

Canadian dairy farms / L. J. Levison [et al.] // J. Dairy Sci. – 2016. – № 99 (2). – P. 1341–1350. Doi: 10.3168/jds.2015-9809. 3. *Mycoplasma species isolated from bovine milk collected from US dairy herds between 2016 and 2019* / G. Gioia [et al.] // J. Dairy Sci. – 2021. – № 104 (4). – P. 4813–4821. Doi: 10.3168/jds.2020-19171. 4. An understanding of the global status of major bacterial pathogens of milk concerning bovine mastitis: A systematic review and meta-analysis (scientometrics) / P. Krishnamoorthy [et al.] // Pathogens. – 2021. – № 10 (5). – P. 545. Doi: 10.3390/pathogens10050545. 5. Negatively controlled, randomized clinical trial comparing different antimicrobial interventions for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive pathogens / T. Tomazi [et al.] // J. Dairy Sci. – 2021. – № 104 (3). – P. 3364–3385. Doi: 10.3168/jds.2020-18830. 6. Иммунологические аспекты борьбы с маститом коров / В. И. Слободяник [и др.]. – Воронеж, 2020. – 223 с. 7. Using Biferon-B for the prevention of mastitis in cow / S. V. Shabunin [et al.] // BIO Web of Conferences: International Scientific-Practical Conference “Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources” (FIES 2019), Kazan, 13–14 ноября 2019 года. – Kazan : EDP Sciences, 2020. – P. 00099. Doi: 10.1051/bioconf/20201700099. 8. Шапошников, И. Т. Состояние оксидантно-антиоксидантного статуса у высокопродуктивных коров в условиях экологического неблагополучия после применения α - и γ -интерферонов в сочетании с аминокислотами / И. Т. Шапошников, В. Н. Коцарев, Т. Г. Ермолаева // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2020. – Т. 56, вып. 4. – С. 164–167. 9. Эффективность применения аминокислот для профилактики послеродового эндометрита у коров / В. Н. Скороков, В. И. Михалев, Л. Ю. Сашнина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 3 (16). – С. 64–74. Doi: 10.17238/issn2541-8203.2021.3.64. 10. Изучение эффективности аминокислот при технологическом стрессе на свиноводческих комплексах / Г. А. Востроилова [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2018. – № 2 (3). – С. 37–41. 11. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины / А. М. Смирнов [и др.]. – Москва : РАСХН, 2007. – Ч. III. : Методы исследований по проблемам ветеринарной патологии у продуктивных животных. – С. 174–215.

References. 1. Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of central Mexico / M. F. León-Galván [et al.] // Biomed Res Int. – 2015. – P. 615153. Doi: 10.1155/2015/615153. 2. Incidence rate of pathogen-specific clinical mastitis on conventional and organic Canadian dairy farms / L. J. Levison [et al.] // J. Dairy Sci. – 2016. – № 99 (2). – P. 1341–1350. Doi: 10.3168/jds.2015-9809. 3. *Mycoplasma species isolated from bovine milk collected from US dairy herds between 2016 and 2019* / G. Gioia [et al.] // J. Dairy Sci. – 2021. – № 104 (4). – P. 4813–4821. Doi: 10.3168/jds.2020-19171. 4. An understanding of the global status of major bacterial pathogens of milk concerning bovine mastitis: A systematic review and meta-analysis (scientometrics) / P. Krishnamoorthy [et al.] // Pathogens. – 2021. – № 10 (5). – P. 545. Doi: 10.3390/pathogens10050545. 5. Negatively controlled, randomized clinical trial comparing different antimicrobial interventions for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive pathogens / T. Tomazi [et al.] // J. Dairy Sci. – 2021. – № 104 (3). – P. 3364–3385. Doi: 10.3168/jds.2020-18830. 6. Иммунологические аспекты борьбы с маститом коров / В. И. Слободяник [и др.]. – Воронеж, 2020. – 223 с. 7. Using Biferon-B for the prevention of mastitis in cow / S. V. Shabunin [et al.] // BIO Web of Conferences: International Scientific-Practical Conference “Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources” (FIES 2019), Kazan, 13–14 noyabrya 2019 goda.– Kazan : EDP Sciences, 2020. – P. 00099. Doi: 10.1051/bioconf/20201700099. 8. SHaposhnikov, I. T. Sostoyanie oksidantno-antioksidantnogo statusa u vysokoproduktivnyh korov v usloviyah ekologicheskogo neblagopoluchiya posle primeneniya α - i γ -interferonov v sochetanii s aminoseletonom / I. T. SHaposhnikov, V. N. Kocarev, T. G. Ermolaeva // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak Pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy mediciny». – Vitebsk, 2020. – T. 56, vyp. 4. – S. 164–167. 9. Skorikov, V. N. Effektivnost' primeneniya aminoseleferona dlya profilaktiki poslerodovogo endometrita u korov / V. N. Skorikov, V. I. Mihalev, L. YU. Sashnina // Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik. – 2021. – № 3 (16). – S. 64–74. Doi: 10.17238/issn2541-8203.2021.3.64. 10. Izuchenie effektivnosti aminoseletona pri tekhnologicheskom stresse na svinovodcheskih kompleksah / G. A. Vostroilova [i dr.] // Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik. – 2018. – № 2 (3). – S. 37–41. 11. Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii nespecificheskoj rezistentnosti zhivotnyh // Noveye metody issledovaniy po problemam veterinarnoy mediciny / A. M. Smirnov [i dr.]. – Moskva : RASKHN, 2007. – CH. III. : Metody issledovaniy po problemam veterinarnoy patologii u produktivnyh zhivotnyh. – S. 174–215.

Поступила в редакцию 11.01.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-58-1-92-100
УДК 616-091.8:[616.036]

НОВЫЙ ПОДХОД К МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

*Лебедева Е.И. ORCID ID 0000-0003-1309-4248, *Щастный А.Т. ORCID ID 0000-0003-2796-4240,
Красочко П.А. ORCID ID 0000-0002-4641-4757, *Бабенко А.С. ORCID ID 0000-0002-5513-970X

*УО «Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь

**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

***УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Анализ возможности применения антифибротических препаратов проводят с использованием лабораторных животных. Как показывает современная научная литература, до сих пор существует ряд нерешенных проблем: необходимы определения тех экспериментальных моделей, которые наиболее точно будут отражать развитие фиброза и цирроза печени у человека; востребованы диагностические и прогностические маркеры для оценки прогрессирования/регресса фиброза у животных, общепринятые шкалы полуколичественной оценки фиброза подробно не изучались на животных моделях.

*На основании выполненного исследования предлагается экспериментальная модель, которая имеет ряд преимуществ перед другими. У крыс тиоацетамид индуцирует фиброгенез с последующей трансформацией в цирроз. Модель позволяет изучать фиброз последовательно или на определенных этапах и является легко воспроизводимой. Разработанная морфологическая шкала подробно описывает фиброгенез, учитывает промежуточные стадии, имеет диагностическую и прогностическую ценность. **Ключевые слова:** крысы Wistar, тиоацетамид, морфология печени, степень фиброза.*

A NEW APPROACH TO MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE DEGREE OF LIVER FIBROSIS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

*Lebedeva E.I., *Shchastny A.T., **Krasochko P.A., ***Babenka A.S.

*Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

**Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

***Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Usually, the efficacy of antifibrotic drugs is evaluated using laboratory animals. As the modern scientific literature shows, there is still a number of unsolved problems. First, it is necessary to determine the appropriate models that are able to reflect most accurately the development of fibrosis and cirrhosis in humans. Second, to identify diagnostic and prognostic markers to assess the progression / regression of fibrosis in animals. Third, to examine carefully the generally accepted scales for the semi-quantitative assessment of fibrosis in animal models.

*Based on the findings obtained, we offer an experimental model that has a number of advantages over others. In rats, thioacetamide induces fibrogenesis followed by transformation into cirrhosis. The model allows the study of fibrosis sequentially or at specific stages and is easily reproducible. The developed morphological scale describes fibrogenesis in detail, takes into account intermediate stages, and possesses a diagnostic and prognostic value. **Keywords:** Wistar rats, thioacetamide, liver morphology, degree of fibrosis.*

Введение. Фиброз печени представляет собой серьезную проблему в гепатологии, так как его развитие часто приводит к циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме. Своевременное выявление и установление стадии фиброза имеют первостепенное значение при лечении пациентов с хроническими заболеваниями печени, а также при проведении доклинических исследований [1, 2].

В последнее время широко используют неинвазивные методы диагностики хронических заболеваний печени, но по-прежнему золотым стандартом определения степени тяжести поражения органа, стадии воспаления и фиброза остается биопсия ткани [3]. Практика показывает, что магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой эластографии не хватает чувствительности и специфичности, чтобы выявить фиброз на ранней стадии, а также данные методы нельзя применять для определения воспаления и повреждения клеток. Также необходимо отметить, что у исследователей диагностическая ценность сывороточных маркеров вызывает сомнения [2, 4].

Циркулирующие микроРНК (жидкая биопсия) представляют интерес как диагностические и прогностические молекулярные маркеры течения заболевания и прогноза ответа на проводимую терапию. Предполагают, что они могут стать альтернативной стратегией биопсии печени в будущем. Современные исследования показывают, что изучена только часть сложного микроРНК-опосредованного фиброгенеза печени, в 14–33% случаев сообщается о наличии или отсутствие выраженного фиброза. Необходимы более масштабные и углубленные исследования, прежде чем микроРНК войдут в лабораторную практику как молекулярные маркеры [5].

В последние годы ученые, используя методы высокопроизводительного секвенирования, показывают тесную корреляцию кишечной микробиоты с фиброзом, циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой [6]. В большинстве таких работ сравнивались только две группы, и лишь немногие исследования посвящены изучению процесса в динамике. Новые технологии все еще имеют ограничения из-за высокой стоимости и недоступности методов. Ученые полагают, что в будущем кишечная микробиота – это источник потенциальных неинвазивных биологических маркеров [7].

Таким образом, оценке степени фиброза печени посвящено большое количество исследований, но при этом общепринятые неинвазивные тесты для мониторинга прогрессирования и регресса фиброгенеза отсутствуют [8].

Анализ возможности применения антифибротических препаратов проводят с использованием лабораторных животных. Как показывает современная научная литература, до сих пор существует ряд нерешенных проблем: необходимо определение тех моделей, которые наиболее точно будут отражать развитие фиброза и цирроза у человека; востребованы диагностические и прогностические маркеры для оценки прогрессирования/регресса фиброза у животных, общепринятые шкалы полуко-

личественной оценки фиброза печени (Knodell R. G., 1981; Scheuer P. J., 1991; METAVIR, 1994; Ishak K. G., 1994; Batts K. P., 1995) подробно не изучались на животных моделях; отсутствуют критические точки, разграничивающие стадии фиброза печени [9, 10]. Следовательно, проведение исследований в данном направлении, несомненно, является актуальной научно-практической задачей.

Целью исследования явилось определение экспериментальной модели, которая будет наиболее точно отображать развитие цирроза у человека и разработка подробной морфологической шкалы для оценки развития фиброза/цирроза, учитывающей промежуточные стадии.

Материалы и методы исследований. *Экспериментальное исследование.* Постановка экспериментального исследования была одобрена Комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными (протокол № 6 от 03.01.2019 при УО «ВГМУ») и соответствовала рекомендациям Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar весом от 190-210 г, прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний.

Цирроз печени у животных вызывали свежеприготовленным раствором тиацетамида (ТАА), который вводили в желудок с помощью зонда в дозе 200 мг/кг массы тела животного 2 раза в неделю за 3 ч до кормления в течение 17 нед. Согласно литературным данным, у лабораторных животных ТАА вызывает поражение печени с морфологическими характеристиками, аналогичными таковым у людей с фиброзом и циррозом печени, по сравнению с четыреххлористым углеродом [11].

Животных рандомизировали на 9 групп по 12 особей в каждой (m0 – контрольная, m1 – длительность воздействия ТАА 3 нед., m2 – длительность воздействия ТАА 5 нед., m3 – длительность воздействия ТАА 7 нед., m4 – длительность воздействия ТАА 9 нед., m5 – длительность воздействия ТАА 11 нед., m6 – длительность воздействия ТАА 13 нед., m7 – длительность воздействия ТАА 15 нед., m8 – длительность воздействия ТАА 17 нед.) с использованием генератора случайных чисел. В ходе эксперимента погибло 9 животных. Опытных крыс выводили из эксперимента через 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17 недель, а интактных – по окончании эксперимента.

Гистологическое исследование. После гуманного умерщвления животных декапитацией с применением гильотины в состоянии кратковременного эфирного наркоза из большой левой доли печени крыс забирали образцы материала диаметром 5-10 мм. Для получения обзорных гистологических препаратов срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином, а для выявления соединительной ткани – по методу Маллори [14].

Морфометрический и статистический анализ. Для морфометрического анализа данных использовали компьютерные программы анализа изображений ImageScope Color и cellSens Standard. На гистологических препаратах измеряли площадь соединительной ткани в процентах к общей площади среза. С этой целью производили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов цифровой камерой OLYMPUS XC30 на базе микроскопа OLYMPUS BX51 при увеличении окуляра SWH ×10 и объективов UPLanFL ×20 (не менее 3 полей зрения в каждом гистологическом срезе).

Результаты исследования обрабатывали с использованием программ Statistica 10.0 фирмы StatSoft, IBM SPSS Statistics 23.0, Microsoft Office Excel. Проверку соответствия частотного распределения исследуемого признака нормальному закону (распределению Гаусса) осуществляли по критерию Лиллиефорса. Изучение значимости влияния недельного эксперимента (стадии фиброза) на исследуемый признак проводили с помощью параметрического однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты исследований. На начальной стадии эксперимента (три недели) морфологическое исследование печени опытных животных выявило очаговые поражения гепатоцитов в виде вакуольной дистрофии с плазмолизисом и кариолизисом, развитием перинуклеарного отека, очагового некробиоза в виде островков из 10-15 клеток. Закономерность локализации очагов установить было невозможно, они встречались как ближе к центру дольки, так и по периферии. Отдельные гепатоциты были в состоянии белковой дистрофии, с формированием крупных оксифильных глыбок в цитоплазме. На периферии долек преобладали набухшие, бесформенные гепатоциты. Местами границы между ними были не отчетливые и иногда сливались. Наряду с выявленными изменениями встречались гепатоциты без видимых изменений. Преимущественно было сохранено балочное строение. Отмечено разрастание соединительной ткани вокруг порталных зон с формированием неполных септ (рисунок 1).

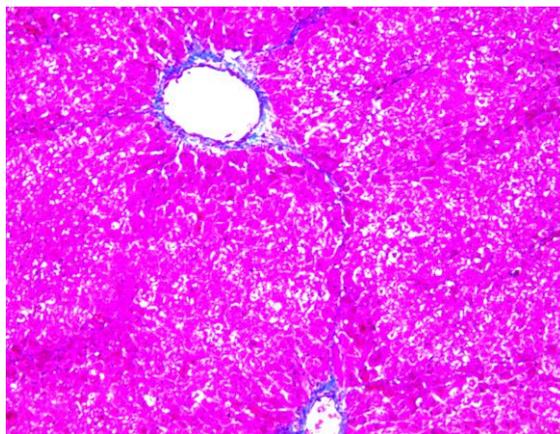


Рисунок 1 – Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 3 нед. после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увеличение × 200

На пятой-седьмой нед. эксперимента в гистологических препаратах печени опытных крыс отмечали прогрессирование токсического поражения печени в виде обширных полей вакуольной дистрофии с ярко выраженными процессами плазмолизиса и кариолизиса, нарастание отека паренхимы. По периферии долек выявлялись 1-3 ряда гигантских гепатоцитов, превосходящих в 1,5-2 раза размеры нормальных клеток. Гигантские гепатоциты обладали крупным ядром и темной оксифильной цитоплазмой. Количество соединительной ткани вокруг порталных зон увеличилось, сформировались полные мостовидные септы, индуцирующие сближение порталных трактов (рисунок 2).

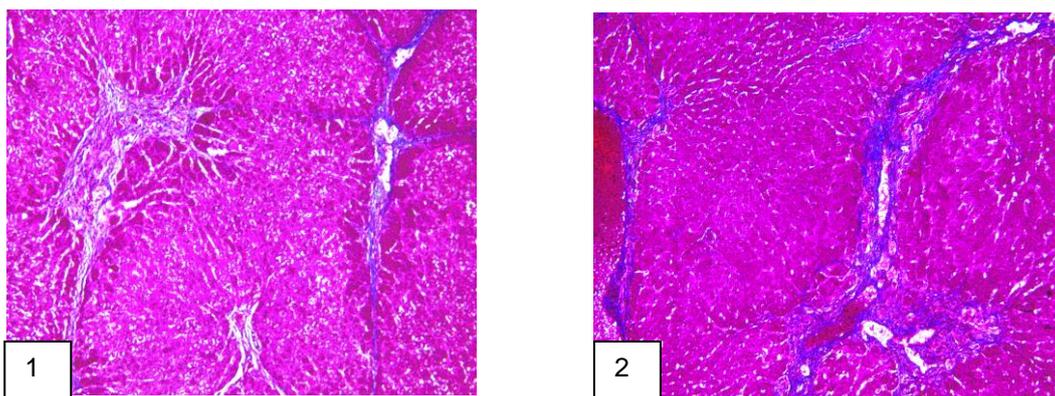


Рисунок 2 – Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом: 1 - через 5 недель после начала эксперимента; 2 - через 7 недель после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увеличение × 200

Наряду с увеличением количества пораженных долек в гистологических препаратах оставалось достаточное количество непораженной печеночной ткани, что указывает на нелинейность протекающих патологических изменений. В порталных зонах отмечали увеличение количества желчных протоков и их диаметра.

В большинстве полей зрения срезов наблюдалось расширение междольковых вен. Сосуды были заполнены эритроцитарными массами и аморфным содержимым. В артериях выявлено некоторое увеличение диаметра по сравнению с контролем, что, возможно, является следствием затруднения артериального кровотока. Данные изменения свидетельствуют о развитии застойных явлений и прогрессирующем фиброзе.

На фоне дальнейшей интоксикации животных (девять-одиннадцать нед. эксперимента) в печени визуализировалась стабилизация прогрессирования дистрофических процессов без развития выраженных зон некроза на месте полей с выраженной вакуольной дистрофией и некробиозом гепатоцитов. При этом установлено значительное прогрессирование процессов организации, выраженных в обширном разрастании соединительной ткани вокруг порталных зон, формированием толстых септ по периферии ложных долек, с уменьшением площади паренхимы в последних. Важно отметить формирование единичных ложных печеночных долек вблизи порталных зон к девятой нед., и выявление их в других местах срезов гистологических препаратов к одиннадцатой нед. (рисунок 3).

Таким образом, через девять нед. наблюдается трансформация фиброза печени в цирроз.

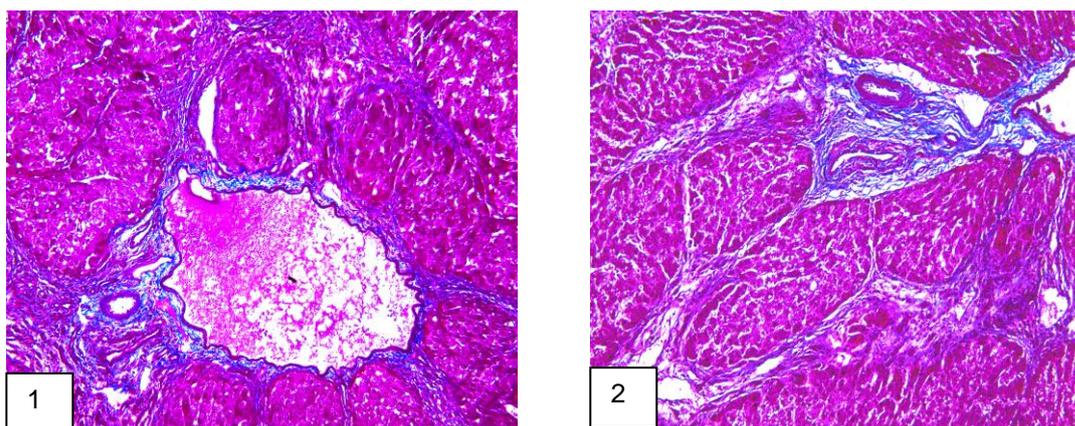


Рисунок 3 – Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом: 1 - через 9 недель после начала эксперимента; 2 - через 11 недель после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увеличение × 200

Значительные изменения были выявлены в сосудистом русле печени. В портальных зонах и соединительнотканых септах наблюдали выраженный ангиогенез, который проявлялся формированием множества мелких кровеносных сосудов венозного типа. Помимо вновь формируемых сосудов было отмечено увеличение площади имеющихся междольковых вен. Данный процесс можно характеризовать как компенсацию затруднения кровотока в системе воротной вены, ввиду прогрессирования отека и механической компрессии вен за счет цирроза. В изучаемых гистологических препаратах отчетливо визуализировались лимфатические сосуды крупного диаметра, что явно указывает на развитие лимфостаза на фоне прогрессирующих застойных процессов.

На следующем этапе эксперимента (тринадцать-пятнадцать недель) гистологическое исследование печени крыс позволило установить тотальное поражение паренхимы в виде замещения соединительной тканью участков вакуольной дистрофии. На данном сроке отмечали выраженный цирроз с формированием многочисленных ложных печеночных долек (рисунок 4).

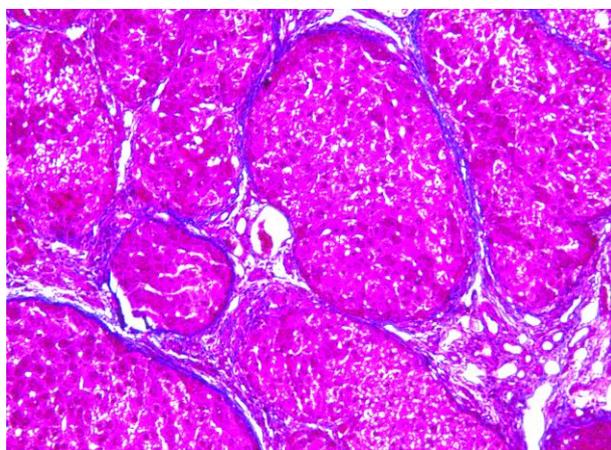


Рисунок 4 – Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 13 недель после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увеличение × 200

Местами соединительнотканые септы проникали в виде прослоек волокнистой соединительной ткани в центр ложных долек с последующим их сегментированием. В дольках зачастую не выявлялись центральные вены. Междольковые вены в большинстве случаев приобретали гигантский размер и неправильную форму с формированием множества лакун. Компенсаторным процессом артериального кровотока можно считать увеличение толщины меди в междольковых артериях.

К концу эксперимента (семнадцать недель) в печени животных установили тотальный цирроз. Соединительная ткань обширными полями ограничивала сформированные ложные дольки, содержащие внутри себя вновь образованные сосуды венозного типа (рисунок 5).

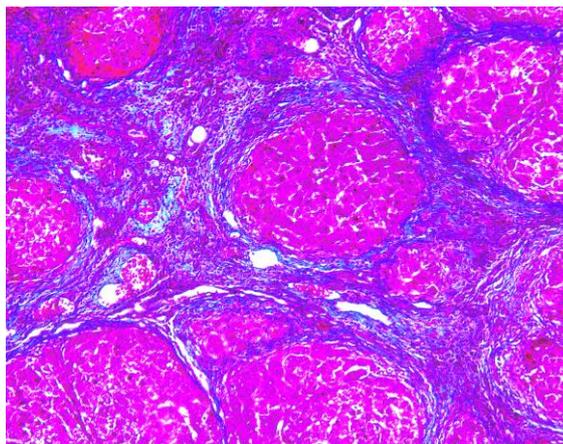


Рисунок 5 – Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 17 недель после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увеличение × 200

Паренхима ложных долек занимала незначительную площадь и пребывала в состоянии вакуольной дистрофии, центральные вены практически нигде не обнаруживались. Наряду с вновь образованными сосудами в соединительнотканых септах имелись гигантские междольковые вены, что очевидно указывает на перестройку венозной системы портальной вены и, вероятно, формирование коллатералей и шунтов, перенаправляющих венозную кровь в обход ложных печеночных долек. В гистологических препаратах увеличилось как количество выявляемых лимфатических сосудов, так и их диаметр, что указывает на участие лимфатической системы в общей компенсации цирротической патологии. На всех стадиях эксперимента жировая дистрофия печени не выявлена.

В результате проведенного дисперсионного анализа доказано, что продолжительность эксперимента (стадия фиброза) значительно влияет на площадь соединительной ткани (рисунок 6).



Рисунок 6 – Динамика изменения площади соединительной ткани. Представлен график однофакторного дисперсионного анализа

Таким образом, применение данной экспериментальной модели не приводит к резкому и необратимому повреждению паренхимы печени, но индуцирует прогрессирующий фиброз с последующим развитием цирроза. Плавное нарастание прогрессии патологических изменений позволяет отследить все стадии развития цирроза. Необходимо отметить, что в различных участках одного и того же среза гистологического препарата переход от одной стадии фиброза к другой, как и прогрессирование патологических изменений, были выражены с различной степенью интенсивности. К тому же влияние на картину патологического процесса оказывают и индивидуальные особенности крыс.

Вышеизложенное значительно затрудняет диагностику и прогнозирование исхода патологии, является важными показателями, которые необходимо учитывать при оценке антифибротической терапии, и свидетельствует о необходимости разделения стадий фиброза на степени. Необходимо отметить, что фиброгенез печени – это обратимый динамический процесс, и при этом орган обладает уникальной способностью к регенерации. Было принято решение оценить стадии фиброза с выделением степеней. За основу была принята шкала Ishak K. G. Согласно литературным данным, она является чувствительной и включает большее количество стадий по сравнению с другими [12]. Полученные результаты приведены в таблице 1

Таблица 1 – Оценка степени фиброза печени, рекомендованная при проведении экспериментальных работ на животных

Наименование группы/недели эксперимента	Стадии фиброза по Ishak K. G.	Степени фиброза	Морфологическая характеристика степени выраженности фиброза печени крыс при ее токсическом поражении
m0/контроль	F0	F0	Фиброз отсутствует.
m1/3 недели	F1	F1A	Минимальное фиброзное расширение части портальных зон (портальный фиброз) без соединительнотканых септ. Очаговый центролобулярный фиброз.
		F1B	Минимальное фиброзное расширение части портальных зон (портальный фиброз) одновременно: без соединительнотканых септ, с неполными тонкими соединительноткаными септами, формирующимися у портальных зон и редко – у центральных вен. Очаговый центролобулярный фиброз.
m2/5 недель	F2	F2A	Умеренное фиброзное расширение большинства портальных зон (портальный фиброз) одновременно: без соединительнотканых септ, с неполными тонкими соединительноткаными септами, формирующимися у портальных зон и редко – у центральных вен. Центролобулярный фиброз. Сближение портальных зон.
		F2B	Умеренное фиброзное расширение большинства портальных зон (портальный фиброз) одновременно: без соединительнотканых септ, с неполными разной толщины и длины соединительноткаными септами, формирующимися у портальных зон и редко – у центральных вен и единичными полными септами (мостовидный фиброз). Сближение портальных зон. Формирование соединительной ткани на месте некроза гепатоцитов (локализация диффузная, септальный фиброз). Центролобулярный фиброз. Диффузный перипортальный фиброз.
m3/7 недель	F3	F3A	Выраженное фиброзное расширение большинства портальных зон (портальный) одновременно: с неполными разной толщины и длины соединительноткаными септами, формирующимися у портальных зон и редко – у центральных вен и полными септами (мостовидный фиброз). Сближение портальных зон. Формирование соединительной ткани на месте некроза гепатоцитов (локализация диффузная, септальный фиброз). Диффузный перипортальный фиброз.
		F3B	Выраженное фиброзное расширение большинства портальных зон (портальный и перипортальный фиброз) с неполными и полными порто-портальными соединительноткаными септами (мостовидный фиброз) разной толщины с преобладанием толстых септ. Сближение портальных зон, небольшое их количество звездчатой формы. Формирование соединительной ткани на месте некроза гепатоцитов (локализация диффузная, септальный фиброз). Диффузный перипортальный фиброз. Увеличение количества желчных протоков и их диаметра.

Продолжение таблицы 1

Наименование группы/недели эксперимента	Стадии фиброза по Ishak K. G.	Степени фиброза	Морфологическая характеристика степени выраженности фиброза печени крыс при ее токсическом поражении
m4/9 недель		F4	Процесс трансформации фиброза печени в цирроз. Сильно выраженное фиброзное расширение всех портальных зон (портальный и перипортальный фиброз) с выраженными порто-портальными соединительнотканными септами разной толщины (мостовидный фиброз). Формирование единичных ложных печеночных узелков рядом с портальными зонами. Сближение портальных зон, небольшое их количество звездчатой формы. Диффузный перипортальный фиброз. Увеличение количества желчных протоков и их диаметра.
m5/11 недель	F5	F5A	Максимально выраженное фиброзное расширение всех портальных зон (портальный и перипортальный фиброз), многочисленные порто-портальные соединительнотканые септы разной толщины, формирующие ложные печеночные узелки рядом с портальными зонами и в паренхиме органа (неполный цирроз). Сближение портальных зон, небольшое их количество звездчатой формы. Диффузный перипортальный фиброз. Увеличение количества желчных протоков и их диаметра.
		F5B	Максимально выраженное фиброзное расширение всех портальных зон (портальный и перипортальный фиброз), многочисленные порто-портальные соединительнотканые септы разной толщины с диффузной нодулярной перестройкой паренхимы (неполный цирроз). Диффузный перипортальный фиброз. Увеличение количества желчных протоков и их диаметра. Перидуктальный фиброз.
m6/13 недель m7/15 недель m8/17 недель	F6	F6	Достоверный цирроз. Полная нодулярная перестройка паренхимы: тотальное образование ложных печеночных узелков разного диаметра и формы; максимально выраженное диффузное разрастание соединительнотканых септ (ширина септ варьируется); формирование новых узелков за счет деления крупных ложных долек тонкими соединительноткаными септами; выраженный диффузный портальный и перипортальный фиброз; диффузный перипортальный и перидуктальный фиброз.

Для морфологической оценки поражения печени исследователи используют различные полуколичественные шкалы. Большинство из них были разработаны для вирусных гепатитов. В 1981 г. в журнале *Hepatology* был опубликован индекс гистологической активности, предложенный Knodell R. G. et al. Индекс учитывал степень выраженности перипортальных и мостовидных некрозов, интрапортальную дегенерацию и очаговые некрозы, воспалительную инфильтрацию в области портальных зон и степень выраженности фиброза. Затем были предложены и другие полуколичественные шкалы. Так, в 1994 г. Desmet V.J. et al. рекомендовали различать активность гепатита и его зрелость. Серов В.В. и Севергина Л.О., 1994 г. предложили модифицированные критерии оценки активности и стадии воспалительного процесса в биопсиях при вирусных гепатитах В и С. В настоящее время для оценки фиброза широко используют шкалу METAVIR, предложенную группой французских ученых. Она проста в использовании и включает 4 стадии. Предложенные шкалы подробно не исследовались на животных моделях [12, 13].

Несмотря на то, что в настоящее время полуколичественные шкалы широко применяются, поднимается вопрос о возможности их использования для оценки антифибротических препаратов, где в первую очередь необходимо уделять внимания процессу прогресса/регресса фиброза. Разработанная морфологическая шкала подробно описывает фиброгенез печени и учитывает промежуточные стадии.

Закключение. Применение предложенной экспериментальной модели имеет ряд преимуществ. У крыс тиаоацетамид индуцирует фиброгенез с последующей трансформацией в цирроз. Модель поз-

воляет изучать фиброз последовательно или на определенных этапах и является легко воспроизводимой. Разработанная морфологическая шкала подробно описывает фиброгенез, учитывает промежуточные стадии, имеет диагностическую и прогностическую ценность.

Предполагаем, что данная модель и шкала будет использоваться для проведения фундаментальных исследований, а также для оценки антифибротических препаратов в доклинических исследованиях.

Conclusion. The application of the proposed experimental model has a number of advantages. In rats, thioacetamide induces fibrogenesis with the subsequent transformation into cirrhosis. The model allows us to study fibrosis sequentially or at certain stages and it is easily reproducible. The developed morphological scale describes fibrogenesis in detail, takes into account intermediate stages, possesses a diagnostic and prognostic value.

We assume that this model and scale would be used for fundamental research, as well as for the evaluation of antifibrotic drugs in preclinical studies.

Список литературы. 1. Roehlen, N. *Liver Fibrosiys : Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives* / N. Roehlen, E. Crouchet, T. F. Baumert // *Cells*. – 2020. – Vol. 9 (4) – P. 875. [https://doi: 10.3390/cells9040875](https://doi.org/10.3390/cells9040875). 2. The non-invasive assessment of hepatic fibrosis / G. Gheorghe [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* – 2021. – Vol. 120 (2). – P. 794–803. [https://doi: 10.1016/j.jfma.2020.08.019](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.08.019). 3. Evaluation of texture features at staging liver fibrosis based on phase contrast X-ray imaging / J. Wang [et al.] // *Biomed. Eng. Online*. – 2018. – Vol. 17 (1). – P. 179. doi: 10.1186/s12938-018-0612-3. 4. Dynamic changes of key metabolites during liver fibrosis in rats / J. Yu [et al.] // *J. World J. Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 25 (8). – P. 941–954. [https://doi: 10.3748/wjg.v25.i8.941](https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i8.941). 5. Barrera-Saldaña, H. A. Liquid biopsy in chronic liver disease / H. A. Barrera-Saldaña, L. E. Fernández-Garza, S. A. Barrera-Barrera // *Ann Hepatol.* – 2021. – Vol. 20. – P. 100197. [https://doi: 10.1016/j.aohep.2020.03.008](https://doi.org/10.1016/j.aohep.2020.03.008). 6. A Universal Gut-Microbiome-Derived Signature Predicts Cirrhosis / T. G. Oh [et al.] // *Cell Metab.* – 2020. – Vol. 32 (5). – P. 878–888.e6. [https://doi: 10.1016/j.cmet.2020.06.005](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.005). 7. The Role of Intestinal Fungi and Its Metabolites in Chronic Liver Diseases / N. You [et al.] // *Gut Liver*. – 2020. – Vol. 14 (3). – P. 291–296. [https://doi: 10.5009/gnl18579](https://doi.org/10.5009/gnl18579). 8. Digital Image Analysis of Picrosirius Red Staining: A Robust Method for Multi-Organ Fibrosis Quantification and Characterization / G. E. Courtoy [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10 (11). – P. 1585. doi: 10.3390/biom10111585. 9. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view / D. Jahn [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2019. – Vol. 1865 (5). – P. 943–953. [https://doi: 10.1016/j.bbadis.2018.06.023](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.06.023). 10. Automated biphasic morphological assessment of hepatitis B-related liver fibrosis using second harmonic generation microscopy / T-H. Wang [et al.] // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 12962. [https://doi: 10.1038/srep12962](https://doi.org/10.1038/srep12962). 11. Novel liver fibrosis model in *Macaca fascicularis* induced by thioacetamide / M. Matsuo [et al.] // *Sci Rep.* – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 2450. [https://doi: 10.1038/s41598-020-58739-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-58739-4). 12. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D. E. Kleiner [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 41(6). – P. 1313–21. doi: 10.1002/hep.20701. 13. Brunt, E. M. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond / E. M. Brunt // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 31 (1) – P. 241–6. doi: 10.1002/hep.510310136. 14. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия, пер. с англ. / Р. Лилли. – М., 1969. – 503 с. 15. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – 5-е изд., испр. и доп. – Ленинград : Медицина, Ленинградское отделение, 1969. – 423 с. Mallory F. B. *Pathological technique* / F. B. Mallory. – Philadelphia : W. B. Saunders Co, 1938. – 73 p.

References. 1. Roehlen, N. *Liver Fibrosiys : Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives* / N. Roehlen, E. Crouchet, T. F. Baumert // *Cells*. – 2020. – Vol. 9 (4) – P. 875. [https://doi: 10.3390/cells9040875](https://doi.org/10.3390/cells9040875). 2. The non-invasive assessment of hepatic fibrosis / G. Gheorghe [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* – 2021. – Vol. 120 (2). – P. 794–803. [https://doi: 10.1016/j.jfma.2020.08.019](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.08.019). 3. Evaluation of texture features at staging liver fibrosis based on phase contrast X-ray imaging / J. Wang [et al.] // *Biomed. Eng. Online*. – 2018. – Vol. 17 (1). – P. 179. doi: 10.1186/s12938-018-0612-3. 4. Dynamic changes of key metabolites during liver fibrosis in rats / J. Yu [et al.] // *J. World J. Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 25 (8). – P. 941–954. [https://doi: 10.3748/wjg.v25.i8.941](https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i8.941). 5. Barrera-Saldaña, H. A. Liquid biopsy in chronic liver disease / H. A. Barrera-Saldaña, L. E. Fernández-Garza, S. A. Barrera-Barrera // *Ann Hepatol.* – 2021. – Vol. 20. – P. 100197. [https://doi: 10.1016/j.aohep.2020.03.008](https://doi.org/10.1016/j.aohep.2020.03.008). 6. A Universal Gut-Microbiome-Derived Signature Predicts Cirrhosis / T. G. Oh [et al.] // *Cell Metab.* – 2020. – Vol. 32 (5). – P. 878–888.e6. [https://doi: 10.1016/j.cmet.2020.06.005](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.005). 7. The Role of Intestinal Fungi and Its Metabolites in Chronic Liver Diseases / N. You [et al.] // *Gut Liver*. – 2020. – Vol. 14 (3). – P. 291–296. [https://doi: 10.5009/gnl18579](https://doi.org/10.5009/gnl18579). 8. Digital Image Analysis of Picrosirius Red Staining: A Robust Method for Multi-Organ Fibrosis Quantification and Characterization / G. E. Courtoy [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10 (11). – P. 1585. doi: 10.3390/biom10111585. 9. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view / D. Jahn [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2019. – Vol. 1865 (5). – P. 943–953. [https://doi: 10.1016/j.bbadis.2018.06.023](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.06.023). 10. Automated biphasic morphological assessment of hepatitis B-related liver fibrosis using second harmonic generation microscopy / T-H. Wang [et al.] // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 12962. [https://doi: 10.1038/srep12962](https://doi.org/10.1038/srep12962). 11. Novel liver fibrosis model in *Macaca fascicularis* induced by thioacetamide / M. Matsuo [et al.] // *Sci Rep.* – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 2450. [https://doi: 10.1038/s41598-020-58739-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-58739-4). 12. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D. E. Kleiner [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 41(6). – P. 1313–21. doi: 10.1002/hep.20701. 13. Brunt, E. M. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond / E. M. Brunt // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 31 (1) – P. 241–6. doi: 10.1002/hep.510310136. 14. Lilli, R. *Patogistologicheskaya tekhnika i prakticheskaya gistohimiya*, per. s angl. / R. Lilli. – М., 1969. – 503 с. 15. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – 5-е изд., испр. и доп. – Ленинград : Медицина, Ленинградское отделение, 1969. – 423 с. Mallory F. B. *Pathological technique* / F. B. Mallory. – Philadelphia : W. B. Saunders Co, 1938. – 73 p.

Поступила в редакцию 28.12.2021.