

УДК 612.46+572.7:616-003.821.001.6

## **ФУНКЦИОНАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ КАРДИОПАТИЧЕСКОГО ТИПА АМИЛОИДОЗА У КРЫС АЦИЗОЛОМ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ**

**Соколовский Н.В.**

*ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России», 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40*

---

Впервые авторами получена экспериментальная модель системного (полиорганного) амилоидоза методом однократного введения старым крысам равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в 5 точек инъекций внутрибрюшинно и в паховые и подмышечные области подкожно. Этот способ является одним из самых эффективных и простых, так как для достижения положительного результата достаточно одноразового введения амилоидогена, что расширяет возможности изучения патогенеза, профилактики и лечения данной патологии. Результаты исследования гемодинамики и органоспецифическая характеристика модели кардиопатического амилоидоза у крыс, вызванного введением адьюванта Фрейнда и подвергнутых воздействию ацизола и янтарной кислоты, свидетельствуют о положительном профилактическом эффекте препаратов, что может служить рекомендацией для апробации метода профилактики в клинической практике.

---

Ключевые слова: амилоидоз, ацизол, янтарная кислота

## **FUNCTIONALLY AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE EXPERIMENTAL PROPHILACTIC OF CARDIAC AMYLOIDOSIS RATS ACIZOL AND SUCCINIC ACID**

**Sokolovsky N.V.**

*SEI of HPE «North Ossetian State Medical Academy» of Health Care Federal Agency.*

---

For the first time authors have obtained an experimental model system (multi-organ) amyloidosis by a single injection of a mixture of aged rats equal share of native egg albumin and complete Freund's adjuvant at the rate of 0.2 ml intraperitoneal injection of 5 points in the inguinal and axillary regions subcutaneously. This method is one of the most effective and simple, so as to achieve a positive result need only one injection, that extends the possibilities for studying the pathogenesis, prevention and treatment of this pathology. The results of the study hemodynamics and organ-specific characteristics of the model heart amyloidosis in rats caused by the application Freund's adjuvant and exposed to acizol and succinic acid testify positive deterrent effect of the drugs that can serve as a recommendation for approbation of a method of prevention in clinical practice.

---

Keywords: amyloidosis, acizol, succinic acid

### **Введение**

Амилоидоз – группа заболеваний, общим признаком которых является отложение в органах и тканях особого белка  $\beta$ -фибриллярной структуры.

Считается, что в основе развития заболевания лежит продукция белка – предшественника амилоида. Это происходит под влиянием специфического амилоид – высвобождающего фактора, выработка которого осуществляется клетками крови вследствие генетического дефекта или под воздействием провоцирующих агентов. Накопление в крови белка-предшественника совместно с нарушениями его катаболизма и (или) рассасывания приводит к выработке амилоидного белка, из которого на 96 - 98% состоит амилоид.

Цель исследования. Исследовать функциональное состояние сердечнососудистой системы амилоидных животных, получавших ацизол и янтарную кислоту на фоне новой модели экспериментального системного амилоидоза.

Материал и методы исследования. В качестве экспериментальных животных выбраны старые крысы-самцы линии «Вистар» массой 350–400 г. в возрасте 18–24 мес.

В описанных ранее методах (Заалишвили Т.В., 2005, Гиева З.В., 2008) использовались белые мыши и сирийские хомяки, на которых амилоидоз хорошо воспроизводился, однако требовалось длительное введение амилоидогена, а исследование гемодинамики было весьма сложно в связи с малым калибром центральных кровеносных сосудов. Ранее считалось, что моделирование экспериментального амилоидоза на крысах затруднительно, поэтому выбор старых особей был не случаен, т.к. именно на фоне сенильной брадитрофии и иммунодепрессии была более обоснованной возможность получения модели системного амилоидоза.

При проведении экспериментов руководствовались статьёй 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003г.).

Для моделирования амилоидоза экспериментальным животным проводились однократные инъекции равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в 5 точек: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа. У контрольных и опытных животных под тиопенталовым наркозом исследовались гемодинамические показатели инвазивным способом.

В условиях внутрибрюшинной наркотизации тиопенталом натрия, в дозе 20 мг/100 г массы тела, во всех группах животных измерялось среднее артериальное давление (САД) инвазивно (кровоавым способом) электроманометром ДДА через пластиковый катетер, наполненный 10% раствором гепарина, вводимый в правую бедренную артерию. Регистрация осуществлялась на мониторе МХ-04 с распечаткой данных на принтере Epson LX – 1050+. Измерение минутного объема крови (МОК) производилась методом термодилуции с регистрацией кривых терморазведения на самописце ЭПП-09. По специальным формулам рассчитывались сердечный индекс, ударный индекс, удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС).

Гемодинамические исследования проводились через 60 дней после введения амилоидогена, после чего животные забивались тиопенталом натрия.

Морфологическому исследованию на предмет выявления амилоидоза подверглись сердце с крупными сосудами, селезенка, почки, толстая кишка.

Образцы тканей фиксировались в 10% нейтральном и кислом формалине с последующим приготовлением парафиновых срезов толщиной 5-6 микрон. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, конго-красным. Изучение срезов проводилось в проходящем свете при помощи микроскопа Микмед-1 под увеличением  $\times 80$ ,  $\times 200$ ,  $\times 600$ .

Для статистической обработки полученных данных использовались параметрический метод сравнения средних величин с помощью t-критерия Стьюдента. Обработка данных проводилась с помощью компьютерной программы «Statistica 8.0», где  $M$  – средняя арифметическая,  $m \pm$  – коэффициент ошибки,  $n$  – общее число вариантов. Для расчетов и построения диаграмм – программы «GraphPad Prism 5.04, Microsoft Excel 2003».

Проведены серии опытов в 6 группах животных:

1-я группа – интактная (20 старых крыс).

2-я группа (20 крыс) – (амилоидная) – для получения экспериментального амилоидоза, животным проводились однократные инъекции равнодолевой смеси нативного яичного белка 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).

3-я группа – контрольная, получающая ацизол – 20 крыс, получающих 3% раствор ацизола из расчета 30 мг/кг в течение 60 дней и интрагастрально.

4-я группа – контрольная, получающая янтарную кислоту – 20 крыс, которым энтерально вводилась янтарная кислота из расчета 1.5 ммоль/кг ежедневно в течении 60 дней.

5-я группа (20 крыс) - (амилоидная-леченая). Получавших одновременно амилоидоген и янтарную кислоту из расчета 1.5 ммоль/кг через день в течение 60 дней.

6-я группа (20 крыс) – (амилоидная-леченая). Получающих одновременно амилоидоген и раствор ацизола 3% из расчета 30 мг/кг в течение 60 дней и интрагастрально.

Результаты исследования и обсуждение

При контрольном исследовании основных показателей гемодинамики у крыс (таб. 1) в амилоидной группе выявлена тенденция статистически значимых отличий от интактной группы животных. Было выявлено достоверное снижение сердечного индекса (СИ), ударного индекса (УИ), повышение удельного периферического сопротивления сосудов (УПСС), и имела место тенденция к снижению частоты сердечных сокращений (ЧСС), при этом показатели среднего артериального давления (САД) практически не менялись.

*Таб. 1* Изменения параметров системной гемодинамики при экспериментальном

амилоидозе и его профилактике

Группа	Показатель	САД	Сердечный индекс	Ударный индекс	УПСС	ЧСС
Интактная	M±m	109,9±1,609	44,65±0,7334	0,116±0,0017	1,954±0,04364	385±5,424
Модель	M±m	109,1±1,457	36,83±1,361*	0,0986±0,005*	2,399±0,112	376,9±11,03
Ацизол	M±m	106,7±1,641	43,30±1,177	0,1133±0,0028	1,988±0,36*	367,6±6,014
Янтарная кислота	M±m	111,4±2,686	42,77±1,282	0,113±0,004	2,09±0,062	367,3±5,348
Амилоидоген + Ацизол	M±m	113,1±1,76	40,09±0,597*,**	0,1066±0,002*,**	2,248±0,0599*,**	384±4,807
Амилоидоген + Янтарная кислота	M±m	113,6±2,5	40,93±1,059*,**	0,1121±0,001*,**	2,065±0,053*,**	374,8±4,67

Примечание: \* - достоверные изменения ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными животными

\*\* - достоверные изменения ( $p < 0,05$ ) по сравнению с моделью

При анализе показателей гемодинамики в группах крыс, подвергнутых профилактическому действию ацизола и янтарной кислоты, выявлены менее существенные изменения сердечного выброса и УПСС.

Так, величина сердечного индекса, хотя и была достоверно ниже, чем у интактных животных, но становится значимо большей по сравнению с крысами амилоидной группы.

При гистологическом исследовании внутренних органов у группы крыс, получавших ацизол и янтарную кислоту, выявлены изменения относительно амилоидной группы животных.

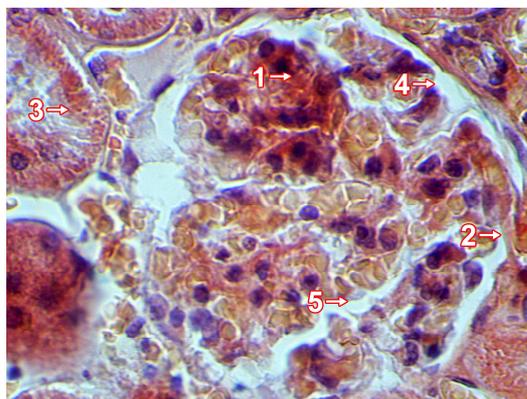
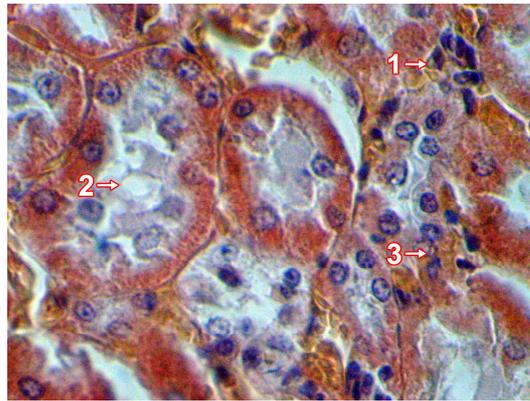


Рис. 6 Почка. Окраска конго-красным. Увеличение x 600.

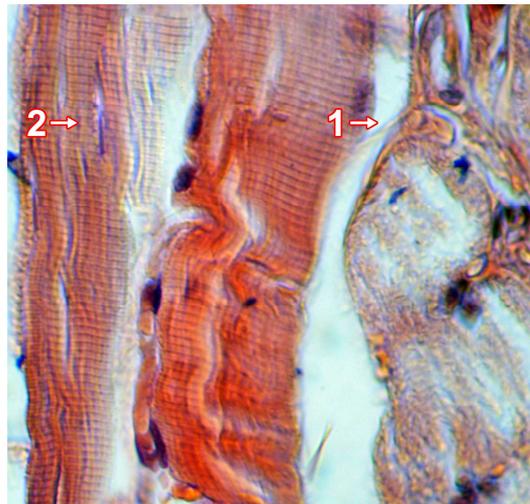
В почках наблюдалось (рис. 6) снижение конгофильности капилляров клубочков (1), капсулы Шумлянско-Боумена (2), базальных мембран канальцев, стромально-сосудистых структур (3). Отмечалось восстановление просветов капсулы Шумлянско-Боумена (4). Уменьшено плазматическое пропитывание капилляров клубочков, приносящих и выносящих артериол и всей системы микроциркуляции органа (5).



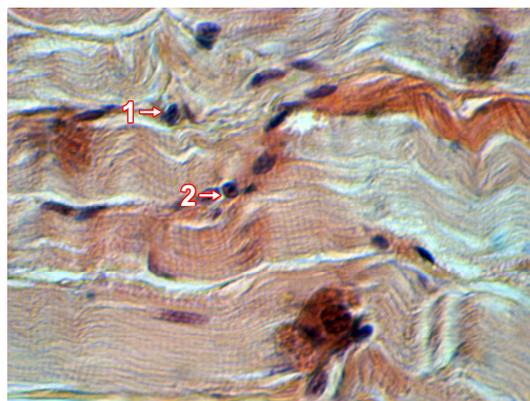
*Рис. 7* Почка. Окраска конго-красным. Увеличение x 600.

Также имеет место (рис. 7) очаговая компенсаторная гиперемия венозных коллекторов с периваскулярной лимфогистиоцитарной реакцией (1). Количество белка в канальцах снизилось с восстановлением органоспецифической цитоархитектоники (2).

В миокарде (рис. 8) отмечались очаги ярко выраженной поперечной исчерченности кардиомиоцитов со снижением и очаговым исчезновением конгофилии (1), характерной для амилоидных животных. Снижение гиперемии, плазматического пропитывания и отёка в участках появления поперечной исчерченности кардиомиоцитов (2).

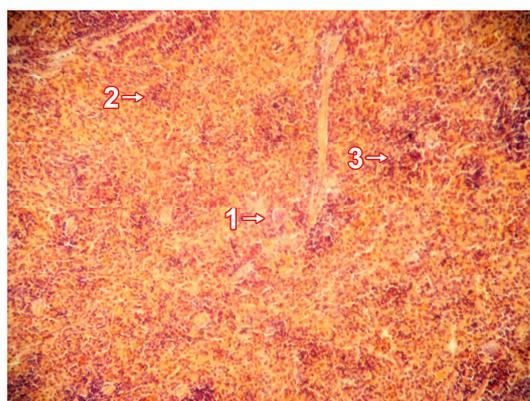


*Рис. 8* Миокард. Окраска конго-красным. Увеличение x 600.



*Рис. 9* Миокард. Окраска конго-красным. Увеличение x 600.

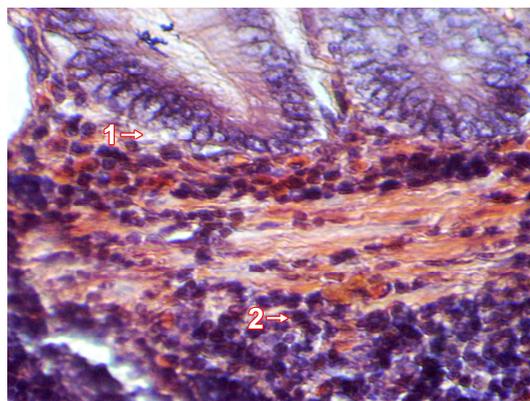
Наблюдались (рис. 9) отдельные периваскулярные лимфогистиоцитарные клеточные скопления с наличием в отдельных инфильтратах плазмочитов, эпителиоидных клеток и гистиоцитов(1). Имели место признаки очаговой реваскуляризации стромы через почкование и новообразования (2), способствующие восстановлению циркуляции крови и тканевой жидкости.



*Рис. 10* Селезенка. Окраска конго-красным. Увеличение x 80.

В селезенке визуализировалось (рис. 10) некоторое снижение конгофилии центральных артериол лимфоидных фолликулов, гиперемии, плазматического пропитывания и отека стромальных волокнистых структур (1). В отдельных фолликулах имело место неравномерное отложение амилоида, преимущественно в периферических зонах.

Слабовыраженная очаговая конгофилия выявлена в межфолликулярной строме органа (2). Характерным являлось наличие крупноочаговых пролифератов, состоящих из крупных макрофагов, лимфоцитов, плазматических клеток и гистиоцитарных элементов с отчетливо выраженными гиперхромными ядрами (3), служащих признаком некоторой структурно-функциональной реабилитации органа.



*Рис. 11* Толстый кишечник. Окраска конго-красным. Увеличение x200.

Морфологической аргументацией системного амилоидоза служит амилоидоз толстой кишки как прижизненный диагностический критерий генерализации процесса.

В группе животных, подвергнутых профилактическому воздействию ацизола и янтарной кислоты, было выявлено снижение в базальных мембранах и в субэпителиальном слое толстой кишки (рис. 11) признаков конгофилии с активной пролиферацией иммунокомпетентных клеток: плазматических, эпителиоидных, и лимфоцитов в комбинации с гистиоцитами, макрофагами и другими гемато- и гистиогенными клеточными элементами (1). Однако сохранялись, но в значительно меньшей степени явления гидropической дистрофии (2) в железистых эпителиальных структурах с альтерацией базальных мембран.

### **Выводы**

Результаты исследования гемодинамики и органоспецифическая характеристика модели кардиопатического амилоидоза у крыс, вызванного введением адьюванта Фрейнда и подвергнутых воздействию ацизола и янтарной кислоты, свидетельствуют о положительном профилактическом эффекте препаратов, что может служить рекомендацией для апробации метода профилактики в клинической практике.

### **Список литературы**

1. Брин В.Б., Козырев К.М., Пухова И.У. Функционально- морфологическая характеристика экспериментальной амилоидной нефропатии. // Вестник новых медицинских технологий.– Тула, 2008. – Т.XV. - №2 . – С. 33–34.
2. Гиоева З.В., Брин В.Б., Козырев К.М., Кабисов О.Т., Заалишвили Т.В. Функциональная и морфологическая характеристика новой модели экспериментального амилоидоза. //Вестник новых медицинских технологий. – Тула, 2007. – Т.XIV. - № 1. – С. 96–98.

3. Заалишвили Т.В. Функционально-морфологический анализ экспериментальной модели амилоидоза почек у мышей. Влияние монотерапии милдронатом. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Владикавказ, 2005. – 21 с.
4. Пухова И.У., Брин В.Б., Козырев К.М. Влияние янтарной кислоты на функциональное состояние почек при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза. //Вестник МАНЕБ.– 2008. – Т.14. - №3. – С. 34–37.
5. Koudinov A.R., Koudinova N.V., Kezlia E.V., Kozirev K.M., Medvedev A. E., Berezov T.T. Compensatory Mechanisms to Heal Neuroplasticity Impairment under Alzheimer's Disease Neurodegeneration. I: The Role of Amyloid Beta and its' Precursor Protein. – J. Biomedical Chemistry, 2012. – Vol. 6. - № 1. – PP. 1–10.

**Рецензенты:**

Овсянников В.Г., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.

Дзугкоева Ф.С., д.м.н., профессор, зам. Директора по научной работе Института биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН, г. Владикавказ.