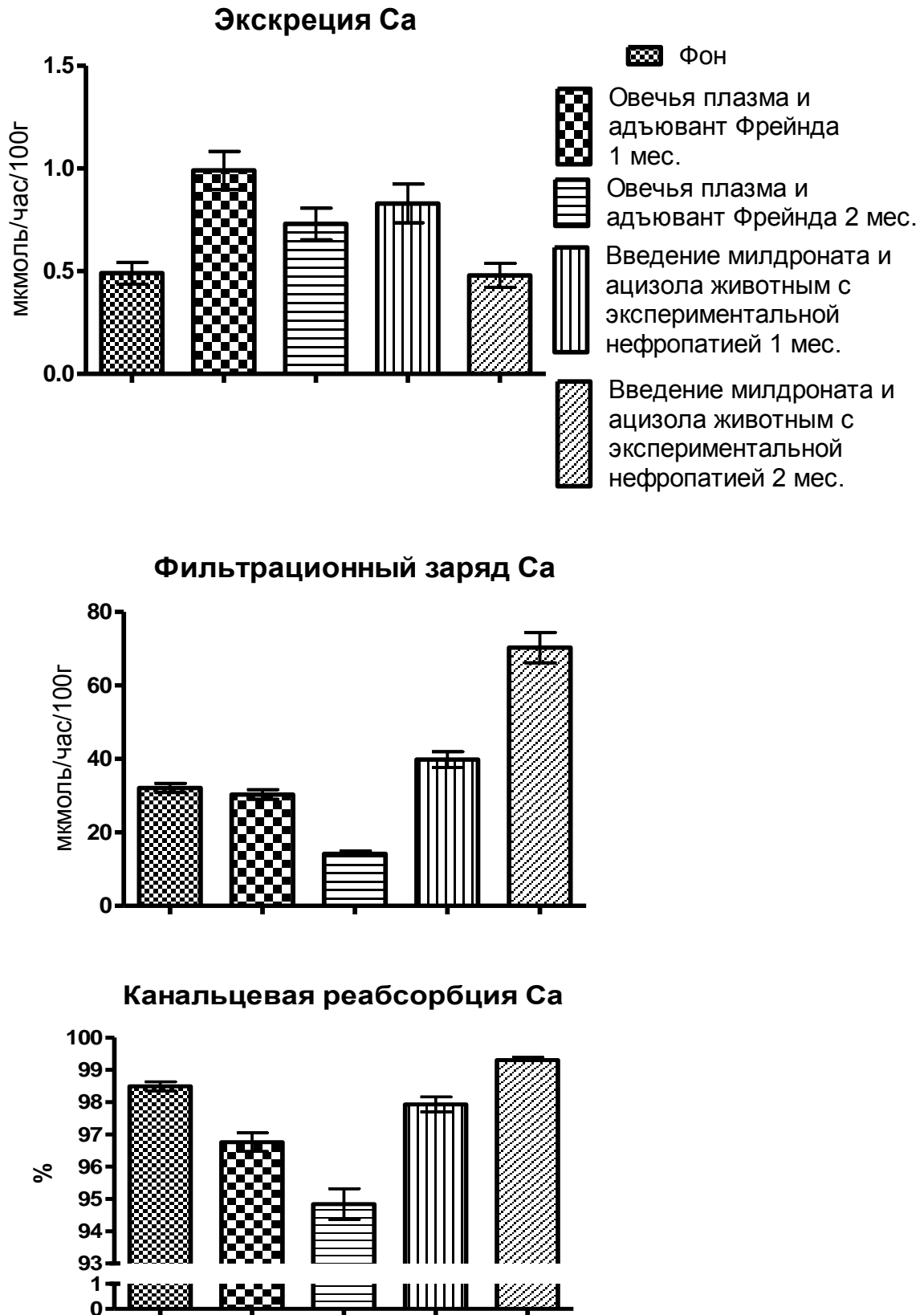
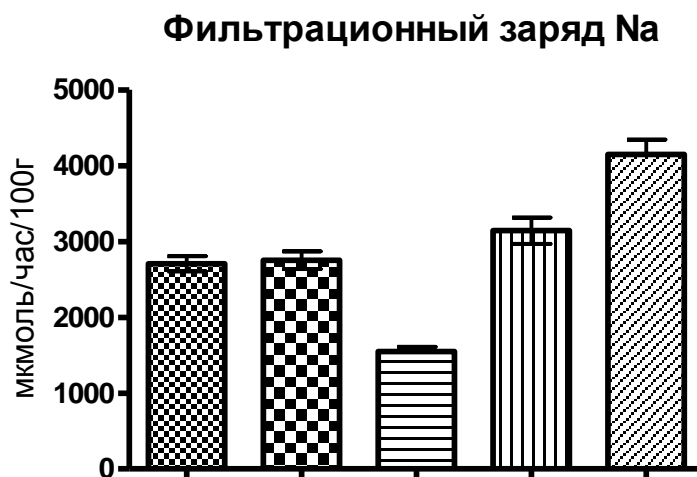


Рис.4.11. Влияние милдроната и ацизола на экскрецию и почечную обработку кальция у сирийских хомяков с экспериментальной нефропатией, в условиях спонтанного диуреза.

Через 1 месяц экскреция натрия под влиянием милдроната и ацизола относительно амилоидных животных нарастала, что было связано с увеличением его фильтрационного заряда, несмотря на повышение реабсорбции катиона канальцами почек.

Через 2 месяца экскреция натрия продолжала достоверно повышаться (табл.4), что было обусловлено увеличением фильтрационного заряда катиона, при мало меняющейся его реабсорбции почечными канальцами. Повышение фильтрационного заряда являлось результатом увеличения скорости клубочковой фильтрации воды, что определяло восстановление объема диуреза (рис. 4.12).



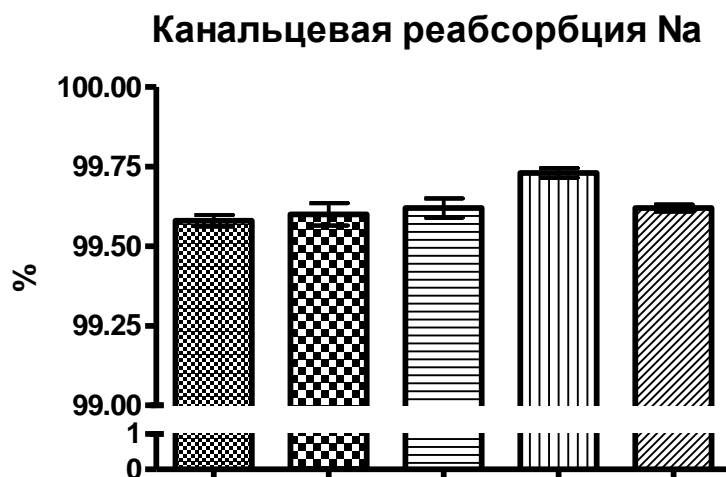


Рис.4.12. Влияние милдроната и ацизола на экскрецию и почечную обработку натрия у сирийских хомяков с экспериментальной нефропатией, в условиях спонтанного диуреза.

Под влиянием милдроната и ацизола у сирийских хомяков экскреция калия через 1 месяц повысилась, что было обусловлено увеличением фильтрационного заряда. Через 2 месяца экскреция калия снижалась, приближаясь к показателям фона, несмотря на снижение его фильтрационного заряда. В крови отмечалось повышенное содержание калия и кальция.





Рис.4.13. Влияние милдроната и ацизола на экскрецию и почечную обработку калия у сирийских хомяков с экспериментальной нефропатией, в условиях спонтанного диуреза.

Потеря белка через 1 и 2 месяца лечения снизилась почти в 2 раза, но все же оставалась выше фоновых показателей (рис.4.14).

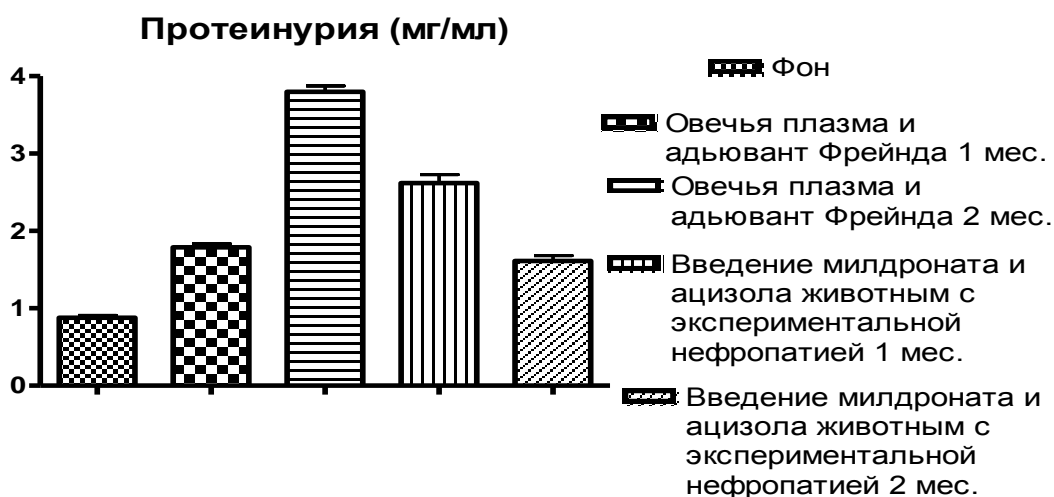
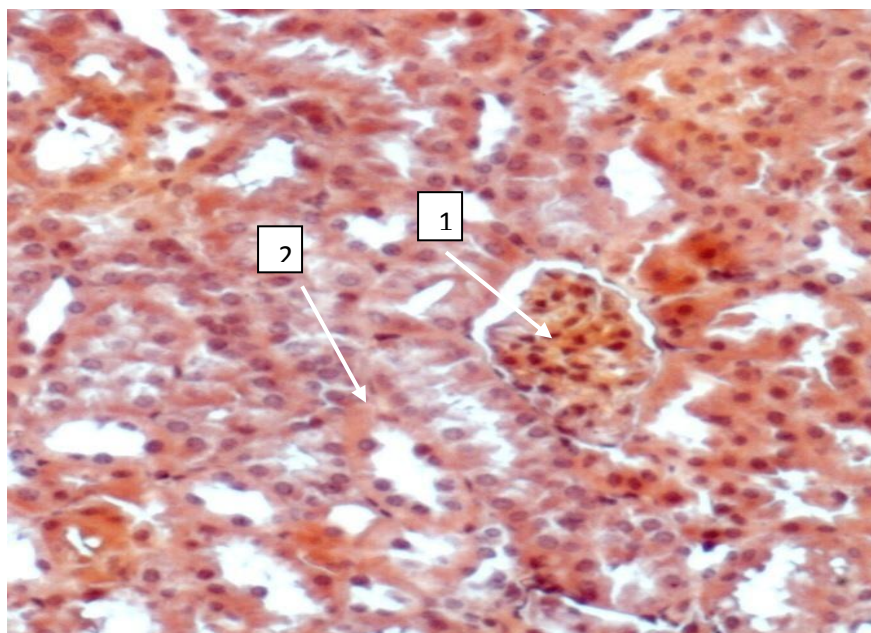


Рис.4.14. Влияние милдроната и ацизола на содержание белка в моче у сирийских хомяков с экспериментальной нефропатией, в условиях спонтанного диуреза.

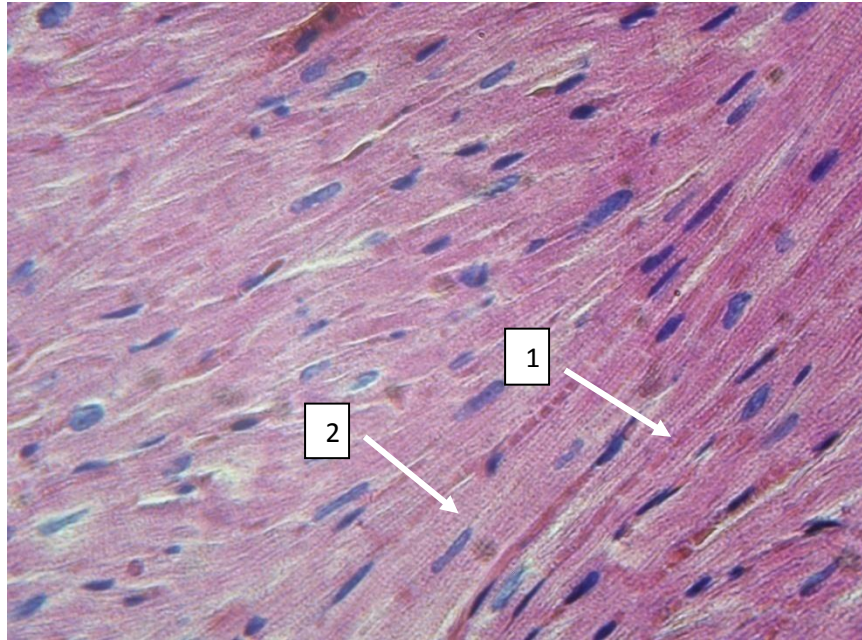
Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффективном корректирующем влиянии милдроната и ацизола на показатели основных процессов мочеобразования, экскрецию электролитов и белка у животных с имеющейся моделью амилоидной нефропатии.

#### 4.4. Морфологические изменения в органах опытных амилоидных животных, подвергшихся воздействию ацизола и милдроната.

На 60-е сутки введения милдроната и ацизола амилоидным животным с целью лечения, в почках - отмечалась активная регенерация капилляров и эндотелия клубочков почек, снижение количества амилоида в клубочках и в базальных мембранах канальцев и сосудов. Однако местами выявлялась гидропическая дистрофия эпителия проксимальных и дистальных канальцев, заполняющих весь просвет канальцев. Во многих сосудах коркового и мозгового слоев почек, отмечалась пролиферация слабоконгофильного эндотелия. Сосудистые клубочки округлой формы с хорошо выраженным просветом клубочковой капсулы содержащей фильтрат и слущенные эпителиальные клетки наружного листка капсулы. Базальные мембраны канальцев несколько утолщены, в просвете канальцев небольшое количество фильтрата. Количество ядер клубочковых капилляров и канальцев приближено к норме (рис.4.15).



**Рис.4.15.** Почка у сирийских хомяков на 60-е сутки лечения милдронатом и ацизолом. Снижение отложения амилоида в клубочках(1) и в базальных мембранах канальцев (2). Окраска красным конго (x200).



**Рис.4.16.** Миокард у сирийских хомяков на 60-е сутки лечения милдронатом и ацизолом. Уменьшение отложения амилоида в кардиомиоцитах (1), с хорошо выраженной поперечной исчерченностью (2). Окраска красным конго (x400).

В миокарде под влиянием милдроната и ацизола на 60-й день эксперимента выявлены положительные гистоструктурные характеристики в виде уменьшения отложения амилоида в кардиомиоцитах, стенках кровеносных и лимфатических сосудов микроциркуляторного русла.

Выявлено снижение дисциркуляторных процессов в виде уменьшения гиперемии, плазматического пропитывания, отека и уменьшения гидростатических пространств межучного вещества.

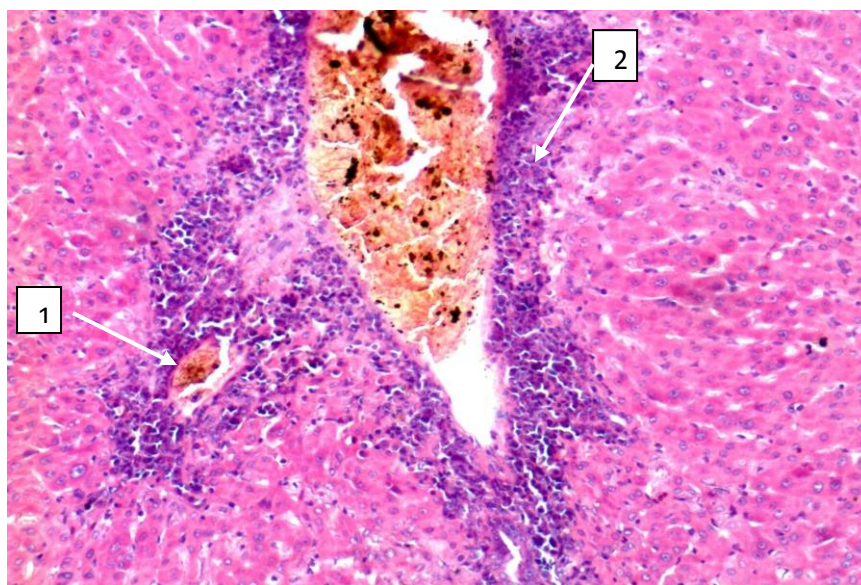
Обнаруживаются группы кардиомиоцитов с хорошо выраженной поперечной исчерченностью, что является свидетельством активации регенераторных процессов в паренхиматозных структурах сердца. Местами определяются кардиомиоциты, насыщенные липофусцином по полюсам ядер, что является выражением очаговой сохранности атрофических процессов, характерных для кардиопатического типа системного амилоидоза.



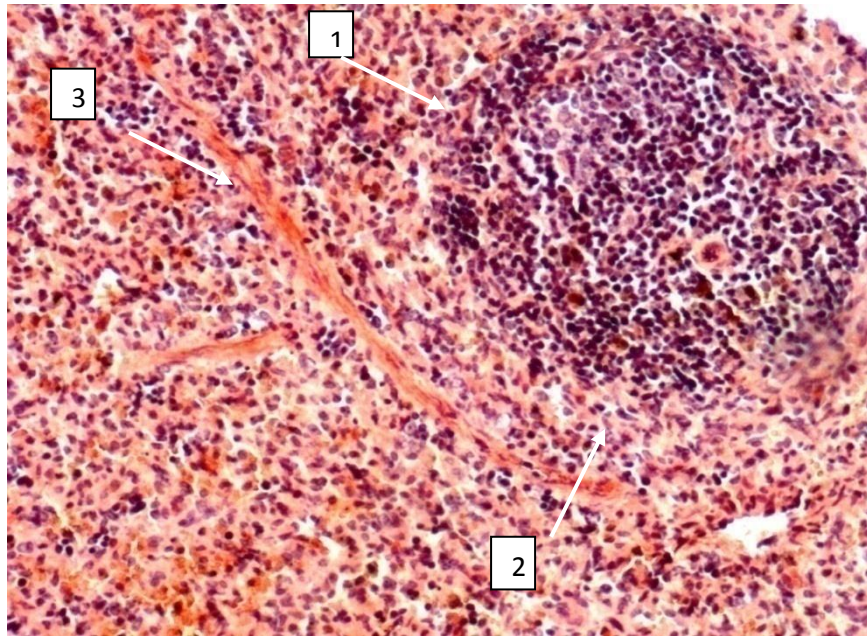
Положительное влияние указанных лекарственных средств, выражается в снижении склеротических процессов в строме, на фоне активации иммунокомпетентных клеток с локализацией в основном вокруг крупных и мелких сосудов. Местами сохранившийся амилоид представлен в виде бисера, прилежащего плотно к кардиомиоцитам. В этих участках поперечная исчерченность не определяется.

При изучении печени на 60-й день лечения, наблюдалась пролиферация иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов, лаброцитов и гистиоцитов) вокруг центральных вен (рис.4.17). Отмечалось частичное восстановление органоспецифической citoархитектоники в форме пролиферации гепатоцитов с крупными гиперхроматическими ядрами.

Имеются участки активного формирования характерных печеночных балок с регенерацией внутридольковых печеночных протоков. Проплиферация эндотелия центральных вен, а также артерии и вены портальных трактов сочеталась со снижением гиперемии, плазматического пропитывания и межклеточного отека. Отмечаются крупные гепатоциты с крупными ядрами в состоянии прямого митоза.



**Рис.4.17.** Печень сирийских хомяков на 60-е сутки лечения милдронатом и ацизолом. Снижение конгофилии сосудистых стенок (1) и пролиферация иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов, лаброцитов, гистиоцитов) вокруг центральных вен (2). Окраска красным конго (x200).



**Рис.4.18.** Селезенка у сирийских хомяков на 60-е сутки лечения милдронатом и ацизолом. Снижение отложения амилоида в фолликулах (1), активная регенерация лимфоидного фолликула (2) уменьшение плазматического пропитывания стенок сосудов системы микроциркуляции (3). Окраска красным конго (x400).

В селезенке на 60-й день лечения, отмечалась активная регенерация лимфоидных фолликулов, выражающаяся в гиперплазии лимфоцитов, гистиоцитов, ретикулярных клеток (рис.4.18). Уменьшение плазматического пропитывания стенок центральной артериолы фолликулов, снижение отложения в них амилоида, активная пролиферация эндотелиоцитов сосудов. Расширение сосудов микроциркуляторного русла с активной регенерацией эндотелиоцитов. Все указанные морфологические характеристики, косвенно подтверждают положительное влияние милдроната и ацизола, выражающееся в структурно-функциональной реабилитации органа.

Выявленная морфология является отражением положительного влияния милдроната и ацизола на лечение экспериментального амилоидоза.



**Выводы:**

1. Применение ацизола в дозе 30 мг/кг внутрижелудочно и милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного через день в течение 15 дней, в целях профилактики развития экспериментального амилоидоза на фоне однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда в дозе 1 мл способствовало уменьшению выраженности показателей нарушения водовыделительной функции почек через 2 месяца эксперимента.

2. Применение ацизола в дозе 30 мг/кг внутрижелудочно и милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного через день в течение 15 дней, в целях профилактики развития экспериментального амилоидоза, приводило к снижению выраженности изменений экскреции электролитов, вследствие уменьшения изменений канальцевой реабсорбции и фильтрационного заряда катионов.

3. Применение ацизола в дозе 30 мг/кг внутрижелудочно и милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного в целях профилактики развития экспериментального амилоидоза на фоне однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда частично устраняет изменения концентрации электролитов в плазме крови.

4. Введение ацизола в дозе 30 мг/кг внутрижелудочно и милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного на фоне введения амилоидогена способствует значительному снижению степени протеинурии.

5. При использовании ацизола в дозе 30 мг/кг внутрижелудочно и милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела у животных с экспериментальным амилоидозом отмечалось частичное восстановление изменений водо- и электролитовыделительной функции почек.

6. Результаты патоморфологического изучения почек, миокарда, печени и селезенки, подтверждают профилактирующее и лечебное влияние милдроната и ацизола при генерализованном амилоидозе.

## ГЛАВА 5.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Амилоидозы – болезни, характеризующиеся отложением нерастворимых амилоидных фибрилл в различных органах и тканях, в результате наследственного или приобретенного нарушения сворачивания белков.

Частота всех типов амилоидоза в популяции составляет 5-13 случаев на миллион населения в год [121]. Уже сейчас амилоидоз – главная причина смерти после сердечно-сосудистых и раковых заболеваний. Центральную роль в патогенезе процесса играют амилоидные отложения, являющиеся причиной ряда заболеваний (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Дауна, диабет II типа, наследственная амилоидная полинейропатия, системные амилоидозы, прионные амилоидозы и др.) [180]. По данным авторов обнаруживаются еще в миокарде при кардиомиопатиях, миокардитах и в скелетных мышцах при миозитах [27].

Почки поражаются у 75-90 % больных амилоидозом, как правило, на фоне поражения других органов. Обладая химической инертностью и иммунологической толерантностью, амилоид откладывается в интимах или адвентициях кровеносных и лимфатических сосудов, в строме органов по ходу ретикулярных или коллагеновых волокон, что сопровождается нарушением трофики паренхиматозных клеток с последующим быстрым развитием их функциональной недостаточности с переходом в терминальную стадию.

Изучение и установление белковой природы депозитов и их свойств, механизмов развития амилоидозов, разработка терапевтических методов лечения и предупреждения этих заболеваний, а также их прижизненная ранняя диагностика являются актуальными задачами.

Таким образом, несмотря на многообразие применяемых препаратов и методов, используемых для лечения амилоидоза, разработка наиболее эффективных и экономически выгодных методов лечения, все еще остается одной из актуальнейших задач в медицине.

С целью решения вышеизложенных задач, нами в качестве профилактического и лечебного воздействия на воспроизведенную модель генерализованного амилоидоза у сирийских хомяков использована комбинация таких лекарственных препаратов, как милдронат и ацизол.

Опыты проводились на половозрелых золотистых сирийских хомяках массой 100-120 г, с целью исключения возможных гормональных циклов, и их влияния на водно-солевой обмен. Амилоидная нефропатия была вызвана путем подкожного введения нативной овечьей плазмы в дозе 0,025 мл/г массы тела животного (через день) в течение 60 дней эксперимента, а также методом однократно вводимой равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейда в дозе по 0,2 мл в пять точек инъекций (подкожно в подмышечные и паховые области слева и справа и внутрибрюшинно). Введение ацизола интрагастрально в дозе 30 мг/кг массы тела животного и милдроната подкожно в дозе 5 мг/кг массы тела животного проводили через день на протяжении 15 дней, спустя 2 месяца после создания модели амилоидоза и с первых дней моделирования амилоидоза.

Спустя 1 и 2 месяца проводили изучение водо - и элетролитовыделительной функции почек в условиях спонтанного шестичасового диуреза.

При исследовании функционального состояния почек у животных при моделировании амилоидоза способом как длительного подкожного введения нативной овечьей плазмы в дозе 0,025 мл/г массы тела, так и однократного введения его в смеси с адьювантом Фрейнда в дозе 1 мл, выявлялось достоверное снижение диуреза вследствие снижения скорости клубочковой фильтрации воды, несмотря на ослабление канальцевой реабсорбции воды. При введении амилоидогена происходит увеличение экскреции калия и кальция с мочой, что обусловлено снижением их канальцевой реабсорбции; снижение экскреции натрия, в результате уменьшения его

фильтрационного заряда. Концентрация кальция и натрия в плазме крови снижалась, а калия увеличивалась. Экскреция белка с мочой на фоне введения амилоидогена увеличилась, почти в 3 раза, относительно показателей контрольной группы животных.

Применение у интактных животных милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного подкожно и ацизола в дозе 30 мг/кг внутривенно существенных изменений не вызывало.

Введение ацизола и милдроната на фоне введения амилоидогена способствовало уменьшению степени выраженности нарушения ионо- и водовыделительной функции почек в конце 1 и 2-го месяца эксперимента. При этом отмечалось некоторое увеличение диуреза, обусловленное снижением канальцевой реабсорбции воды, несмотря на уменьшение скорости клубочковой фильтрации.

Таким образом, полученные результаты исследований показали, что применение милдроната и ацизола на фоне эффектов амилоидогена во всех группах опытных животных, оказывают существенное влияние на обмен и показатели почечной обработки натрия, калия и кальция, способствуя снижению развития нарушений ионовыведительной функции почек у золотистых хомяков при амилоидной нефропатии, а также значительно уменьшают степень протеинурии.

Применение милдроната и ацизола в конце 2 – го месяца создания модели амилоидоза оказывает положительное корригирующее влияние, обусловленное восстановлением объема диуреза, обусловленное повышением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на нарастание величины канальцевой реабсорбции. Снижение потерь белка было почти в 2 раза, относительно показателя амилоидных животных. Имело место также достоверное повышение натрийуреза, снижение калий и кальцийуреза, что было обусловлено снижением реабсорбции этих катионов несмотря на уменьшение фильтрационного заряда калия, и увеличением

фильтрационного заряда натрия и кальция. Перечисленные показатели приближались к показателям интактных животных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффективном корригирующем влиянии смеси милдроната и ацизола на показатели основных процессов мочеобразования и экскрецию электролитов у животных с имеющейся моделью амилоидной нефропатии.

Морфологические исследования при введении нативной овечьей плазмы (как при длительном подкожном, так и при однократном введении равнодолевой смеси с полным адьювантом Фрейнда) в почках экспериментальных животных, выявили, отложение конгофильных белковых масс в базальных мембранах, проксимальных и дистальных отделах канальцев кортикального слоя. Очаговая дистрофия и некроз эпителия канальцев и его эксфолиация в просвет канальцев с наличием здесь же, скопления конгофильных субстанций, кистозные расширения и некроз канальцев. Признаки тромбоэндovasкулита сосудов микроциркуляторного русла. Очаговая гиперплазия юктагломерулярного аппарата.

Кроме почек, отложения амилоида выявлялись в миокарде, вызывая набухание и очаговую конгофилию отдельных групп кардиомиоцитов, исчезновение поперечной исчерченности. В печени выявлена конгофилия стенок центральных вен печеночных долек, межбалочных капилляров и синусоидов, паренхиматозная, белковая и жировая дистрофия гепатоцитов, а также атрофия купферовских клеток. В селезенке обнаружены изменения касающиеся стромально-сосудистых структур и лимфоидной ткани в виде перифолликулярного отложения фибриллярных белков амилоида, конгофилии стенок центральных артериол и их гиалиноза, а также соединительнотканых элементов межуточного вещества (интерстиция). Вокруг конгофильных очагов выявлялись клеточные скопления различной функциональной направленности (лимфоциты, гистиоциты, плазмоциты, амилоидобласты, амилоидокласты).

Результаты проведенных морфологических исследований у

леченных животных, выявили: В почках - активную регенерацию капилляров и эндотелия клубочков, снижение количества амилоида в клубочках и в базальных мембранах канальцев.

В миокарде под влиянием милдроната и ацизола выявлены положительные гистоструктурные характеристики в виде уменьшения отложения амилоида в кардиомиоцитах, стенках кровеносных и лимфатических сосудов микроциркуляторного русла. Выявлено снижение дисциркуляторных процессов в виде уменьшения гиперемии, плазматического пропитывания, отека тканевых пространств межуточного вещества.

В печени - уменьшение конгофилии стенок центральных вен печеночных долек, уменьшение очагов паренхиматозной и жировой дистрофии гепатоцитов. Частичное восстановление органоспецифической цитоархитектоники в форме пролиферации гепатоцитов с крупными гиперхроматическими ядрами. Имеются участки активного формирования характерных печеночных балок с регенерацией внутридольковых печеночных протоков.

Таким образом, результаты проведенного эксперимента позволяют сделать вывод, что, введение 10 % милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного внутривенно и ацизола из расчета 30 мг/кг подкожно, при амилоидозе, сформировавшемся спустя 2 месяца от момента однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета 0,2 мл в 5 точек инъекций, является эффективным способом коррекции гистоструктурных и функциональных показателей (рис.5) Результаты исследования позволили сформировать следующую схему патогенеза амилоидоза почек и механизмов действия препаратов.



Рис. 5. Патогенетическая схема развития моделей полисистемного амилоидоза у сирийских хомячков, а также влияние мелдроната и ацизола.

В приведенной выше патогенетической схеме показано, что способ длительного введения нативной овечьей плазмы, также как и однократного введения ее с адьювантом Фрейнда, приводят к развитию структурно-

морфологических нарушений, характерных для амилоидной нефропатии: снижение диуреза, обусловленное уменьшением скорости клубочковой фильтрации (при снижении канальцевой реабсорбции воды), протеинурия и нарушение электролитного баланса.

Применение милдроната и ацизола, оказывает положительное профилактирующее и корригирующее влияние на морфофункциональные изменения при экспериментальном амилоидозе.

### ОБЩИЕ ВЫВОДЫ:

1. Многократное подкожное введение нативной овечьей плазмы сирийским золотистым хомякам в течение 2-х месяцев вызывает развитие экспериментального амилоидоза с отложениями амилоида в структурах почек, селезенки, миокарда, стенках кровеносных сосудов. Амилоидная нефропатия проявляется выраженной протеинурией, снижением объема 6-ти часового спонтанного диуреза при уменьшении скорости клубочковой фильтрации, экскреции электролитов.

2. Однократное введение нативной овечьей плазмы в равнодолевой смеси с адьювантом Фрейнда золотистым сирийским хомякам через 1 и 2 месяца эксперимента вызывает развитие системного амилоидоза с выраженными морфофункциональными признаками амилоидной нефропатии.

3. Сравнительная оценка результатов проведенных экспериментов, выявила, что однократное введение равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда в сравнении с длительным введением нативной овечьей плазмы, является более эффективным способом моделирования экспериментального амилоидоза, что обусловлено развитием более выраженных морфофункциональных нарушений.

4. Введение ацизола в дозе 30 мг/кг внутривентрикулярно и милдроната в дозе 5 мг/кг подкожно через день на протяжении 2-х месяцев с первого дня введения амилоидогена способствует уменьшению степени выраженности



нарушения ионо - и водовыделительной функции, а также протеинурии, значительно снижает развитие гистоструктурных изменений, характерных для амилоидоза, т.е. оказывает профилактирующее действие.

5. Применение милдроната в дозе 5 мг/кг подкожно и ацизола в дозе 30 мг/кг интрагастрально через день в течение 15 дней, в конце 2 – го месяца создания модели амилоидоза оказывает положительное корригирующее влияние на показатели основных процессов мочеобразования и экскрецию электролитов у животных с имеющейся моделью амилоидной нефропатии.

**Заключение.** Применение милдроната и ацизола оказывает положительное профилактирующее и корригирующее влияние на морфофункциональные изменения при экспериментальном амилоидозе.

**Список использованной литературы**

1. Амилоидоз [Электронный ресурс]. URL: [http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc\\_medicine/2170/](http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine/2170/)(дата обращения 20.09.2012).
2. Абрикосов, А.М. О рассасывании амилоида при помощи гигантских клеток у человека / А.М. Абрикосов // Сборник, посвященный 25-летию научной деятельности Аничкова Н.Н. – 1935. – Т.1. - С.14-17.
3. Абдуллаев, Р.Ю. Сывороточный амилоидный белок А - его биологическая роль и участие в патологии органов дыхания / Р.Ю. Абдуллаев, О. Г. Комиссарова // Туберкулез и болезни легких.-2011.-№2. - С.3-8.
4. Амилоидоз почек // В кн.: Внутренние болезни: Лекции для студентов и врачей в 2 томах / Под ред. Б.И. Шулутко. — Изд. 2-ое, испр. и дополн. - Т. 2. - СПб., 1994. - С.703-713.
5. Амилоидоз почек у детей / М.Е.Аксенова и др. // Рос. вестн. перинат. и педиат.-2002.-№2.-С.50-55.
6. Амилоидоз у больного 93 лет / А. А. Смоляников, В. Б. Симоненко, А.Ф. Курмашов и др. // Клиническая медицина.- 2009. - №2. - С.65.
7. Аутологичная трансплантация гемопоэтических клеток периферической крови при лечении AL-амилоидоза / А.Г. Смирнова и др. // Терапевтический архив.-2010.- Т. 82, №10. - С.61-64.
8. Арутюнян, В.М. Иммунокомпетентная система при амилоидозе и некоторых эндокринных нарушениях / В.М. Арутюнян, Г.А. Еганян // Ереван. - 1986. – С.122.
9. Бабаниязов, Х.Х. Применение ацизола в качестве гепатопротектора / Х.Х. Бабаниязов, С.П. Нечипоренко, Б.А. Трофимов и соавт. // Патент №2260427, 2004.
10. Бабушкина, Г. Влияние миокардиальных цитопротекторов на липидный и фосфолипидный состав мембран эритроцитов у больных стабильной стенокардией / Г. Бабушкина, В. Пилюшин // Врач. - 2007. - 5. - С.80-81.

11. Биохимические механизмы действия милдроната в условиях ишемического стресса / М. Дамброва, Д. Дайя, Э. Лиепинып и др. // *Врачебное дело.* - 2004. - №2, - С.68-74.
12. Брин, В.Б. Функционально-морфологическая характеристика экспериментальной модели амилоидной нефропатии / В.Б. Брин, К.М. Козырев, И.У. Пухова // *Вестник новых медицинских технологий.* - 2008. - Т.15, №2. - С.-33-34.
13. Брин, В.Б. Влияние янтарной кислоты и сульфидной минеральной воды «Редант - 4Р» отдельно и в их сочетании на функционально-структурное состояние почек при модели генерализованного амилоидоза нефропатического типа / В.Б. Брин, А.А. Габуева, К.М.Козырев // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2010. - № 7(121). - С.33-37.
14. Беликова, А.Т. Новая модель экспериментального амилоидоза / А.Т. Беликова, В.Б. Брин, К.М. Козырев // *Кубанский научный медицинский вестник.*- 2011. – №2 (125). – С. 12-15.
15. Патент на изобретение № 2473134 Российская Федерация. (51) МПК G09B23/28 (2006.01). Способ профилактики системного амилоидоза и его нефропатической формы у экспериментальных животных / Беликова А.Т., Брин В.Б., Козырев К.М.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития РФ. - Заявка № 2011111891/14, 29.03.2011; опубл. 20.01.2013 // *Бюл.* – 2013 – № 2.
16. Визир, В.А. Клинические аспекты применения милдроната в кардиологии / В.А. Визир // III Междунар. симп. «Церебро - кардиальная патология новое в диагностике и лечении», (26-29 апр. 2001, Судак, Украина). Судак. - Материалы. - 2001. - С.21-28.
17. Ветра, А. Положительный эффект применения Милдроната в ранней реабилитации неврологических больных / А.Ветра, М. Шефере, И. Скарда, Л. Матве, И. Калвиньш // *Вестник Латвийской АН.* - 2001. - Т.55, № 2-3. - С.80-85.

18. Виничук, С.М. Эффективность лечения милдронатом больных ишемическим инсультом / С.М. Виничук // Врачебное дело. - 1991. - №7. - С.77-79.
19. Воронков, Л.Г. Влияние милдроната на эндотелий зависимую вазо - дилатацию у больных хронической сердечной недостаточностью: двойное слепое перекрестное исследование / Л.Г, Воронков, И.А.Шкурат, Е.А. Луцак // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2008. - Т.4, № 2. - С.38-40.
20. Влияние цитопротекции на окислительные процессы и эндотелиальную функцию у пожилых пациентов с ишемической болезнью сердца / А.В. Шабалин, Ю.И. Рагино, С.А. Любимцева и др. // Успехи геронтологии. – 2006. - №19. – С.116-119.
21. Влияние милдроната на качество жизни пациентов с хронической сердечной недостаточностью / А.О. Недошивин, Н.Н. Петрова, А.Е. Кутузова и др. // Тер. Арх. - 1999. - №71(8). - С.10-12.
22. Внутренние болезни 2-х томах: учебник / Под ред. Н.А. Мухина, В.С. Моисеева, А.И. Мартынова. - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2010. - 1264 с.
23. Габуева, А.А. Влияние сульфидной минеральной воды «Редант-4Р» на функцион. состояние почек при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза / А.А.Габуева, В.Б. Брин, К.М. Козырев // Владикавказский медико-биологический вестник. -2009-2010. - Т.IX.- С. 101-104.
24. Габуева, А.А. Функционально-морфологическая характеристика новой модели амилоидной нефропатии у крыс / А.А. Габуева, В.Б. Брин, К.М. Козырев // Вестник МАНЕБ.– 2010.– Т.15, №2.– С.77– 80.
25. Гематологические и антиоксидантные эффекты ацизола на фоне хронической интоксикации хлоридом ртути в эксперименте /Р.И. Кокаев, В.Б. Брин, Х.Х. Бабаниязов, Н.В. Пронина // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVIII, №3. - С.69-71.

26. Гордеев, И. Г. Коррекция дисфункции миокарда у больных стабильной стенокардией, подвергшихся коронарной реваскуляризации, на фоне приема цитопротектора милдроната / И.Г. Гордеев, Е.Е. Лучинкина, С.В. Хегай // Рос.кардиол. журн. - 2009. - N 2. - С.54-58.
27. Гипертрофическая кардиомиопатия и амилоидоз сердца / А. Барсуков, С. Шустов, И. Шкодкин и др. // Врач. - 2000. - №.10. - С.42–46.
28. Грицман, А.Ю. Некоторые вопросы экспериментальной терапии амилоидоза и резорбции амилоида: автореф. дис. ... канд. мед.наук. – М.1974.
29. Грене, Г.Й. Нефротический синдром: гистопатологическая дифференциальная диагностика. Часть 3: мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, Ig-A нефропатия, диабетическая нефропатия, амилоидоз, посттрансплантационная нефропатия / Г. Й. Грене, Е. Кисс // Нефрология. - 2008. - Т.12,№1. - С.84-93.
30. Пат.2306617 Российская Федерация МПК G09B 23/28. Способ моделирования экспериментального амилоидоза у животных / З.В.Гиоева, Т.В. Заалишвили, К.М. Козырев, В.Б.Брин // заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Северо-Осетинская гос. мед.академия Федеральн. агенства по здравоохран. и соц. разв. »-№2006113109/13; заявл. 18.04.2006; опубл. 20.09.2007// Бюл.-2007. - №26.
31. Пат.2038079 Российская Федерация МПК А61К 31/315. Антиоксидант окиси углерода / Е.С. Домнина, А.И. Скушникова, М.Г. Воронков, О.Ю.Урюпов, Л.А. Тиунов, Э.Д. Руказенков, В.В. Чумаков, С.И. Арутюнян, Т.М. Соколовская, В.А. Серов, В.Т. Жилеев // заявитель Иркутский институт органической химии СО АН СССР; Военно-медицинская академия им.С.М.Кирова, патентообладатель Иркутский институт органической химии СО РАН»-№4502450/14; заявл. 14.11.1988; опубл. 27.06.1995// Бюл.-2007. - №26.
32. Давыдовский, И.В. Общая патология человека. - М.: Медицина. – 1968. – 608с.

33. Егоров, И. В. Трудности в дифференциальной диагностике сердечной недостаточности / И. В. Егоров // РМЖ. Медицинское обозрение.- 2011. - Т.19, №18. - С.1146-1150.
34. Заалишвили, Т.В. Лечебно-профилактическое влияние милдроната на основные морфофункциональные показатели почек при экспериментальном амилоидозе у белых мышей при отсутствии существенного влияния на те же показатели здоровых мышей // V конференция молодых ученых (28-30 сентября 2004г.). Тезисы докладов.- Нальчик: Изд-во КБНЦ РАН, 2004.-С.58-60.
35. Заалишвили, Т.В. Способы моделирования амилоидоза у экспериментальных животных / Т.В. Заалишвили, В.Б. Брин, К.М. Козырев // Успехи современного естествознания. – 2005. – №. 2.– Изд-во Акад. естествознания, М. – С.78-79.
36. Патогистологическая характеристика экспериментального амилоидоза у золотистых сирийских хомяков. Влияние мелаксена / Т.В. Закс, В.Б. Брин, А.Т.Беликова, К.М. Козырев // Вестник новых медицинских технологий. – Тула. - 2012.-Т. XIX, № 3.-С.151-154.
37. Захарова, Е.В. Системный амилоидоз: диагноз, дифференциальный диагноз, лечение / Е.В. ЗАХАРОВА // Лечащий врач.- 2004. – №3.- С.60-65.
38. Изучение влияния ингибитора карнитинзависимого метаболизма милдроната на окисление жирных кислот митохондрий печени интактных крыс / Т.И. Каган, Б.З. Симхович, И.Я. Кальвиньш и др. // Вопр. мед.химии.- 1991.-Т.37.-№2.-С.44-46.
39. Иммунология амилоидоза. [Электронный ресурс].URL:<http://immunology.com.ua/amylo/immun/>(дата обращения 20.09.2012).
40. Информативность биопсии слизистой оболочки полости рта для диагностики системного амилоидоза / М. Г. Рыбакова, И. А. Кузнецова, Е. Н. Семернин, А. Я. Гудкова // Архив патологии. - 2013. - Т.75, № 5. - С.3-7.

41. Кисиева, З.А. Влияние милдроната и ацизола на основные процессы мочеобразования и экскрецию электролитов у сирийских золотых хомяков с моделью экспериментальной амилоидной нефропатии / З.А. Кисиева, В.Б. Брин, К.М.Козырев // Современные проблемы науки и образования. – 2014. № 2.
42. Кисиева, З.А. Патоморфологическая характеристика новой модели экспериментального амилоидоза нефропатического типа у золотистых сирийских хомяков / З.А. Кисиева, Т.В. Загс, К.М. Козырев // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. - Т. XX, №1. – С. 109-113.
43. Кисиева, З.А. Сравнительная оценка способов моделирования экспериментального амилоидоза почек / З.А. Кисиева // Материалы 11-й юбилейной научной сессии, посвященной 75-летию СОГМА. - Владикавказ. - 2014. - С.119-125.
44. Кисиева, З.А. Экспериментальный амилоидоз почек, воспроизводимый смесью овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда / З.А. Кисиева // Владикавказский медико-биологический вестник. -2014. - Т. XIX, №28. – С. 64-67 .
45. Кисиева, З.А. Экспериментальная терапия модели амилоидоза у сирийских хомяков / З.А. Кисиева // Материалы 4 международной научно-практической конференции «Academic science problems and achievements IV». Nort Charleston, USA. - 2014. - VOL.1. - P.33-37.
46. Карамышева, В.Я, Кулевская Т.С, Погодина В.В. и др.  
Патоморфология головного мозга при прионных болезнях. - М.:Медицина.-2003.- С.208.
47. Каминская, Г.О. Сывороточный амилоидный белок А у больных туберкулезом легких / Г.О. Каминская, Р.Ю. Абдуллаев, О.Г.Комиссарова // Туберкулез и болезни легких. - 2012. - № 5. - С. 27-32.
48. Кардиоренальные взаимосвязи при системном амилоидозе / В. В.Рамеев и др. // Терапевтический архив. - 2013. - Т.85, № 6. - С.51-59.

49. Кичигина, О.Н. Первичный амилоидоз с преимущественным поражением сердца и желудочно-кишечного тракта / О.Н. Кичигина, Б.Б. Салтыков // Архив патологии. - 2011. - Т.73, № 3. - С.59-61.
50. Козловская, Л.В. Амилоидоз у пожилых / Л.В. Козловская, В.В. Рамеев, И.А. Саркисова // Клин.мед.-2005.-№6.-С.12-20.
51. Клинико-экспериментальные данные о влиянии милдроната на коронарное кровообращение / А.В. Виноградов, В.А. Люсов, В.И. Савчук и др. // Экспериментальная и клиническая фармакотерапия. - Рига: Зинатне. - 1991. - Вып.19. - С.85-90.
52. Клинико-иммунологические аспекты использования милдроната у больных с бронхолегочными заболеваниями / В.А. Орлов, В.И. Соколова, И.П. Замотаев и др.// Антибиот. химиотер. – 1990. Июль. –№35(7). – С.47–50.
53. Кравков, Н. П. Об амилоиде, экспериментально вызываемом у животных, диссертация, СПб, 1894.
54. Логунова, Л.В. Мембраностабилизирующее действие милдроната при стрессорных и токсических воздействиях / Л.В. Логунова, Ю.Л. Сутулов, А.А. Епхийев, Ф.Э. Батагова // XVII Всероссийский съезд физиологов: Тез.докл. Ростов - на – Дону. - 1998. - С.331.
55. Милдронат в комплексной терапии больных с хроническим бронхитом / С.И.Сахарчук, Г.Ф.Дудка, Г.Т.Денисенко ташш. // Тез.допов.V III з'Тзду терапевт України: Терношль.-1992. -С.32-33.
56. Михин, В.П. Перспективы применения милдроната у больных с сердечно-сосудистой патологией / В.П. Михин, Ф.Е. Хлебодаров // Российский кардиологический журнал.- 2010.- № 4. - С.83-92.
57. Михин, В.П. Эффективность милдроната на постгоспитальном этапе реабилитации больных, перенесших инфаркт миокарда /В. П. Михин, О.Н. Кольцова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2012.- Т.1, № 2.- С.57-61.



58. Михно, М.М. Опыт применения милдроната в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца / М.М. Михно, Е.А. Сукало, А.М. Пристром // Кардиология в Беларуси. - 2012. - 3. - С.83-91.
59. Мустафаев, Д. М. Первичный локальный амилоидоз гортани / Д. М. Мустафаев, В.И. Самбулов, П.В. Волкова // Вестник оториноларингологии. - 2010. - №6. - С.74-75.
60. Некомпактный миокард левого желудочка, сочетающийся с бронхоэктатической болезнью, осложнившейся вторичным АА-амилоидозом с поражением почек / В.В. Фомин и др. // Терапевтический архив.-2010.-Т.82, №1. - С.73-77.
61. Наточин, Ю.В. Физиология почки: формулы и расчеты / Ю.В. Наточин. - Л. «Наука», 1974.
62. Новые возможности диагностики и мониторинга течения АЛ-амилоидоза / В.В. Рамеев и др. // Терапевтический архив.-2010. - Т.8, №6. - С.29-32.
63. Овчаренко, С. И. Первичный идиопатический АЛ-амилоидоз и его место в структуре системного амилоидоза (обзор литературы и собственное наблюдение) / С.И. Овчаренко, Е.А. Сон, Е.А. Окишева // Consilium medicum. Кардиология. -2007.-Т.9, №11.-С.115-121.
64. Отсутствие мутагенных и канцерогенных свойств у милдроната / Г.А. Белицкий, И.Я. Кальвиныч, В.Н. Анисимов и др. // Вопросы онкологии. -1999. - Вып.45(3). - С.279-282.
65. Оценка влияния комбинированной терапии милдронатом на липидный спектр, факторы воспаления и функцию эндотелия у больных ишемической болезнью сердца / И.В. Сергиенко, В.В. Кухарчук, С.А. Габрусенко и др. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. - Т.3, № 3. - С.10-14.
66. Особенности действия милдроната /дигидрат 3(2,2,2 триметилгидразиний ) пропионат на некоторые параметры красной крови при сердечной

- недостаточности / А.П. Сисецкий, В.П. Артюх, И.И. Сахарчук, Н.Ф. Стародуб // Эксперим. и клин.фармакол. - 1992. - Т.55, № 3. - С.20–21.
67. Подвысоцкий, В.В. Основы общей и экспериментальной патологии // СПб. Изд. К.Л. Риккера, 1905. - 780 с.
68. Повзун, С.А. AL-амилоидоз, первоначально расценивающийся как системный васкулит / С. А. Повзун, И. А. Кузнецова // Архив патологии. - 2013. - Т.75, № 2. - С.30-32.
69. Пухова, И.У. Структурно-функциональная характеристика экспериментальной модели нефропатического типа системного амилоидоза // Актуальные проблемы медицины. Материалы 10-й юбилейной сессии, посвященной 70-летию СОГМА. - 2009.- С.310-312.
70. Пат.2347279 Российская Федерация МПК G09B 23/28. Способ моделирования экспериментального амилоидоза у животных / И.У. Пухова, К.М. Козырев, В.Б. Брин.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Северо-Осетинская гос. мед. академия Федеральн. агентства по здравоохран. и соц. разв. – Заявка № 2006113109/13, 27.09.2007; опубл. 20.02.2009 // Бюл. -2007. - №26.
71. Первичный генерализованный амилоидоз с развитием рестриктивной кардиомиопатии и тяжелой хронической сердечной недостаточности / Н.Н. Боровков и др. // Клиническая медицина. - 2009. - Т.87, №12. - С.60-62.
72. Первичный системный амилоидоз с поражением сердца и коронарных артерий / С. А. Болдуева и др. //Кардиология. - 2010.- Т.50, №6. - С.92-94.
73. Первичный AL-амилоидоз: новое в представлениях о патогенезе, диагностике и лечении / В. Рамеев и др. // Врач. - 2013. - № 1. - С.58-60.
74. Рамеев, В.В. Успешное многолетнее применение колхицина при вторичном AA-амилоидозе / В.В. Рамеев, Т.В Чегаева, Е. П. Проскурнева // Терапевтический архив. - 1999. - №1. - С.54-57.

75. Роль уровня свободных легких цепей иммуноглобулинов в диагностике и мониторинговании течения AL-амилоидоза / В.В. Рамеев и др. // Врач.-2009. - №6. - С.69-71.
76. Роль повышенной сосудистой проницаемости в образовании диморфного амилоида в миокарде мыши / В.А. Шахламов, В.Н. Баранов, В.С. укусуев, Л.Н. Капинус // Арх. пат. - 1977. - №2. - С.58-64.
77. Роль миокардиального цитопротектора в антиангинальной терапии больных стабильной стенокардией / Н. Кутишенко и др. // Врач.-2009.- №5. - С.53-56.
78. Регуляция карнитин-зависимого метаболизма жирных кислот миокарде у крыс при использовании 3-(2,2,2- триметилгидразиний) пропионата / Ж.В. Шутенко, Б.З. Симхович, Д.В. Мейрена и др. // Вопр. мед.хим. - 1989. Март-апрель. - №35(2). - С.59-64.
79. Рукосуев, В.С. К патогенезу амилоидоза (экспериментальное исследование) // Автореф. дис. д-ра мед.наук. М. 1975.
80. Современные методы диагностики и мониторингования течения системного амилоидоза / В.В. Рамеев и др. // Терапевтический архив.-2011. - Т.83,№8. - С.48-54.
81. Современные представления об амилоидозе сердца / Е. А. Жданова и др.// Кардиология. - 2013. - Т.53, №12. - С.70-78.
82. Смирнов, А.В. Антигипоксантаы в неотложной медицине / А.В. Смирнов, Б.И. Криворучка // Анестезиология и реаниматология. -1998.- №2. - С.50-57.
83. Савченко, А.Ю. Милдронат в комплексной коррекции отдаленных последствий нарушений мозгового кровообращения и черепно-мозговых травм / А.Ю. Савченко, Н.С. Захарова // Врач. - 2007. -№ 3. - С.85-87.
84. Сергиенко, И.В. Антиангинальная и антиишемическая эффективность Милдроната в комплексном лечении больных ИБС со стабильной

- стенокардией / И.В. Сергиенко, В.В. Малахов, В.Г. Наумов // Атмосфера. Кардиология. - 2005. - № 2. - С.43-45.
85. Серов, В.В., Шамов, А.И. Амилоидоз. М.: Медицина. - 1977. - 291с.
86. Серов, В.В. Амилоидоз: новые факты, спорные и нерешенные вопросы / В.В. Серов //Арх. пат. - 1989.- Т.51, № 10. - С.3-10.
87. Серов, В.В. Локальные формы амилоидоза как проявление возрастной патологии: новый взгляд на проблему / В.В. Серов // Арх. пат., - 1994. - № 5. - С.39-43.
88. Серов, В.В. Старческий амилоидоз / В.В.Серов, Л.Д .Зыкова // Тер.арх., 987. - №8. - С.14-20.
89. Серов В.В., Шамов, А.И. Амилоидоз.-М.:Медицина. - 1997.-С.291.
90. Системный первичный (идиопатический) амилоидоз / А.Н. Ивкина, Г.Е.Гендлин, Г.И. Сторожаков и др. // Рос.мед. журнал. - 2007. – 2. – С.47-49.
91. Случай первичного амилоидоза / В.Н. Ардашев, Н.П.Патехин, О.А. Рукавицын и др. // Клин. Мед.-2006.- №6.-С.56-59.
92. Старческий наследственный и локальный амилоидоз / О.М. Виноградова, Л. Н. Кочубей, В. В. Серов и др. // Клин.мед. -1988. - № 8. - С.16-27.
93. Сторожаков, Г.И. Поражение сердца при амилоидозе / Г.И. Сторожаков // Журнал сердечная недостаточность. - 2008. - № 5. - С.250-256.
94. Соколовский, Н.В. Морфологическая характеристика модели экспериментального генерализованного амилоидоза у крыс / Н. В. Соколовский, К. М. Козырев, Т. В. Закс // Владикавказский медико-биологический вестник. - 2012. - Том.15, N 23. - С.104-108.
95. Тюриков, П.Ю. Влияния милдроната на показатели липидного профиля и функции эндотелия у больных стабильной стенокардией напряжения / П.Ю. Тюриков // Фундаментальные исследования. - 2004. - № 4. -С.42-43.

96. Тюриков, П.Ю. Оценка клинико-метаболической эффективности милдроната у больных стабильной стенокардией напряжения / П.Ю.Тюриков // Вестник С-Петербургской ГМА.-2004.- №3.-С.57-59.
97. Тканевая миокардиальная доплер-эхокардиография и эхогенность миокарда у больных амилоидозом сердца и артериальной гипертензией / Е. А. Жданова и др.// Клиническая фармакология и терапия. - 2013. - Т.22, № 5. - С.33-39.
98. Функциональная и морфологическая характеристика новой модели экспериментального амилоидоза / З.В. Гиоева, В.Б. Брин, К.М. Козырев и др. // Вестник новых медицинских технологий. – Тула. - 2007. - Т.XIV, № 1.- С.96-98.
99. Хамидуллин, Н. М. Применение ацизола в качестве гепатопротектора / Н. М. Хамидуллин, Д. Д. Байкалова Гришак // Патент РФ №2260427. - 2005. Бюл. №. 26.
100. Хроническая сердечная недостаточность у больных амилоидозом сердца / Н.И. Соломахина и др.// Клиническая медицина. - 2009. - Т.87,№3. - С.26-30.
101. Шапошник, И.И. Эффективность лечения Милдронатом больных с сочетанием ишемической болезни сердца и дисциркуляторной энцефалопатии / И.И. Шапошник, А.О. Салашенко // Медичні перспективи. - 2007. - № 3. - С.27-32.
102. Шепелева, О.Л. Роль оксида азота в ишемических повреждениях миокарда / О.И. Шепелева, С.А. Сосунов // Межвуз. сб. науч. тр. «Современные методы диагностики и лечения в медицине: проблемы, перспективы» / Сранск. - 2000. - С.179-181.
103. Особенности течения амилоидоза у больных туберкулезом легких / А.Н. Шишкин, Л.Л. Крохалева, Ж.В. Фадина, С.В. Азанчевская // Нефрология: Научно-практический журнал.- 2003.- Том.7,№2.- С.46-49.

104. Эффективность метаболической терапии в комплексном лечении инфаркта миокарда / Н.Н. Ярошно, А.А. Рифель, А.А. Бураков и др. // Бюллетень СО РАМН. - 2006. - №3 (121). - С. 107.
105. Ansari-Lari M.A. Fine-needle aspiration of abdominal fat pad for amyloid detection: A clinically useful test/ M.A. Ansari-Lari, S.Z. Ali // *Diagn. Cytopathol.* – 2004.– Vol.30.– P.178–181.
106. Acceleration of murine AA amyloidosis by oral administration of amyloid fibrils extracted from different species/ D.Cui, H.Kawano, M. Takahashi et al. // *Pathol Int.* - 2002. - Vol.52, N 1. - P.40-45.
107. Acute inflammation, acute phase serum amyloid A and cholesterol metabolism in the mouse / E. Lindhorst, D. Young, W. Bagshaw et al. // *Biochim Biophys Acta.* - 1997. Apr 25. - 1339(1). - P.143-54.
108. A trial of three regimens for primary amyloidosis: colchicine alone, melphalan and prednisone, and melphalan, prednisone, and colchicine / R.A.Kyle, M.A. Gertz, P.R. Greipp et al. // *N. Engl. J. Med.* - 1997. - 336. - P.1202.
109. Atraumatic splenic rupture in amyloidosis / P. Renzulli, A. Schoepfer, E. Mueller, D. Candinas // *Amyloid.* - 2009. - 16. - P.47-53.
110. Amyloid Proteins. The Beta Sheet Conformation and Disease / Ed. by J.D. Sipe // Germany: WILEY-VCH. - 2005. - P.774.
111. Amyloid fibril protein nomenclature 2002 / P. Westermark, M.D.Benson, J.N. Buxbaum et al. // *Amyloid.* - 2002. - 9(3). - P.197-200.
112. Ancsin, J.B. Characterization of high affinity binding between laminin and the acute-phase protein, serum amyloid A / J.B. Ancsin, R. Kisilevsky // *J Biol Chem.* - 1997 Jan 3. - 272(1). - P.406-13.
113. Antioxidant activity of mildronate and L-carnitine in the treatment of patients with cerebrovascular diseases / Z.A. Suslina, T.N. Fedorova, M.I. Maksimova, E.K. Kim // *Eksp Klin Farmakol.* - 2003. - Vol.66(3). - P. 32-35.

114. Apolipoprotein E inhibits the depolymerization of beta 2-microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH / I. Yamaguchi, K.Hasegawa, N. Takahashi et al. // *Biochemistry*. - 2001. - 40. -P.8499-8507.
115. Buxbaum, J.N. Nonamyloidotic monoclonal immunoglobulin deposition disease. Light-chain, heavy-chain, and light- and heavy-chain deposition disease / J.N. Buxbaum, G.R. Gallo // *Hematol Oncol Clin North Am*. - 1999. - 13(6). - P.1235-1248.
116. Bladen, H. The ultrastructure of human amyloid as revealed by the negative staining techniques / H. Bladen, M.Nylen, G. Glenner // *J Ultrastr Res*. - 1966. - 14. - P.449-459.
117. Colchicine therapy for Familial Mediterranean Fever: A double blind trial / C.A. Dinarello, S.M. Wolff, S.E. Goldfinger et al. // *N Engl. J. Med*. - 1974. -291. -P.934-7.
118. Colchicine Inhibition of Caseininduced Amyloidosis in Mice / I.Kedar, M. Ravid , E. Sohar, & J. Gafni // *Isr. J. Med. Sci*. - 1974. – 10. - P.787.
119. Clinical Features of Renal Amyloidosis: An Analysis of 40 Patients in a 28-year Follow-up / Shang-Feng Tsai, Mei-Chin Wen, Chi-Hung Cheng et al. // *Intern Med*. - 2011. - 50(21). -P. 2511-2517.
120. Diagnosis, pathogenesis, treatment, and prognosis of hereditary fibrinogen A (alpha)-chain amyloidosis / J.D. Gillmore, H.J. Lachmann, D. Rowczenio et al. // *J Am SocNephrol*. – 2009. – 20. – P. 444–451.
121. Diagnostic performance of amyloid A protein quantification in fat tissue of patients with clinical AA amyloidosis / B.P. Hazenberg, J. Bijzet, P.C. Limburg et al. // *Amyloid*. - 2007. - Vol. 14, N 2. - P. 133-140.
122. Dambrova, M. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect / M. Dambrova, E. Liepinsh, I. Kalvinsh // *Trends Cardiovasc Med*. - 2002. - Vol.12, № 6. - P.275-279.
123. Drenth, J.P. Hereditary periodic fever / J.P.Drenth, J.W. van der Meer // *N.Engl.Med*. - 2001. - 345. - P.1748-1757.
124. Diagnosis of amyloidosis by abdominal fat aspiration: analysis of 4

- years experience / M.A. Duston, M. Skinner, T. Shraham, A.S. Cohen // *Am J Med.* - 1987. - 82.- P.412-414.
125. Diagnosis, pathogenesis, treatment, and prognosis of hereditary fibrinogen  $\alpha$ -chain amyloidosis / J.D. Gillmore, H.J. Lachmann, D. Rowczenio et al. // *J Am Soc Nephrol.* - 2009. - 20. - P.444-451.
126. Elvy, A. Atraumatic splenic rupture: a 6-year case series / A. Elvy, L. Harbach, A. Bhanu // *Eur J Emerg Med.* – 2010.
127. Electron and immunoelectron microscopy of abdominal fat identifies and characterizes amyloid fibrils in suspected cardiac / E. Arbustini, L. Vega, M. Concardi et al. // *Amyloid.* – 2002. – Vol.9. – P.108–114.
128. Electrocardiographic findings in primary systemic amyloidosis and biopsy-proven cardiac involvement / B. Murtagh, S.C. Hammill, M.A. Gertz et al. // *Amer. J. Cardiol.* – 2005. – Vol.95. – P.535–537.
129. Eprodisate for AA Amyloidosis Trial Group. Eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis / L.M. Dember, P.N. Hawkins, B.P. Hazenberg et al. // *N Engl J Med.* –2007.Jun 7. - 356(23). – P.2349-60.
130. Grateau, G. Amyloidosis physiopathology / G.Grateau // *Joint Bone Spine.* - 2000. - 67. – P.164-170.
131. Goldfinger, S.E. Colchicine for Familial Mediterranean Fever / S.E. Goldfinger // *N. Engl. J. Med.* - 1972. - 287. – P.1032.
132. Glenner, G.G. Amyloid deposits and amyloidosis: the beta-fibrilloses (second of two parts) / G.G. Glenner // *N Engl J Med.* –1980. Jun 12. - 302(24). – P.1333–1343.
133. Gafni, J. The inherited amyloidoses: their clinical and theoretical Significance / J. Gafni, E. Sohar, H. Heller // *Lancet.*-1964. -1. - P.71.
134. Gafni, J. Rectal biopsy for the diagnosis of amyloidosis / J. Gafni, E. Sohar // *Am J Med Sci.* - 1960. –240. – P.332–6.
135. Herrera, G.A. Renal diseases with organized deposits: an algorithmic approach to classification and clinicopathologic diagnosis / G.A. Herrera,



- E.A. Turbat-Herrera // Arch Pathol Lab Med. – 2010. – 134. – P.512–531.
136. Hepatic amyloidosis. A histopathologic analysis of primary (AL) and secondary (AA) forms / S. Chopra, A. Rubinow, R.S. Koff, A.S. Cohen // Am J Pathol. – 1984. May. – 115(2). – P.186–193.
137. Hepatic disorders in chronic kidney disease / F. Fabrizi, P. Messa, C. Basile, P. Martin // Nat Rev Nephrol. - 2010. – 6. - P.721–726.
138. Heparan sulfate as a therapeutic target in amyloidogenesis: prospects and possible complications / R. Kisilevsky, J.B. Ancsin, W.A. Szarek, S. Petanceska // Amyloid. – 2007. Mar. - 14(1). – P.21-32.
139. High-dose melphalan and autologous stem-cell transplantation in patients with AL amyloidosis: An 8-year study / M. Skinner, V. Sancherawala, D.C. Seldin et al. // Ann Intern Med. - 2004. – 85. – P.1406.
140. Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis / S. Shiozawa, S. Hayashi, Y. Tsukamoto et al. // International Immunology. – 1998. – 10. – P.1891-1895.
141. Inhibition of glycosaminoglycan synthesis and protein glycosylation with WAS-406 and azaserine result in reduced islet amyloid formation in vitro / R.L. Hull, S. Zraika, J. Udayasankar et al. // Am J Physiol Cell Physiol. - 2007. - Nov;293(5). – P.1586-93.
142. Interactions of thioflavin T with serum albumins: spectroscopic analyses / P. Sen, S. Fatima, B. Ahmad, R.H. Khan // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. – 2009. – 74. - P.94–99.
143. Kyle, R.A. Amyloidosis (AL). Clinical and lab features of 224 cases / R.A. Kyle, P.R. Greipp // Mayo Clin Proc. – 1983. – 58. – P.665-683.
144. Kyle, R.A. Primary systemic amyloidosis: Clinical and laboratory features in 474 cases / R.A. Kyle, M.A. Gertz // Semin Hematol. – 1995. - 32. – P.45.

145. Isolated atrial amyloid contains atrial natriuretic peptide: a report of six cases / G.C.Kaye, M.G.Butler, A.J. d'Ardenne et al. // *Br Heart J.*- 1986. – 56. – P.317–320.
146. Kisilevsky, R. Proteoglycans and amyloid fibrillogenesis / R. Kisilevsky, P. Fraser // *Ciba Found Symp.* -1996. –199. – P.58-67; discussion 68- 72, 90-103.
147. Lenalidomide and dexamethasone in the treatment of AL amyloidosis: results of a phase 2 trial / V. Santhorawala, D.G. Wright, M. Rosenzweig, et al. // *Blood.* - 2007. - 109. – P.492–496.
148. Long-term outcome of patients with AL amyloidosis treated with high-dose melphalan and stem-cell transplantation / V. Santhorawala, M. Skinner, K. Quillen et al. // *Blood.*- 2007. - 110. – P.3561–3563.
149. Libbey, C.A. Use of abdominal fat tissue aspirate in the diagnosis of systemic amyloidosis / C.A. Libbey, M. Skinner, A.S. Cohen // *Archives of Internal Medicine.* - 1983. – 143.–P.1549–1552.
150. Makin, O.S. Structures for amyloid fibrils / O.S. Makin, L.C. Serpell // *Febs J.* -2005. – 272. – P.5950-5961.
151. Membranous glomerulonephritis with nephritic syndrome associated with chronic lymphocytic leukemia / N. Yahata, Y. Kawanishi, S. Okabe et al. // *Am J Nephrol.*– 2000, Sep-Oct. - 20(5). – P.402-7.
152. Miller, D.V. New-onset proteinuria with massive amorphous glomerular deposits / D.V. Miller, A. Dogan, S. Sethi // *Am J Kidney Dis.* – 2010. – 55. – P.749–754.
153. Mildronate (MET-88) Antianginal, Cardioprotectant // *Drugs Fut.* -2001. - Vol.26, №1. - P.82.
154. Mildronate (Quaterin) Antianginal, Antiischemic Agent // *Drugs Fut.* - 1996.-Vol.21, №.1. - P.87.
155. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis / H.J. Lachmann, H.J. Goodman, J.A. Gilbertson et al. // *N Engl J Med.* - 2007. – 356. – P.2361-2371.

156. Nerelius, C. Amino acid sequence determinants and molecular chaperones in amyloid fibril formation / C. Nerelius, M. Fitzen, J. Johansson // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2010. May 21. - 396(1). – P.2-6.
157. Nelson, R. Recent atomic models of amyloid fibril structure / R. Nelson, D. Eisenberg // *Curr Opin Struct Biol.* - 2006. – 16. – P.260–265.
158. Nodular glomerulopathy associated with nonamyloidotic kappa light chain deposits and excess immunoglobulin light chain synthesis / G.R. Gallo, H.D. Feiner, L.A. Katz et.al. // *Am J Pathol.* - 1980. - 99 (3). – P.453–456.
159. New advances in renal amyloidosis / S. Nishi, B. Alchi, N. Imai, F. Gejyo // *Clin Exp Nephrol.* – 2008. – 12. – P.93–101.
160. Online hemodiafiltration: 4 years of clinical experience / R. Munoz, I. Gallardo, E. Valladares et al. // *Hemodial. In.* - 2006. - Vol.10 (Suppl 1). - P.28–32.
161. Palladini, G. Therapy and management of systemic AL (primary) amyloidosis / G. Palladini, V. Perfetti, G. Merlini // *SWISS MED WKLY.* - 2006.- Vol. 136.- P.715-720.
162. Polyglandular endocrine failure in a patient with amyloidosis secondary to familial Mediterranean fever / K. Keven, E. Oztas, H. Aksoy et al. // *Am J Kidney Dis.* – 2001. – P.38-39.
163. Poor tolerance to high doses of thalidomide in patients with primary systemic amyloidosis / A. Dispenzieri, M.Q. Lacy, S.V. Rajkumar et al. // *Amyloid.* – 2003. – 10. - P.257–261.
164. Physical basis of colors seen in Congo red-stained amyloid in polarized light / A.J. Howie, D.B. Brewer, D. Howell, A.P. Jones // *Lab Invest.* - 2008. – 88. – P.232–242.
165. Roecken, C. Influence of tissue fixation on the microextraction and identification of amyloid proteins / C. Roecken, S. Wilhelm // *J. Lab. Clin. Med.* - 2005. - 146. – P.244-250.

166. Rysavá, R. AL amyloidosis with renal involvement / R. Rysavá // *Kidney Blood Press Res.* – 2007. – 30. – P.359–364.
167. Sattianayagam, P. Amyloid and the GI tract / P. Sattianayagam, P. Hawkins, J. Gillmore // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2009. – 3. – P.615–630.
168. Secondary (AA) amyloidosis in Crohn's disease / T. Bulum, I. Prkacin, G. Cavrić et al. // *Acta Med Croatica.* – 2011. – 65(3). – P.271-8.
169. Sancharawala, V. Light-Chain (AL) Amyloidosis: Diagnosis and Treatment / V. Sancharawala // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2006. – Vol.1. – 133W341.
170. Steel, D.M. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein / D.M. Steel, A.S. Whitehead // *Immunology Today.* – 1994. – 15. – P.81-88.
171. Schechter, D. The effect of beta aminopropionitrile (BAPN) on experimental amyloidosis / D. Schechter, M. Fields, A. Laufer // *Br J. Exp Pathol.* – 1975. – Vol.56, №5. – P.466-470.
172. Sipe, J.D. Amyloid fibril protein nomenclature: 2010 recommendations from the nomenclature committee of the International Society of Amyloidosis / J.D. Sipe, M.D. Benson, J.N. Buxbaum // *Amyloid.* – 2010. – 17. – P.101-104.
173. Skarda, J. Modulation of myocardial energy metabolism with mildronate - an effective approach in the treatment of chronic heart failure / J. Skarda, D. Klincare, V. Dzerve // *Proc Latv Acad Sci.* – 2001. – 55. – P.73-9.
174. Sponarova, J. AA-amyloidosis can be transferred by peripheral blood monocytes / J. Sponarova, S.N. Nystrom, G.T. Westermark // *PLoS ONE.* – 2008. – 3. – P.3308.
175. Tennet, G.A. Serum amyloid P component prevents proteolysis of the amyloid of Alzheimer's disease and systemic amyloidosis / G.A. Tennet, L.B. Lovat, M.B. Pepys // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1995. – 92. – P.4299-4303.

176. Triger, D.R. Renal amyloidosis—a fourteen-year follow-up / D.R. Triger, A.M. Joekes // *Q J Med.* – 1973. – 42. – P.15-40.
177. Turkish FMF study group Familial Mediterranean fever in Turkey. Results of a nation wide multicenter study / M. Tunca, S. Akar, F. Onen et al. // *Medicine.* – 2005. – 84. – P.1-11.
178. The human acute phase serum amyloid A gene family: structure, evolution and expression in hepatoma cells / J.C. Betts, M.R. Edbrooke, R.V. Thakker, P. Woo // *Scandinavian Journal of Immunology.* - 1991. – 34. - P.471–482.
179. The activity of lenalidomide with or without dexamethasone in patients with primary systemic amyloidosis / A. Dispenzieri, M.Q. Lacy, S.R. Zeldenrust et al. // *Blood.* – 2007. – 109. – P.465–470.
180. Uversky, V.N. Conformational constraints for amyloid fibrillation: the importance of being unfolded / V.N. Uversky, A.L. Fink // *Biochim. Biophys. Acta.* V. – 2004. - 1698. - P.131-153.
181. Usefulness of pulsed tissue Doppler imaging for evaluating systolic and diastolic left ventricular function in patients with AL (primary) amyloidosis. / J. Koyama, P.A. Ray-Sequin, R. Davidoff et al. // *Am J Cardiol.* – 2002. - 89. – P.1067–1071.

### Приложения

**Таблица 1.** Показатели основных процессов мочеобразования при моделировании амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель.	Процессы мочеобразования			
		Диурез Мл/час/100г	F Мл/час/100г	R %	Содержание белка в моче мг/мл
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>M</b>	<b>0,15</b>	<b>21,02</b>	<b>99,30</b>	<b>0,88</b>
	<b>m</b>	<b>0,005</b>	<b>0,074</b>	<b>0,024</b>	<b>0,029</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>0,20</b>	<b>25,70</b>	<b>99,20</b>	<b>1,89</b>
	<b>m</b>	<b>0,007</b>	<b>1,135</b>	<b>0,016</b>	<b>0,071</b>
*) достов.относит.п.1,табл.1	<b>P</b>	*)	*)	*)	*)
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>0,1</b>	<b>14,32</b>	<b>99,08</b>	<b>3,8</b>
	<b>m</b>	<b>0,004</b>	<b>0,809</b>	<b>0,044</b>	<b>0,075</b>
*) достов.относит.п.1,табл.1	<b>P</b>	*)	*)	*)	*)
<b>4. Через 1 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>0,21</b>	<b>22,00</b>	<b>99,03</b>	<b>1,79</b>
	<b>m</b>	<b>0,007</b>	<b>0,905</b>	<b>0,031</b>	<b>0,046</b>
*) достов. относит.п.1,табл.1	<b>P</b>	*)	**)	*) **)	*)
***) достов.относит. п.2, табл. 1					
<b>5. Через 2 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>0,11</b>	<b>11,66</b>	<b>99,05</b>	<b>3,82</b>
	<b>m</b>	<b>0,004</b>	<b>0,460</b>	<b>0,030</b>	<b>0,007</b>
*) достов. относит.п.1,табл.1	<b>P</b>	*)	*)	*)	*)
***) достов.относит. п.3, табл. 1					

**Таблица 2.** Показатели основных процессов мочеобразования при профилактике и лечении амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы мочеобразования			
		Диурез Мл/час/100г	F Мл/час/100г	R %	Содержание белка в моче мг/мл
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>0,15</b>	<b>21,02</b>	<b>99,30</b>	<b>0,88</b>
	<b>m</b>	<b>0,005</b>	<b>0,074</b>	<b>0,024</b>	<b>0,029</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,16</b>	<b>19,92</b>	<b>99,19</b>	<b>1,61</b>
	<b>m</b>	<b>0,011</b>	<b>0,517</b>	<b>0,062</b>	<b>0,071</b>
*) достов. относит.п.1,табл.2 **) достов.относит. п.2, табл. 1	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>**)</b>		<b>*) **)</b>
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,13</b>	<b>17,14</b>	<b>99,07</b>	<b>1,01</b>
	<b>m</b>	<b>0,008</b>	<b>0,549</b>	<b>0,035</b>	<b>0,042</b>
*) достов. относит.п.1,табл.2 **) достов.относит. п.3, табл. 1	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>
<b>4.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,14</b>	<b>24,28</b>	<b>99,42</b>	<b>2,62</b>
	<b>m</b>	<b>0,006</b>	<b>1,323</b>	<b>0,011</b>	<b>0,107</b>
*) достов. относит.п.1,табл.2 **) достов.относит. п.4, табл. 1	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
<b>5.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 2 мес.(n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,18</b>	<b>33,27</b>	<b>99,47</b>	<b>1,61</b>
	<b>m</b>	<b>0,007</b>	<b>1,701</b>	<b>0,012</b>	<b>0,071</b>
*) достов. относит.п.1,табл.2 **) достов.относит. п.5, табл. 1	<b>Р</b>	<b>*)**)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>

**Таблица 3.** Процессы почечной обработки натрия при моделировании амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы почечной обработки натрия		
		ENa	FNa	RNa
		Мкмоль/час/100г		%
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>M</b>	<b>11,18</b>	<b>2705, 32</b>	<b>99,58</b>
	<b>m</b>	<b>0,585</b>	<b>99,123</b>	<b>0,018</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>16,30</b>	<b>3221,50</b>	<b>99,50</b>
	<b>m</b>	<b>0,527</b>	<b>147,465</b>	<b>0,024</b>
*) достов. относит.п.1,табл.3	<b>P</b>	<b>*)</b>	<b>*)</b>	<b>*)</b>
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>5,18</b>	<b>1903,99</b>	<b>99,72</b>
	<b>m</b>	<b>0,371</b>	<b>113,036</b>	<b>0,021</b>
*) достов. относит.п.1,табл.3	<b>P</b>	<b>*)</b>	<b>*)</b>	<b>*)</b>
<b>4. Через 1 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>10,82</b>	<b>2752,70</b>	<b>99,60</b>
	<b>m</b>	<b>0,805</b>	<b>116,583</b>	<b>0,035</b>
*) достов. относит.п.1,табл.3	<b>P</b>	<b>**)</b>	<b>**)</b>	<b>**)</b>
**) достов.относит. п.2, табл.3				
<b>5. Через 2 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>5,85</b>	<b>1548,73</b>	<b>99,62</b>
	<b>m</b>	<b>0,417</b>	<b>62,694</b>	<b>0,030</b>
*) достов. относит.п.1,табл. 3	<b>P</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>	<b>**)</b>
**) достов.относит. п3, табл. 3				



**Таблица 4.** Процессы почечной обработки натрия при профилактике и лечении амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель.	Процессы почечной обработки натрия		
		ENa	FNa	RNa
		Мкмоль/час/100г		%
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>11,18</b>	<b>2705, 32</b>	<b>99,58</b>
	<b>m</b>	<b>0,585</b>	<b>99,123</b>	<b>0,018</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>13,48</b>	<b>2085,16</b>	<b>99,35</b>
	<b>m</b>	<b>0,998</b>	<b>140,437</b>	<b>0,024</b>
*) достов. относит.п.1,табл.4 **) достов.относит. п.2, табл. 3	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>11,59</b>	<b>2277,14</b>	<b>99,48</b>
	<b>m</b>	<b>0,801</b>	<b>78,77</b>	<b>0,044</b>
*) достов. относит.п.1,табл.4 **) достов.относит. п.3, табл. 3	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
<b>4.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>8,43</b>	<b>3142,60</b>	<b>99,73</b>
	<b>m</b>	<b>0,639</b>	<b>173,211</b>	<b>0,015</b>
*) достов. относит.п.1,табл.4 **) достов.относит. п.4, табл. 3	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>
<b>5.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>15,51</b>	<b>4147,53</b>	<b>99,62</b>
	<b>m</b>	<b>0,773</b>	<b>197,404</b>	<b>0,011</b>
*) достов. относит.п.1,табл. 4 **) достов.относит. п.5, табл. 3	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>	<b>-</b>

**Таблица 5.** Процессы почечной обработки калия при моделировании амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы почечной обработки калия	
		ЕК	ЕК
		Мкмоль/час/100г	
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>6,87</b>	<b>91,19</b>
	<b>m</b>	<b>0,194</b>	<b>4,424</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>13,60</b>	<b>131,70</b>
	<b>m</b>	<b>0,95</b>	<b>7,86</b>
*) достов. относит.п.1,табл. 5	<b>Р</b>	*)	*)
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>6,49</b>	<b>80,5</b>
	<b>m</b>	<b>0,328</b>	<b>5,791</b>
*) достов. относит.п.1,табл.5	<b>Р</b>	-	-
<b>4. Через 1 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>11,67</b>	<b>119,25</b>
	<b>m</b>	<b>0,492</b>	<b>7,284</b>
*) достов. относит.п.1,табл.5	<b>Р</b>	*)	*)
***) достов.относит. п.4, табл. 5			
<b>5. Через 2 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>7,33</b>	<b>65,62</b>
	<b>m</b>	<b>0,324</b>	<b>4,024</b>
*) достов. относит.п.1,табл.5	<b>Р</b>	-	*) **)
***) достов.относит. п.5, табл. 5			

**Таблица 6.** Процессы почечной обработки калия при профилактике и лечении амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы почечной обработки калия	
		ЕК	ФК
		Мкмоль/час/100г	
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>6,87</b>	<b>91,19</b>
	<b>m</b>	<b>0,194</b>	<b>4,424</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>6,68</b>	<b>61,39</b>
	<b>m</b>	<b>0,455</b>	<b>4,367</b>
*) достов. относит.п.1,табл.6 **) достов.относит. п.2, табл. 5	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>5,23</b>	<b>59,54</b>
	<b>m</b>	<b>0,428</b>	<b>2,548</b>
*) достов. относит.п.1,табл.6 **) достов.относит. п.3, табл. 5	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
<b>4.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>9,74</b>	<b>122,65</b>
	<b>m</b>	<b>0,550</b>	<b>7,404</b>
*) достов. относит.п.1,табл.6 **) достов.относит. п.4, табл. 5	<b>Р</b>	<b>*) **)</b>	<b>*)</b>
<b>5.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>7,01</b>	<b>40,92</b>
	<b>m</b>	<b>0,471</b>	<b>2,418</b>
*) достов. относит.п.1,табл.6 **) достов.относит. п.5, табл. 5	<b>Р</b>	<b>-</b>	<b>*) **)</b>

**Таблица 7.** Процессы почечной обработки кальция при моделировании амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы почечной обработки кальция		
		ЕСа	ФСa	РСa
		Мкмоль/час/100г		%
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>0,49</b>	<b>32,10</b>	<b>98,49</b>
	<b>m</b>	<b>0,053</b>	<b>1,251</b>	<b>0,140</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,80</b>	<b>35,90</b>	<b>97,90</b>
	<b>m</b>	<b>0,07</b>	<b>1,737</b>	<b>0,157</b>
*) достов. относит.п.1,табл.7	<b>Р</b>	<b>*)</b>	<b>-</b>	<b>*)</b>
<b>3.Введение нативной овечьей Плазмы в ечение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,64</b>	<b>17,27</b>	<b>96,26</b>
	<b>m</b>	<b>0,065</b>	<b>1,143</b>	<b>0,365</b>
*) достов. относит.п.1,табл.7	<b>Р</b>	<b>-</b>	<b>*)</b>	<b>*)</b>
<b>4. Через 1 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,99</b>	<b>30,31</b>	<b>96,76</b>
	<b>m</b>	<b>0,093</b>	<b>1,300</b>	<b>0,285</b>
*) достов. относит.п.1,табл.7	<b>Р</b>	<b>*)</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>
***) достов.относит. п.2, табл. 7				
<b>5. Через 2 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,73</b>	<b>14,15</b>	<b>94,84</b>
	<b>m</b>	<b>0,077</b>	<b>0,841</b>	<b>0,477</b>
*) достов. относит.п.1,табл.7	<b>Р</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
***) достов.относит. п.3, табл.7				

**Таблица 8.** Процессы почечной обработки кальция при профилактике и лечении амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка.

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Процессы почечной обработки кальция		
		ЕСа	ФСa	РСa
		Мкмоль/час/100г		%
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>М</b>	<b>0,49</b>	<b>32,10</b>	<b>98,49</b>
	<b>m</b>	<b>0,053</b>	<b>1,251</b>	<b>0,140</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,44</b>	<b>24,61</b>	<b>98,22</b>
	<b>m</b>	<b>0,058</b>	<b>1,661</b>	<b>0,202</b>
*) достов. относит.п.1,табл.8 **) достов.относит. п.2, табл. 7	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>	<b>-</b>
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,36</b>	<b>21,8</b>	<b>98,31</b>
	<b>m</b>	<b>0,045</b>	<b>1,288</b>	<b>0,269</b>
*) достов. относит.п.1,табл. 8 **) достов.относит. п.3. табл. 7	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>	<b>**)</b>
<b>4.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 1 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,83</b>	<b>39,83</b>	<b>97,93</b>
	<b>m</b>	<b>0,094</b>	<b>2,119</b>	<b>0,230</b>
*) достов. относит.п.1,табл.8 **) достов.относит. п.4, табл.7	<b>Р</b>	<b>*)</b>	<b>*) **)</b>	<b>*) **)</b>
<b>5.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 2 мес. (n=15)</b>	<b>М</b>	<b>0,48</b>	<b>70,30</b>	<b>99,30</b>
	<b>m</b>	<b>0,058</b>	<b>4,146</b>	<b>0,091</b>
*) достов. относит.п.1,табл.8 **) достов.относит. п.5. табл. 7	<b>Р</b>	<b>**)</b>	<b>*) **)</b>	<b>**)</b>

**Таблица 9.** Концентрация электролитов в плазме крови при моделировании амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Концентрация электролитов в плазме крови		
		Na	Ca	K
		Ммоль/час/100г		
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>M</b>	<b>135,45</b>	<b>2,29</b>	<b>4,55</b>
	<b>m</b>	<b>0,450</b>	<b>0,019</b>	<b>0,121</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>131,70</b>	<b>2,10</b>	<b>5,40</b>
	<b>m</b>	<b>0,649</b>	<b>0,021</b>	<b>0,132</b>
*) достов. относит.п.1,табл.9	<b>P</b>	*)	*)	*)
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>139,76</b>	<b>1,87</b>	<b>5,88</b>
	<b>m</b>	<b>1,109</b>	<b>0,008</b>	<b>0,161</b>
*) достов. относит.п.1,табл.9	<b>P</b>	*)	*)	*)
<b>4. Через 1 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>131,66</b>	<b>2,12</b>	<b>5,65</b>
	<b>m</b>	<b>0,649</b>	<b>0,020</b>	<b>0,167</b>
*) достов. относит.п.1,табл.9	<b>P</b>	*)	*)	*)
**) достов.относит. п.2, табл. 9				
<b>5. . Через 2 мес., введения нативной овечьей плазмы с адьювантом Фрейнда . (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>139,76</b>	<b>1,87</b>	<b>5,88</b>
	<b>m</b>	<b>1,109</b>	<b>0,080</b>	<b>0,161</b>
*) достов. относит.п.1,табл.9	<b>P</b>	*)	*)	*)
**) достов.относит. п.3, табл.9				

**Таблица 10.** Концентрация электролитов в плазме крови при профилактике и лечении амилоидной нефропатии, воспроизводимой длительным и однократным введением чужеродного белка

Условия опыта и кол-во животных	Стат. показатель	Концентрация электролитов в плазме крови		
		Na	Ca	K
		Ммоль/час/100г		
<b>1.Фон (n=30)</b>	<b>M</b>	<b>135,45</b>	<b>2,29</b>	<b>4,55</b>
	<b>m</b>	<b>0,450</b>	<b>0,019</b>	<b>0,121</b>
<b>2.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 1 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>137,25</b>	<b>2,37</b>	<b>4,06</b>
	<b>m</b>	<b>0,338</b>	<b>0,016</b>	<b>0,135</b>
*) достов. относит.п.1,табл.10 **) достов.относит. п.2, табл. 9	<b>P</b>	*) **)	*) **)	*) **)
<b>3.Введение нативной овечьей плазмы и милдроната с ацизолом в течение 2 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>139,76</b>	<b>2,98</b>	<b>3,67</b>
	<b>m</b>	<b>1,109</b>	<b>0,095</b>	<b>0,143</b>
*) достов. относит.п.1,табл.10 **) достов.относит. п.3, табл. 9	<b>P</b>	*)	*) **)	*) **)
<b>4.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 1 мес. (n=15)</b>	<b>M</b>	<b>136,32</b>	<b>2,55</b>	<b>5,32</b>
	<b>m</b>	<b>1,516</b>	<b>0,105</b>	<b>0,159</b>
*) достов. относит.п.1,табл.10 **) достов.относит. п.4, табл. 9	<b>P</b>	**) )	*) **)	*) )
<b>5.Введение милдроната и ацизола амилоидным животным через 2 мес.(n=15)</b>	<b>M</b>	<b>131,51</b>	<b>3,26</b>	<b>3,95</b>
	<b>m</b>	<b>1,587</b>	<b>0,116</b>	<b>0,124</b>
*) достов. относит.п.1,табл.10 **) достов.относит. п.7, табл. 9	<b>P</b>	*) **)	*) **)	*) **)

