

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ  
АКАДЕМИЯ»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

ЦУЦАЕВ АСЛАН КАЗБЕКОВИЧ

**Структурно-функциональная характеристика модели  
гепатопатического амилоидоза у старых крыс, полученного с  
применением (0.5 мл) 10% (по объему) водного раствора соевого  
заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда и профилактика с  
применением ацизола.**

Направление подготовки: 06.06.01 Медико-биологические науки  
Направленность (специальность): 03.03.04. Клеточная биология,  
цитология, гистология.

Научный доклад

Научный руководитель кандидат медицинских наук  
Епхийев Александр Алибекович

ВЛАДИКАВКАЗ  
2020

**Структурно-функциональная характеристика модели  
гепатопатического амилоидоза у старых крыс, полученного с  
применением (0.5 мл) 10% (по объему) водного раствора соевого  
заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда и профилактика с  
применением ацизола.**

### **Введение**

Амилоидоз – общепатологический дистрофический процесс, относящийся к группе стромально–сосудистых диспротеинозов, характеризующийся отложением в межклеточной ткани труднорастворимого фибриллярного белка – амилоида, обладающего химической инертностью и иммунологической толерантностью, вследствие чего амилоид не распознается клетками ретикуло-макрофагальной системы и не элиминируется, вызывая органную полипатию нередко со смертельным исходом, в совокупности с отсутствием эффективных мер профилактики и лечения, и далеко еще не решенные вопросы этиологии и патогенеза тяжелое поражение и инвалидизация определяют многообразие его висцеральных проявлений, чрезвычайную актуальность проблемы.

Наиболее распространенными формами системного амилоидоза являются приобретенный моноклональный иммуноглобулиновый амилоидоз, ассоциированный с легкими цепями (AL-амилоидоз) в 78% случаев наследственный мутированный транстиретиновый амилоидоз (ATTRm) в 7 % случаев, приобретенный связанный с возрастом амилоидоз транстиретиновый дикий тип (ATTRwt) 6 %, и приобретенный аполипопротеиновый плазматический амилоидоз (AA) в 6 %. Остальные являются редкими формами, например, наследственный амилоидоз связанный с мутированным аполипопротеином A1 (AApoA1) и наследственный лизоцим (Alys) амилоидоз.

Сложность в прижизненной диагностике первичных амилоидозов заключается в том, что объемы поражения небольшие. Даже после аутопсии выявить макроскопически амилоидоз часто невозможно.

Несмотря на развитие современных методов дополнительных исследований, «золотым стандартом» на сегодняшний день является биопсия из пораженного органа, при ней выявляется самая высокая результативность: 97,4 % при биопсии почек, 95 % при биопсии сердца и 87,5 при биопсии печени. Среди неинвазивных методов в практике используются: биопсия языка, с выявляемостью системного амилоидоза в 75 %, биопсия десны – 57 %, аспирация абдоминального жира – 57%, биопсия прямой кишки – 16 %, костного мозга – 8 %. Комбинированная биопсия из языка и брюшной жировой ткани давала положительный результат в 93,1 % случаев.

Исторически сложилось так, что, когда создавались какие-либо трудности в подробном изучении заболевания, за исключением метода аутопсии, были поиски других способов получения информации, в том числе с помощью создания модели (с меньшей или большей точностью) на животных.

С целью получения модели системного амилоидоза применяются методики, включающие в себя многократное введение амилоидогена животным на протяжении длительного времени, что доставляет немало трудностей и финансовых затрат. Ранее считалось, что создание модели экспериментального амилоидоза у крыс крайне затруднительно, что связано с высоким уровнем их метаболических процессов, поэтому нами были выбраны именно старые особи, так как старческая тканевая брадитрофия позволяет эффективно моделировать амилоидоз.

Ацизол относится к препаратам с высоким антигипоксическим и мембранопротекторным эффектом, применяется как антидот при острых отравлениях угарным газом. Снижая гипоксию и проницаемость сосудистой стенки, ацизол способен уменьшать образование плазменного

компонента амилоида, тем самым осуществляется профилактика последующих структурно-функциональных нарушений.

**Цель работы** – изучение модели гепатопатического амилоидоза на старых крысах линии “Vistar” путем использования в качестве амилоидогена ежедневных инъекций равнодолевой смеси водного 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда в течение 30 дней, а также профилактика амилоидоза с помощью препарата ацизол.

### **Материал и методы.**

Исследование производилось в 6 группах на 120 старых крысах самцах линии «Вистар» в возрасте 18–24 месяцев. За время эксперимента животные находились на стандартном рационе (вода, хлеб, зерно).

№ серии	Содержание серии	Количество животных
1	Интактная группа животных.	20
2	Контрольная серия животных, получавших ацизол интрагастрально ежедневно на протяжении 30 дней.	20
3	С целью получения модели экспериментального печеночного амилоидоза, животным проводились однократные инъекции водного 10 % раствора заменителя соевых сливок и полного адьюванта Фрейнда из расчёта по 0,2 мл в 5 точек инъекций: подкожно в подмышечные и паховые области слева и справа и внутрибрюшинно ежедневно в течение 30 дней.	20
4	Для получения модели экспериментального амилоидоза более тропной к тканям печени старым крысам вводилась смесь, состоящая из водного 10 % раствора заменителя соевых сливок, 40% полного адьюванта Фрейнда и 20% гомогенизированной печеночной ткани крыс из расчета по 0,2 мл в 5 точек инъекций: в подмышечные и паховые области слева и справа подкожно и внутрибрюшинно ежедневно в течение 30 дней.	20
5	Группа животных, получавших 3% раствор ацизола из	20

	расчета 30 мг/кг каждый день в течение 30 дней интрагастрально на фоне модели амилоидной гепатопатии, вызванной предварительным однократным введением равнодолевой смеси <b>водного 10 % раствора заменителя соевых сливок</b> и полного адьюванта Фрейнда из расчёта по 0,2 мл в 5 точек инъекций подкожно.	
6	Группа животных, получавших 3% раствор ацизола из расчета 30 мг/кг каждый день в течение 30 дней интрагастрально на фоне модели амилоидной гепатопатии, вызванной однократным введением смеси, состоящей из <b>водного 10 % раствора заменителя соевых сливок</b> , 40% полного адьюванта Фрейнда и 20% гомогенизированной печени крыс.	20

Модели амилоидоза вызывали путем ежедневных инъекций в 5 точек: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа, (0.5 мл) 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда в течение 30 дней. Интактным животным подкожно вводили 0,5 мл физиологического раствора.

Для гистологических исследований производилось фиксирование тканей в 10% нейтральном формалине, далее производилась заливка в парафин, после чего на ротационном микротоме готовились срезы толщиной 5–6 микрон. Окрашивание микропрепаратов производилась гематоксилином и эозином, а для идентификации амилоида – конго-красным. Срезы изучались в световом микроскопе «Nikon» eclipse e200 под увеличением x400, а также с применением методов поляризационной микроскопии с применением поляризационного контраста P-SA Analyzer mounting in tube, вкручиваемого в окулярный тубус. Стандартными рутинными методами определялись биохимические показатели работы печени в сыворотке крови: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего билирубина.

### **Результаты.**

Патоморфологически у группы животных с моделью экспериментальной амилоидной гепатопатии в печени отмечались мелко- и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, очаговые нарушения цитоархитектоники долек, расширение пространств Диссе, очаговая конгофилия стромально-сосудистых структур, базальных мембран желчных капилляров и протоков. Нередко отмечались очаговые периваскулярные межбалочные лимфогистиоцитарные скопления, гиперемия, плазматическое пропитывание и отек центральных вен. Плазматическое пропитывание, отек, гиперемия, артерий и вен портальных междольковых триад, сочетались с выраженной конгофилией стенок сосудов.

В эксперименте в различных органах, кроме гепатопатической патологии были выявлены дистрофические и некробиотические изменения со стороны различных органов в разной степени выраженности.

В сердечной мышце отмечается белковая и жировая альтерация, очаговая сглаженность поперечной исчерченности. Дистрофические и некробиотические изменения сосудов микроциркуляторного русла выражаются в виде застойного полнокровия, периваскулярного отека, плазматического пропитывания стенок микрососудов, склероза, гиалиноза и облитерации их просветов, конгофилия стенок и периваскулярных пространств.

В селезенке определяется повышенная конгофилия центральных артериол групп лимфоидных фолликулов (признаки саговой селезенки) и волокнистых структур селезенки с перифолликулярным отложением фибриллярных белков амилоида, сопровождающиеся атрофией лимфоидной ткани. Возможно, имел место феномен амилоидоклазии клетками макрофагально-эндотелиальной системы. По даны литературных источников и результатам наших исследований амилоидоз селезенки является подтверждением генерализации процесса.

В почках отмечалась очаговая конгофилия базальных мембран клубочковых капсул, капилляров клубочков, эпителия проксимальных и дистальных канальцев, а также фиброзной капсулы почки. В просвете канальцев определялись плотные конгофильные массы, расширение полостей капсул Боумена-Шумлянского, за счёт накопления в них белковых масс. Отмечались редкие перигломерулярные и периваскулярные инфильтраты, состоящие в основном из лимфоцитов, плазмоцитов, гистиоцитов, ретикулярных клеток, лимфоидных элементов, макрофагов. Наблюдался тромбоз и гиалиноз отдельных групп капилляров.

Подтверждением генерализации процесса служит обнаружение в эпителиальных и стромально-сосудистых структурах толстой кишки конгофильных участков, преимущественно в подслизистом слое.

В поджелудочной железе отмечаются множественные отложения конгофильных структур в интерстиции, в стенках сосудов.

При применении поляризационной микроскопии, отмечается зелено-яблочное свечение конгофильных масс во внутренних органах: в печени, в миокарде, в селезенке, в почках, в кишечнике, в поджелудочной железе.

После добавления 20% гомогенизированной печеночной ткани отмечается более избирательное поражение печени. Выраженная средне-и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов сочетается с более выраженным отложением конгофильных масс в межклеточных пространствах, в стенках сосудов, а также с умеренно выраженной макрофагальной инфильтрацией.

Уровень АЛТ, АСТ, ЩФ, общего билирубина у крыс с системным амилоидозом незначительно выше, по сравнению с экспериментальной группой. В то же время функциональные показатели печени в сыворотке крови также повышаются в группе с добавлением гомогенизированной ткани печени.

## Профилактика системного амилоидоза с использованием ацизола

При изучении структурно-функциональных изменений у экспериментальной группы с системным гепатопатическим амилоидозом с применением в качестве профилактирующего средства «Ацизол», было отмечено уменьшение признаков гипоксического повреждения тканей, дистрофических изменений, а также меньшее количество по сравнению с группой без осуществления профилактики отложений конгофильных веществ в строме и стенках сосудов. Функциональные показатели работы печени: АЛТ, АСТ, ЩФ, общий билирубин – в сыворотке крови также были существенно ниже по сравнению с другими группами.

### Общие выводы:

1. Однократное введение равнодолевой смеси 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда в течение 30 дней у старых крыс (18-24 мес.), вызывает развитие структурных изменений в органах, характерных для системного амилоидоза у 60% экспериментальных животных.
2. Однократное введение равнодолевой смеси 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда в течение 30 дней у старых крыс (18-24 мес.), вызывает развитие системного амилоидоза с ухудшением функциональных показателей работы печени: АЛТ, АСТ, ЩФ, общего билирубина – в сыворотке крови у 60% экспериментальных животных.
3. Однократное введение равнодолевой смеси 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда и 20% гомогенизированной **печеночной ткани** крыс в течение 30 дней у старых крыс (18-24 мес.), вызывает развитие системного гепатопатического амилоидоза с более избирательным поражением печени у 30% экспериментальных животных в виде более тяжелых структурных

изменений в печеночной ткани по сравнению с контрольной группой и с группой с системным амилоидозом.

4. Однократное введение равнодолевой смеси 10% (по объему) водного раствора соевого заменителя сливок и полного адьюванта Фрейнда и 20% гомогенизированной **печеночной ткани** крыс в течение 30 дней у старых крыс (18-24 мес.), вызывает развитие системного гепатопатического амилоидоза с более избирательным поражением печени у 30% экспериментальных животных подтверждением этому служат более высокие показатели ухудшения работы органа, в виде увеличения АЛТ, АСТ, ЩФ, общего билирубина – по сравнению с контрольной группой и с группой с системным амилоидозом.

5. У групп с системным амилоидозом на фоне профилактики ацизолом благодаря его выраженному антигипоксическому и мембранопротекторному эффекту были заметно лучшие показатели работы печени по сравнению с экспериментальными группами без осуществления профилактики. При изучении структурных изменений, было также отмечено снижение признаков гипоксии и отложения амилоида в тканях.