

Список использованных источников

1. Бурова, О. А. Системный подход к разработке методов профилактики желудочно-кишечных болезней новорожденных телят / О. А. Бурова, А. А. Блохин // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2017. – № 2 (57). – С. 46–50.
2. Вирусные и ассоциативные вирусно-бактериальные респираторные болезни крупного рогатого скота (особенности эпизоотологии, патогенеза, клинического проявления, патологоанатомических изменений) / А. Г. Глотов [и др.] // *Ветеринарный консультант*. – 2005. – № 9. – С. 5–14.
3. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: бактериальные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 701 с.
4. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубан. гос. аграр. ун-т им. И. Т. Трубилина, Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биолог. промышленности, Витеб. гос. акад. вет. медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.
5. Машеро, В. А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – 2007. – Т. 43. – № 2. – С. 83–86.
6. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.
7. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П. А. Красочко, В. М. Голушко, Е. А. Капитонова // *Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства : тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф ; Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству*. – 2008. – С. 292–294.
8. Схатум, А. К. Этиологическая структура респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота вирусной этиологии / А. К. Схатум, В. И. Терехов, Н. Ю. Басова [и др.] // *Междунар. науч.-исслед. журн*. – 2016. – № 3 (45), ч. 3. – 44 с.
9. Gay, C. G. Genomics and vaccine development / C. G. Gay // *Rev. Sci. Tech*. – 2007. – Vol. 26, № 1. – P. 49–67.
10. Van Kampen, K. R. Recombinant vaccine technology in veterinary medicine / K. R. Van Kampen // *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract*. – 2001. – Vol. 31, № 3. – P. 5–8.

УДК 619:616.36

НЕЛИНЕЙНОЕ НАКОПЛЕНИЕ α -SMA+ КЛЕТОК В ХОДЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ФИБРОГЕНЕЗА ПЕЧЕНИ

Е. И. Лебедева, кандидат биологических наук, доцент¹

А. Т. Щастный, доктор медицинских наук, профессор¹

П. А. Красочко, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор²

А. С. Бабенко, кандидат химических наук, доцент³

¹*Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет, г. Витебск*

²*Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь*

³*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь*

Резюме. Цель исследования состояла в количественной оценке α -SMA+ клеток на разных стадиях экспериментального фиброза печени у крыс Wistar.

В течении 17 недель у крыс-самцов Wistar свежеприготовленным раствором тиацетамида индуцировали фиброгенез с трансформацией в цирроз. Морфологическое исследование печени проводили на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, методом Маллори и моноклональным мышным антителом α -SMA.

В ходе инициации и развития фиброза печени, индуцированного химическим веществом, рост числа звездчатых клеток с фенотипом α -SMA+ происходил нелинейно. Отмечались более активные фазы их

накопления на стадиях фиброза F3/F4 и F6 – достоверного цирроза. При этом увеличение количества соединительной ткани осуществлялось более равномерно.

Ключевые слова: крысы Wistar, фиброз печени, α -SMA-позитивные клетки, иммуногистохимия.

Summary. The aim of the study was to quantify α -SMA⁺ cells at various stages of experimental liver fibrosis in Wistar rats.

Fibrosis in Wistar rats was induced with thioacetamide for 17 weeks. Morphological analysis of the liver was performed on paraffin sections stained with hematoxylin and eosin, by the method of Mallory and mouse monoclonal antibody α -SMA.

During the initiation and development of chemical-induced liver fibrosis, the increase in the number of stellate cells with the α -SMA⁺ phenotype occurs non-linearly. More active phases of their accumulation are noted at the stages of fibrosis F3/F4 and F6 – reliable cirrhosis. At the same time, the increase in the amount of connective tissue is carried out more evenly.

Keywords: Wistar rats, liver fibrosis, α -SMA positive cells, immunohistochemistry.

Введение. Фиброз печени представляет собой сложный процесс с участием паренхиматозных, непаренхиматозных и инфильтрирующих орган клеток. На протяжении более 130 лет звездчатая клетка печени (клетка Ито, липоцит, жиронакапливающая клетка, перисинусоидная клетка, перицит, стеллатная клетка) не перестает вызывать интерес у гепатологов, патологоанатомов и физиологов [1–3].

В условиях физиологической нормы звездчатые клетки проявляют «спокойный» фенотип. Хроническое повреждение печени стимулирует их активацию (трансдифференцировку) в фиброгенный миофибробластический фенотип. Процесс активации характеризуется исчезновением в цитоплазме липидных капель, увеличением количества шероховатой эндоплазматической сети, изменением организации цитоскелета, избыточной экспрессией альфа-гладкомышечного актина (α -SMA) и коллагенов [4].

В настоящее время ученые изучают механизмы активации звездчатых клеток, возможность регуляции этого процесса и сообщают о необходимости количественной оценки клеток при фиброгенезе в зависимости от стадий фиброза и особенно патогенеза. Полученные результаты могут стать одним из лучших прогностических маркеров развития фиброза, а также оценки терапевтического эффекта. В нашей работе в качестве маркера активных звездчатых клеток был использован α -SMA, так как на сегодняшний день он широко признан надежным индикатором их трансдифференцировки и является наиболее часто используемым маркером как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях [2, 5].

В связи с вышеизложенным цель настоящего исследования состояла в количественной оценке α -SMA⁺ клеток на разных стадиях экспериментального фиброза печени у крыс Wistar.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar весом от 190–210 г. Протокол исследования был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019). Фиброз печени с трансформацией в цирроз у животных индуцировали свежеприготовленным раствором тиацетамида, который вводили в желудок с помощью зонда в дозе 200 мг/кг массы тела животного 2 раза в нед. в течение 17 нед. Животные были разделены на 9 групп по 12 крыс в каждой. Опытных крыс выводили из эксперимента декапитацией с применением гильотины в состоянии кратковременного эфирного наркоза через 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17 нед., а интактных – по окончании эксперимента.

Морфологическое исследование печени проводили на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, методом Маллори и моноклональным мышинным антителом АСТА2 (α -SMA, α -SMA, номер в каталоге E-AB-22155, Wuman Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, разведение 1:1000).

Гистологические препараты изучали с использованием микроскопа OLYMPUS BX51 при увеличении объективов 10 \times , 20 \times , 40 \times , 60 \times и компьютерных программ ImageScore Color и cellSens Standard. Анализировали не менее 3 полей зрения на каждом гистологическом срезе. Степень фиброза оценивали с использованием полуколичественной шкалы Ishak K. G.

Результаты количественных измерений оценивали с использованием программ Statistica 10.0 фирмы StatSoft, IBM SPSS Statistics 23.0, Microsoft Office Excel. Определяли нормальность частотного распределения признака по критерию Шапиро – Уилка. О достоверности различий изучаемых признаков с нормальным частотным распределением судили по t-критерию Стьюдента. При отличии частотного распределения признака от нормального использовали U-критерий Манна – Уитни. Изучение значимости влияния недельного эксперимента (стадии фиброза/цирроза) на исследуемые признаки проводили с помощью параметрического дисперсионного анализа.

Результаты исследований. Морфологический анализ печени крыс контрольной группы соответствовал критериям нормы. Площадь соединительной ткани к общей площади гистологического среза была равной 1,50 % (1,00; 3,00). Степень фиброза по шкале Ishak K. G. соответствовала F0; α -SMA позитивные клетки (α -SMA+) в паренхиме органа практически отсутствовали.

На раннем сроке эксперимента (через 3 нед.) в синусоидных капиллярах печени крыс наблюдали α -SMA+ клетки. Их количество составило 7,72 (95 % ДИ:6,42–9,02). Площадь соединительной ткани была равной 3,00 % (2,00; 5,00) и степень фиброза соответствовала F1. Согласно литературным данным, процесс активации звездчатых клеток происходит в два этапа. На первом этапе идет инициация, те клетки становятся более чувствительными к цитокинам, стимулирующим их пролиферацию и трансдифференцировку в миофибробластический фенотип. Второй этап характеризуется пролиферацией, гиперэкспрессией цитокиновых рецепторов и, как отмечают авторы [1], прочими признаками «активного» фенотипа. В рамках нашего исследования невозможно констатировать этап трансдифференцировки и, следовательно, утверждать факт того, что именно только звездчатые клетки принимают участие в накоплении соединительной ткани, не представляется возможным. Источником миофибробластов могут быть фибробласты портальных зон и циркулирующие фиброциты. На данном сроке эксперимента установлен портальный и очаговый центрлобулярный фиброз.

Через 5 нед. количество α -SMA+ клеток достоверно не увеличилось ($p = 0,3075$). При этом площадь соединительной ткани увеличилась в 2,67 раза ($p = 0,0432$) по сравнению с контрольной группой. Степень фиброза соответствовала F2/F3.

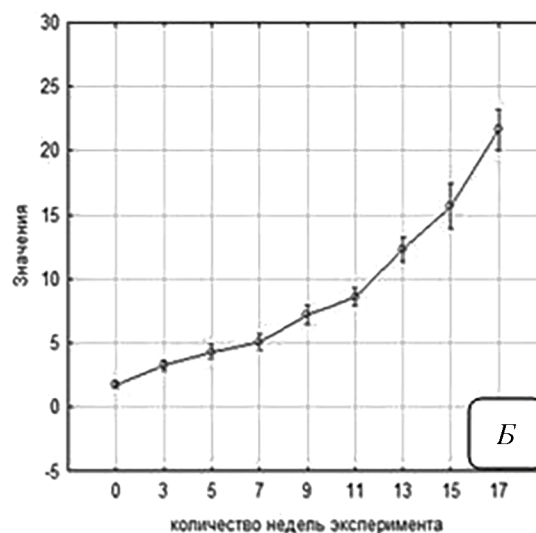
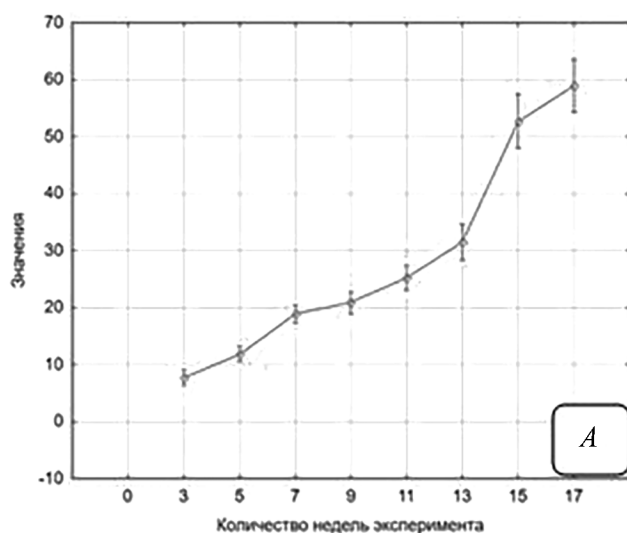
На фоне дальнейшей интоксикации крыс тиоацетамидом (7 нед.) достоверно увеличилось количество α -SMA+ клеток в 2,45 раза ($p = 0,0000$) и площадь соединительной ткани в 3,34 раза ($p = 0,0008$) по сравнению с контрольной группой. Степень фиброза по шкале Ishak K. G. соответствовала F3/F4.

По истечении 9 нед. эксперимента на гистологических препаратах отмечали формирование единичных ложных печеночных долек рядом с портальными зонами (процесс трансформации фиброза печени в цирроз). Морфометрически установили, что количество α -SMA+ клеток увеличилось в 2,70 раза ($p = 0,0000$) и площадь соединительной ткани в 4,67 раза ($p = 0,0000$) по сравнению с контрольной группой. Степень фиброза была равной F4/F5.

Последующие исследования (11 нед.) показали как процесс увеличения количества α -SMA+ клеток в 3,27 раза ($p = 0,0000$), так и площади соединительной ткани в 6,00 раза ($p = 0,0000$) по сравнению с контрольной группой на фоне неполного цирроза паренхимы органа. Степень фиброза по шкале Ishak K. G. соответствовала F5 (неполный цирроз).

Через 13 и 15 нед. эксперимента гистологическое исследование печени крыс выявило тотальное поражение органа – достоверный цирроз, F6. Количество α -SMA+ клеток увеличилось в 4,08 раза ($p = 0,0000$) и 6,83 раза ($p = 0,0000$) соответственно, а площадь соединительной ткани в 7,34 раза ($p = 0,0000$) и 10,67 раза ($p = 0,0000$) соответственно по сравнению с контрольной группой.

На фоне глубоких морфологических изменений печени животных (17 нед., F6), сопровождающихся полной перестройкой гистеоархитектоники органа, количество α -SMA+ клеток увеличилось в 7,64 раза ($p = 0,0000$), а площадь соединительной ткани в 14,00 раз ($p = 0,0000$) по сравнению с контрольной группой.



Параметрический дисперсионный анализ: *A* – динамика изменений количества α -SMA+ клеток;
B – динамика изменений площади соединительной ткани

В результате проведенного дисперсионного анализа доказано, что нед. эксперимента (стадия фиброза) значимо влияет на количество α -SMA+ клеток и площадь соединительной ткани (рисунок).

Следует обратить внимание на факт того, что при попарном сравнении нед. эксперимента по количеству α -SMA+ клеток между 3–5 ($p = 0,3075$), 7–9 ($p = 0,9604$), 9–11 ($p = 0,2073$), 11–13 ($p = 0,7229$) и 15–17 ($p = 0,2045$) достоверных отличий нет. Предположительно на этих сроках срабатывают компенсаторно-приспособительные процессы органа по повышению его резистентности к действующему веществу. Нельзя исключать то, что на отмеченных сроках задействованы также иные процессы, которые еще предстоит изучить.

В рамках настоящего исследования установлено, что на начальной стадии прогрессирующего фиброза не происходило увеличения количества α -SMA+ клеток, затем наблюдались периоды роста количества, сменяющиеся некой стабилизацией, а на стадии достоверного цирроза выявлен пик их пролиферативной активности. Возможно, звездчатые клетки получают фактор, стимулирующий их деления, но при этом нельзя исключать и процесс дифференцировки в миофибробласты печени порталных фибробластов, циркулирующих фиброцитов, гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, мигрирующих в печень после поражения органа.

Полученные результаты дают основания предположить, что в фиброгенез печени, индуцированный токсическим веществом вносят вклад и другие клетки, но это будет предметом дальнейших исследований.

Заключение. В ходе инициации и развития фиброза печени, индуцированного химическим веществом, рост числа звездчатых клеток с фенотипом α -SMA+ происходил нелинейно. Отмечались более активные фазы их накопления на стадиях фиброза F3/F4 и F6 – достоверного цирроза. При этом увеличение количества соединительной ткани осуществлялось более равномерно.

Список использованных источников

1. Moreira, R. K. Hepatic stellate cells and liver fibrosis / R. K. Moreira // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2007. – Nov. – Vol. 131, n 11. – P. 1728–1734. – DOI: 10.5858/2007-131-1728-HSCALF.
2. Hepatic stellate and endothelial cells maintain hematopoietic stem cells in the developing liver / Y. Lee [et al.] // J. Exp. Med. – 2021. – Mar. – Vol. 218, n. 3. – P. e20200882. – DOI: 10.1084/jem.20200882.
3. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer / D. Dhar [et al.] // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2020. – Jan. – Vol. 245, n. 2. – P. 96–108. – DOI: 10.1177/1535370219898141.

4. Friedman, S. L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver / S. L. Friedman // *Physiol. Rev.* – 2008. – Jan. – Vol. 88, N. 1. – P. 125–172. – DOI: 10.1152/physrev.00013.2007.

5. Taurine ameliorates thioacetamide induced liver fibrosis in rats via modulation of toll like receptor 4/nuclear factor kappa B signaling pathway / N. S. Younis [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Jun. – Vol. 11, N. 1. – P. 12296. – DOI: 10.1038/s41598-021-91666-6.

УДК 619:616.995.42

ПРОБЛЕМА ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ИНВАЗИЙ, ПЕРЕДАВАЕМЫХ КЛЕЩАМИ

И. А. Субботина, кандидат ветеринарных наук, доцент

А. А. Осмоловский, аспирант

Е. И. Фадеев, соискатель

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

Резюме. В статье приведены обзорные данные о трансмиссивных болезнях инфекционной и инвазивной природы, переносчиками возбудителей которых являются клещи. Показана их значимость как для населения эндемичных стран, так и для сельскохозяйственной отрасли. Описаны болезни и роль в их передаче именно иксодовых клещей (болезнь Лайма (клещевой боррелиоз), моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека, клещевой энцефалит, туляремия, бабезиоз (пироплазмоз), сыпной клещевой тиф, возвратный клещевой тиф, анаплазмоз животных, Крымская геморрагическая лихорадка, Астраханская пятнистая лихорадка, пятнистая лихорадка Скалистых гор, лихорадка Цуцугамуши, лихорадка Западного Нила, Марсельская лихорадка, Североазиатский клещевой риккетсиоз, везикулярный риккетсиоз, Ку-лихорадка (кокциеллез) и др.). Указано видовое разнообразие иксодид, отдельные климато-географические, экологические и биологические особенности распространения клещей, эпизоотологические особенности вызываемых ими болезней. Приведены данные по видовому разнообразию иксодид на территории Республики Беларусь

Ключевые слова: трансмиссивные болезни, иксодовые клещи, переносчики, инфекции, инвазии.

Summary. The article provides an overview of transmissible diseases of an infectious and invasive nature, the carriers of which pathogens are ticks. Their significance is shown both for the population of endemic countries and for the agricultural industry. The diseases and the role of ixodid ticks in their transmission are described. (Lyme disease (tick-borne borreliosis), human monocytic ehrlichiosis, human granulocytic anaplasmosis, tick-borne encephalitis, tularemia, babesiosis (piroplasmosis), tick-borne typhus, relapsing tick fever, animal anaplasmosis, Crimean hemorrhagic fever, Astrakhan spotted fever, Rocky Mountain spotted fever, Tsutsugamushi fever, West Nile fever, Marseilles fever, North Asian tick-borne rickettsiosis, vesicular rickettsiosis, Q fever (coxiellosis) and others). Species diversity of ixodids, individual climatic-geographical, ecological and biological features of the distribution of ticks, epizootological features of the diseases they cause are indicated. The data on the species diversity of ixodid and on the territory of the Republic of Belarus are given.

Keywords: vector-borne diseases, ixodid ticks, vectors, infections, infestations.

Иксодовые клещи играют важную роль в качестве переносчиков возбудителей многих болезней животных и человека [1–4]. В середине прошлого столетия академик Е. Н. Павловский проанализировал и систематизировал накопившиеся сведения о переносчиках разного рода заразных болезней кровососущими членистоногими и выделил особую группу – трансмиссивные болезни [5]. По последним данным [1, 2, 6] от трансмиссивных болезней, составляющих более 17 % всех инфекционных болезней, в мире ежегодно умирает более 700 000 человек. По отношению ко многим трансмиссивным заболеваниям (болезнь Лайма (клещевой боррелиоз), моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека, клещевой энцефалит, туляремия, бабезиоз (пироплазмоз), сыпной клещевой тиф, возвратный клещевой тиф, анаплазмоз животных, Крымская геморрагическая лихорадка, Астраханская