

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2844842

Способ моделирования перегрузки печени железом у экспериментальных животных

Патентообладатель: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "ИВАНОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)**

Авторы: **Богачева Татьяна Евгеньевна (RU), Громова Ольга Алексеевна
(RU), Гришина Татьяна Романовна (RU), Калачева Алла Геннадьевна
(RU), Демидов Вадим Игоревич (RU), Томилова Ирина
Константиновна (RU), Торшин Иван Юрьевич (RU)**

Заявка № 2024109698

Приоритет изобретения **09 июля 2024 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **07 августа 2025 г.**

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **09 июля 2044 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) RU (11) **2 844 842** (13) C1

(51) МПК

[A61K 31/7004 \(2006.01\)](#)

[A61K 33/26 \(2006.01\)](#)

[A61K 47/44 \(2006.01\)](#)

[A61P 43/00 \(2006.01\)](#)

[G09B 23/28 \(2006.01\)](#)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 10.08.2025)
Пошлина: учтена за 5 год с 10.07.2028 по 09.07.2029. Установленный срок для уплаты пошлины за 6 год: с 10.07.2028 по 09.07.2029. При уплате пошлины за 6 год в дополнительный 6-месячный срок с 10.07.2029 по 09.01.2030 размер пошлины увеличивается на 50%.

(52) СПК

A61K 31/7004 (2025.01); A61K 33/26 (2025.01); A61K 47/44 (2025.01); A61P 43/00 (2025.01); G09B 23/28 (2025.01)

(21)(22) Заявка: [2024109698](#), 09.07.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.07.2024

Дата регистрации:
07.08.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.07.2024

(45) Опубликовано: [07.08.2025](#) Бюл. № 22

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2728418 C1, 29.07.2020. RU 2811886 C1, 18.01.2024. UA 106382 U, 25.04.2016. БОГАЧЕВА Т.Е. и др.

Фармакологические модели перегрузки печени железом, Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2023. - N 10 (218). - стр. 221-228. GHALWASH A.A. et al. The interplay between oat beta glucan, gut microbiota and gut-liver axis in treatment

of obesity associated non-alcoholic steatohepatitis and Type II diabetes mellitus // Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB). - 2022. - V. 59. - N. 1. - p. 14-22. PIETRANGELO A. et al. Liver gene expression during chronic dietary iron overload in rats. Hepatology (1990), 11(5), p. 798-804. АНООКHASH M. et al. Histopathological manifestations of liver tissue affected by heated and unheated palm oil in male Wistar rats, Morphologie, v. 108, 2024, p. 1-7.

Адрес для переписки:

153012, Ивановская обл., г. Иваново,
Шемеретевский пр-кт, 8, ФГБОУ ВО
Ивановский ГМУ

(72) Автор(ы):

Богачева Татьяна Евгеньевна (RU),
Громова Ольга Алексеевна (RU),
Гришина Татьяна Романовна (RU),
Калачева Алла Геннадьевна (RU),
Демидов Вадим Игоревич (RU),
Томилова Ирина Константиновна (RU),
Торшин Иван Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "ИВАНОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ (RU)

(54) Способ моделирования перегрузки печени железом у экспериментальных животных

(57) Реферат:

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к фармакологии. Крысам внутривентриально вводят железо сернокислое (II) 7-водное (хч) в дозе 50 мг/кг/сут в условиях перорального избыточного потребления твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сут и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сут в течение 12 дней. Способ позволяет создать модель перегрузки печени у животных, что в свою очередь дает возможность провести дальнейшую оценку патологических изменений органов. 10 ил., 1 табл., 1 пр.

Изобретение относится к медицине, а именно к созданию фармакологической модели перегрузки печени железом у экспериментальных животных путем парентерального введения сульфата железа в условиях избыточного приема пальмового масла и фруктозы (модель вторичного гемохроматоза и стеатоза печени).

Железо - эссенциальный микроэлемент, необходимый для переноса кислорода (гемоглобин), ферментов клеточного дыхания и переноса электронов в митохондриях, дифференцировки клеток и многих других биологических процессов, связанных с окислительно-восстановительным балансом [Hirota K. Close relationship between iron homeostasis and oxygen metabolism, regulated by hypoxia-induced factors (HIFs). *Free Radic Biol Med.* 2019 Mar; 133:1 18-129. DOI: 10.1016]. Регуляция метаболизма железа осуществляется посредством скоординированных механизмов с участием эритроцитов, моноцитов/макрофагов, энтероцитов, гепатоцитов и включает активности более 100 белков (гепсидин, ферропортин, трансферрин, ферритин и др.) [Cornelissen A., Guo L., Sakamoto A., Virmani R., Finn A.V. New views on the role of iron in inflammation and atherosclerosis. *EBioMedicine.* 2019 September; 47:598-606. DOI: 10.1016].

Нарушения сложного механизма регуляции гомеостаза железа приводят к дефициту или, наоборот, к перегрузке тканей железом [Yannikuridis, A.; Brass-Dada, G.O. A brief overview of iron metabolism and the pathophysiology of iron disorders. *Medicines* 2019, 6, 85]. Перегрузка тканей железом инициирует окислительный стресс, образование активных форм кислорода (АФК), инсулинорезистентность, провоспалительные реакции, сопровождающиеся окислением Fe^{2+} до Fe^{3+} и повреждениями клеток [Zhuo Z., Fan S., Hu K., Huang D., Feng D. Analysis of digital profiling of duodenal transcriptome gene expression in SD rats injected with iron sulfate or iron glycine chelate through a probe. *Sci Rep.* 2016 Nov 30;6:37923. DOI: 10.1038; Mancardi D., Mezzanotte M., Arrigo E., Barinotti A., Rotto A. Iron overload, oxidative stress and ferroptosis in heart failure and liver. *Antioxidants (Basel).* 2021 Nov 24; 10(12):1864. DOI: 10.3390]. Преокидательные реакции активируют систему антиоксидантной защиты организма (ферменты супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и др., низкомолекулярные соединения глутатион, коэнзим Q10 и др.), нейтрализующей АФК. Тем не менее, активность системы антиоксидантной защиты не всегда достаточна для удаления АФК [Imam M.U., Zhang S., Ma J., Wang H., Wang F. Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress. *Nutrients.* 2017 June 28; 9(7):671. DOI: 10.3390/nu9070671] и предотвращения перегрузки железом печени и других тканей.

Отложения железа в тканях (гемосидероз) сопровождается различными заболеваниями печени и поджелудочной железы. Перегрузка печени железом возникает вследствие диеты с избытком насыщенных жиров, провоцирующих воспаление печени, замедление и застой кровотока в области портальной вены (гиподинамия, ожирение, алкоголизм и др.), бесконтрольный и длительный прием препаратов железа (прежде всего, на основе неорганических форм - сульфатов, оксидов, гидроксидов железа и др.), наследственные заболевания (гемохроматоз).

Гемосидероз в той или иной мере не просто избыточное накопление железа в клетках, а гемосидероз - т.е. буквальное «пропитывание» тканей гемосидерином, который состоит из мелкодисперсных и нерастворимых в воде оксидов железа. Гемосидероз тканей стимулирует развитие хронического воспаления, вызывая гибель паренхиматозной ткани и замещению ее фибротической [Торшин И.Ю., Громова О.А. 25 Мгновений молекулярной фармакологии о развитии клинко-фармакологического мышления / Иваново, А-Гриф, 2012, ISBN: 978-5-900994-32-1, 684 с.].

Для изучения влияния избытка железа на организм и поиска наиболее приемлемой терапии гемосидероза в фармакологии разработаны особые модели перегрузки печени железом. Степень перегрузки железом и скорость формирования гемосидероза в моделях могут быть замедлены посредством добавления микронутриентов с гепатопротекторными свойствами (витамины А, С) и ускорены посредством добавления в диету насыщенных жиров и/или фруктозы.

Для изучения влияния избытка железа на организм были воспроизведены некоторые фармакологические модели для перегрузки железом печени. Перегрузка пищи железом обычно применяется для воспроизведения моделей генетических дефектов (наследственный гемохроматоз) или для создания модели перегрузки железом на фоне НАЖБП.

В настоящее время актуальна проблема несбалансированности пищевого рациона людей, в котором растет доля пальмового масла, тяжелую (твердую) фракцию которого включают в состав многих пищевых продуктов, от кондитерских изделий до молочной продукции. «Твердая» фракция пальмового масла отличается высоким содержанием пальмитиновой и олеиновой кислот, избыток которых приводит к образованию трипальмитинов, практически не поддающихся ферментативному гидролизу ферментами-липазами, что стимулирует развитие атеросклероза, ожирения, сахарного диабета 2-го типа. В эксперименте на модели повреждения печени рафинированным пальмовым маслом у крыс было доказано, что диета с избыточным потреблением пальмового масла способствовала развитию стеатогепатоза, что характеризовалось развитием жировой дистрофии гепатоцитов с локализацией преимущественно в перипортальной зоне печеночной дольки, умеренно выраженной мезенхимально-клеточной реакцией [Богачева Т.Е., Калачева А.Г., Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Демидов В.И. Изучение эффективности препарата Ласенек при повреждении печени пальмовым маслом у крыс. Фармакокинетика и фармакодинамика. - 2023 (4):23-32]. Данная модель может стать основой для разработки новых моделей перегрузки железом на фоне НАЖБП у крыс.

НАЖБП и перегрузка печени железом могут усугубляться на фоне высокого потребления фруктозы. Известно, что уровни железа, глюкозы и жировой обмен взаимосвязаны: распределение жира в организме влияет на статус железа, а запасы железа влияют на накопление жира и метаболизм углеводов в жировой ткани, печени и в мышцах [Hilton S., Sabaratnam R., Drakesmith H., Karpe F. Metabolism of iron, glucose and fats and obesity: the relationship. *Int J Obes* (London). 2023 Jul; 47(7):554-563. DOI: 10.1038/s41366-023-01299-0]. Метаболизм фруктозы, поступившей с пищей, происходит главным образом в печени, что стимулирует накопление внутривисцерального жира, окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию при избыточном потреблении фруктозы [Jensen T., Abdelmalek M.F., Sullivan S., Nadeau K.J., Green M., Ronkal S., Nakagawa T., Kuwabara M., Sato Y., Kang D.H., Tolan D.R., Sanchez-Losada L.G., Rosen H.R., Lanaspa M.A., Dil A.M., Johnson R.J. Fructose and sugar: the main mediators of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2018 May; 68(5): 1063-1075. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.019]. В эксперименте, высокое потребление фруктозы (25% и более от общей суточной калорийности рациона) тесно связано с развитием инсулинорезистентности и накоплением висцерального жира, которые лежат в основе формирования метаболического синдрома [Ma J., Sloan M., Fox K.S., Hoffmann W., Smith S.E., Salzman E., Rogers G.T., Jacques F., McCown N.M. Consumption of sugar-sweetened beverages is associated with the breakdown of abdominal fat in healthy adults. *J Nutr*. 2014 August; 144(8): 1283-90. DOI: 10.3945/jn.113.188599]. В клинике, пациенты с НАЖБП употребляют почти в 2 раза большее количество безалкогольных сладких напитков по сравнению со здоровыми [Di Stefano J.K. Fructose-mediated effect on gene expression and epigenetic mechanisms associated with the pathogenesis of NAFLD. *Cell Mol Life Sci*. 2020 June; 77(11):2079-2090. DOI: 10.1007/s00018-019-03390-0]; установлена корреляция между потреблением сладких безалкогольных напитков и ожирением [Шептулина А.Ф., Голубева Ю.А., Драпкина О.М. Фруктоза и ее влияние на обмен веществ и риск развития неалкогольной жировой болезни печени. *Доказательная гастроэнтерология*. 2023;12(1):85-92 <https://doi.org/10.17116/dokgastro20231201185>; Vos M.B., Lavin J.E. Dietary fructose in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. June 2013; 57(6):2525-31. DOI: 10.1002/hep.26299; Kanerva N., Sandboge S., Kaartinen N.E., Mianniste S., Eriksson J.G. Higher consumption of fructose is inversely proportional to the risk of nonalcoholic golic fatty liver disease in elderly Finns 1-4 years. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100:1133-1141. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.086074>]. Поэтому использование диеты, перегруженной фруктозой, также является перспективным направлением разработки моделей НАЖБП с перегрузкой железа.

По данным литературы описаны следующие модели перегрузки железом:

- модели перегрузки железом с использованием диет с высоким содержанием жиров (Zhang L., Dai S., Wang L., Cai J., Shen J., Shen I., Li S., Zhao Yu. Iron overload accelerates lipid metabolism disorders and liver damage in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Front Interior* 2022 Oct 11;9:961892. DOI: 10.3389/fnut.2022.961892. PMID: 36304234; PMCID: PMC9593083);

- влияние различных форм железа на воспроизведение модели перегрузки железом (Громова О.А., Торшин И.Ю., Демидов В.И., Жидоморов Н.Ю., Калачева А.Г., Богачева Т.Е., Гришина Т.Р. Экспериментальный лекарственный гепатит. Гепатопротекторные эффекты препарата Лаеннек на моделях токсического поражения печени парацетамолом или алкоголем. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;199(3): 86-92. DOI: 10.31146/1682-8658-экг-199-3-86-92);

- модели перегрузки железом с использованием различных микронутриентов: (Manar G. Helal, Dahlia H. El Kashef. Krill oil relieves oxidative stress, iron accumulation and fibrosis in the liver and spleen of rats with iron overload. PMID: 31823254 DOI: 10.1007/sl 1356-019-06983-1);

(da Cunha MSB, Campos Hankins N.A., Arruda S.F. The effect of vitamin A supplements on iron levels in humans: a systematic review and meta-analysis. Crit Rev Food Sci Nutr. 2019; 59(11):1767-1781. DOI: 10.1080/10408398.2018.1427552. Epub 2018 February 5. PMID: 29336593);

(Fu S., Wu D., Jiang V., Li J., Long J., Jia S., Zhou T. Molecular biomarkers in drug-induced liver damage: problems and prospects for the future. Front Pharmacol. 2020 Jan 30; 10:1667. DOI: 10.3389/fphar.2019.01667. PMID: 32082163; PMCID: PMC7002317) (Hazra B., Sarkar R., Mandal N. Bark extract of the stem, of *Spondias pinnata* reduces iron overload of the liver due to hemosiderosis in Swiss albino mice. Ann Hepatol. 2013 January-February; 12(1): 123-9. PMID: 2329320).

Модель перегрузки печени железом у крыс, воспроизводимая на основе применением рациона, богатого пальмовым маслом и фруктозой, не описана в литературе и при патентном поиске.

Технический результат предлагаемого изобретения заключается в создании фармакологической модели перегрузки печени железом у экспериментальных животных в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы с использованием доказательств путем оценки клинических, биохимических и показателей общего анализа крови, гистологических маркеров.

Разработка модели перегрузки печени железом в условиях добавления в диету насыщенных жиров и фруктозы были проведены на 24 белых крысах-самцах массой 300-400 г. Животные были разделены на 2 группы: первая группа (n=12) - интактный контроль; во второй (n=12) группе животным воспроизводилась модель перегрузки печени железом в условиях добавления в диету насыщенных жиров и фруктозы - особям внутрибрюшинно вводили железо сернокислое (II) 7-водное (хч) в дозе 50 мг/кг массы в сутки (АО «ЛенРеактив», паспорт №070051-81), в рацион питания добавляли твердую фракцию пальмового масла (CandleM, Индонезия) в дозировке 30 г/кг/сут, раствор фруктозы из расчета 1 г/кг/сутки (ООО «Компания «Сладкий мир», ТУ 10.86.10-027-72315488-2019, партия 210723) перорально в виде питьевого режима в течение 12 дней.

На 13 день исследования животных наркотизировали, проводили забор крови для биохимического исследования и секционного материала (печени, почек, мозг, сердце) для патогистологического исследования.

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденным санитарным врачом РФ от 29.08.2014 №51 об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Животные содержались в поликарбонатных клетках, группами одного пола (самцы), на подстилке; клетки покрыты стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. В качестве подстилки использовались опилки.

Корм для содержания лабораторных животных ЛБК-120, приготовленный по ГОСТ Р50258-92, давался ad libitum («по желанию») в кормовое углубление стальной решетчатой крышки клетки. Данные о составе и качестве корма от производителя хранились в документации лаборатории и в файле исследования. Животным давалась вода, соответствующая ГОСТ Р51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества». Вода в стандартных поилках со стальными крышками-носиками, давалась ad libitum («по желанию»).

Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (18-26°C и относительной влажности воздуха 30-70%). В комнатах содержания животных поддерживался 12-ти часовой цикл освещения. Контроль условий окружающей среды осуществлялся измерителем комбинированным Testo фирмы Testo AG (Германия) и фиксироваться в соответствующем журнале. Для акклиматизации лабораторные животные до начала исследования содержались 5 дней при одиночном содержании в клетках. Во время этого периода у животных ежедневно контролировалось

клиническое состояние путем визуального осмотра. Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями не были включены в экспериментальные группы.

При начале эксперимента животные были распределены по группам 1-2 так, чтобы индивидуальное значение массы тела не отклонялось от среднего по группе значения массы тела более чем на 20% (в пределах одного пола). Взвешивание осуществлялось на электронных весах для взвешивания крыс/мышей (пр-во Cas Corporation, Россия).

Наблюдения за животными проводились ежедневно; фиксировались общее состояние, аппетит, особенности поведения, интенсивность и характер двигательной активности, частота и глубина дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс.

В крови определяются биохимические показатели: ферритин, трансферрин, коэффициент насыщения трансферрина железом, железо в сыворотке, белок общий в сыворотке, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), креатинин в сыворотке, скорость клубочковой фильтрации, билирубин общий, билирубин прямой, билирубин непрямой, витамин В12 (цианокобаламин), витамин В9 (фолиевая кислота) и показатели общего анализа крови: ретикулоциты, фракция ретикулоцитов, лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцита, средн. сод. гемоглобина в эр-те, средн. конц. гемоглобина в эр-те, тромбоциты, индекс Mentzer, индекс Sirdah. Метод определения и оборудование указаны в таб. 1.

Патогистологическое исследование секционного материала. На 13 сутки от начала эксперимента животные выводились путем достижения наркотической смерти с использованием препарата Золетил. Материал для гистологического исследования получали в ходе аутопсии экспериментальных животных. Посредством краниотомии головной мозг извлекался целиком и фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина, через 1 сутки с помощью фронтальных разрезов выделялась зона прецентральной извилины переднего мозга, мозжечок, ствол головного мозга. После эвисцерации сердце, печень и почки фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина, через 1 сутки органы препарировались, выделялись фрагменты миокарда левого желудочка, правой и левой доли печени, кортикальные отделы правой и левой почек, которые повторно фиксировались. После вторичной фиксации и промывки материала проводка (обезвоживание) тканей головного мозга, печени и почек осуществлялась с помощью 99% изопропилового спирта. В дальнейшем кусочки заливались парафином и изготовленные на санном микротоме «Microm» гистологические срезы толщиной 5-6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Дубликаты срезов с помощью набора реактивов компании «Биовитрум» окрашены по Перльсу для выявления в тканях трехвалентного железа, результатом проведенной реакции должно быть образование окрашенной в синий цвет соли - берлинской лазури ($4\text{Fe}^{3+} + 3\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 = \text{Fe}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)_3 + 12\text{K}^+$).

Оценка патологических изменений органов крыс при моделировании вторичного гемохроматоза и стеатоза печени учитывала степень расстройства кровообращения, наличие и локализацию берлинской лазури, особенности ответной воспалительной реакции, структурные изменения паренхиматозных элементов. Микрофотографии получены с помощью исследовательского микроскопа «Micros» MC-200 и цифровой окулярной камеры DCM 900.

Результаты исследования: воспроизведение модели перегрузки печени железом у экспериментальных животных в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы. Исследованные биохимические параметры отражают степень насыщения железом органов и их функциональное состояние.

Ферритин - белок, в форме которого в основном запасается железо в организме. В крови ферритин присутствует в небольших количествах, его концентрация отражает запасы железа в организме.

Трансферрин - белок крови, функцией которого является транспорт железа. Трансферрин способен присоединить больше железа, чем весит сам. Степень «заполненности» трансферрина железом отражает показатель коэффициента насыщения трансферрина.

Ретикулоциты являются переходной формой между предшественниками эритроцитов в костном мозге и взрослыми эритроцитами, в большом количестве находящимися в кровяном русле. Процент ретикулоцитов в крови выявляет адекватность производства эритроцитов костным мозгом и степень его активности. Когда количество эритроцитов или гематокрит уменьшаются, процент ретикулоцитов может быть повышенным относительно общего числа эритроцитов - это искусственное завышение числа ретикулоцитов.

Среднее содержание гемоглобина в эритроците - показатель того, сколько гемоглобина в среднем содержится в одном эритроците. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците отражает насыщение эритроцита гемоглобином. Это более чувствительный параметр для определения нарушений образования гемоглобина.

Значительное повышение количества лейкоцитов обычно подтверждает воспаление. Общее содержание белка в сыворотке крови отражает состояние белкового обмена. Аспартатаминотрансфераза (АСТ) - фермент, который находится во всех клетках организма, но главным образом в клетках сердца и печени и в меньшей степени в почках и мышцах. В норме активность АСТ в крови очень низкая. При повреждении тканей печени или мышц она высвобождается в кровь. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) - фермент, который находится во всех клетках организма, главным образом в печени и почках, меньше его в сердце и мышцах. В норме активность АЛТ в крови очень низкая. Таким образом, АСТ и АЛТ являются показателем повреждений печени.

Креатинин - это остаточный продукт, получаемый в мышцах при разрушении вещества под названием креатин. Креатин входит в цикл, обеспечивающий организм энергией для сокращения мышц. После 7 секунд интенсивной физической активности креатинфосфат превращается в креатин, затем переходящий в креатинин, фильтрующийся в почках и выделяющийся с мочой. Креатин и креатинин стабильно продуцируются нашим телом в постоянном количестве. Почти весь креатинин выделяется почками, поэтому его концентрация в крови является хорошим показателем их функции.

Билирубин - маркер экскреторной и антитоксической функции печени - билирубин, один из промежуточных продуктов распада гемоглобина, происходящего в гепатоцитах.

В целом, созданная в эксперименте модель перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (на фоне внутрибрюшинного введения железа сернокислого (II) 7-водного (хч) в дозе 50 мг/кг/сут, добавления в рацион питания твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сут и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сут) имела значимое подтверждение по результатам общего анализа крови (фиг. 1) и биохимии крови (фиг. 2), выражалась следующими значениями:

- повышением содержания ферритина, коэффициента насыщения трансферрина железом, сывороточного железа, ретикулоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов;
- нарушение синтетической функции печени: снижалось количество общего белка и креатинина в сыворотке крови;
- отмечается нарушение антитоксической функции печени: содержание общего и прямого билирубина уменьшилось;
- идиокаторные ферменты цитолитического синдрома: аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ) имели высокие значения;
- нарушение экскреторной функции почек характеризует снижение скорости клубочковой фильтрации.

Предлагаемая модель имела гистологическое подтверждение вторичного гемохроматоза и стеатоза печени, возникающего на фоне внутрибрюшинного введения железа сернокислого (II) 7-водного (хч) в дозе 50 мг/кг/сут, добавления в рацион питания твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сут и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сут. В условиях избыточного поступления жирных кислот, фруктозы и железа сернокислого в организм лабораторных животных (группа 2) структурные изменения печени, почек, мозга, сердца нашли отражение во всех случаях наблюдений, но имели различную степень выраженности.

Во всех наблюдениях контрольной группы (группа 1) микроскопическая картина ткани печени соответствовала норме. В пределах отдельно взятой печеночной доли при сохранении гистоархитектоники гепатоциты имели привычную конфигурацию и равномерную окраску с равномерным распределением ультраструктур в цитоплазме без образования берлинской лазури, наблюдалась равномерная перфузия синусоидов как в центральной и в перипортальной зонах, в стромах портальных трактов присутствовали единичные лимфоциты (фиг. 3). Исследование корковой зоны почек показало привычное строение клубочков с нормальным уровнем перфузии кровью, свободным мезангиальным пространством. Нефроциты в пределах извитых проксимальных и дистальных канальцев не имели повреждений (фиг. 4). Головной мозг крыс контрольной группы имел нормальный уровень перфузии без признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани. Нейроны имели привычную форму и размеры с четкими контурами ядер. В цитоплазме пирамидных нейронов коры полушарий переднего мозга глыбки Ниссля имели равномерное

распределение (фиг. 5). В миокарде левого желудочка наблюдались ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (фиг. 6).

Во второй группе через 12 дней введения сульфата железа, пальмового масла и раствора фруктозы в печени наблюдалось накопление железосодержащих соединений в пространстве Диссе, цитоплазме гепатоцитов и купферовских клеток перипортальной зоны печеночных долек (фиг. 7а). В центральных отделах печеночной дольки гепатоциты содержали мелкие капли липидов (фиг. 7б). Железосодержащий субстрат в печени перераспределился и активно накапливался в цитоплазме купферовских клеток (фиг. 7в) и между соединительнотканными волокнами капсулы печени (фиг. 7г), при этом большинство гепатоцитов были свободны от берлинской лазури. Наблюдалось прогрессирование жировой дистрофии гепатоцитов с образованием крупных вакуолей с липидами в их цитоплазме (фиг. 7д). В большинстве наблюдений строма портальных трактов имела воспалительно-клеточный инфильтрат, состоящий преимущественно из Т-лимфоцитов и эозинофилов (фиг. 7е), (фиг. 7ж).

Исследование гистологических срезов кортикальной зоны почек показало накопление мелких зерен «железа» в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев, которое носило диффузно-очаговый характер (фиг. 8а). Просветы дистальных извитых канальцев были обтурированы эозинофильными массами из нерастворимых углеводов и липидов, что свидетельствовало о нарушении гломерулярного фильтра (фиг. 8б). Наблюдалась активная экскреция железосодержащих соединений, что подтверждается прокрашиванием в синий цвет мочи в просветах дистальных отделов извитых канальцев (фиг. 8в). При этом явлении нефроциты дистальных канальцев, учитывая их реабсорбционную компетентность, стали активно накапливать «железо» в своей цитоплазме, нефроциты проксимальных канальцев сохраняли в цитоплазме единичные зерна берлинской лазури (фиг. 8г).

При исследовании головного мозга на фоне умеренно выраженного периваскулярного и перицеллюлярного отека нервной ткани (фиг. 9а) наблюдалось очаговое накопление железосодержащих веществ в периваскулярном пространстве (фиг. 9б). Структурных нарушений нейронов не обнаружено. В нервной ткани полушарий большого мозга и мозжечка имеются одиночные очаги с глыбками берлинской лазури, кроме того отмечалась активность астроцитов, в цитоплазме которых располагались мелкие гранулы железосодержащих продуктов (фиг. 9в).

Исследование сердца экспериментальных животных показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда (фиг. 10а). Минимальные изменения обнаружены в виде мелкоочагового отложения гранул берлинской лазури в цитоплазме кардиомиоцитов (фиг. 10б), (фиг. 10в).

Созданная в эксперименте комплексная модель перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (комплексная модель вторичного гемохроматоза и стеатоза печени) имела достоверное морфологическое подтверждение и выражалась следующими структурными изменениями печени, почек, головного мозга, миокарда на микроскопическом уровне: а) в печени - наблюдалось накопление железосодержащих продуктов (гемосидерина или ферритина - оба пигмента содержат трехвалентное железо, поэтому реактив Перльса дает одинаковый результат) в цитоплазме гепатоцитов, пространстве Диссе перипортальной зоны печеночной дольки. Выявлена макрофагальная активность звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) с тенденцией к нарастанию уровня фагоцитоза железосодержащих продуктов. Жировая дистрофия гепатоцитов (как главный морфологический критерий стеатоза) носила диффузно-очаговый характер с локализацией в центрах печеночных долек и выражалась мелкокапельным ожирением гепатоцитов. Наличие в строме портальных трактов воспалительно-клеточного инфильтрата с участием эозинофилов свидетельствует о развитии реактивного (медикаментозного) гепатита; б) в почках - в отсутствии значимых расстройств кровообращения и воспалительной реакции на 13 день наблюдалась инфильтрация железосодержащих продуктов в цитоплазму нефроцитов на всем протяжении канальцев, а так же отмечена экскреция и реабсорбция железа, что привело к перегрузке железосодержащими продуктами нефроцитов дистальных извитых канальцев; в) в головном мозге и в миокарде содержание железа оказалось минимальным в виде фокальных очагов скопления мелких глыбок берлинской лазури.

Примеры воспроизведения модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (модель вторичного гемохроматоза и стеатоза печени)

Группа 1 (Контроль)

Крыса №1.1

До исследования масса крысы 1.1 составила 330 г, белый окрас, гладкую блестящую шерсть, чистый кожный покров. Крыса активная, потребление корма и воды - не ниже установленных норм кормления. На протяжении всех дней исследования наблюдался нормальный мышечный тонус и двигательная активность, чистая сухая шерсть. Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 3,1; ретикулоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 272,9; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 46,4; лейкоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 3,52; эритроциты ($\cdot 10^{12}/\text{л}$) - 9,21; гемоглобин (г/л) - 145; гематокрит (%) - 48,1; средний объем эритроцита (fl) - 52,2; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 15,7; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 301; тромбоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 410; индекс mentzer - 5,67; индекс sirdah- (-0,5);

витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 64,1; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 315; белок общий в сыворотке (г/л) - 60,8; аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 128,3; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 19,8; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 34; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 175; ферритин (мкг/л) - 221,3; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 989,8; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 24,87; билирубин общий (мкмоль/л) - 5,88; билирубин прямой (мкмоль/л) - 1,33;

При патогистологическом исследовании у крысы 1.1 микроскопическая картина ткани печени соответствовала норме. В пределах отдельно взятой печеночной долики при сохранении гистоархитектоники гепатоциты имели привычную конфигурацию и равномерную окраску с равномерным распределением ультраструктур в цитоплазме без образования берлинской лазури (фиг. 3а). Исследование корковой зоны почек показало привычное строение клубочков с нормальным уровнем перфузии кровью, свободным мезангиальным пространством (фиг. 4а). В головном мозге отмечается нормальный уровень перфузии без признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани (фиг. 5а). В миокарде левого желудочка наблюдались ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (фиг. 6а).

Примеры гистологической картины ткани печени в контрольной группе (фиг. 3).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Структура неизменной печеночной долики с

трабекулярным уложением гепатоцитов. Реакция Перльса б) Крыса №2.1.

Равномерная перфузия всех отделов печеночной долики. Окраска гематоксилином и эозином, б) Крыса №3.1. Единичные лимфоциты в строме портального тракта.

Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани почек в контрольной группе (фиг. 4).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Почечный клубочек имеет просвет капсулы и

свободный мезангиум. б) Крыса №2.1. Клетки эпителия проксимальных и дистальных извитых канальцев с гомогенной окраской цитоплазмы. Окраска гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Корковая зона почек с нормальным уровнем перфузии

кровью. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани головного мозга в контрольной группе

(фиг. 5). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Нормальный уровень перфузии без

признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани, б) Крыса

№2.1. Нейроны привычной формы и размером с четкими контурами ядер. Окраска

гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Пирамидные нейроны привычной

конфигурации с равномерным распределением глыбок Ниссля в цитоплазме. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани миокарда в контрольной группе (фиг. 6).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Ориентированные сократительные волокна с

сохраненной поперечной исчерченностью в миокарде левого желудочка. Окраска

гематоксилином и эозином, б) Крыса №2.1. Сократительные волокна равномерной

окраски и толщины, видны анизотропные диски, в) Крыса №3.1. Сократительные

волокна с сохраненной поперечной исчерченностью. Окраска гематоксилином и эозином.

Крыса №2.1

В исследование крыса 2.1 имела массу 368 г, шерсть была чистая, блестящая, кожный покров без внешних признаков заболеваний. Крыса активная, потребление корма - в норме. На протяжении всех дней исследования наблюдался нормальный мышечный тонус и двигательной активности.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови:

ретикулоциты (%) - 2,2; ретикулоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 209; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 37; лейкоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 3,64; эритроциты ($\cdot 10^{12}/\text{л}$) - 9,23; гемоглобин (г/л) - 149; гематокрит (%) - 49,4; средний объем эритроцита (fl) - 52,4;

средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 15,8; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 301; тромбоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 514; индекс mentzer - 5,65; индекс sirdah - (-1,41);

витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 40,3; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 312; белок общий в сыворотке (г/л) - 60,5; аспартатаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 126,8; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 20,1; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 35; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 165,2; ферритин (мкг/л) - 198,7; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 1020,3; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 25,22; билирубин общий (мкмоль/л) - 5,12; билирубин прямой (мкмоль/л) - 1,01;

При патогистологическом исследовании у крысы 2.1 микроскопическая картина ткани печени соответствовала норме. В пределах отдельно взятой печеночной долики наблюдалась равномерная перфузия синусоидов как в центральной и в перипортальной зонах (фиг. 3б). Нефроциты в пределах извитых проксимальных и дистальных канальцев не имели повреждений (фиг. 4б). При патогистологическом исследовании нейроны имели привычную форму и размеры с четкими контурами ядер (фиг. 5б). Клетки миокарда имели нормальное строение, сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (фиг. 6б).

Примеры гистологической картины ткани печени в контрольной группе (фиг. 3).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Структура неизменной печеночной долики с

трабекулярным уложением гепатоцитов. Реакция Перльса б) Крыса №2.1.

Равномерная перфузия всех отделов печеночной долики. Окраска гематоксилином и эозином, б) Крыса №3.1. Единичные лимфоциты в строме портального тракта.

Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани почек в контрольной группе (фиг. 4).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Почечный клубочек имеет просвет капсулы и свободный мезангиум. б) Крыса №2.1. Клетки эпителия проксимальных и дистальных

извитых канальцев с гомогенной окраской цитоплазмы. Окраска гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Корковая зона почек с нормальным уровнем перфузии кровью. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани головного мозга в контрольной группе

(фиг. 5). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Нормальный уровень перфузии без признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани, б) Крыса №2.1. Нейроны привычной формы и размером с четкими контурами ядер. Окраска гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Пирамидные нейроны привычной конфигурации с равномерным распределением глыбок Ниссля в цитоплазме. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани миокарда в контрольной группе (фиг. 6).

Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью в миокарде левого желудочка. Окраска гематоксилином и эозином, б) Крыса №2.1. Сократительные волокна равномерной окраски и толщины, видны анизотропные диски, в) Крыса №3.1. Сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью. Окраска гематоксилином и эозином.

Крыса №3.1

В эксперименте крыса 3.1 имела массу 396 г, чистую, гладкую шерсть. Животное подвижное, неагрессивное, потребление корма и воды - не ниже установленных норм кормления. На протяжении всех дней исследования наблюдался нормальный мышечный тонус, признаков агрессии не отмечалось.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови:

ретикулоциты (%) - 2,4; ретикулоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 229; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 38; лейкоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 4,2; эритроциты ($\cdot 10^{12}/\text{л}$) - 9,43; гемоглобин (г/л) - 143; гематокрит (%) - 45; средний объем эритроцита (fl) - 50,5; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 301; тромбоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 424; индекс mentzer - 5,75; индекс sirdah - (-1,42);

витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 36,9; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 215; белок общий в сыворотке (г/л) - 60,7; аспартатаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 127,5; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 21,1; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 37; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 164,3; ферритин (мкг/л) - 118,5; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 1090,1; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 27,39; билирубин общий (мкмоль/л) - 5,67; билирубин прямой (мкмоль/л) - 1,38;

При патогистологическом исследовании у крысы 3.1 микроскопическая картина ткани печени соответствовала норме. Структура гепатоцитов не изменена, распределение ультраструктур в цитоплазме без образования берлинской лазури, в

строме портальных трактов присутствовали единичные лимфоциты (фиг. 3в). Исследование корковой зоны почек показало типичное строение клубочков с нормальным уровнем перфузии кровью (фиг. 4в). В цитоплазме пирамидных нейронов коры полушарий переднего мозга глыбки Ниссля имели равномерное распределение (фиг. 5в). В миокарде левого желудочка сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (фиг. 6в).

Примеры гистологической картины ткани печени в контрольной группе (фиг. 3). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Структура неизменной печеночной долики с трабекулярным уложением гепатоцитов. Реакция Перльса б) Крыса №2.1. Равномерная перфузия всех отделов печеночной долики. Окраска гематоксилином и эозином, б) Крыса №3.1. Единичные лимфоциты в строме портального тракта. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани почек в контрольной группе (фиг. 4). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Почечный клубочек имеет просвет капсулы и свободный мезангиум. б) Крыса №2.1. Клетки эпителия проксимальных и дистальных извитых канальцев с гомогенной окраской цитоплазмы. Окраска гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Корковая зона почек с нормальным уровнем перфузии кровью. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани головного мозга в контрольной группе (фиг. 5). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Нормальный уровень перфузии без признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани, б) Крыса №2.1. Нейроны привычной формы и размером с четкими контурами ядер. Окраска гематоксилином и эозином, в) Крыса №3.1. Пирамидные нейроны привычной конфигурации с равномерным распределением глыбок Ниссля в цитоплазме. Окраска гематоксилином и эозином.

Примеры гистологической картины ткани миокарда в контрольной группе (фиг. 6). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.1. Ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью в миокарде левого желудочка. Окраска гематоксилином и эозином, б) Крыса №2.1. Сократительные волокна равномерной окраски и толщины, видны анизотропные диски, в) Крыса №3.1. Сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью. Окраска гематоксилином и эозином.

Группа 2 (модель перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы; модель вторичного гемохроматоза и стеатоза печени)

Крыса №1.2

В начале эксперимента крыса 1.2 имела массу 380 г, белый окрас, гладкую блестящую шерсть, чистый кожный покров. Крыса активная, неагрессивная, потребление корма - не ниже установленных норм кормления. С 3 дня исследования наблюдались признаки полиурии (влажная шерсть, факт частой смены опилок-наполнителя), дегидратации (сухость кожи, слизистой глаз, ее тусклость) и снижение двигательной активности, мышечного тонуса. Крыса стала более агрессивной.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 3,2; ретикулоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 482,9; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 45,8; лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 7,58; эритроциты ($\times 10^{12}/\text{л}$) - 6,32; гемоглобин (г/л) - 102; гематокрит (%) - 32,4; средний объем эритроцита (fl) - 51,3; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,2; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 315; тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 761; индекс mentzer - 8,12; индекс sirdah - (14,38); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 64,8; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 196; белок общий в сыворотке (г/л) - 48,3; аспартатаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 315; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 47; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 20; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 169,13; ферритин (мкг/л) - 248; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 2577,4; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 64,76; билирубин общий (мкмоль/л) - 2,14; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,9;

При патогистологическом исследовании у крысы 1.2 через 12 дней введения сульфата железа, пальмового масла и раствора фруктозы в печени наблюдалось накопление железосодержащих соединений в пространстве Диссе, цитоплазме гепатоцитов и купферовских клеток перипортальной зоны печеночных долек (фиг. 7а). В центральных отделах печеночной долики гепатоциты содержали мелкие капли липидов (фиг. 7б) Исследование гистологических срезов кортикальной зоны почек показало накопление мелких зерен «железа» в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев, которое носило диффузно-очаговый характер (фиг. 8а). Просветы дистальных извитых канальцев были обтурированы

эозинофильными массами из нерастворимых углеводов и липидов, что свидетельствовало о нарушении гломерулярного фильтра (фиг. 8б). При исследовании головного мозга на фоне умеренно выраженного периваскулярного и перичеллюлярного отека нервной ткани (фиг. 9а) наблюдалось очаговое накопление железосодержащих веществ в периваскулярном пространстве (фиг. 9б). Структурных нарушений нейронов не обнаружено. Исследование сердца показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда (фиг. 10а).

Примеры гистологической картины ткани печени в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 7). Крыса №1.2. а) Внутри и внеклеточное отложение глыбок берлинской лазури на периферии печеночной дольки. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$. б) Мелкокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 480$. Крыса №2.2. в) Цитоплазма звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) насыщена берлинской лазурью. Реакция Перльса. Увеличение $\times 480$. г) Очаговое скопление берлинской лазури в капсуле печени. Реакция Перльса. Увеличение $\times 480$. д) Крыса №3.2. Крупнокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1200$. е) Воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портального тракта. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1200$. ж) В составе инфильтрата Т-лимфоциты (А), эозинофилы (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1200$.

Примеры гистологической картины ткани почек в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 8). Крыса №1.2. а) Зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$. б) Эозинофильные массы в просветах дистальных отделов канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 480$. в) Крыса №2.2. Окрашивание в синий цвет содержимого дистальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение $\times 480$. г) Крыса №3.2. Цитоплазма нефроцитов дистальных канальцев насыщена железосодержащими продуктами (А), мелкие зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев (Б). Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$.

Примеры гистологической картины ткани головного мозга в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 9). Крыса №1.2. а) Периваскулярный и перичеллюлярный отек нервной ткани (А), пирамидный нейрон без структурных изменений (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 480$. б) Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$. в) Крыса №2.2. Накопление железосодержащих гранул в цитоплазме астроцита. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$. г) Крыса №3.2. Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$.

Примеры гистологической картины ткани миокарда в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 10). Увеличение $\times 480$. а) крыса №1.2. Сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда. б) Крыса №2.2. Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$. в) Крыса №3.2. Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение $\times 1200$.

Крыса №2.2

Масса крысы 320 г, шерсть чистая, кожный покров без внешних признаков заболеваний. Крыса активная, потребление корма - не ниже установленных норм кормления. С 3 дня исследования крыса стала меньше потреблять корм, больше пить раствор с фруктозой. Шерсть у животного выглядит «взъерошенной», понизилась двигательная активность. Отмечаются признаки полиурии.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 5,9; ретикулоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 525,3; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 59,9; лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 5,32; эритроциты ($\times 10^{12}/\text{л}$) - 8,98; гемоглобин (г/л) - 147; гематокрит (%) - 47,9; средний объем эритроцита (fl) - 53,3; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,3; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 307; тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$) - 1004; индекс mentzer - 5,94; индекс sirdah - (0,22);

витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 63,2; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 187; белок общий в сыворотке (г/л) - 54,3; аспартатаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 318,5; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 63,7; креатинин в сыворотке

(мкмоль/л) - 25; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 166,58; ферритин (мкг/л) - 212,5; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 2602,2; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 16,12; билирубин общий (мкмоль/л) - 1,1633; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,8;

При патогистологическом исследовании у крысы 2.2 железосодержащий субстрат в печени перераспределился и активно накапливался в цитоплазме купферовских клеток (фиг. 7в) и между соединительнотканными волокнами капсулы печени (фиг. 7г), при этом большинство гепатоцитов были свободны от берлинской лазури. Наблюдалась активная экскреция железосодержащих соединений, что подтверждается прокрашиванием в синий цвет мочи в просветах дистальных отделов извитых канальцев (фиг. 8в). В нервной ткани полушарий большого мозга и мозжечка сохранялись одиночные очаги с глыбками берлинской лазури, кроме того отмечалась активность астроцитов, в цитоплазме которых располагались мелкие гранулы железосодержащих продуктов (фиг. 9в). Минимальные изменения обнаружены в виде мелкоочагового отложения гранул берлинской лазури в цитоплазме кардиомиоцитов (фиг. 10б).

Примеры гистологической картины ткани печени в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 7). Крыса №1.2. а) Внутри и внеклеточное отложение глыбок берлинской лазури на периферии печеночной дольки. Реакция Перльса. Увеличение ×1200. б) Мелкокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×480. Крыса №2.2. в) Цитоплазма звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) насыщена берлинской лазурью. Реакция Перльса. Увеличение ×480. г) Очаговое скопление берлинской лазури в капсуле печени. Реакция Перльса. Увеличение ×480. д) Крыса №3.2. Крупнокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×1200. е) Воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портального тракта. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×1200. ж) В составе инфильтрата Т-лимфоциты (А), эозинофилы (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×1200.

Примеры гистологической картины ткани почек в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 8). Крыса №1.2. а) Зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение ×1200. б) Эозинофильные массы в просветах дистальных отделов канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×480. в) Крыса №2.2. Окрашивание в синий цвет содержимого дистальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение ×480. г) Крыса №3.2. Цитоплазма нефроцитов дистальных канальцев насыщена железосодержащими продуктами (А), мелкие зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев (Б). Реакция Перльса. Увеличение ×1200.

Примеры гистологической картины ткани головного мозга в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 9). Крыса №1.2. а) Периваскулярный и перичеллюлярный отек нервной ткани (А), пирамидный нейрон без структурных изменений (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×480. б) Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение ×1200. в) Крыса №2.2. Накопление железосодержащих гранул в цитоплазме астроцита. Реакция Перльса. Увеличение ×1200. г) Крыса №3.2. Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение ×1200.

Примеры гистологической картины ткани миокарда в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (фиг. 10). Увеличение ×480. а) крыса №1.2. Сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда. б) Крыса №2.2. Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение ×1200. в) Крыса №3.2. Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение ×1200.

Крыса №3.2

Масса крысы 377 г, шерсть чистая, кожный покров без внешних признаков заболеваний. Крыса активная, потребление корма - не ниже установленных норм кормления. Шерсть влажная и «взъерошенная». Крыса много пьет раствор с фруктозой. На 10 день исследования у крысы на левом боку отмечается выдранный клочек шерсти.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 5,4; ретикулоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 45; 7,1; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 63,8; лейкоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 4,97; эритроциты ($\cdot 10^{12}/\text{л}$) - 8,48; гемоглобин (г/л) - 137; гематокрит (%) - 47,1; средний объем эритроцита (fl) - 55,5; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,2; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 291; тромбоциты ($\cdot 10^9/\text{л}$) - 652; индекс mentzer - 6,54; индекс sirdah - (5,92); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 56,1; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 195; белок общий в сыворотке (г/л) - 40,5; аспартатаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 320,8; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 39,7; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 22; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) - 162,51; ферритин (мкг/л) - 236,3; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 770,5; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 19,36; билирубин общий (мкмоль/л) - 3,13; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,81.

При патогистологическом исследовании у животного 3.2 наблюдалось прогрессирование жировой дистрофии гепатоцитов с образованием крупных вакуолей с липидами в их цитоплазме (фиг. 7д). Строма портальных трактов имела воспалительно-клеточный инфильтрат, состоящий преимущественно из Т-лимфоцитов и эозинофилов (фиг. 7е), (фиг. 7ж), выраженность воспалительной реакции была умеренной. Нефроциты дистальных канальцев, учитывая их реабсорбционную компетентность, стали активно накапливать «железо» в своей цитоплазме, нефроциты проксимальных канальцев сохраняли в цитоплазме единичные зерна берлинской лазури (фиг. 8г). В нервной ткани полушарий большого мозга и мозжечка сохранялись очаговые отложения железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве (фиг. 9г). Исследование сердца экспериментальных животных показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда.

Метод и оборудование для определения показателей

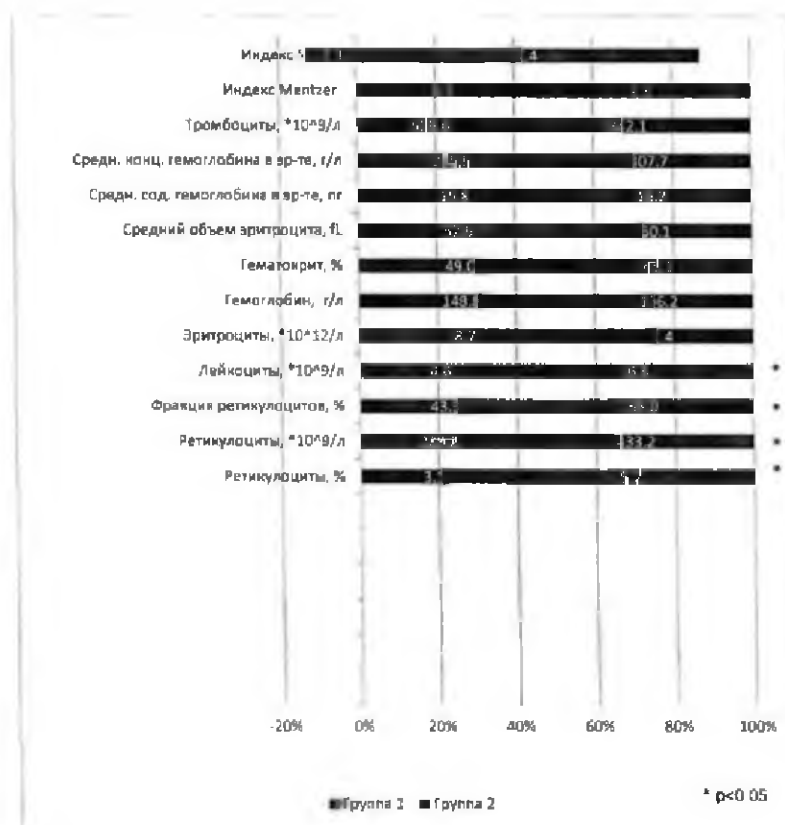
Показатель	Метод и оборудование
Ферритин	Иммунотурбидиметрия (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Трансферрин	Иммунотурбидиметрия (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Железо в сыворотке	Колориметрический фотометрический метод (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Ретикулоциты	Проточная цитофлуориметрия (BC-6200, Mindray, Китай)
Лейкоциты Эритроциты Гемоглобин Гематокрит Средний объем эритроцита Средн. сод. гемоглобина в эр-те Средн. конц. гемоглобина в эр-те Тромбоциты	Кондуктометрический метод, SLS(натрий лаурил сульфат)-метод, проточная цитофлуориметрия (BC-6200, Mindray, Китай)
Общий белок	Колориметрический фотометрический метод (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Аспартатаминотрансфераза (АСТ)	УФ кинетический тест (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	УФ кинетический тест (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Креатинин в сыворотке (с определением СКФ)	Кинетический (метод Яффе) (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Билирубин общий	Колориметрический фотометрический метод (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Билирубин прямой	Колориметрический фотометрический метод (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Витамин В ₁₂	Электрохемилюминесцентный иммуноанализ (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)
Витамин В ₉ (фолиевая кислота)	Конкурентный твердофазный хемилюминесцентный иммуноферментный анализ (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария)

Таб. 1.

Формула изобретения

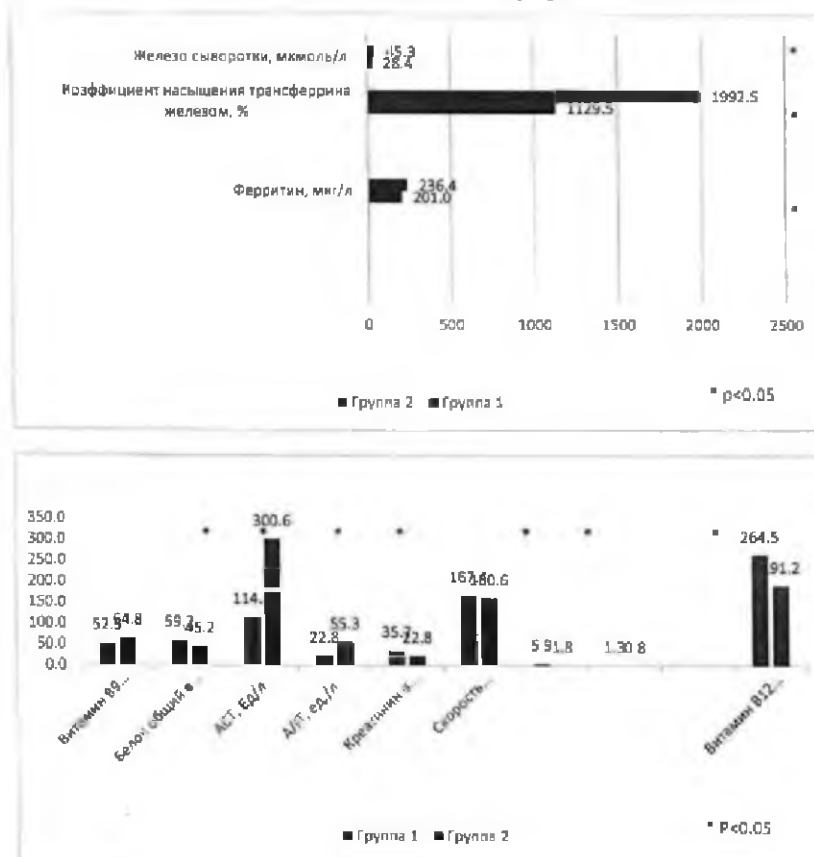
Способ моделирования перегрузки печени железом у экспериментальных животных, заключающийся в том, что создают модель перегрузки печени железом у крыс путем внутрибрюшинного введения железа сернокислого (II) 7-водного (хч) в дозе 50 мг/кг/сут в условиях перорального избыточного потребления твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сут и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сут в течение 12 дней.

Показатели общего анализа крови при моделировании перегрузки печени железом



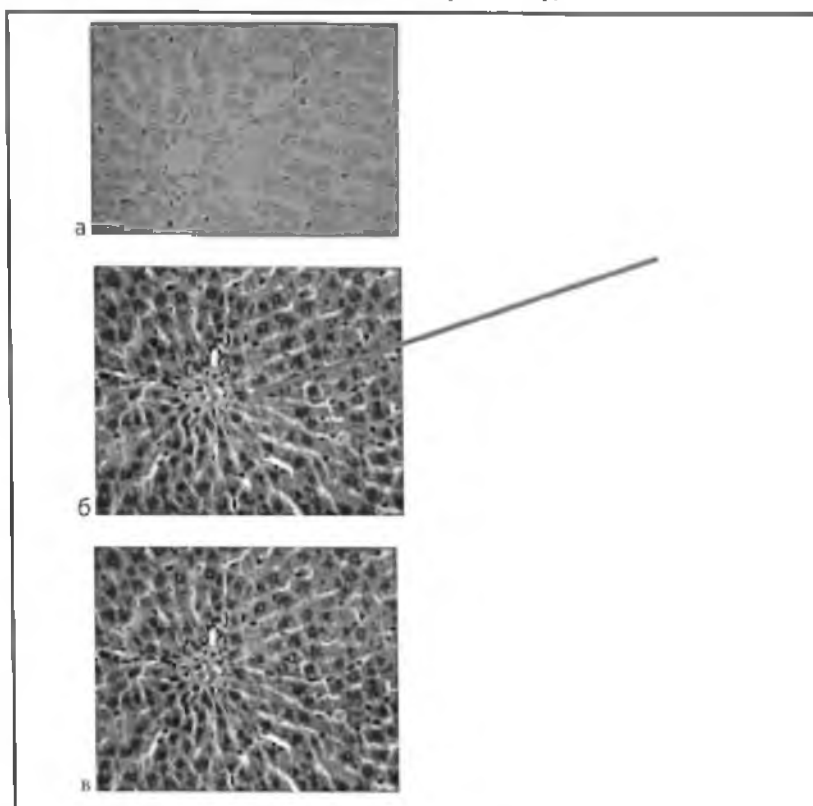
Фиг. 1

Показатели биохимии крови при моделировании перегрузки печени железом



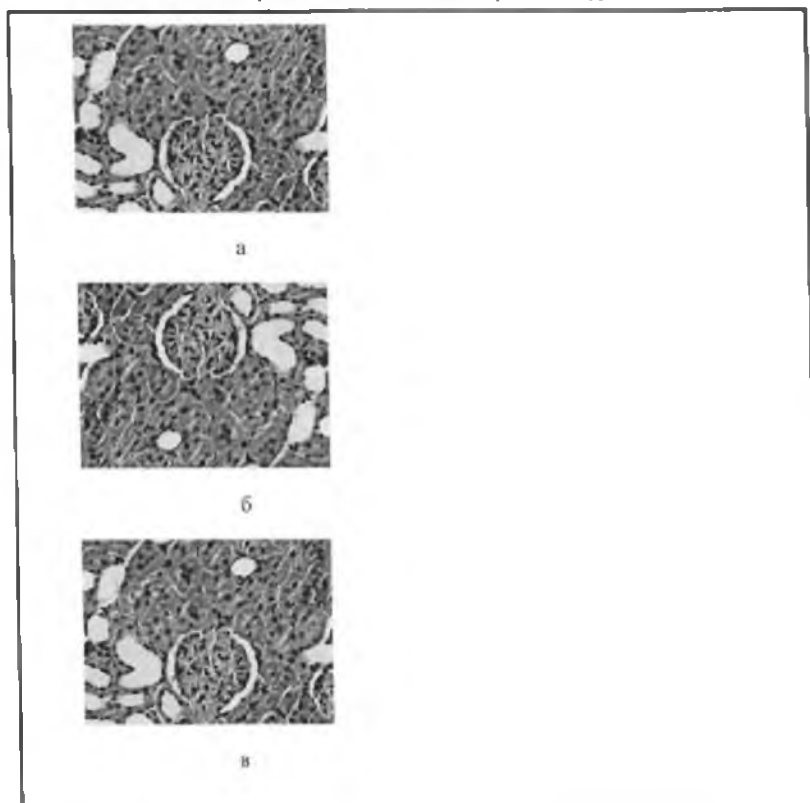
Фиг. 2

Гистологическая картина ткани печени в контрольной группе



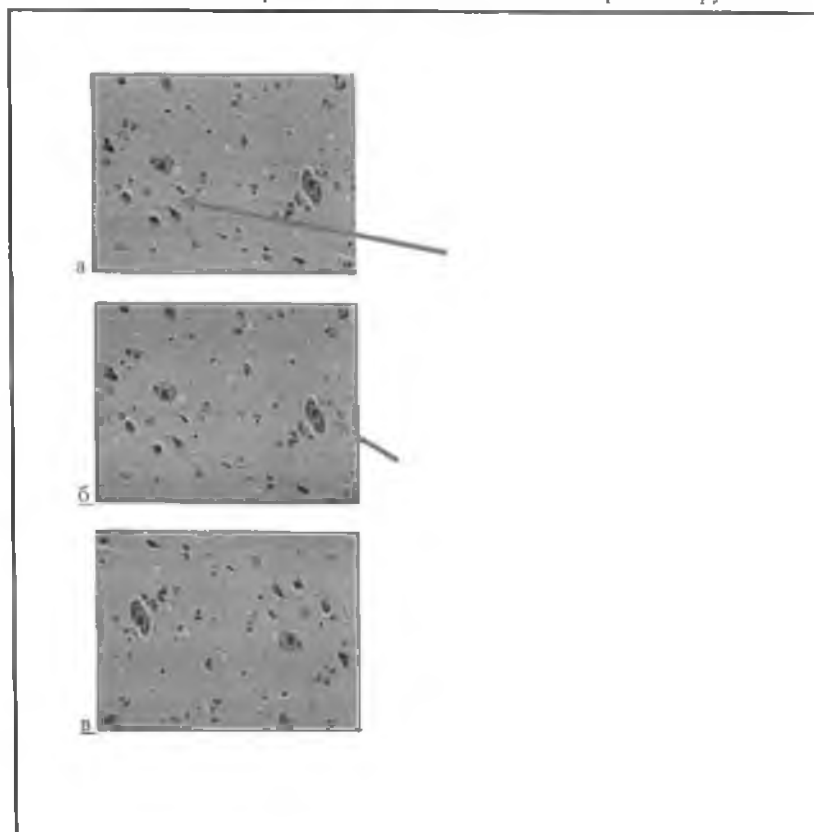
Фиг. 3

Гистологическая картина ткани почек в контрольной группе



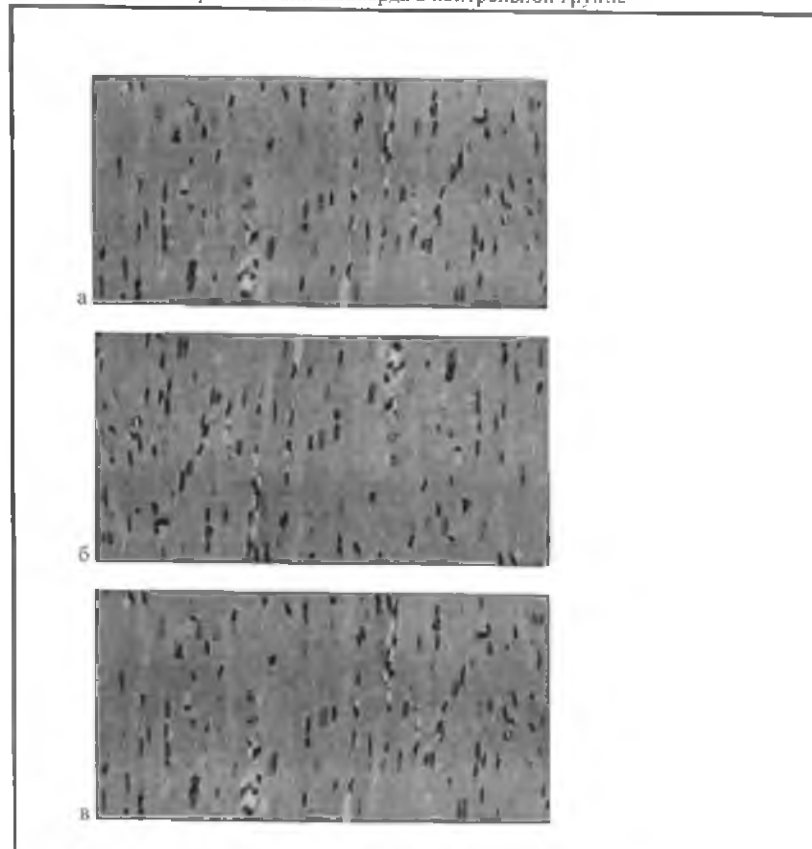
Фиг. 4

Гистологическая картина ткани головного мозга в контрольной группе



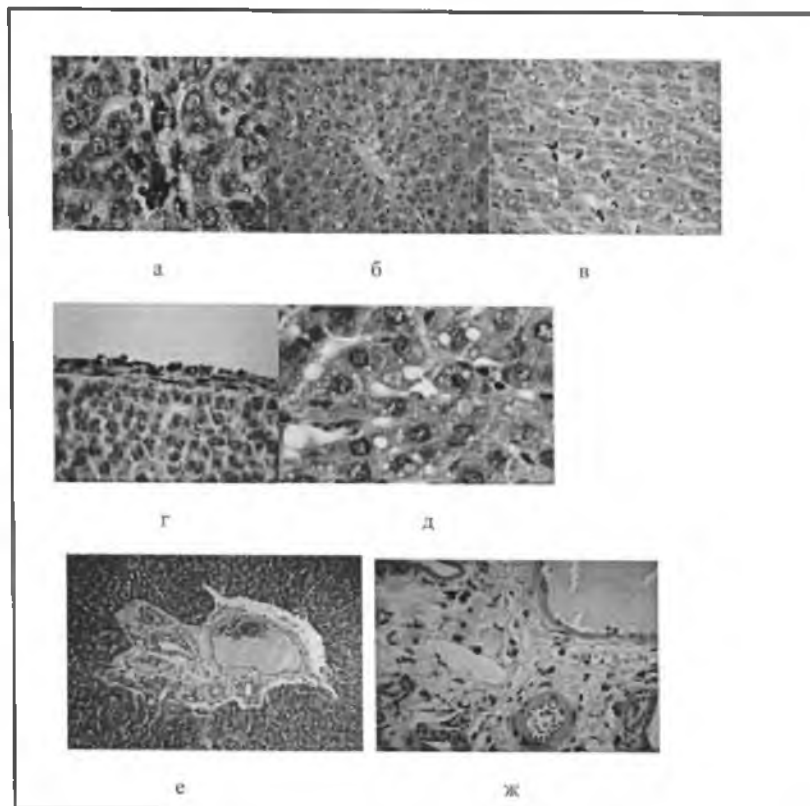
Фиг. 5

Гистологическая картина ткани миокарда в контрольной группе



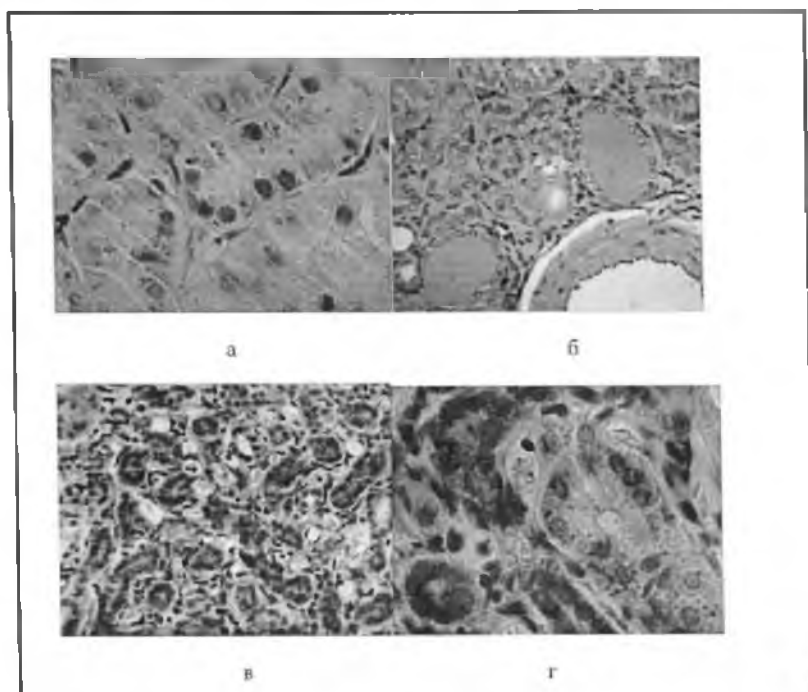
Фиг. 6

Гистологическая картина ткани печени во второй группе животных



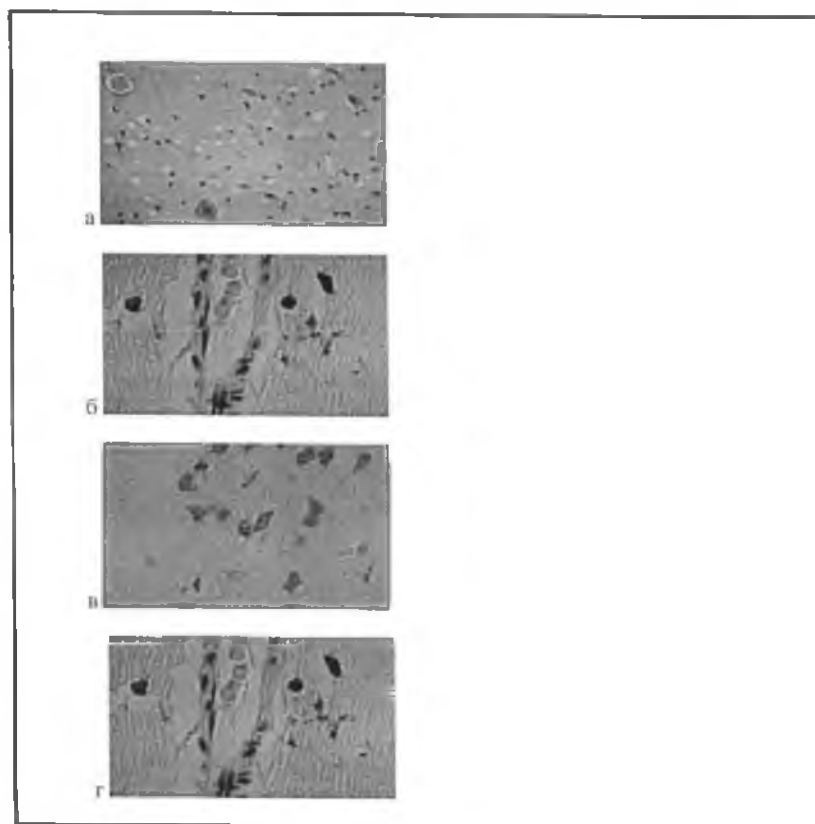
Фиг. 7

Гистологическая картина ткани почек во второй группе животных



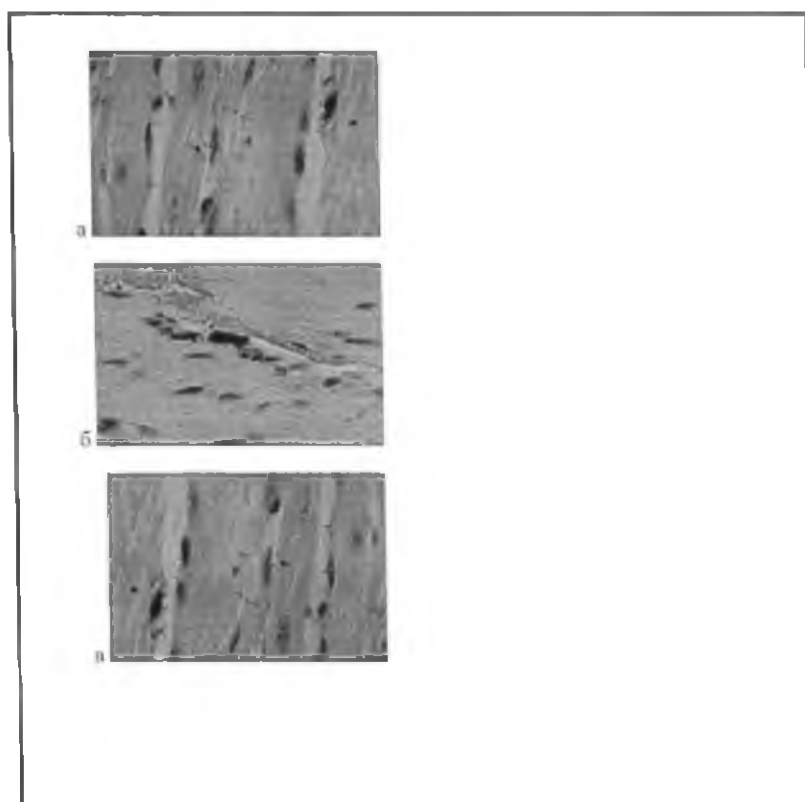
Фиг. 8

Гистологическая картина ткани головного мозга во второй группе животных



Фиг. 9

Гистологическая картина ткани миокарда во второй группе животных



Фиг. 10