

cal management of indolent ulcers in Boxer dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31 (10), 910-915. DOI: 10.1590/S0100-736X2011001000012.

8. Pozyabin, S.V. Klinicheskoe issledovanie sobak i koshek: uchebnoe posobie / S.V. Pozyabin,

A.V. Goncharova, V.A. Kostylev, A.V. Shtaufen. – Moskva: FGBOU VO MGAVMIB – MVA imeni K.I. Skryabina, 2023. – 96 s. – ISBN 978-5-86341-501-7.



УДК619:616.98

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-249-7-54-59

К.Н. Мустафаева, А.И. Леткин
K.N. Mustafaeva, A.I. Letkin

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КОШЕК ПРИ ЛИПИДОЗАХ НА ФОНЕ АНТИЦИТОКИНОВОЙ ТЕРАПИИ

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE LIVER OF CATS WITH LIPIDOSIS ON THE BACKGROUND OF ANTI-CYTOKINE THERAPY

Ключевые слова: липидозы, стеатоз, кошки, печень, биопсия, ультраструктура, жировой инфильтрат, цитокины, интерлейкины, Актемра, антицитокиновая терапия.

Представлены данные ультраструктуры печени кошек при стеатозе на фоне терапии препаратом «Актемра». Больных кошек в возрасте 6-10 лет разделили на 2 группы и назначили общепринятое лечение и корм Royal Canin Hepatic в течение 30 сут. Кошкам 2-й опытной группы в схему лечения включили препарат «Актемра» – рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору ИЛ-6 из подкласса иммуноглобулинов IgG1. Тоцилизумаб связывается и подавляет как растворимые, так и мембранные рецепторы ИЛ-6. Проведенные доклинические исследования на лабораторных животных не выявили канцерогенных, тератогенных и мутагенных свойств препарата «Актемра». Эффективность лечения наряду с изучением клинического статуса, морфобиохимических показателей оценивали также по результатам ультраструктурных изменений в печени. Приготовление гистопрепаратов состояло из последовательных этапов: получение биоптатов, фиксация, проводка, заливка кусочков, а также приготовление, окраска и заключение срезов. При поступлении в клинику у всех больных кошек выявили признаки стеатоза печени. У здоровых кошек печень имела однородную паренхиму с сохранением балочной структуры. Через 60 сут. от начала лечения у кошек 1-й опытной группы отсутствовала динамика в регрессии патологических изменений печени. У 2 кошек (40%) в печени наблюдали морфологические изменения, свойственные для стеатогепатита и фиброза печени, а у 3 кошек (60%) отмечали манифестиацию жирового гепатоза. У всех кошек 2-й опытной группы морфологические изменения в печени характеризовались обратимыми признаками жировой и зернистой дистрофии. Патологические формы гепатоцитов со-

ставляли около 10% от общего количества в поле зрения микроскопа. Исходя из вышеизложенного следует, что препарат «Актемра» способствует регенерации печени, снижению тяжести симптомов стеатоза печени.

Keywords: lipidosis, steatosis, cats, liver, biopsy, ultrastructure, fatty infiltrate, cytokines, interleukins, Actemra drug, anticytokine therapy.

The data on the ultrastructure of the liver of cats with steatosis during therapy with Actemra drug is discussed. Sick cats of the age 6-10 years were divided into 2 groups, and the standard treatment and Royal Canin Hepatic food for 30 days was prescribed. The stages of treatment of the cats in the 2nd trial group included Actemra drug. The Actemra drug (or) is a recombinant humanized monoclonal antibody to IL-6 human receptor from the subclass of IgG1 immunoglobulin. Tocilizumab binds to both soluble and membrane IL-6 receptors and suppresses them. The pre-clinical studies on laboratory animals did not reveal any carcinogenic, teratogenic or mutagenic properties of Actemra. The treatment efficacy, along with the study of the clinical status and morpho-biochemical indices, was also evaluated based on the results of ultrastructural changes in the liver. The preparation of histology specimens included intravital liver biopsy, fixation, processing, embedding of pieces of material and preparation of sections, staining with hematoxylin and eosin and embedding of sections. On the clinic visit, the signs of liver steatosis were detected in all sick cats. In healthy cats, the liver had a homogeneous parenchyma with preservation of the beam structure. After 60 days from the beginning of treatment, there was no dynamics in regression of pathological changes in the liver in cats of the 1st trial group. In two cats (40%), morphological changes characteristic of steatohepatitis and liver fibrosis were observed in the liver, and in three cats (60%), manifestation of fatty hepatosis was revealed. In all cats of the 2nd trial group, morphological

changes in the liver were characterized by reversible signs of fatty and granular dystrophy. Pathological forms of hepatocytes accounted for about 10% of the total number in the field of vision of the microscope. Based on the

above, it follows that the Actemra drug promotes liver regeneration reducing the severity of symptoms of liver steatosis.

Мустафаева Ксения Николаевна, аспирант, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, г. Саранск, Российская Федерация, e-mail: xenia1992@yandex.ru.

Леткин Александр Ильич, д.в.н., доцент, профессор кафедры, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, г. Саранск, Российская Федерация, e-mail: vetagro2003@mail.ru.

Mustafaeva Kseniya Nikolaevna, post-graduate student, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation, e-mail: xenia1992@yandex.ru.
Letkin Aleksandr Ilich, Dr. Vet. Sci., Prof., National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation, e-mail: vetagro2003@mail.ru.

Введение

Стеатогепатоз у кошек представляет собой патологию, связанную с накоплением жира в клетках печени. Данная патология является следствием нарушения обмена липидов в организме животных, а способствующими факторами являются гиподинамия, погрешности в кормлении, зрелый возраст и различные патологии [1, 2]. При заболеваниях гепатобилиарной системы больным животным назначают средства этиотропной, симптоматической, заместительной и патогенетической терапии [3]. Схемы лечения кошек и собак при гепатопатиях строго индивидуальны и зависят не только от возраста и пола животного, но и этиопатогенетических особенностей выявленной патологии [4]. Научные изыскания отечественных и зарубежных исследователей в области оценки цитокинового профиля животных, в том числе лабораторных, предопределили применение антицитокинового препарата «Актемра» кошкам при стеатозе печени.

Целью исследования является изучение ультраструктуры печени кошек при стеатозе на фоне применения антицитокинового препарата «Актемра».

Задачи: получение биоптата печени у кошек и подготовка гистологических препаратов окраской гематоксилином и эозином; оценка ультраструктурных изменений в печени кошек на фоне применения препарата «Актемра».

Объект и методы исследования

Исследования провели на кошках в возрасте 6-10 лет без учета породности и половой принадлежности. В эксперименте использовали 16 кошек: по 5 гол. в опытных группах, 6 гол. в контрольной. Для оценки эффективности лечебных мероприятий и изучения ультраструктуры печени больных стеатозом кошек была прове-

дена лапаротомия с отбором кусочков печени при поступлении в клинику и через 60 сут. от начала лечения. С лечебной целью всем больным кошкам применили препараты «Гептролюкс», раствор Рингер-Локка, «Дротаверина гидрохлорид», «Дексаметазон», «Комбистресс». Корм Royal Canin Hepatic применяли кошкам всех групп в течение 1 мес. [5]. Кошкам 2-й опытной группы в схему лечения включали препарат «Актемра» в дозе 8 мг/кг 1 раз в месяц двукратно.

Препарат «Актемра» (тоцилизумаб) – рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору ИЛ-6 из подкласса иммуноглобулинов IgG1. Тоцилизумаб связывается и подавляет как растворимые, так и мембранные рецепторы ИЛ-6. Проведенные доклинические исследования на лабораторных животных не выявили канцерогенных, тератогенных и мутагенных свойств препарата «Актемра». При оценке хронической токсичности у яванских макак отрицательного влияния тоцилизумаба на эндокринные или репродуктивные органы не обнаружено. Рекомендуемая доза животным составляет 8 мг/кг массы тела 1 раз в месяц в течение 2 мес. [6].

Кусочки печени у больных кошек отбирали с помощью панч-иглы при прижизненной лапаротомии [7]. В контрольной группе печень отбирали у 6 здоровых кошек – от 3 кошек в начале опытов и от 3 кошек через 2 мес. от начала лечения. В соответствии с нормами Закона № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты РФ» от 27 декабря 2018 г. отбор кусочков печени у здоровых кошек перед проведением исследований осуществляли со строгим соблюдением этических норм и принципов гуманного обращения с животными [8]. Приготовление гистопрепаратов представляет собой

сложный процесс, состоящий из нескольких последовательных этапов: получение биоптатов, фиксация, проводка, заливка кусочков, а также приготовление, окраска и заключение срезов [9].

Экспериментальная часть

При поступлении в клинику у всех 10 кошек выявили жировую дистрофию в различной степени. Помимо жировой дистрофии печени у

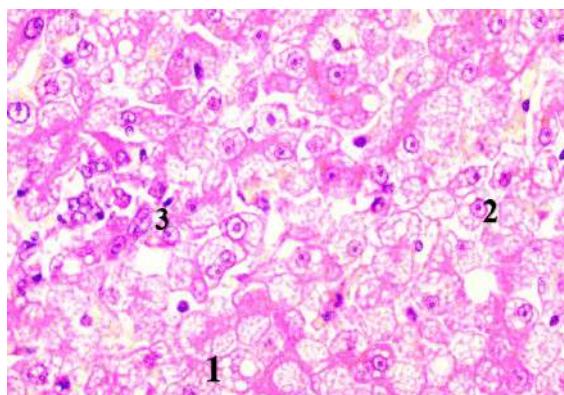


Рис. 1. Жировая инфильтрация цитоплазмы гепатоцитов. Печень кошки при поступлении в клинику. Окраска гематоксилином и эозином.

Об. 40 х ок. 10:

- 1 – инфильтрация капель жира в цитоплазму;
- 2 – смещение ядер к периферии клеток;
- 3 – карионекроз

В печени кошки 2-й опытной группы в начале опытов отмечены деструктивные изменения в ядрах гепатоцитов (рис. 2). Наряду с эксцентричным расположением ядер в цитоплазме от-

мечали их значительную деформацию. В гепатоцитах также выявили деформацию ядра из-за конденсации хроматина и некроза. Имеются клетки с лизированными ядрами.

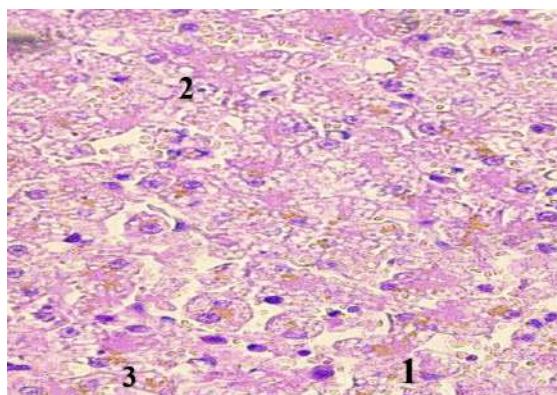


Рис. 2. Патологические изменения в ядрах гепатоцитов. Печень кошки при поступлении в клинику.

Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40 х ок. 10:

- 1 – деформация ядер;
- 2 – отложения глыбок хроматина;
- 3 – карионекроз

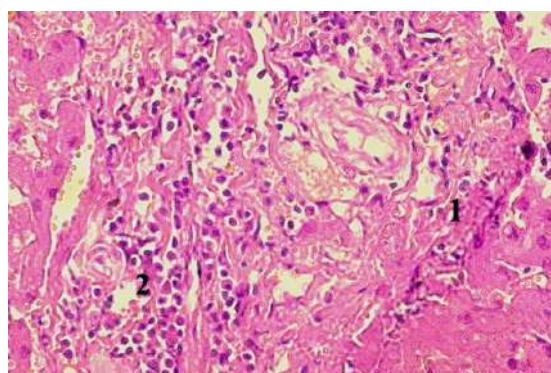


Рис. 3. Клеточно-тканевый инфильтрат. Печень кошки при поступлении в клинику.

Окраска гематоксилином и эозином. Об. 100 х ок. 10:

клеточно-тканевая инфильтрация:

- 1 – желчного протока;
- 2 – кровеносных сосудов

У одной кошки (20%) в 1-й опытной группе выявили совместное течение в паренхиме пече-

ни воспалительных процессов в виде клеточно-тканевой инфильтрации и гепатостеатоза. Еди-

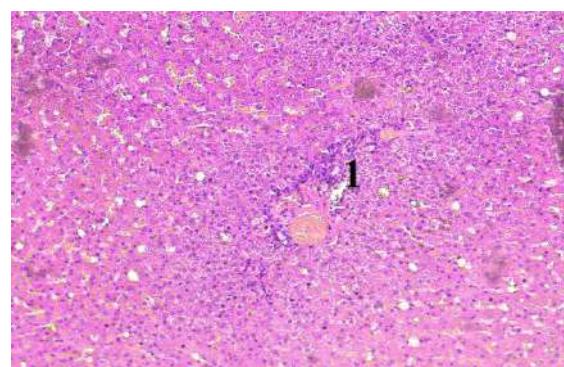


Рис. 4. Венозный застой. Печень кошки при поступлении в клинику. Окраска гематоксилином и эозином.

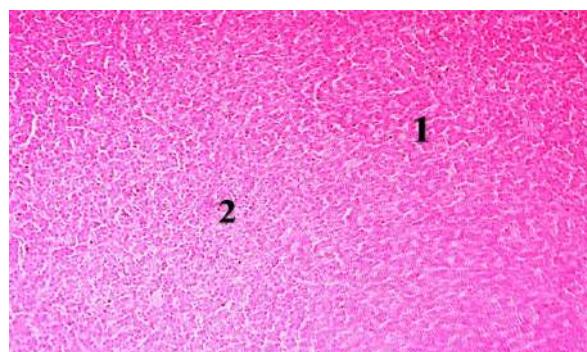
Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10 х ок. 10:

- 1 – венозная гиперемия паренхимы

ни воспалительных процессов в виде клеточно-тканевой инфильтрации и гепатостеатоза. Еди-

ничные нейтрофилы располагаются в межклеточном пространстве, а очаговое скопление нейтрофилов выявлено в портальных ходах и в просвете кровеносных сосудов (рис. 3).

У одной кошки (20%) 2-й опытной группы наряду с признаками жировой инфильтрации печени отмечали венозную гиперемию (рис. 4). Она может быть связана сдавливанием жировыми каплями не только гепатоцитов, но и мелких кровеносных сосудов паренхимы печени [9].



*Рис. 5. Печень кошки контрольной группы при поступлении в клинику. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10 x ок. 10:
1 – печеночные балки; 2 – синусоидные капилляры*

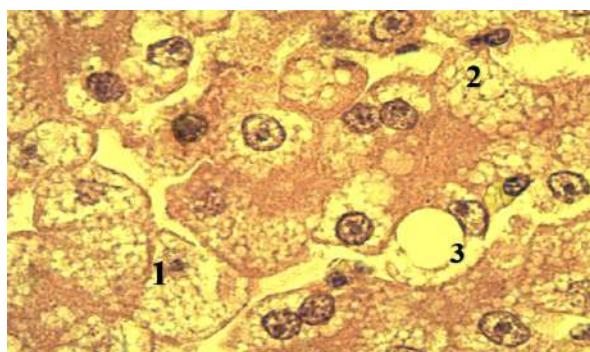
Через 60 сут. от начала лечения была проведена повторная биопсия печени с целью оценки морфоструктурных изменений и эффективности лечебной мероприятий. У кошек 1-й опытной группы назначенное лечение не привело к регрессии патологических изменений и усилению регенеративных свойств печени. У двух кошек (40%) в печени наблюдали морфологические изменения, свойственные для стеатогепатита и фиброза печени, а у трёх кошек (60%) отмечали манифестацию жирового гепатоза. На рисунке 6 представлена печень кошки 1-й опытной группы с морфологическими изменениями, характерными для стеатогепатита: слияние в цитоплазме гепатоцитов мелких капель липидов в более крупные, которые занимают всю цитоплазму клеток. При этом наблюдается не только кар-

онекроз, но и гибель гепатоцитов. Кроме того, у этих кошек выявили в межклеточном пространстве многочисленные эозинофильно-тканевые инфильтраты (рис. 7).

*Рис. 6. Патологические изменения в гепатоцитах. Печень кошки 1-й опытной группы через 60 сут. от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином. Об.100 x ок. 10:
1 – карионекроз; 2 – кариолизис;
3 – вакуоли в цитоплазме гепатоцитов*

онекроз, но и гибель гепатоцитов. Кроме того, у этих кошек выявили в межклеточном пространстве многочисленные эозинофильно-тканевые инфильтраты (рис. 7).

Через 2 мес. от начала проведения лечебных мероприятий ультраструктурные изменения печени у всех кошек 2-й опытной группы свидетельствуют о наличии обратимых признаков жировой и зернистой дистрофии. Это состояние указывает на способность печени к восстановлению при оптимальных условиях и адекватной терапии (рис. 8). Патологические формы гепатоцитов составляли около 10% от общего количества в поле зрения микроскопа. Выявленные изменения свидетельствовали о положительном влиянии препарата «Актемра» на регенеративные функции печени.



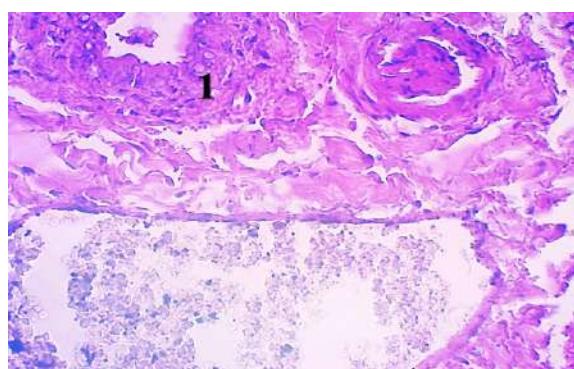


Рис. 7. Патологические изменения в паренхиме печени. Печень кошки 1-й опытной группы через 60 сут. от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 100 x ок. 10:
1 – эозинофильно-тканевые инфильтраты

Результаты и их обсуждение

При поступлении в клинику у кошек всех опытных групп установили признаки жировой дистрофии, развивающейся по типу инфильтрации в цитоплазму клеток. Помимо жировой дистрофии печени у 2 кошек (40%) 1-й опытной группы и у 3 кошек (60%) 2-й опытной группы выявили деформацию ядер гепатоцитов и карионекроз. У здоровых кошек печень по гистопрепаратаам имела однородную паренхиму с сохранением балочной структуры [9].

Через 60 сут. от начала лечения у кошек 1-й опытной группы отсутствовала динамика в регрессии патологических изменений печени. У двух кошек (40%) в печени наблюдали морфологические изменения, свойственные для стеатогепатита и фиброза печени, а у трёх кошек (60%) отмечали манифестиацию жирового гепатоза. У всех кошек 2-й опытной группы морфологические изменения в печени характеризовались обратимыми признаками жировой и зернистой дистрофии. Патологические формы гепатоцитов составляли около 10% от общего количества в поле зрения микроскопа. Выявленные изменения свидетельствуют о положительном влиянии препарата «Актемра» на регенеративные функции печени. Проведенные нами ранее исследования позволили установить, что при стеатогепатозе кошек происходит значительная активизация провоспалительных цитокинов – интерлейкина 6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухолей (ФНО). При включении в схему лечения

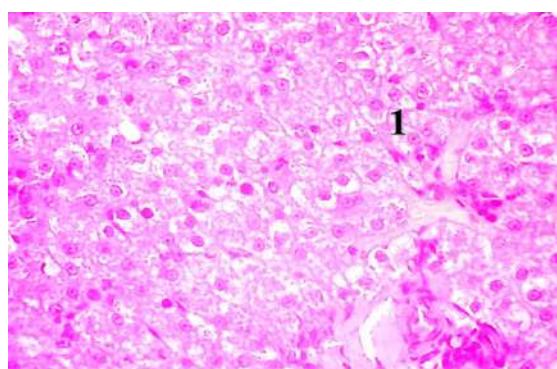


Рис. 8. Жировой гепатоз. Печень кошки 2-й опытной группы через 60 сут. от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40 x ок. 10:
1 – единичные жировые капли в гепатоцитах

препарата «Актемра» выявили уменьшение содержания провоспалительных цитокинов и активацию противовоспалительных цитокинов – интерлейкина 4 (ИЛ-4) и трансформирующего фактора роста (ТФР-бета) [10]. В связи с этим применение препарата «Актемра» для профилактики и лечения ранних форм стеатоза печени у кошек научно обосновано и рекомендуется для применения в практической ветеринарии.

Выводы

1. Препарат «Актемра» способствует регенерации печени, снижению тяжести симптомов стеатогепатоза, препятствует развитию осложнений в виде стеатогепатита и фиброза печени.
2. В схему лечения и профилактики стеатоза печени у кошек включать препарат «Актемра» внутривенно инфузционно в дозе 8 мг/кг. Инъекции производить 1 раз в месяц в течение 2 мес.

Библиографический список

1. Гепатоцит: функционально-метаболические свойства / П. В. Гулак, А. М. Дудченко, В. В. Зайцев [и др.]. – Москва: Наука, 1985. – 269 с. – Текст: непосредственный.
2. Денисенко, В. Н. Сочетанные патологии печени, почек и поджелудочной железы у домашних кошек / В. Н. Денисенко, А. М. Алабед, Н. М. Зуева. – Текст: непосредственный // Вестник Российской университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2020. – Т. 15, № 4. – С. 391-402.

3. Ахмедова, Д. Р. Сравнительная оценка способов лечения гепатоза у собак и кошек / Д. Р. Ахмедова. – Текст: непосредственный // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2017. – № 1. – С. 117-119.

4. Диагностика и лечение болезней печени у собак и кошек / В. Н. Денисенко [и др.]. – Москва: КолоСС, 2011. – 112 с. – Текст: непосредственный.

5. Оковитый, С. В. Гепатопротекторы: руководство / С. В. Оковитый. – Москва: ГЭОТАР Медиа, 2010. – 109 с. – Текст: непосредственный.

6. Manzano, R. P., Peyman, G. A., Carvounis, P. E., et al. (2008). Ocular toxicity of intravitreous adalimumab (Humira) in the rabbit. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 246 (6), 907–911. <https://doi.org/10.1007/s00417-008-0765-z>.

7. Лоренци, Д. Получение биоптатов печени / Д. де Лоренцио – Текст: непосредственный // Veterinary focus. – 2010. – № 3 – С. 48-49.

8. ФЗ-498 от 27.12.2018 г. Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты РФ. – URL: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/43912>. – Текст: электронный.

9. Методы морфологических исследований: методическое пособие / С. М. Сулейманов, П. А. Паршин [и др.]. – Воронеж, 2007. – 87 с. – Текст: непосредственный.

10. Мустафаева, К. Н. Влияние антицитокиновой терапии на биохимические показатели сыворотки крови кошек при стеатозе печени / К. Н. Мустафаева, А. И. Леткин. – Текст: непосредственный // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2024. – № 4 (68). – С. 90-95.

References

1. Gulak, P.V. Gepatotsit: funktsionalno-metabolicheskie svoystva / P.V. Gulak, A.M. Dudchenko, V.V. Zaytsev i dr. – Moskva: Nauka, 1985. – S. 269.

2. Denisenko V.N. Sochetannye patologii pecheni, pochek i podzheludochnoy zhelezy u domashnikh koshek / V.N. Denisenko, A.M. Alabed, N.M. Zueva // Vestnik RUDN. Seriya: Agronomiya i zhivotnovodstvo. – 2020. Т. 15. – №. 4. – S. 391-402.

3. Akhmedova D.R. Sravnitelnaya otsenka sposobov lecheniya gepatoza u sobak i koshek / D.R. Akhmedova // Izvestiya Orenburgskogo GAU. – 2017. – №. 1. – S. 117-119.

4. Denisenko, V.N. Diagnostika i lechenie bolezney pecheni u sobak i koshek / V.N. Denisenko i dr. – Moskva: KoloSS, 2011. – 112 s.

5. Okovityy, S.V. Gepatoprotektory: rukovodstvo / S.V. Okovityy. – Moskva: GEOTAR Media, 2010. – 109 s.

6. Manzano, R. P., Peyman, G. A., Carvounis, P. E., et al. (2008). Ocular toxicity of intravitreous adalimumab (Humira) in the rabbit. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 246 (6), 907–911. <https://doi.org/10.1007/s00417-008-0765-z>.

7. Lorentsi, D. Poluchenie bioptatov pecheni / Davide de Lorentsi // Veterinary Focus. – 2010. – №. 3 – С. 48-49.

8. FZ-498 ot 27.12.2018 g. «Ob otvetstvennom obrashchenii s zhivotnymi i o vnesenii izmeneniy v otdelnye zakonodatelnye akty RF». <http://www.kremlin.ru/acts/bank/43912>.

9. Suleymanov, S.M. Metody morfologicheskikh issledovaniy: metodicheskoe posobie / S.M. Suleymanov, P.A. Parshin i dr. – Voronezh. 2007. – 87 s.

10. Mustafaeva, K.N. Vliyanie antitsitokinovoy terapii na biokhimicheskie pokazateli syvorotki krovi koshek pri steatoze pecheni / K.N. Mustafaeva, A.I. Letkin // Vestnik Ulyanovskoy GSKHA. – 2024. – №. 4 (68). – S. 90-95.

