

# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2871130

**Способ оценки эффективности применения инозитолового  
витамино-минерального комплекса Дикироген на  
фармакологической модели метаболически-ассоциированной  
жировой болезни печени с перегрузкой 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), Торшин Иван Юрьевич (RU), Мудрова Оксана  
Николаевна (RU)**

Заявка № 2026105879

Приоритет изобретения 04 марта 2026 г.

Дата государственной регистрации  
в Государственном реестре изобретений  
Российской Федерации 30 сентября 2026 г.

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 04 марта 2046 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) **2 871 130** (13) C1

(51) МПК

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

[G01N 33/52 \(2006.01\)](#)

[A61K 31/047 \(2006.01\)](#)

[A61P 1/16 \(2006.01\)](#)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 10.10.2026)  
Пошлина: учтена за 5 год с 05.03.2030 по 04.03.2031. Установленный срок для уплаты пошлины за 6 год: с 05.03.2030 по 04.03.2031. При уплате пошлины за 6 год в дополнительный 6-месячный срок с 05.03.2031 по 04.09.2031 размер пошлины увеличивается на 50%.

Начисление для уплаты  
пошлины за поддержание  
патента в силе

(52) СПК

[G09B 23/28 \(2026.05\)](#); [G01N 33/52 \(2026.05\)](#); [A61P 1/16 \(2026.05\)](#)

(21)(22) Заявка: [2026105879](#), 04.03.2026

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
04.03.2026

Дата регистрации:  
30.09.2026

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.03.2026

(45) Опубликовано: [30.09.2026](#) Бюл. № [28](#)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2837019 C1, 25.03.2025. RU 2844842 C1, 07.08.2025. RU 2728418 C1, 29.07.2020. Богачева Т.Е. и др. Изучение эффективности гидролизата плаценты человека на новой модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом / ФАРМАКОЭКОНОМИКА / Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология, 2024; т. 17, N 4, стр.

489-503. Обоскалова Т.А. и др. Результаты применения комбинации миоинозитола и D-хироинозитола в соотношении 5:1 у женщин с синдромом поликистозных яичников / Гинекология, 2020; 22 (6), стр. 84-89.

Адрес для переписки:

153012, Ивановская обл., г. Иваново,  
Шереметевский пр-кт, 8, ФГБОУ ВО  
"ИВАНОВСКИЙ ГМУ" МИНЗДРАВА  
РОССИИ

(72) Автор(ы):

Богачева Татьяна Евгеньевна (RU),  
Громова Ольга Алексеевна (RU),  
Гришина Татьяна Романовна (RU),  
Калачева Алла Геннадьевна (RU),  
Демидов Вадим Игоревич (RU),  
Торшин Иван Юрьевич (RU),  
Мудрова Оксана Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

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

(54) Способ оценки эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген на фармакологической модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом у экспериментальных животных

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к оценке эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген у экспериментальных животных на модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом. Внутривенно крысам вводят железо сернокислое (II) 7-водного (хч) в дозе 50 мг/кг/сутки, в условиях перорального избыточного потребления твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сутки и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сутки в течение 12 дней. Затем вводят инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген в дозе 400 мг/кг/сутки перорально в течение 4 недель и проводят биохимический и общий анализ крови. При показателях: ферритине от 126 до 240 мкг/л, железа в сыворотке крови от 19 до 29 мкмоль/л, АСТ от 60 до 132 Ед/л, АЛТ от 23 до 30,4 Ед/л, лейкоцитов от  $5,9 \times 10^9$  до  $7,1 \times 10^9$  кл/л, общего белка от 55,4 до 62,8 г/л, креатинина от 26,5 до 36,3 мкмоль/л, и СКФ от 151 до 200,8 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> оценивают терапию инозитоловым витаминно-минеральным комплексом Дикироген как эффективную. Изобретение позволяет оценить эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген у экспериментальных животных на модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом. 21 ил., 9 пр.

Способ оценки эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген на фармакологической модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом у экспериментальных животных.

Изобретение относится к медицине, а именно к оценке эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген у экспериментальных животных на модели перегрузки печени железом у крыс при влиянии избыточного потребления пальмового масла и фруктозы.

Метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени (МАЗБП) - заболевание, характеризующаяся повышенным содержанием жирового компонента ткани и выражающиеся двумя патоморфологическими видами: неалкогольный стеатоз (жировой гепатоз) и неалкогольный стеатогепатит. В 30% случаев МАЗБП сочетается с перегрузкой железом, что проявляется развитием гемосидероза: накоплением мелкодисперсных оксидов железа в печени и в других органах. Гемосидероз отягощает МАЗБП посредством активации прооксидантных, провоспалительных и протромботических процессов, способствующих формированию ферроптоза гепатоцитов, неалкогольного стеатогепатита и цирроза печени (Торшин И.Ю., Громова О.А., Богачева Т.Е. Систематический анализ 37000 публикаций по миоинозитолу (МИ) и D-хироинозитолу) посредством современных методов машинного обучения и анализа данных показал, что инозитол-зависимые белки протеома человека вовлечены в поддержку жизнедеятельности сердечнососудистой системы, иммунитета и структуры соединительной ткани, проявляют нейтропротекторные, гепато- и нефропротекторные эффекты (Лиманова О.А., Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов миоинозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины. Эффективная фармакотерапия. 2013; 28:32-41.). Перспективным направлением гепатопротекции являются применение препаратов на основе миоинозитола (МИ) и D-хироинозитола (ДХИ). Для лечения перегрузки железом при МАЗБП не указаны специальных средств коррекции. В работе представлена разработанная нами и патоморфологически подтвержденная модель МАЗБП с перегрузкой железом с полиорганной патологией у крыс, вызванная одновременным приемом избытка жиров (пальмовое масло), углеводов (фруктоза) и неорганического железа (сульфат железа) в течение 12 дней. На данной фармакологической модели была изучена эффективность и безопасность использования инозитолового витаминно-минерального комплекса «Дикироген» (пр-во Pizeta pharma S.p.A, Италия, содержащего миоинозитол и D-хироинозитол в пропорции 5:1).

Известно, что МИ и ДХИ - 2 из 9 изомеров 6-атомного спирта инозитола (циклогексангексаола). Пероральный прием препаратов МИ/ДХИ в суммарной дозировке 2.4 г/сут способствует снижению инсулинрезистентности, нормализации липидного профиля, артериального давления, снижению избыточной секреции андрогенов, гирсутизма и акне. Одним из аспектов участия МИ и ДХИ в реализации эффектов инсулинового рецептора являются гепатопротекторные свойства инозитолов. Уровни МИ оказывают значительное воздействие на функционирование печени, способствуя осуществлению биологических эффектов фактора роста гепатоцитов, профилактируя стеатогепатит, цирроз печени, стимулируя секрецию

желчи (Громова ОА, Торшин ИЮ, Гришина ТР. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов миоинозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины. Эффективная фармакотерапия. 2013; 28:32-41). ДХИ улучшал метаболизм глюкозы у мышей с моделью диабета, снижая повреждения ткани печени и повышая биосинтез гликогена на фоне активации сигнальных белков инсулинового рецептора IRS2, киназ PI3K и AKT (Fan C, Liang W, Wei M, Gou X, Han S, Bai J. Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying Mechanisms. Front Pharmacol. 2020 Mar 26; 11:354. DOI: 10.3389/fphar.2020.00354). Инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген содержит МИ, ДХИ, синергидные им фолиевую кислоту и пироглутамат марганца (механизмы синергизма были рассмотрены в работах (Торшин ИЮ, Громова ОА, Тетруашвили НК. Хемотранскриптомный анализ синергизма D-хиро-инозитола и мио-инозитола в контексте постгеномной фармакологии. Акушерство и гинекология. 2022; 9:135-145). В нашем исследовании изучены взаимосвязь избыточного потребления насыщенных жиров пальмового масла, фруктозы, сульфата железа с развитием МАЖБП и эффекты Дикирогена на модели полиорганной патологии.

Технический результат заключается в том, что на гистологической подтвержденной модели МАЖБП с полиорганной патологией у крыс, вызванная сочетанными приемом избытка жиров (пальмовое масло), углеводов (фруктоза) и неорганического железа (сульфат железа) доказана эффективность применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген. Применение Дикироген в дозе 400 мг/кг/сутки перорально в течение 4 недель приводило к нормализации перечисленных показателей полиорганной патологии: к достоверному снижению уровней маркеров воспаления-лейкоцитов, ферритина; цитолиза - АСТ, АЛТ; восстановлению функции почек - нормализации уровней креатинина и СКФ. Гистологический анализ показал, что инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген уменьшает выраженность жировой дистрофии печени, снижает выраженность воспаления в печени и почках, восстанавливает морфологию тканей в предлагаемой модели МАЖБП с перегрузкой железом. Таким образом, применение инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген эффективно и безопасно в терапии экспериментальной МАЖБП с перегрузкой железом.

Эксперимент по изучению эффективности инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген при МАЖБП с перегрузкой железом был проведен на 24 белых крысах-самцах массой 300-400 г. Животные были разделены на 3 группы: первая группа (n=6) - интактный контроль (на нормальной диете и питье в виде чистой питьевой воды); во второй (n=12) и в третьей (n=6) группах животных воспроизводилась модель перегрузки печени железом в условиях добавления в диету насыщенных жиров и фруктозы - особям внутрибрюшинно вводили железо сернокисл. (II) 7-водное (хч) в дозе 50 мг/кг массы в сутки (АО «ЛенРеактив», паспорт №070051-81), одновременно 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 первой и второй групп, из каждой по (n=6) наркотизировали, проводили забор крови для биохимического исследования и секционного материала (печени, почек, мозга, сердце) для патогистологического исследования.

После воспроизведения модели в группах 2-3 (т.е. начиная с 13 дня от начала эксперимента) животные переводились на стандартную диету и обычный питьевой режим. С 13 дня исследования в третьей группе (n=6) крыс вводили инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген (регистрационный номер RU.77.99.88.003.R.003342.09.21, пр-во Pizeta pharma S.p.A, Италия,) в дозе 400 мг/кг массы в сутки перорально в течение 4 недель. На 41-ый день исследования животных второй и третьей групп наркотизировали, проводили забор крови для биохимического исследования и секционного материала (печени, почек, мозга, 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 комбинированным измерителем Testo фирмы Testo AG (Германия) и фиксировался 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 1-3 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 определялись биохимические показатели: ферритин, насыщение трансферрина, железо сыворотки, ретикулоциты (%), ретикулоциты (абс), фракция ретикулоцитов (%), лейкоциты (абс), эритроциты (абс) гемоглобин, гематокрит (%), объем эритроцита, гемоглобин эритроцита, содержание гемоглобина в эритроците тромбоциты (абс), индекс mentzer, индекс sirdah, фолаты сыворотки, белок сыворотки, аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), креатинин сыворотки, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), билирубин общий/ прямой, витамины В9 и В12 в сыворотке крови.

Лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, тромбоциты, ретикулоциты определялись проточной цитофлуориметрией (цитофлуориметр BC-6200, Mindray, Китай). Остальные биохимические показатели определялись на универсальном анализаторе крови Cobas 6000 (пр-во Roche Diagnostics, Швейцария) с использованием различных подходов. Ферритин и трансферрин определялись иммунотурбидиметрией; железо сыворотки, общий белок, билирубин общий и прямой - колориметрией; АСТ и АЛТ - УФ кинетическим тестом, креатинин сыворотки и СКФ - «кинетическим» методом Яффе; витамин В12 - иммунохемилюминесценцией, витамин В9 (фолаты) - твердофазным хемилюминесцентным иммуноферментным анализом.

Патогистологическое исследование секционного материала. На 13, 41 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» МС-200 и цифровой окулярной камеры DCM 900.

В результате исследования было установлено, что применение инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген при воспроизведении модели МАЖБП с перегрузкой железом, приводит к комплексным и взаимосвязанным изменениям сразу нескольких биохимических показателей крови.

Для полноценного описания результатов были использованы метрические карты показателей (параметров) исследования и профиль-диаграммы нормализованных значений всех исследованных показателей. Метрические карты показателей (параметров) исследования представляют собой отображение всего комплекса взаимодействий параметров, спроецированных на плоскость диаграммы. Каждая точка метрической диаграммы соответствует одному показателю исследования (например, уровням железа сыворотки) в определенный день исследования в определенной группе. Соответственно, метрическая диаграмма позволяет оценивать (1) степень взаимодействия показателей (чем больше коррелируют два показателя/параметра, тем ближе соответствующие точки на диаграмме), (2) динамику изменения параметров (т.к. значение одного и того же показателя в разные моменты времени, в общем случае, соответствует двум разным точкам), (3) различия между группами (значение одного показателя для разных групп соответствует двум разным точкам). Из приведенной метрической диаграммы (Рис. 1), отражающей согласованные изменения биохимических показателей при воспроизведении модели МАЖБП с перегрузкой железом (точками голубоватого цвета обозначены параметры в группе интактных животных, оранжевого цвета - параметры при воспроизведении модели, данные на день 41) очевидно, что при воспроизведении модели характерно движение точек слева направо (соответствует усилению полиорганной патологии: возрастание уровней лейкоцитов, тромбоцитов, АСТ, АЛТ, нарушения индексов Сирдаха, Ментцера и др.) и сверху вниз (противоположно действию терапии: нарушения уровней эритроцитов, гемоглобина, возрастание железа сыворотки и др.). Таким образом, воспроизведение модели соответствует усилению патофизиологических процессов в различных системах органов.

Профиль-диаграммы нормализованных значений всех исследованных показателей позволяют (1) целостно описывать динамику и различия между группами, (2) формировать и оценивать интегральные оценки (баллы) состояния групп животных в различные моменты времени. Как известно, значения различных биомедицинских показателей могут лежать в разных диапазонах (0-1, 50-500 и т.д.), поэтому не всегда могут быть представлены на одной диаграмме.

Анализ нормализованных профиль-диаграмм значений биохимических показателей (красная штрих-пунктирная линия описывает профиль изменений в целом по всем показателям. 1 - Ферритин, мкг/л; 2 - Коэффициент насыщения трансферрина железом, %; 3 - Железо сыворотки, мкмоль/л; 4 - Ретикулоциты, %; 5 - Ретикулоциты,  $\cdot 10^9/\text{л}$ ; 6 - Фракция ретикулоцитов, %; 7 - Лейкоциты,  $\cdot 10^9/\text{л}$ ; 8 - Эритроциты,  $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ; 9 - Гемоглобин, г/л; 10 - Гематокрит, %; 11 - Средний объем эритроцита, fL; 12 - Средн. сод. гемоглобина в эр-те, пг; 13 - Средн. конц. гемоглобина в эр-те, г/л; 14 - Тромбоциты,  $\cdot 10^9/\text{л}$ ; 15 - Индекс Mentzer; 16 - Индекс Sirdah; 17 - фолаты, нмоль/л; 18 - Белок общий в сыворотке, г/л; 19 - АСТ, Ед/л; 20 - АЛТ, ед./л; 21 - Креатинин сыв., мкмоль/л; 22 - СКФ; 23 - Билирубин общий, мкмоль/л; 24 - Билирубин прямой, мкмоль/л; 25 - Витамин В12, пг/мл; 26 - Купферовские клетки, в цитоплазме кот. содержится берлинская лазурь) (Рис. 2) в группе 2 указывает на резкое возрастание ферритина (показатель 1), резкое падение показателей 8-11 (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцита), возрастание показателей 12-17 (среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, тромбоциты, индексы Ментцера и Сирдаха, фолаты), падение белка в сыворотке и др.

Патоморфологическое подтверждение результатов биохимических исследований при воспроизведении модели МАЖБП с перегрузкой железом.

Во всех наблюдениях группы интактных контролей (группа 1), микроскопическая картина ткани печени соответствовала норме (Рис. 3). Увеличение на всех слайдах  $\times 480$ . Окраска реакцией Перльса (А), гематоксилином и эозином (Б-Д). А) Структура неизменной печеночной дольки с трабекулярным уложением гепатоцитов. Б) Единичные лимфоциты в строме портального тракта на фоне равномерной перфузии всех отделов печеночной дольки. В) Почечный клубочек имеет просвет капсулы и свободный мезангиум, клетки эпителия проксимальных и дистальных извитых

канальцев с гомогенной окраской цитоплазмы. Г) Пирамидные нейроны привычной конфигурации с равномерным распределением глыбок Ниссля в цитоплазме. Д) Сократительные волокна равномерной окраски и толщины, видны анизотропные диски).

В пределах отдельно взятой печеночной дольки при сохранении гистоархитектоники гепатоциты имели привычную конфигурацию и равномерную окраску с равномерным распределением ультраструктур в цитоплазме без образования берлинской лазури (рис. 3А), наблюдалась равномерная перфузия синусоидов как в центральной и в перипортальной зонах, в строме портальных трактов присутствовали единичные лимфоциты (рис. 3Б). 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 (рис. 3В). 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 (рис. 3Г). В миокарде левого желудочка наблюдались ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (рис. 3Д).

Во второй группе (Рис. 4. Окраска гематоксилином и эозином - слайды Б, Д, Е, Ж; окраска реакцией Перльса - слайды А, В, Г. Слайды Б, В, Г - увеличение  $\times 480$ , слайды А, Д, Е, Ж - увеличение  $\times 1200$ ). А) Внутри и внеклеточное отложение глыбок берлинской лазури на периферии печеночной дольки. Б) Мелкокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. В) Цитоплазма звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) насыщена берлинской лазурью. Г) Очаговое скопление берлинской лазури в капсуле печени. Д) Крупнокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Е) Воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портального тракта. Ж) В составе инфильтрата Т-лимфоциты (А), эозинофилы (Б)) 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 (рис. 4А). В центральных отделах печеночной дольки гепатоциты содержали мелкие капли липидов (рис. 4Б). Через 41 день от начала эксперимента железосодержащий субстрат в печени перераспределился и активно накапливался в цитоплазме купферовских клеток (рис. 4В) и между соединительнотканными волокнами капсулы печени (рис. 4Г), причем большинство гепатоцитов были свободны от берлинской лазури. Наблюдалось прогрессирование жировой дистрофии гепатоцитов с образованием крупных вакуолей с липидами в их цитоплазме (рис. 4Д). В большинстве наблюдений строма портальных трактов имела воспалительно-клеточный инфильтрат, состоящий преимущественно из Т-лимфоцитов и эозинофилов (рис. 4Е, Ж). Гистологическая картина соответствовала умеренной выраженности воспалительной реакции как ко дню 13, так и ко дню 41 после воспроизведения модели. Исследование гистологических срезов кортикальной зоны почек (Рис. 5. Окраска гематоксилином и эозином - слайд Б; окраска реакцией Перльса - слайды А, В, Г. Слайды Б, В - увеличение  $\times 480$ , слайды А, Г - увеличение  $\times 1200$ ). А) Зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев. Б) Эозинофильные массы в просветах дистальных отделов канальцев. В) Окрашивание в синий цвет (на железо) содержимого дистальных извитых канальцев. Г) Цитоплазма нефроцитов дистальных канальцев насыщена железосодержащими продуктами (А), мелкие зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев (Б)) на 12 день проведения эксперимента показало накопление мелких «зерен железа» в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев, которое носило диффузно-очаговый характер (рис. 5А). В 2-х наблюдениях просветы дистальных извитых канальцев были обтурированы эозинофильными массами из нерастворимых углеводов и липидов, что свидетельствовало о нарушении гломерулярного фильтра (рис. 5Б). К 41-ому дню эксперимента наблюдалась активная экскреция железосодержащих соединений, что подтверждается прокрашиванием в синий цвет мочи в просветах дистальных отделов извитых канальцев (рис. 5В). При этом, нефроциты дистальных канальцев, учитывая их реабсорбционную компетентность, стали активно накапливать «зерна железа» в цитоплазме; нефроциты проксимальных канальцев сохраняли в цитоплазме единичные зерна берлинской лазури (рис. 5Г). При исследовании головного мозга (рис. 6. Окраска гематоксилином и эозином - слайд А; окраска реакцией Перльса -

слайды Б, В, Г. Слайд А - увеличение x480, слайды Б, В, Г - увеличение x1200. А) Периваскулярный и перицеллюлярный отек нервной ткани (А), пирамидный нейрон без структурных изменений (Б). Б) Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. В) Накопление железосодержащих гранул в цитоплазме астроцита. Г) Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка) к 13-му дню эксперимента на фоне умеренно выраженного периваскулярного и перицеллюлярного отека нервной ткани (рис. 6А) наблюдалось очаговое накопление железосодержащих веществ в периваскулярном пространстве (рис. 6Б). Структурных нарушений нейронов не обнаружено. К 41-ому дню от начала эксперимента 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 (рис. 6В). Исследование сердца экспериментальных животных показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда (13-ый и 41-ый дни). Минимальные изменения обнаружены лишь в 2-ух наблюдениях в виде мелкоочагового отложения гранул берлинской лазури в цитоплазме кардиомиоцитов (рис. 6Г).

Таким образом, при воспроизведении модели МАЖБП с перегрузкой железом у экспериментальных животных установлены структурные изменения печени, почек, головного мозга и миокарда на микроскопическом уровне, характерные для полиорганной патологии. В печени наблюдалось накопление железосодержащих продуктов (гемосидерина) в цитоплазме гепатоцитов и в пространстве Диссе перипортальной зоны печеночной доли. Выявлена макрофагальная активность звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) с тенденцией к нарастанию уровня фагоцитоза железосодержащих продуктов к 41-му дню эксперимента. Жировая дистрофия гепатоцитов (как главный морфологический критерий стеатоза) носила диффузно-очаговый характер с локализацией в центрах печеночных долек и выражалась мелкокапельным ожирением гепатоцитов на 13-ый день эксперимента, с крупнокапельным ожирением к 41 дню. Наличие в строме портальных трактов воспалительно-клеточного инфильтрата с участием эозинофилов свидетельствует о развитии реактивного (медикаментозного) гепатита. После воспроизведения модели (день 13) в почках установлена инфильтрация железосодержащих продуктов в цитоплазму нефроцитов на всем протяжении канальцев, без существенных расстройств кровотока и воспалительной реакции. К 41-ому дню эксперимента отмечена экскреция и реабсорбция железа, что привело к перегрузке железосодержащими продуктами нефроцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев. В головном мозге и в миокарде содержание «зерен железа» оказалось минимальным и наблюдалось в виде фокальных очагов скопления мелких глыбок берлинской лазури при отсутствии морфологических признаков какого-либо токсического воздействия на паренхиматозные элементы этих органов. Возможные причины минимального эффекта на мозг включают малые сроки после воспроизведения модели и фильтрующую роль гемоянничного барьера. В случае миокарда, минимальное количество отложений железа связано, скорее всего, с постоянной двигательной активностью данного органа и с высоким количеством митохондрий в кардио-миоцитах (что ускоряет цикл детоксикации клеток).

Применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген на модели МАЖБП с перегрузкой железом у экспериментальных животных. Применение инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген соответствует движению точек, соответствующих биохимическим показателям исследования, преимущественно справа налево, что выражало снижение выраженности полиорганного поражения, а также снизу вверх, что определяет положительный терапевтический эффект Дикирогена. Отмечались нормализация уровней АСТ, АЛТ, ферритина, железа сыворотки, билирубина, лейкоцитов, эритроцитов, гематокрита, общего белка, СКФ и других показателей. Таким образом, анализ сложной картины изменения параметров позволяет утверждать, что прием инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген способствует регрессу полиорганного поражения, вызванного у экспериментальных животных перегрузкой железом на фоне избыточного потребления насыщенных жиров пальмового масла и фруктозы. (Рис. 7. Метрическая диаграмма согласованной динамики показателей при терапии Дикирогеном модели МАЖБП с перегрузкой железом. Оранжевым цветом обозначены точки, соответствующие показателям в группе воспроизведения модели на день 41, красным - точки в группе, получавшей лечение Дикирогеном, день 41). Таким образом, лечение МАЖБП с перегрузкой железом посредством инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген приводило к нормализации не только

стандартных показателей, обычно используемых при оценке динамики лечения МАЖБП (уровни АСТ, АЛТ, билирубина), но и многих других биохимических показателей, характеризующих функцию различных органов.

Анализ нормализованных профилей биохимических показателей (Рис. 2, 8) позволяет получить более целостную картину отличий в эффектах исследованных подходов к терапии перегрузки железом, чем использование каких-либо отдельных показателей (АСТ/АЛТ, уровней железа в крови и др.). Мы разделили эти профили на два сегмента: показатели обмена железа и биохимические показатели полиорганной дисфункции.

#### Показатели обмена железа

Анализ показателей обмена железа (Рис. 9А) указал на формирование перегрузки железом при воспроизведении модели с последующей нормализацией уровней железа в крови. Показателей обмена железа - ферритин, коэффициент насыщения трансферрина железом, железо сыворотки резко повышались при воспроизведении модели: значения ферритина возрастали от  $211 \pm 47$  мкг/л у интактных контролей до  $238 \pm 13$  мкг/л (модель, д. 13,  $P < 0.0001$ ) и, далее, до  $266 \pm 14$  мкг/л (модель, день 41,  $P < 0.0002$ ). Значения коэффициента насыщения трансферрина железом возрастали от  $59 \pm 8\%$  (интактные) до  $90 \pm 15\%$  (д. 13,  $P < 0.0001$ ) и  $85 \pm 27\%$  (день 41,  $P < 0.0002$ ). Уровни железа в сыворотке крови увеличивались от  $35 \pm 5$  мкмоль/л (интактные) до  $57 \pm 10$  мкмоль/л на дни 13 и 41 ( $P < 0.00015$ ). Терапия инозитоловым витаминно-минеральным комплексом «Дикироген» приводила к достоверному снижению ферритина на день 41 до  $183 \pm 57$  мкг/л,  $P < 0.001$ , коэффициента насыщения трансферрина железом  $38 \pm 9\%$ ,  $P < 0.005$  и железа в сыворотке крови  $24 \pm 5$  мкмоль/л,  $P < 0.01$ .

#### Биохимические показатели полиорганной дисфункции

Анализ других биохимических показателей (Рис. 9В), связанных с характеристикой полиорганной дисфункции: воспаление, функция почек, функция печени.

Воспаление. Одним из основных признаков полиорганной дисфункции является возрастание провоспалительных реакций организма. В настоящем исследовании этому соответствует достоверное повышение уровней лейкоцитов (воспаление) при воспроизведении модели МАЖБП с перегрузкой железом. Терапевтические вмешательства, наоборот, способствовали снижению лейкоцитов. Уровни лейкоцитов у интактных животных составили  $4.9 \pm 1.6 \cdot 10^9$  кл/л, а при воспроизведении модели повышались, в среднем, на  $+1.9 \cdot 10^9$  кл/л ко дню 13:  $6.5 \pm 1.3 \cdot 10^9$  кл/л,  $P = 0.023$  с трендом к повышению ко дню 41:  $7.1 \pm 0.9 \cdot 10^9$  кл/л,  $P = 0.068$ . При введении инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген наблюдалась нормализация уровней абnormally повышенных лейкоцитов  $(6.5 \pm 0.6) \cdot 10^9$  кл/л на день 41,  $p = 0.0016$ .

Функция печени. Уровни общего белка в сыворотке крови, аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), билирубина (общего, прямого), витаминов В9 (фолатов) и витамина В12 (цианкобаламина) являются биомаркерами функциями печени. При этом, при повреждении паренхимы печени уровни АСТ/АЛТ, билирубина, и витамина В12 и фолатов, как правило, повышаются (вследствие цитолиза гепатоцитов с выходом наружу содержимого клеток), а уровни общего белка - падают (вследствие ухудшения биосинтетической функции печени). При воспроизведении настоящей модели уровни АСТ, АЛТ, фолатов действительно возрастали, а уровни общего белка - падали. Однако, отмечено необычная динамика уровней билирубина (падение общего и прямого билирубина) и падение уровней витамина В12. В целом, исследованные терапевтические вмешательства способствовали восстановлению некоторых значений показателей в сторону диапазона значений, характерных для интактных животных (Рис. 9В). Уровни АСТ составили  $117.1 \pm 28.4$  Ед/л у интактных животных. При воспроизведении модели в группах 2-3 отмечено более чем двухкратное повышение АСТ до  $301.6 \pm 28.9$  Ед/л ( $P < 0.000001$ ) на день 13, без изменений ко 41 дню  $303.5 \pm 32.4$  Ед/л. Дикироген способствовал достоверному снижению АСТ на 41 день  $96 \pm 36$  Ед/л,  $p < 0.00025$ . Уровни АЛТ так же повысились: по сравнению с интактными  $24.9 \pm 4.3$  Ед/л воспроизведение модели приводило к достоверному повышению АЛТ на д. 13  $56.6 \pm 10.2$  Ед/л,  $P = 0.00015$ , без изменений ко дню 41:  $60.6 \pm 6.4$  Ед/л. Дикироген способствовал нормализации АЛТ до  $26.7 \pm 3.7$  Ед/л,  $p < 0.001$ . Ферменты АСТ и АЛТ в наибольших концентрациях представлены в гепатоцитах, кардиомиоцитах, мышцах. В норме уровни/активность АСТ/АЛТ в крови относительно низки, а при повреждении тканей печени эти ферменты высвобождаются в кровь. Повышение АСТ/АЛТ - характерная особенность МАЖБП, а снижение АСТ/АЛТ в сторону диапазона нормы характеризует эффективность терапии МАЖБП. Изменения уровней

АСТ/АЛТ в группах 2-3 находились в соответствии с изменениями уровней общего белка в сыворотке крови (которые, как отмечено выше, являются биомаркером биосинтетической функции печени). Воспроизведение модели приводило к снижению уровней общего белка на день 13: интактные  $59.0 \pm 5.1$  г/л, модель  $47.4 \pm 6.1$  г/л,  $P=0.0022$ , без изменений ко дню 41:  $48.3 \pm 4.9$  г/л. Дикироген способствовал восстановлению уровней общего белка на день 41 до  $59.1 \pm 3.7$  г/л,  $p=0.0001$ .

Функция почек. Креатинин в сыворотке крови и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) являются показателями функционирования почек. При воспроизведении модели уровни креатинина и СКФ достоверно снижались ко дню 13 без существенной динамики ко дню 41, что указывает на формирование поражения почек при перегрузке железом на фоне перегрузки липидного и углеводного метаболизма. Исследованные терапевтические вмешательства способствовали восстановлению функции почек (в соответствии с изменениями креатинина и СКФ). Креатинин сыворотки крови падал от  $36.8 \pm 1.4$  мкмоль/л у интактных животных до  $24.6 \pm 2.4$  мкмоль/л в модели на день 13:  $P<0.00002$ , без изменений ко дню 41:  $24.4 \pm 1.7$  мкмоль/л. Дикироген способствовал восстановлению уровней креатинина в сторону диапазона нормы на день 41:  $31.4 \pm 4.91$  мкмоль/л,  $P=0.0091$ , без достоверных отличий от группы интактных животных. СКФ у интактных животных составила  $171 \pm 6$  мл/мин/ $1.73 \text{ м}^2$ , а при воспроизведении модели падала до  $144.5 \pm 14.4$  мл/мин/ $1.73 \text{ м}^2$  на день 13  $P=0.0012$ , с частичным улучшением ко дню 41:  $156.2 \pm 8.1$  мл/мин/ $1.73 \text{ м}^2$ ,  $P=0.043$ . Дикироген способствовал статистически значимому повышению значений  $175.9 \pm 24.9$  мл/мин/ $1.73 \text{ м}^2$ ,  $P=0.038$ , что достоверно выше, чем у интактных животных ( $p<0.005$ ).

Гистологический анализ эффектов инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген. На момент завершения эксперимента (41 день) в печени лабораторных животных определялись отдельные центроlobулярные очаги жировой дистрофии гепатоцитов. В цитоплазме единичных гепатоцитов определялись мелкие гранулы берлинской лазури (рис. 10А). Реакция Перльса указала на умеренное накопление железосодержащих аддуктов в купферовских клетках и в капсуле печени (рис. 10В). В 4 наблюдениях отмечена слабая воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портальных трактов с преобладанием эозинофилов (рис. 10С).

Рис. 10. Окраска гематоксилином и эозином - А, С; окраска реакцией Перльса - В. В, С - увеличение  $\times 480$ , А - увеличение  $\times 1200$ . А) Крупнокапельное ожирение гепатоцитов центров долек (метка «1»), железосодержащий субстрат в цитоплазме купферовской клетки (метка «2»). В) Берлинская лазурь в купферовских клетках, пространстве Диссе (метка «1»), жировая дистрофия гепатоцитов (метка «2»). С) Преобладание эозинофилов в воспалительном инфильтрате стромы портального тракта.

При исследовании почек гранулы берлинской лазури обнаруживались в цитоплазме единичных нефроцитов проксимальных извитых канальцев (рис. 11А), содержимое просветов дистальных канальцев слабо насыщено «зернами железа» (рис. 11В). Только в двух наблюдениях выявлен хронический интерстициальный нефрит (рис. 11С). Реакция Перльса не выявила наличия железосодержащих включений в нерв ной ткани полушарий большого мозга и мозжечка (рис. 11D). При проведении реакции Перльса в миокарде небольшие скопления железосодержащих включений в цитоплазме кардиомиоцитов периваскулярной зоны (рис. 11Е) обнаружены только в 3 из 6 случаев.

Рис. 11. Окраска гематоксилином и эозином - С; окраска реакцией Перльса - А, В, D, E. А, В, D - увеличение  $\times 480$ , С, E - увеличение  $\times 1200$ . А) Берлинская лазурь в нефроцитах проксимальных канальцев. В) Железосодержащие включения в нефроцитах и в просветах дистальных канальцев. С) Очаговая лимфоцитарная инфильтрация стромы почки. D) Умеренно выраженный периваскулярный отек нервной ткани мозжечка при отсутствие железосодержащие включений. E) Кардиомиоциты периваскулярной зоны содержат гранулы берлинской лазури.

Таким образом, на гистологической подтвержденной модели МАЖБП с полиорганной патологией у крыс, вызванная сочетанными приемом избытка жиров (пальмовое масло), углеводов (фруктоза) и неорганического железа (сульфат железа) доказана эффективность применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген. Применение Дикирогена приводило к нормализации перечисленных показателей полиорганной патологии: к достоверному снижению ферритина, АСТ, АЛТ, лейкоцитов, и к достоверному повышению общего белка, креатинина и СКФ. Гистологический анализ показал, что Дикироген способствует снижению выраженности жировой дистрофии печени, торможению ферроптоза и отложения мелкодисперстных оксидов железа в печени, почках, сердце, мозге,

уменьшает выраженность воспаления в печени и почках, и восстанавливает структуру тканей в предлагаемой модели МАЖБП с псерегрузкой железом. Таким образом, применение Дикирогена эффективно и безопасно в терапии экспериментальной МАЖБП с перегрузкой железом.

Примеры оценки эффективности применения лекарственного препарата «Дикироген» на фармакологической модели неалкогольной жировой болезни печени с перегрузкой железом у экспериментальных животных.

Группа 1 (Контроль)

Крыса №1.1.

До исследования масса крысы 1.1 составила 330 гр., 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 (%) - 4,1; 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) - 53,2; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,7; 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 b9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 64,1; витамин b12 (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) - 35; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 175; ферритин (мкг/л) - 221,3; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 989,8; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 30,87; 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 дольки при сохранении гистоархитектоники гепатоциты имели привычную конфигурацию и равномерную окраску с равномерным распределением ультраструктур в цитоплазме без образования берлинской лазури (рис. 12а). Исследование корковой зоны почек показало привычное строение клубочков с нормальным уровнем перфузии кровью, свободным мезангиальным пространством, (рис. 13а). В головном мозге отмечается нормальный уровень перфузии без признаков агрегации эритроцитов в капиллярах и отека нервной ткани (рис. 14а). В миокарде левого желудочка наблюдались ориентированные сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (рис. 15а).

Примеры гистологической картины ткани печени в контрольной группе (Рис. 12). Увеличение  $\times 480$ . а) крыса №1.1. Структура неизменной печеночной дольки с трабекулярным уложением гепатоцитов. Реакция Перлса б) Крыса №2.1. Равномерная перфузия всех отделов печеночной дольки. 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 (Рис. 13). 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 (Рис. 14). 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 (Рис. 15). 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 гр., 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 (%) - 3,9; 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) - 53,4; 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/ $1,73 \text{ м}^2$ ) - 165,2; ферритин (мкг/л) - 198,7; трансферрин (г/л)  $<0,1$ ; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 1020,3; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 35,22; 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 (рис. 12б). Нефроны в пределах извитых проксимальных и дистальных канальцев не имели повреждений (рис. 13б). При патогистологическом исследовании нейроны имели привычную форму и размеры с четкими контурами ядер, (рис. 14б). Клетки миокарда имели нормальное строение, сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (рис. 15б).

Крыса №3.1.

В эксперименте крыса 3.1 имела массу 396 гр., 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 (%) - 3,9; 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) - 55,5; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 297; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 424; индекс mentzer - 5,75; индекс sirdah - (-1,42); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 56,9; 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/ $1,73 \text{ м}^2$ ) - 164,3; ферритин (мкг/л) - 168,5; трансферрин (г/л)  $<0,1$ ; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 1090,1; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 37,39; 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 (рис. 12в). Исследование корковой зоны почек показало типичное строение клубочков с нормальным уровнем перфузии кровью (рис. 13в). В цитоплазме пирамидных нейронов коры полушарий переднего мозга глыбки Ниссля имели равномерное распределение (рис. 14в). В миокарде левого желудочка сократительные волокна с сохраненной поперечной исчерченностью (рис. 15в).

Группа 2

Крыса №1.2.

В начале эксперимента крыса 2.1 имела массу 380 гр, 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 (%) - 5,3; ретикулоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 482,9; фракция незрелых

ретикулоцитов (%) - 45,8; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 7,58; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 7,32; гемоглобин (г/л) - 102; гематокрит (%) - 32,4; средний объем эритроцита (fl) - 52,3; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 17,2; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 315; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 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) - 22; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 164,13; ферритин (мкг/л) - 268; 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 (рис. 16а). В центральных отделах печеночной дольки гепатоциты содержали мелкие капли липидов (рис. 16б). Исследование гистологических срезов кортикальной зоны почек показало накопление мелких зерен «железа» в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев, которое носило диффузно-очаговый характер (рис. 17а). Просветы дистальных извитых канальцев были obturated эозинофильными массами из нерастворимых углеводов и липидов, что свидетельствовало о нарушении гломерулярного фильтра (рис. 17б). При исследовании головного мозга на фоне умеренно выраженного периваскулярного и перичеллюлярного отека нервной ткани (рис. 18а) наблюдалось очаговое накопление железосодержащих веществ в периваскулярном пространстве (рис. 18б). Структурных нарушений нейронов не обнаружено. Исследование сердца показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда, (рис. 19а).

Примеры гистологической картины ткани печени в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (Рис. 16). Крыса №1.1. а) Внутри и внеклеточное отложение глыбок берлинской лазури на периферии печеночной дольки. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. б) Мелкокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 480. Крыса №2.1. в) Цитоплазма звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (купферовских клеток) насыщена берлинской лазурью. Реакция Перльса. Увеличение X 480. г) Очаговое скопление берлинской лазури в капсуле печени. Реакция Перльса. Увеличение X 480. д) Крыса №3.1. Крупнокапельное ожирение гепатоцитов центра печеночной дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 1200. е) Воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портального тракта. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 1200. ж) В составе инфильтрата Т-лимфоциты (А), эозинофилы (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 1200. Примеры гистологической картины ткани почек в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (Рис. 17). Крыса №1.1. а) Зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. б) Эозинофильные массы в просветах дистальных отделов канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 480. в) Крыса №2.1. Окрашивание в синий цвет содержимого дистальных извитых канальцев. Реакция Перльса. Увеличение X 480. г) Крыса №3.1. Цитоплазма нефроцитов дистальных канальцев насыщена железосодержащими продуктами (А), мелкие зерна берлинской лазури в цитоплазме эпителия проксимальных извитых канальцев (Б). Реакция Перльса. Увеличение X 1200. Примеры гистологической картины ткани головного мозга в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (Рис. 18). Крыса №1.1. а) Периваскулярный и перичеллюлярный отек нервной ткани (А), пирамидный нейрон без структурных изменений (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 480. б) Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. в) Крыса №2.1. Накопление железосодержащих гранул в цитоплазме астроцита. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. г) Крыса №3.1. Очаговое отложение железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. Примеры гистологической картины ткани миокарда в группе модели перегрузки печени железом у крыс в условиях избыточного потребления пальмового масла и фруктозы (Рис. 19). Увеличение x480. а) крыса №1.1. Сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов миокарда, б) Крыса №2.1. Накопление

железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение X 1200. в) Крыса №3.1. Накопление железосодержащих гранул кардиомиоцитами в периваскулярной зоне миокарда левого желудочка. Реакция Перльса. Увеличение X 1200.

Крыса №2.2. Масса крысы 320 гр, 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 ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 525,3; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 59,9; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 5,92; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 8,98; гемоглобин (г/л) - 147; гематокрит (%) - 47,9; средний объем эритроцита (fl) - 53,3; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 17,3; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 307; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 1004; индекс mentzer - 5,94; индекс sirdah - (0,22); витамин B9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 63,2; витамин B12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 187; белок общий в сыворотке (г/л) - 64,3; аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 318,5; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 63,7; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 25; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 156,58; ферритин (мкг/л) - 252,5; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 2602,2; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 66,12; 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 (рис. 16в) и между соединительнотканными волокнами капсулы печени (рис. 17г), 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 (рис. 17в). 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 (рис. 18в). Минимальные изменения обнаружены в виде мелкоочагового отложения гранул берлинской лазури в цитоплазме кардиомиоцитов (рис. 19б).

Крыса №3.2. Масса крысы 377 гр., 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 клочок шерсти. Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 5,4; ретикулоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 457,1; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 62,8; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 6,97; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 8,48; гемоглобин (г/л) - 137; гематокрит (%) - 47,1; средний объем эритроцита (fl) - 52,5; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 17,2; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 311,1; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 752; индекс mentzer - 6,54; индекс sirdah - (5,92); витамин B9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 66,1; витамин B12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 195; белок общий в сыворотке (г/л) - 47,5; аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 320,8; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 49,7; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 22; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 162,51; ферритин (мкг/л) - 236,3; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 970,5; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 49,36; 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 (рис. 16д). Строма портальных трактов имела воспалительно-клеточный инфильтрат, состоящий преимущественно из Т-лимфоцитов и эозинофилов (16е), (16ж), 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 (рис. 17г). В нервной ткани полушарий большого мозга и мозжечка сохранялись очаговые отложения железосодержащих продуктов в периваскулярном пространстве (рис. 18г). Исследование сердца экспериментальных животных показало сохранность паренхиматозных и стромально-сосудистых элементов

миокарда. Минимальные изменения обнаружены в виде мелкоочагового отложения гранул берлинской лазури в цитоплазме кардиомиоцитов (рис. 19в).

Группа 3.

Крыса №1.3.

Масса крысы 344 гр. На 15 день эксперимента у крысы отмечалось увеличение двигательной активности, повышение мышечного тонуса. Шерсть чистая, сухая. На протяжении всего исследования потребление корма и воды - в пределах установленных норм кормления. Признаков полиурии не отмечалось.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови:

ретикулоциты (%) - 4,3; ретикулоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 365,2; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 52,8; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 5,9; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 8,6; гемоглобин (г/л) - 141; гематокрит (%) - 45,1; средний объем эритроцита (fl) - 52,4; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,4; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 313; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 853; индекс mentzer - 6,09; индекс sirdah - (1,5); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 78; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 192; белок общий в сыворотке (г/л) - 62,8 аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 60,1; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 23,2; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 34,4; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 151,9; ферритин (мкг/л) - 181,4; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 693,8; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 24,89; билирубин общий (мкмоль/л) - 2,727; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,0762.

При патогистологическом исследовании на момент завершения исследования (41 день) у крысы 1.3 в печени определялись центролобулярные очаги жировой дистрофии гепатоцитов. Реакция Перльса показала, что железосодержащие продукты накапливались в цитоплазме единичных гепатоцитов (рис. 20а, б). Уменьшилась выраженность воспалительного инфильтрата стромы портальных трактов, в состав инфильтрата в основном входили эозинофилы (рис. 20в). Исследование почек показало, что железосодержащие продукты накапливались в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев в виде мелких гранул берлинской лазури (рис. 21а). В головном мозге реакция Перльса не позволила выявить присутствие железосодержащих соединений (рис. 21г). У крысы 1.3 структурных нарушений миокарда не определялось (рис. 21).

Крыса №2.3.

Масса крысы 311 гр. На четвертой неделе исследования шерсть чистая, кожный покров без внешних признаков заболеваний. Крыса активная, хорошо шла на контакт. Потребление корма и воды - не ниже установленных норм кормления.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови:

ретикулоциты (%) - 4,8; ретикулоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 330,3; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 68,1; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 5,9; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 6,9; гемоглобин (г/л) - 115; гематокрит (%) - 36,6; средний объем эритроцита (fl) - 52,7; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 16,5; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 314; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 822; индекс mentzer - 7,59; индекс sirdah - (11,26); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 56; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 116; белок общий в сыворотке (г/л) - 62,1 аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 132,0; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 26,7; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 28,5; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 184,2; ферритин (мкг/л) - 135,2; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 513,8; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 20,3; билирубин общий (мкмоль/л) - 2,12; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,0272.

При патогистологическом исследовании печени у крысы 2.3 наблюдается слабо выраженная воспалительно-клеточная инфильтрация стромы портального тракта с крупнокапельным ожирением гепатоцитов. В перипортальной зоне цитоплазма купферовских клеток содержит незначительное количество железосодержащих продуктов, (рис. 20а, б, в). Определяются мелкие гранулы берлинской лазури в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев, нефроциты дистальных извитых канальцев свободны от железосодержащих продуктов (рис. 21б). В головном мозге отсутствуют железосодержащие соединения (рис. 21д). У крысы 2.3 реакция Перльса в миокарде определила минимальное скопление железосодержащих гранул в цитоплазме кардиомиоцитов периваскулярной зоны (рис. 21е).

Крыса №3.3.

В эксперименте крыса 3.3 имела массу 320 гр, белый окрас, гладкую сухую шерсть, чистый кожный покров. Крыса активная, потребление корма - не ниже установленных норм кормления.

Измеренные значения биохимических и показателей общего анализа крови: ретикулоциты (%) - 5,7; ретикулоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 445,5; фракция незрелых ретикулоцитов (%) - 56,6; лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 5,91; эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ ) - 7,8; гемоглобин (г/л) - 123; гематокрит (%) - 39,2; средний объем эритроцита (fl) - 49,9; средн. сод. гемоглобина в эр-те (пг) - 15,7; средн. конц. гемоглобина в эр-те (г/л) - 314; тромбоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) - 751; индекс mentzer - 6,33; индекс sirdah - (5,03); витамин В9 (фолиевая кислота) - (нмоль/л) - 58,2; витамин В12 (цианокобаламин) - (пг/мл) - 148,2; белок общий в сыворотке (г/л) - 57,7 аспаратаминотрансфераза (АСТ) - (Ед/л) - 76,3; аланинаминотрансфераза (АЛТ) (Ед/л) - 23,8; креатинин в сыворотке (мкмоль/л) - 28,1; скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) - 186,2; ферритин (мкг/л) - 239,2; трансферрин (г/л) <0,1; коэффициент насыщения трансферрина железом (%) - 721,3; железо в сыворотке (мкмоль/л) - 26,4; билирубин общий (мкмоль/л) - 1,735; билирубин прямой (мкмоль/л) - 0,0689.

При патогистологическом исследовании на момент завершения эксперимента (41 день) у животного 3.3 печень сохранила нормальный уровень гемоперфузии, отмечается жировая дистрофия гепатоцитов в виде крупнокапельного ожирения единичных гепатоцитов центральной зоны печеночных долек. По реакции Перльса железосодержащие продукты накапливались в цитоплазме купферовских клеток и капсулы печени (рис. 20а, б). Воспалительная инфильтрация стромы портальных трактов была умеренно выраженной, в состав инфильтрата в основном входили эозинофилы (рис. 20в). Исследование почек показало, что при сохранении нормального уровня перфузии почечной ткани железосодержащие продукты накапливались в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев в виде мелких гранул берлинской лазури (рис. 21б, в). В головном мозге наблюдался слабо выраженный перичеллюлярный отек нервной ткани, реакция Перльса не позволила выявить присутствие железосодержащих соединений (рис. 21д). У крысы 3.3 структурных нарушений миокарда не определялось (рис. 21ж).

Таким образом, на гистологической подтвержденной модели МАЖБП с полиорганной патологией у крыс, вызванная сочетанными приемом избытка жиров (пальмовое масло), углеводов (фруктоза) и неорганического железа (сульфат железа) доказана эффективность применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген. Применение Дикирогена в дозе 400 мг/кг массы в сутки перорально в течение 4 недель приводило к нормализации перечисленных показателей полиорганной патологии: к достоверному снижению ферритина, АСТ, АЛТ, лейкоцитов и к достоверному повышению общего белка, креатинина и СКФ. Гистологический анализ показал, что инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген способствует снижению выраженности жировой дистрофии печени, торможению ферроптоза и отложения мелкодисперстных оксидов железа в печени, почках, сердце, мозге, уменьшает выраженность воспаления в печени и почках, и восстанавливает структуру тканей в предлагаемой модели МАЖБП с перегрузкой железом. Таким образом, применение Дикирогена эффективно и безопасно в терапии экспериментальной МАЖБП с перегрузкой железом.

#### Формула изобретения

Способ оценки эффективности применения инозитолового витаминно-минерального комплекса Дикироген на модели метаболически-ассоциированной жировой болезни печени с перегрузкой железом у экспериментальных животных - крыс, включающий внутрибрюшинное введение железа сернокислого (II) 7-водного (хч) в дозе 50 мг/кг/сутки, в условиях перорального избыточного потребления твердой фракции пальмового масла в дозировке 30 г/кг/сутки и раствора фруктозы из расчета 1 г/кг/сутки в течение 12 дней, затем вводят инозитоловый витаминно-минеральный комплекс Дикироген в дозе 400 мг/кг/сутки перорально в течение 4 недель и проводят биохимический и общий анализ крови, и при показателях: ферритине от 126 до 240 мкг/л, железа в сыворотке крови от 19 до 29 мкмоль/л, АСТ от 60 до 132 Ед/л, АЛТ от 23 до 30,4 Ед/л, лейкоцитов от  $5,9 \cdot 10^9$  до  $7,1 \cdot 10^9$  кл/л, общего белка от 55,4 до 62,8 г/л, креатинина от 26,5 до 36,3 мкмоль/л и СКФ от 151 до 200,8 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> оценивают терапию инозитоловым витаминно-минеральным комплексом Дикироген, как эффективную.

Метрическая диаграмма в группе 2.

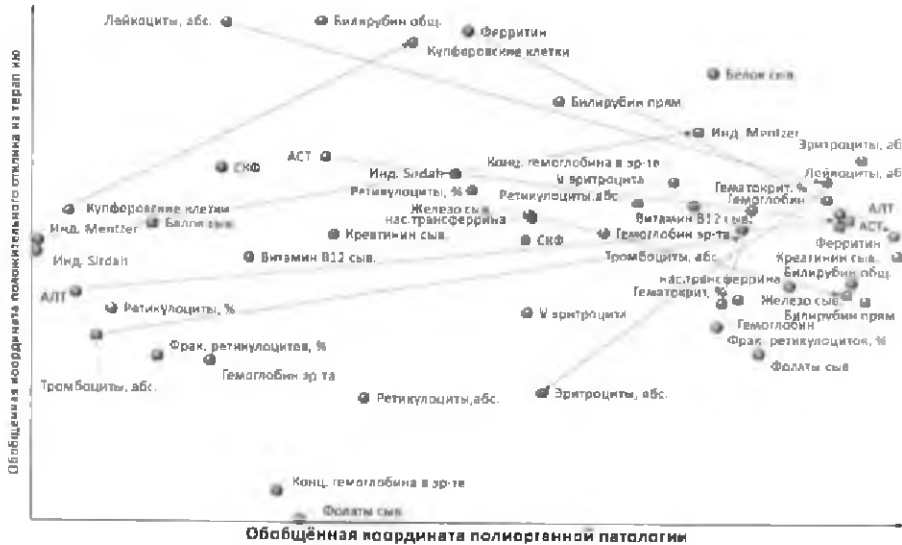


Рис. 1

Нормализованные профили значений биохимических показателей при воспроизведении модели.

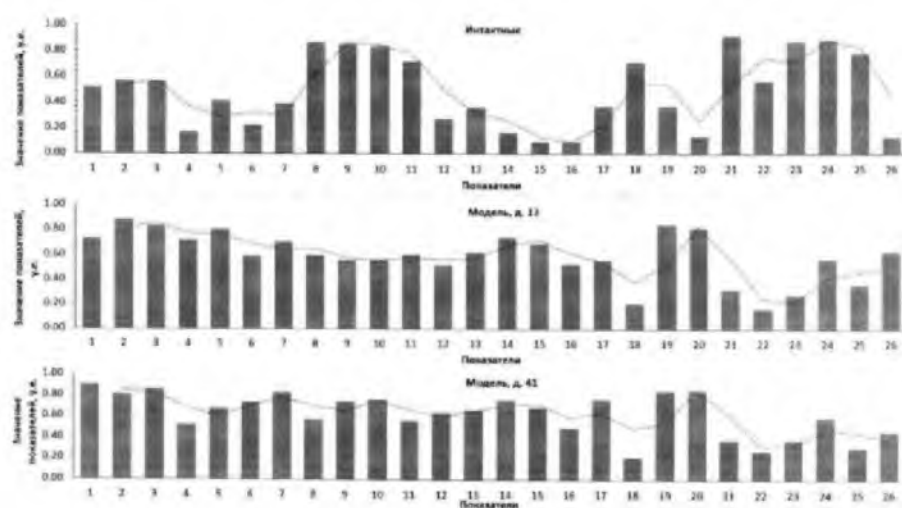


Рис. 2

Гистологический анализ различных органов intactных животных.

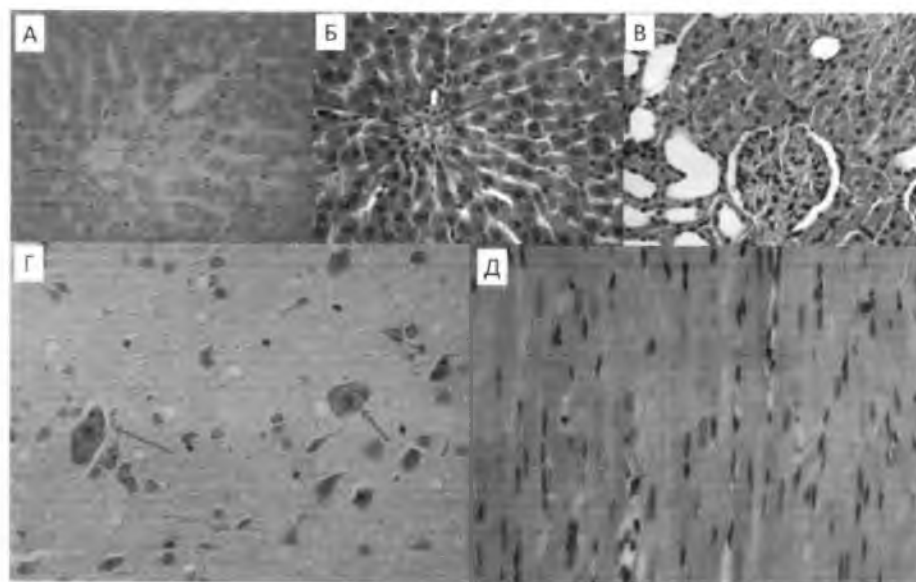


Рис. 3

Гистологический анализ тканей печени при воспроизведении модели «сульфат железа + пальмовое масло + раствор фруктозы».

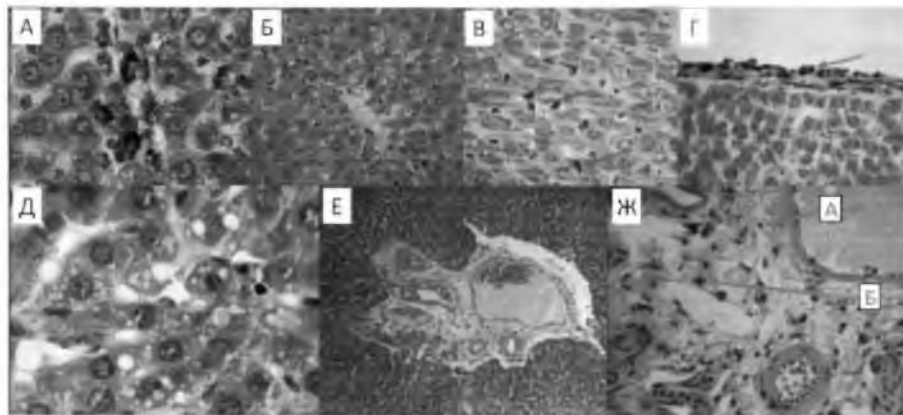


Рис. 4

Гистологический анализ эффектов доспрониведения модели на ткани почек.

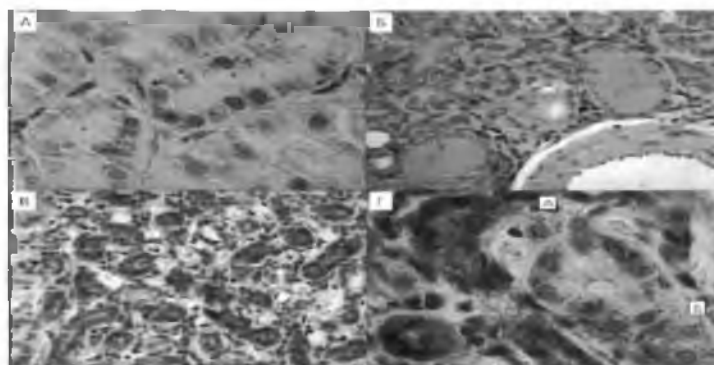


Рис. 5

Гистологический анализ эффектов воспроизведения модели на мозг и миокард.

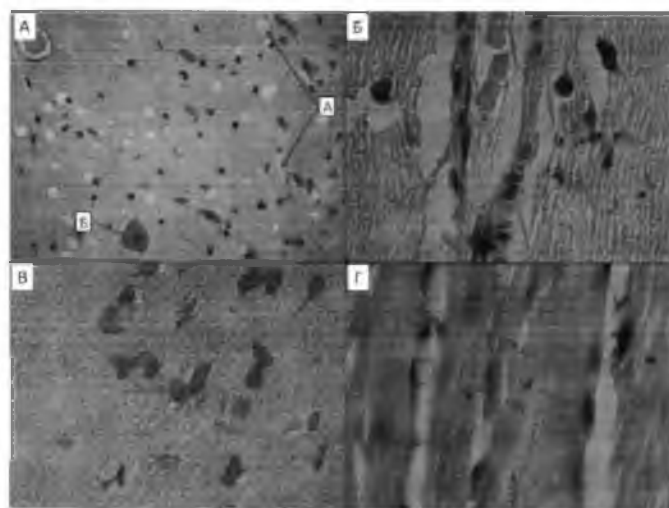


Рис. 6

Метрическая диаграмма в группе 3.

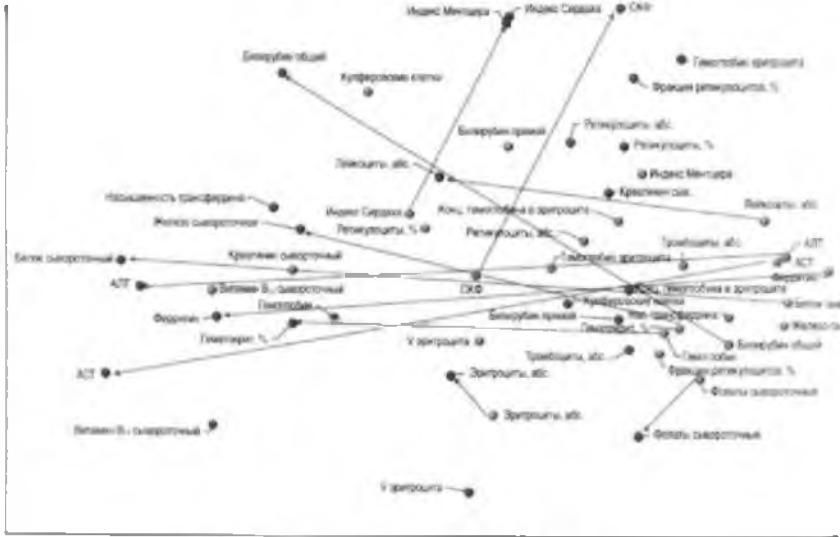


Рис. 7

Нормализованные профили значений биохимических показателей при терапии посредством инозитолового витаминно-минерального комплекса «Диквироген»

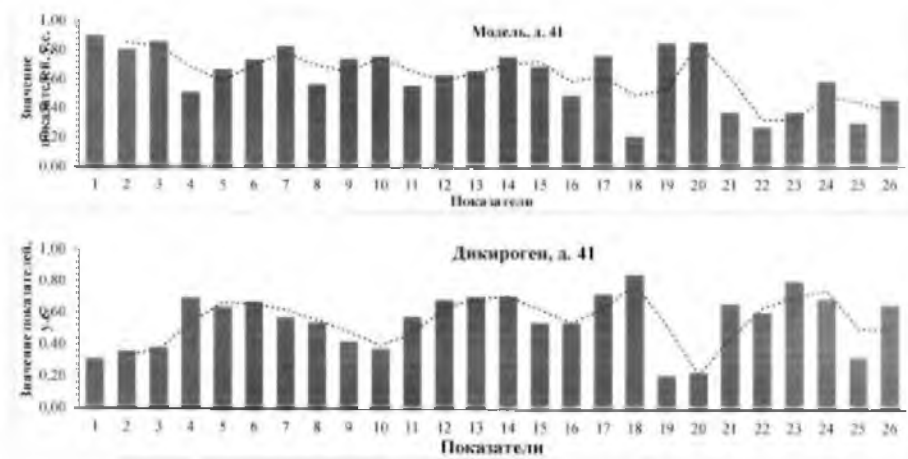


Рис. 8

Профили биохимических показателей исследованных групп. А) Показатели обмена железа. В) показатели полиорганной дисфункции.

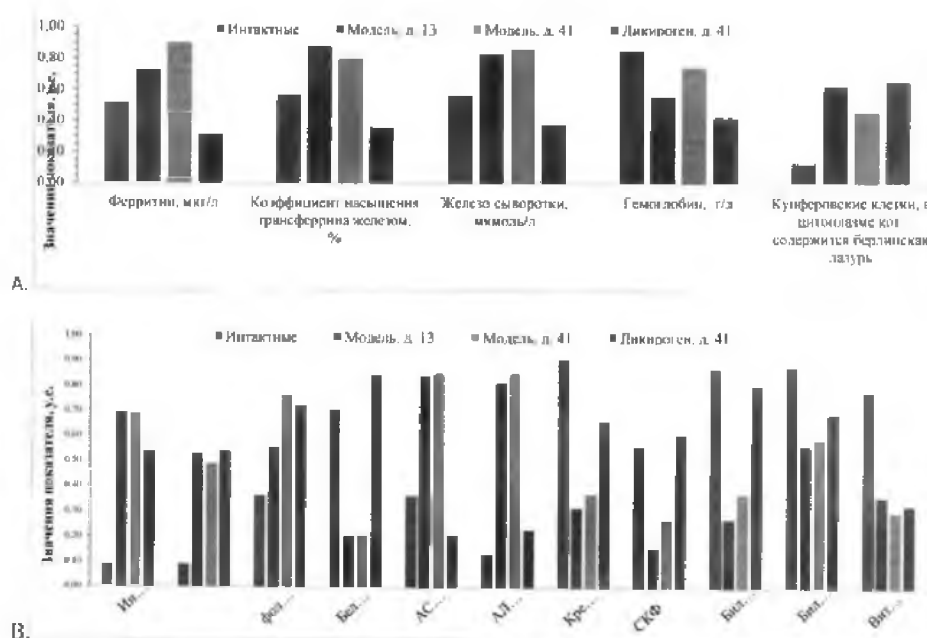


Рис. 9

Гистологический анализ изменений ткани печени на фоне терапии Дихирогеном.

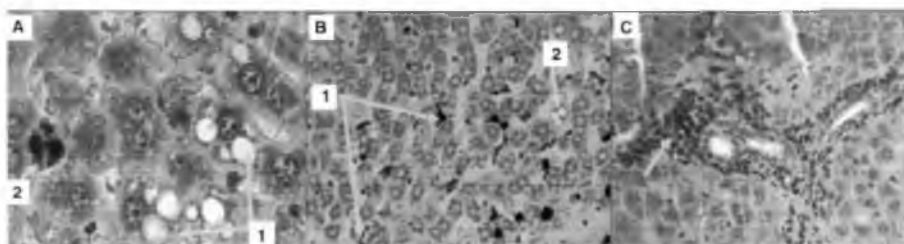


Рис. 10

Гистологический анализ изменений ткани почек, мозга и миокарда на фоне терапии Диклрогеном.

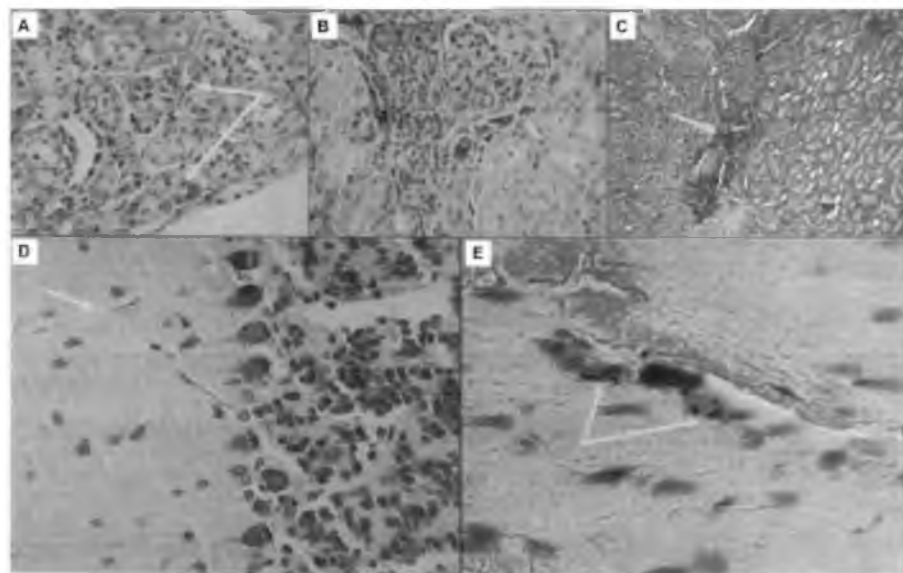


Рис. 11

Гистологическая картина ткани печени в контрольной группе

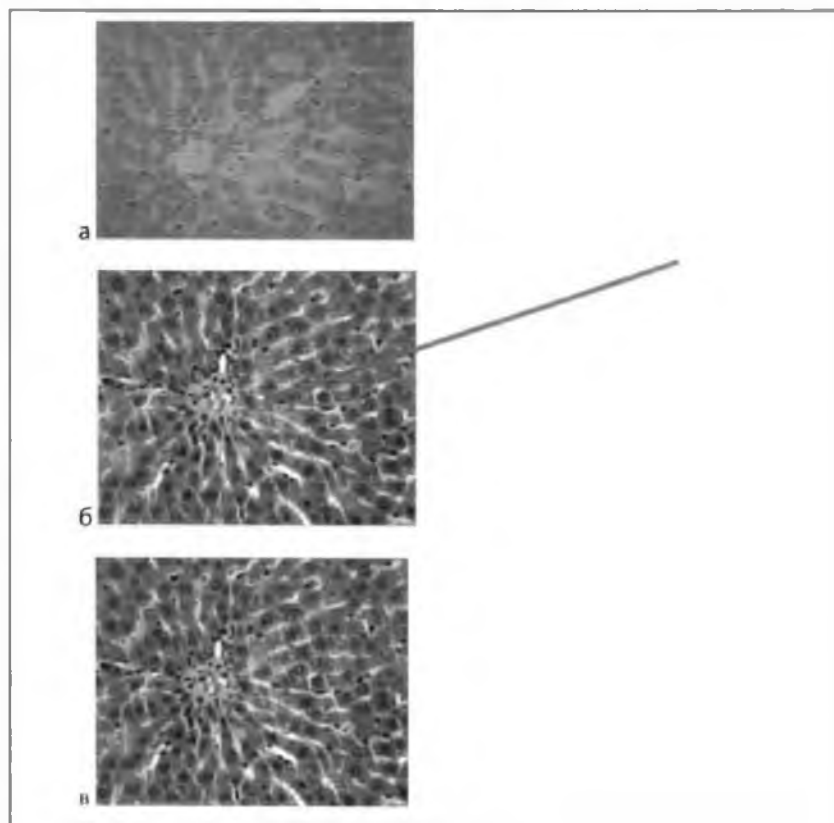


Рис. 12

Гистологическая картина гкани почек в контрольной группе

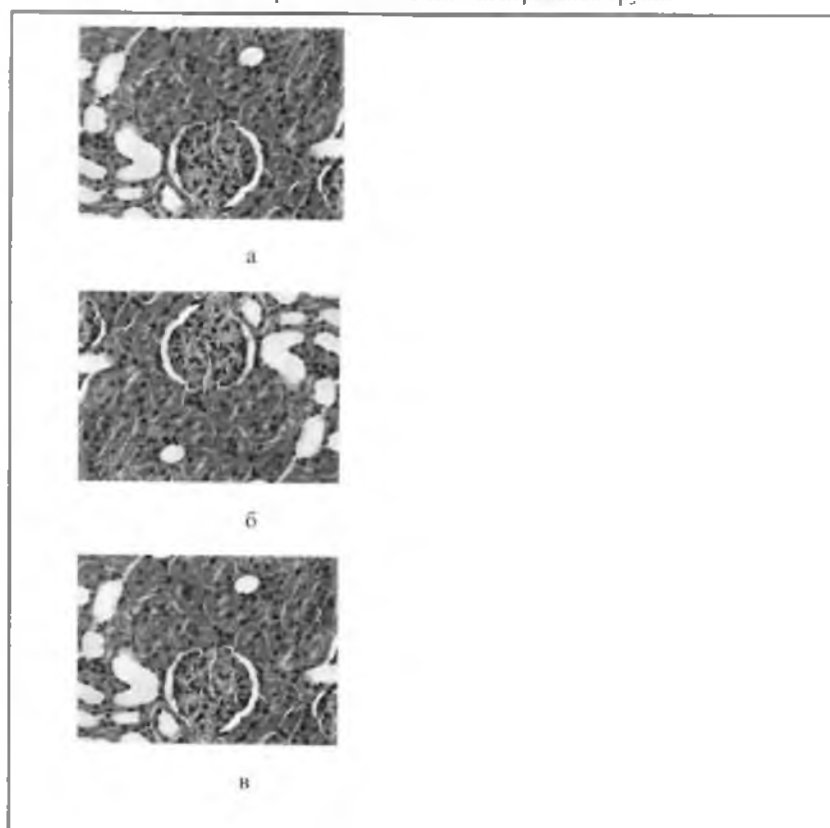


Рис. 13

Гистологическая картина ткани головного мозга в контрольной группе

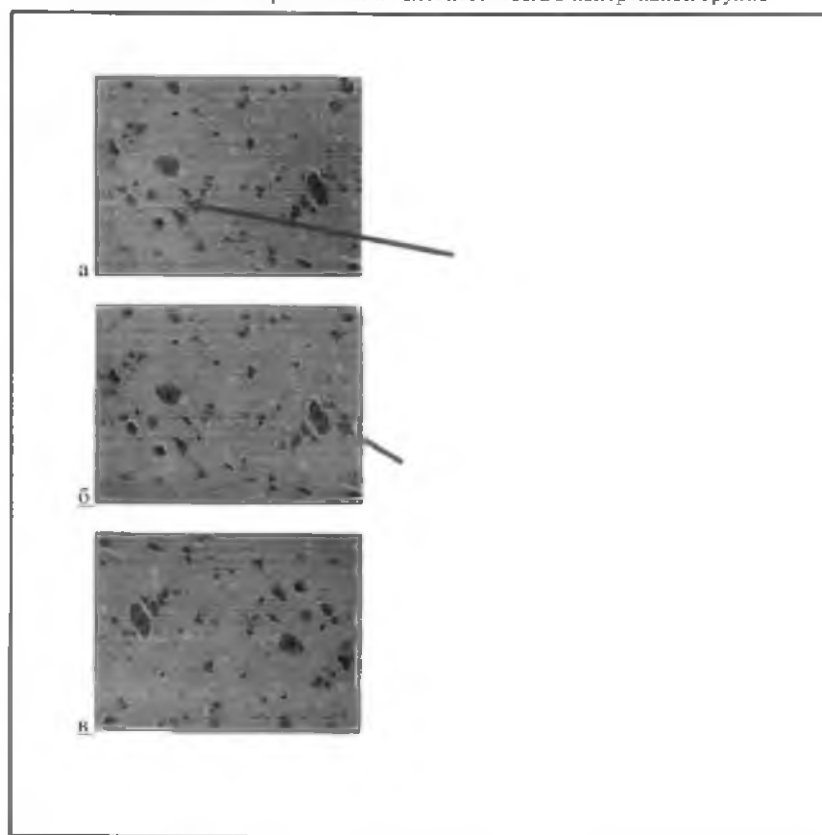


Рис. 14

Гистологическая картина ткани миокарда в контрольной группе

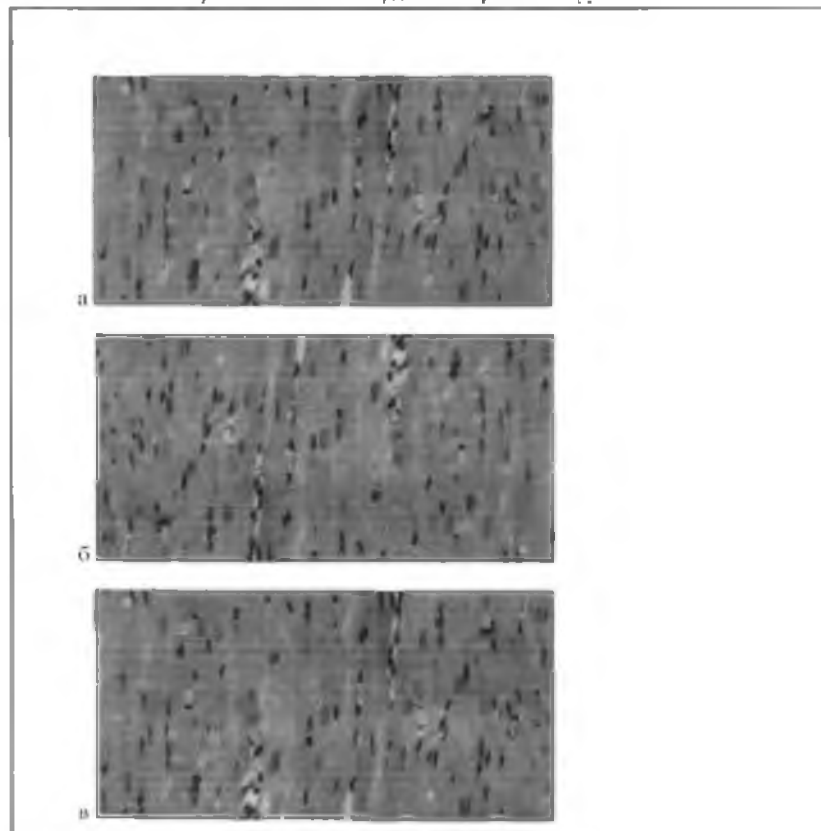


Рис. 15

Гистологический анализ тканей печени при воспроизведении модели

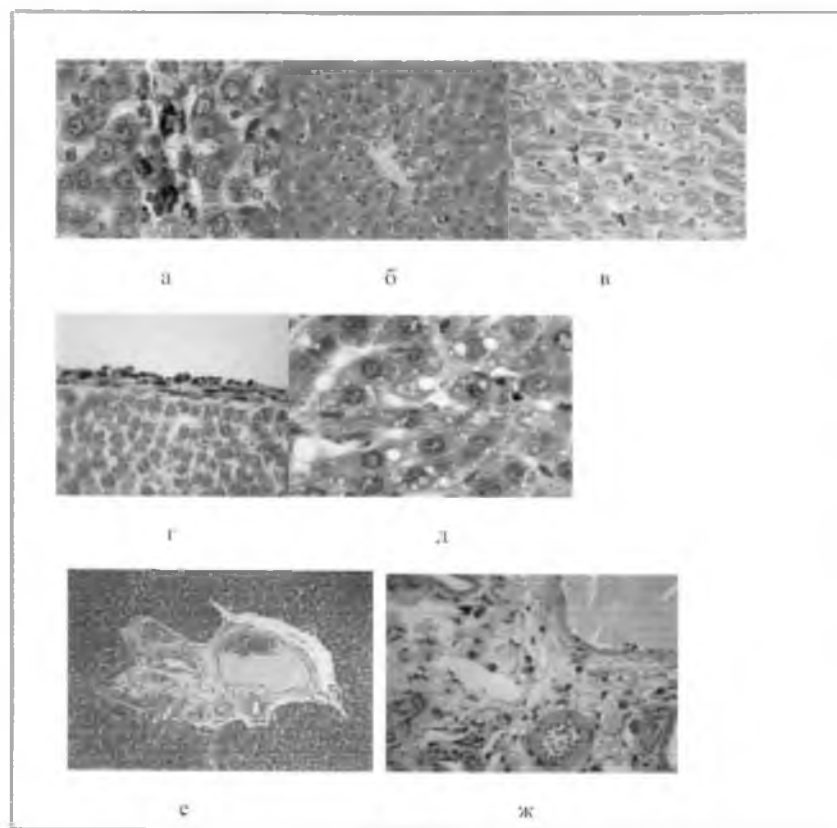


Рис. 16

Гистологический анализ тканей почек при воспроизведении модели

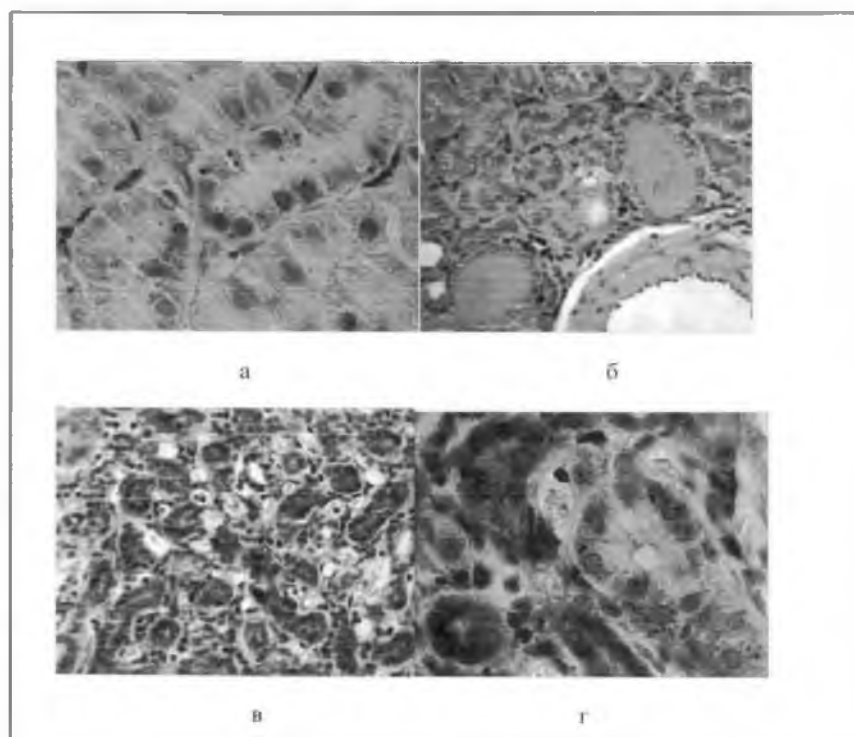


Рис. 17

Гистологический анализ тканей головного мозга при воспроизведении модели

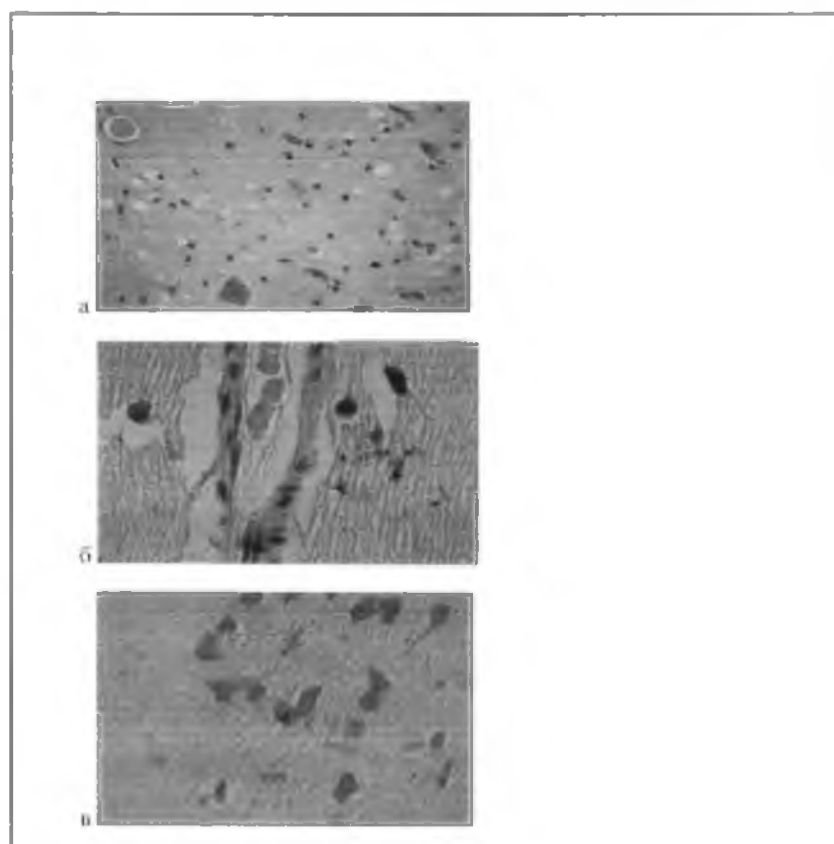


Рис. 18

Гистологический анализ тканей миокарда при воспроизведении модели

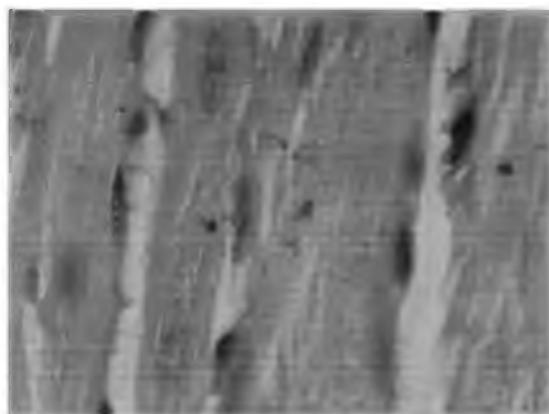


Рис. 19

Примеры гистологический картины ткани печени в группе 3

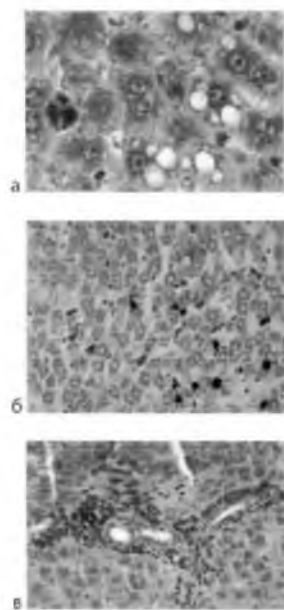


Рис. 20

Примеры гистологической картины ткани почек, головного мозга и миокарда в группе 3

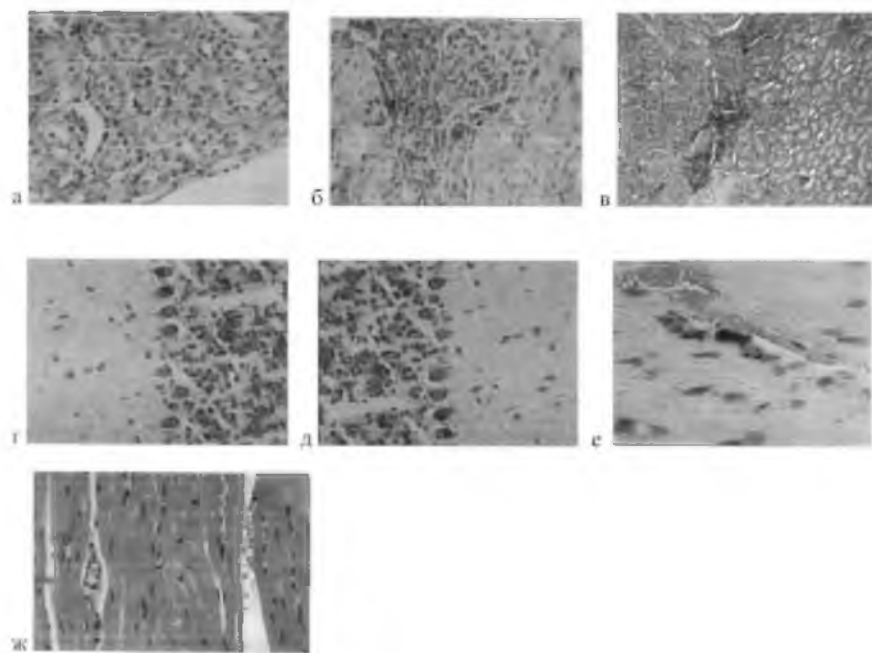


Рис. 21