

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДВУХ МОДЕЛЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАРДИОПАТИЧЕСКОГО АМИЛОИДОЗА

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40;  
тел. +79188202423. E-mail: patanatom.skmmc@mail.ru

Для изучения в эксперименте системного кардиопатического амилоидоза авторами впервые были получены модели у старых крыс, что позволяет изучать этиологию и патогенез данной патологии, а также разрабатывать методы профилактики и лечения.

Проведенный сравнительный анализ функционально-морфологических изменений позволил сделать выводы о том, что для дальнейшего изучения кардиопатического амилоидоза целесообразнее применять методику с добавлением гомогената миокарда крыс, так как в этом случае альтернативные изменения в сердце носят наиболее выраженный характер при минимальных изменениях в других органах и тканях.

*Ключевые слова:* экспериментальный амилоидоз, моделирование.

**N. V. SOKOLOVSKY, V. B. BRIN, K. M. KOZYREV, O. T. KABISOV**

COMPARES THE TWO MODELS OF EXPERIMENTAL CARDIOPATIC AMYLOIDOSIS

*SEI of HPE «North-Ossetian state medical academy» Federal agency of health care,  
Russia, 362019, Vladikavkaz, Pushkinskaya street, 40;  
tel. +79188202423. E-mail: patanatom.skmmc@mail.ru*

To study the experimental system cardiopatic amyloidosis authors were first obtained by the model in aged rats that allows us to study the etiology and pathogenesis of this disease, and to develop methods of prevention and treatment. Comparative analysis of functional and morphological changes led to the conclusion that in order to further study cardiopatic amyloidosis is advisable to apply a technique with the addition of homogenate of rat myocardium, as in this case, alterative changes in the heart are most pronounced, with minimal changes in other organs and tissues.

*Key words:* experimental amyloidosis, modeling.

Амилоидоз – стромально–сосудистый диспротеиноз, относящийся к группе общепатологических процессов с системной и органной полипатией, характеризующийся отложением в межклеточном веществе особого труднорастворимого фибриллярного белка – амилоида [3].

На сегодняшний день в литературе описано около 28 белков, которые могут трансформироваться клетками ретикулоэндотелиальной системы в  $\beta$ -фибриллярную структуру, после чего, связываясь с белками плазмы (Р-компонентом), они формируют частицы амилоида [5, 6].

Согласно мутационной теории, мутировавшие клетки ретикулоэндотелиальной системы (амилоидобласты) не распознаются иммункомпетентной системой и не элиминируются, так как амилоидные фибриллы представляются чрезвычайно слабыми антигенами. Возникает иммунологическая толерантность к фибриллярному белку амилоида, что является причиной безудержного

прогрессирования амилоидоза как общепатологического процесса [4, 7].

Сердце является доминирующим органом-мишенью, особенно при сенильном системном типе амилоидоза (SSA). Зачастую развившаяся сенильная амилоидная кардиопатия протекает бессимптомно или скрывается под маской других патологических состояний, таких как ишемическая болезнь сердца (ИБС) или гипертрофическая кардиомиопатия [1].

Отсутствие патогномичной симптоматики, приводящей к затруднению ранней диагностики амилоидоза, а также далеко еще не решенные вопросы его профилактики и лечения ставят задачу изучения амилоидоза в ряд приоритетных. При этом в изучении амилоидоза важную роль играет его экспериментальное моделирование у животных, позволяющее выявлять новые звенья патогенеза, морфологические особенности развития данного процесса в различных органах и тканях, а также разрабатывать методики

профилактики и лечения столь тяжелого, а зачастую и фатального заболевания.

В описанных ранее методах моделирования амилоидоза использовались золотистые сирийские хомяки и белые мыши, на которых хотя и была получена модель амилоидоза, однако для достижения результата требовалось длительное и многократное введение амилоидогена [2, 5], в связи с чем исследование гемодинамики, в частности, представляло сложность из-за малого калибра центральных кровеносных сосудов. Считалось, что моделирование экспериментального амилоидоза на крысах затруднительно, поэтому выбор старых особей был не случаен, т. к. именно на фоне сенильной брадитрофии и снижения иммунитета была более обоснованной возможность получения модели системного кардиопатического амилоидоза.

Наиболее часто с целью моделирования амилоидоза применялись методики, включающие в себя многократное введение амилоидогена животным на протяжении длительного времени, что сопровождалось определенными трудностями и большими финансовыми затратами.

Цель исследования – создание и изучение новых моделей кардиопатического типа системного амилоидоза у крыс.

### Материалы и методы

Эксперименты были поставлены в 3 сериях опытов:

интактные животные – 20 старых крыс-самцов линии Вистар.

Первая модель – 20 старых крыс-самцов линии Вистар.

Вторая модель – 20 старых крыс-самцов линии Вистар.

Нами разработаны два новых способа моделирования амилоидоза, выгодно отличающихся от ранее созданных тем, что для развития кардиопатического системного амилоидоза достаточно однократного введения амилоидогена.

Первый способ заключался в однократном введении равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в 5 точек инъекций: внутрибрюшинно, в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа.

Принимая во внимание аутоиммунные механизмы развития амилоидоза, осуществили попытку получения модели кардиопатического типа амилоидоза с более выраженной тропностью к тканям сердца. Для этого к сочетанию амилоидогена в виде нативного яичного альбумина и потенцирующего его действие адьюванта Фрейнда был добавлен гомогенизированный миокард крыс.

Данный метод осуществлялся путём введения старым крысам самцам смеси, состоящей

из 40%-ного нативного яичного альбумина, 40%-ного полного адьюванта Фрейнда и 20%-ного гомогенизированного миокарда крыс. Смесь вводилась аналогично предыдущему способу по 0,2 мл однократно в 5 точек инъекции: в паховые и подмышечные области слева и справа, а также внутрибрюшинно.

Под тиопенталовым наркозом в дозе 20 мг/100 г массы тела во всех группах животных исследовались среднее артериальное давление (САД), сердечный индекс (СИ), ударный индекс (УИ), удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС) и частота сердечных сокращений (ЧСС).

**Методики определения системной гемодинамики.** Измерение среднего артериального давления (САД) производилось инвазивно при помощи электроманометра ДДА через вводимый в правую бедренную артерию пластиковый катетер, заполненный 10%-ным раствором гепарина. Регистрация данных проводилась на мониторе МХ-04 с распечаткой данных на принтере «Epson LX-1050+».

Измерение минутного объема крови (МОК) производилось методом термодилуции с регистрацией кривых терморазведения на самописце ЭПП-09.

Сердечный индекс (СИ) рассчитывался по формуле  $СИ = MO / ST$ , где: МО — минутный объем сердца, л; ST — поверхность тела, м<sup>2</sup>.

Ударный индекс (УИ) рассчитывался по формуле: ударный объем сердца = минутный объем сердца / частота сердечных сокращений.

Удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС) рассчитывалось по формуле:  $УПСС = САД / СИ$ , где САД – среднее артериальное давление; СИ – сердечный индекс.

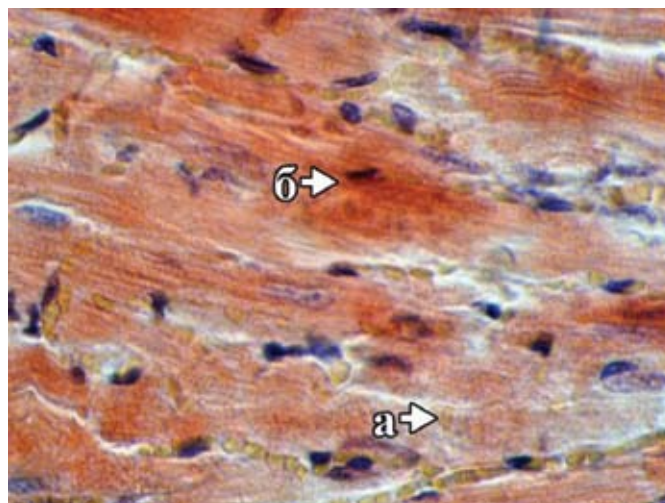
Гемодинамические исследования проводились через 60 дней после введения амилоидогена, после чего животные забивались под тиопенталом натрия и ткани органов подвергались гистологическому исследованию.

**Методики патогистологического исследования.** Для гистологических исследований производилось фиксирование тканей в 10%-ном нейтральном формалине. Далее производилась заливка в парафин, после чего на санном микротоме готовились срезы толщиной 5–6 микрон. Окрашивание микропрепаратов производилось гематоксилином и эозином, а для идентификации амилоида – конго-красным. Срезы изучались в световом микроскопе «Leica DM500» под увеличением  $\times 400$ ,  $\times 600$  с применением методики поляризационной микроскопии.

Все исследования с использованием экспериментальных животных выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в

## Показатели гемодинамики крыс в ходе экспериментов

№	Группа	Показатель	САД	Сердечный индекс	Ударный индекс	УПСС	ЧСС
1	Интактная	$M \pm m$	109,9±1,6	44,65±0,73	0,116±0,001	1,954±0,04	385±5,42
2	Модель – яичный альбумин + адьювант Фрейнда	$M \pm m$	109,1±1,46	36,8±1,36	0,099±0,005	2,398±0,11	376,9±11,03
		p	>0,1	<0,02	<0,02	<0,01	>0,1
3	Модель – яичный альбумин + адьювант Фрейнда + гомогенат миокарда крыс	$M \pm m$	107,3±2,07	34,9±1,12	0,09±0,004	2,4±0,08	384,1±9,72
		p	>0,1	<0,001	<0,001	<0,001	>0,1



**Рис. 1.** Миокард при модели экспериментальной амилоидной кардиопатии, вызванной однократным введением нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда. Дистрофия, исчезновение поперечной исчерченности, набухание, гомогенизация отдельных групп кардиомиоцитов с очаговой конгофилией (а), фрагментация и распад отдельных кардиомиоцитов (б). Окраска конго-красным. Увеличение X600

директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием экспериментальных животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 267).

### Результаты и их обсуждение

При исследовании показателей гемодинамики через 60 дней после введения амилоидогена у животных с моделями амилоидной кардиопатии были выявлены следующие особенности.

Установлено достоверное снижение значений сердечного индекса относительно интактной группы, причем в группе с добавлением гомогената миокарда крыс снижение показателей носило более выраженный характер (таблица).

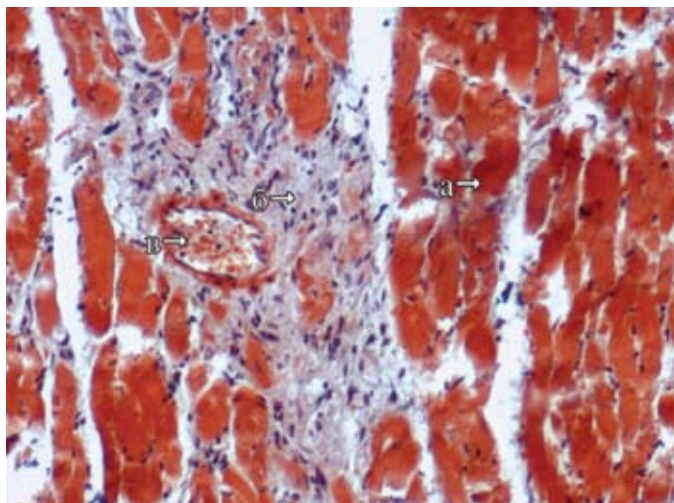
Статистически значимо снижался ударный индекс в обеих группах с экспериментальными

моделями амилоидной кардиопатии относительно интактной группы. При этом в группе животных, получавших яичный альбумин в сочетании с адьювантом Фрейнда и гомогенатом миокарда, степень редукции исследуемого показателя была более интенсивная.

Повышение уровня удельного периферического сосудистого сопротивления также было статистически достоверным, причем показатели в группах с моделями амилоидоза возрастали приблизительно одинаково относительно интактных животных.

Показатели среднего артериального давления и частоты сердечных сокращений во всех группах практически не изменялись.

Гистологически у группы животных с первой моделью экспериментальной амилоидной кардиопатии в миокарде (рис. 1) выявлялись белковая и жировая дистрофии, исчезновение поперечной исчерченности, набухание, гомогенизация отдельных групп кардиомиоцитов, фрагментация и распад отдельных кардиомиоцитов, очаговая



**Рис. 2.** Миокард при модели экспериментальной амилоидной кардиопатии, вызванной однократным введением смеси нативного яичного альбумина, полного адьюванта Фрейнда и гомогената миокарда крыс. Отмечались исчезновение поперечной исчерченности и гомогенизация кардиомиоцитов с признаками выраженной конгофилии (а). Участки дегенеративно измененных соединительно-тканых и сосудистых элементов (б). Выраженная застойная гиперемия (в). Окраска конго-красным (X 400)

конгофилия. Местами отмечались очаги фибриноидного некроза и дегенеративные изменения стромально-сосудистых структур. Обнаруживались признаки мукоидного и фибриноидного набухания, очаговое разрыхление и гомогенизация волокнистых элементов интерстиция миокарда.

У старых крыс с моделью экспериментальной амилоидной кардиопатии, вызванной однократным введением смеси нативного яичного альбумина, полного адьюванта Фрейнда и гомогената миокарда крыс, в миокарде (рис. 2) выявлялись альтеративные изменения в виде липопротеидной дезинтеграции органоспецифических структур, нивелирования характерной поперечной исчерченности, крупноочаговой гомогенизации кардиомиоцитов с признаками выраженной конгофилии. Визуализировались участки дегенеративно измененных соединительно-тканых и сосудистых элементов, которые перемежались со свежими очагами мукоидной и фибриноидной альтерации, разрыхлением и гомогенизацией волокнистых структур миокарда. Циркуляторные изменения сосудов микроциркуляторного русла были представлены выраженной застойной гиперемией, плазматическим пропитыванием, значительным периваскулярным отеком терминальных фрагментов микрососудистой сети. В отличие от модели без применения гомогената миокарда крыс в участках каскада альтеративных изменений отмечались признаки слабой активации иммунокомпетентных клеточных элементов. В целом патогистологические признаки кардиопатии были выражены в большей степени при второй модели амилоидоза.

### Выводы

1. Уменьшение показателей сердечного и ударного индексов у животных с моделями ами-

лоидной кардиопатии относительно интактной группы свидетельствует о снижении насосной функции сердца, при этом среднее артериальное давление практически не меняется, что обусловлено одновременным повышением удельного периферического сосудистого сопротивления, видимо, за счёт снижения эластичности сосудов, поражённых амилоидозом.

2. Более выраженные изменения гемодинамических показателей у животных в группе с моделью амилоидной кардиопатии, получавшей нативный яичный альбумин в сочетании с адьювантом Фрейнда и добавлением гомогенизированного миокарда, относительно интактной группы и модели, получавшей нативный яичный альбумин в сочетании с адьювантом Фрейнда, свидетельствуют о более глубоких альтеративных и дегенеративных изменениях в миокарде крыс, по-видимому, за счёт формирования аутоиммунного звена в патогенезе кардиопатии.

3. Учитывая полученные данные гистологического анализа, можно сделать вывод, что для изучения амилоидной кардиопатии целесообразнее применять способ её моделирования с применением нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда в сочетании с гомогенатом миокарда крыс, так как в данном случае отмечаются более выраженные изменения в сердце.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Барсуков А., Шустов С., Шкодкин И. и др. Гипертрофическая кардиомиопатия и амилоидоз сердца: трудности дифференциальной диагностики // Врач. – 2005. – № 10. – С. 42–46.
2. Беликова А. Т., Брин В. Б., Козырев К. М. Новая модель экспериментального амилоидоза // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 2 (125). – С. 12–15.

3. Волошинова Е. В., Григорьева Е. В., Сажнова С. И., Ребров А. П. Клинические варианты системного амилоидоза с поражением миокарда и трудности его диагностики // Клиническая нефрология. – 2010. – № 3. – С. 72–75.

4. Жданова Е. А., Рамеев В. В., Моисеев С. В., Козловская Л. В., Сафарова А. Ф. Амилоидоз сердца: клиника, лечение, прогноз // Фарматека. – 2012. – № 9 (242). – С. 10–16.

5. Закс Т. В., Брин В. Б., Беликова А. Т., Козырев К. М. Патогистологическая характеристика экспериментального амилоидоза у золотистых сирийских хомяков. Влияние мелаксен // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX. № 3. – С. 151–154.

6. Киселева З. А., Закс Т. В., Козырев К. М. Патоморфологическая характеристика новой модели экспериментального амилоидоза нефропатического типа у золотистых сирийских хомяков. // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20. № 1. – С. 109–113.

7. Козырев К. М., Салбиев К. Д., Березов Т. Т. Морфобиохимические аспекты старческого амилоидоза. – Владикавказ: Проект-Пресс, 2006. – 232 с.

8. Митрофанова Л. Б., Кудайбергенова А. Г., Антонова И. В. Фибрилляция предсердий, амилоидоз, миокардит и вирусная инфекция // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т. 15. № 2. – С. 203–208.

Поступила 02.04.2015

**И. Б. УВАРОВ<sup>1,2</sup>, М. В. КАЗАНЦЕВА<sup>1</sup>, С. Н. ПОТЕМИН<sup>1,2</sup>,  
И. Н. ВАСИЛЕНКО<sup>1</sup>, В. Б. КАУШАНСКИЙ<sup>1</sup>**

## **РАДИКАЛЬНОЕ ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ И ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ ФОТОННОЙ РАДИОХИРУРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМОЙ ПРИ РАКЕ ПРЯМОЙ КИШКИ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ 68 СЛУЧАЕВ**

<sup>1</sup>ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1»  
министерства здравоохранения Краснодарского края,  
Россия, 350040, г. Краснодар, ул. Димитрова, 146;  
тел/факс +7 (861) 233-68-18. E-mail: kkod@kkod.ru;

<sup>2</sup>кафедра хирургии № 2 ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Кубанский государственный  
медицинский университет» Минздрава России,

Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. +7 (861) 252-14-60. E-mail: amm555@mail.ru

В работе дана оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения, включающего радикальную операцию и ИОЛТ, у пациентов с первичным (РРПК) и рецидивным раком прямой кишки (РРПК).

В группу вошли 68 пациентов: мужчин – 41, женщин – 27. Средний возраст – 64,7 года. РПК II стадии имелся у 50; III стадии – у 18 пациентов (исходная стадия); РРПК – у 9 пациентов. ИОЛТ проводилось непосредственно после удаления опухоли. Использовалась фотонная радиохирургическая система Intrabeam®PRS. Время наблюдения составило в среднем 9,6 (0,9–19,9) месяца.

Доза составила в среднем 14,8 Гр, на глубине 1 см – 5,07 Гр, время сеанса – 31,9 мин. Течение послеоперационного периода не имело специфических осложнений. Средняя длительность послеоперационного периода в стационаре – 17,7 дней. Общая 1-годичная выживаемость – 90,1% (стандартная ошибка [S.E.] 6,3) Показатель локального контроля – 89,5% (S.E. 7,1). Выживаемость без отдаленных метастазов составила 88,6% (S.E. 6,5).

Использования фотонной радиохирургической системы является безопасной технологией проведения ИОЛТ при РРПК и РРПК, не приводящей к критическому увеличению длительности операции и не имеющей специфических осложнений.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, интраоперационная лучевая терапия, местный рецидив.

**I. B. UVAROV<sup>1,2</sup>, M. V. KAZANTSEVA<sup>1</sup>, S. N. POTEMIN<sup>1,2</sup>, I. N. VASILENKO<sup>1</sup>, V. B. KAUSHANSKY<sup>1</sup>**

**RADICAL SURGERY AND INTRAOPERATIVE RADIOTHERAPY WITH THE PHOTON RADIOSURGERY SYSTEM IN RECTAL CANCER: RETROSPECTIVE REVIEW OF 68 PATIENTS**

<sup>1</sup>State budget institution «Clinical cancer dispensary № 1» of the ministry of health care of the Krasnodar region, Russia, 350040, Krasnodar, Dimitrov str., 146, tel. +7 (861) 233-68-18. E-mail: kkod@kkod.ru;