

4. Костюкевич О.Н., Сравнительная оценка иммунологической эффективности вакцины Вакдерм-ТФ и живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота. Студенты науке и практике АПК. / Материалы 107 Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов, Витебск : ВГАВМ, 2022. - 2 ч. С 173-175.

5. Лазовский, В. А. Комплексная профилактика трихофитии крупного рогатого скота с применением живой сухой вакцины и препарата Пулсал [Текст] / В. А. Лазовский // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины" : научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. - Витебск : ВГАВМ, 2012. - Т. 48, вып. 2, ч. 1 (июль - декабрь). - С. 104-107.

6. Лазовский В. А., Одновременная вакцинация крупного рогатого скота против сальмонеллеза и трихофитии // Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария: международный научно-практический журнал/ Национальная академия наук Беларуси, РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского". - Минск, 2017. - № 2. - С. 33-39.

7. Дифференциальная диагностика болезней сельскохозяйственных животных / А. И. Ятусевич, П. А. Красочко, В. В. Максимович [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. – 808 с. – ISBN 978-5-907430-77-8. – EDN KEMFFU.

8. Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко, О. Ю. Черных [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Чеченский государственный университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. – 385 с. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDN NVEVJY.

ВНУТРИГРУППОВАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ФИБРОГЕНЕЗА

¹ЛЕБЕДЕВА Е.И., ¹КУЩИН М.К., ¹ЛАДИК Н.О., ²КРАСОЧКО П.А., ³БАБЕНКО А.С.

¹УО «Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь

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

³УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

При моделировании токсического фиброза печени крыс линии Вистар установлена неоднородность значений и, по-видимому, реакций основных показателей его прогрессирования, включая маркеры патологического ангиогенеза и накопления соединительной ткани. Отмечен ряд индивидуальных реакций животных на воздействие экспериментальных условий. При изучении эффектов экспериментальных условий в модели фиброза печени с использованием крыс линии Вистар необходимо учитывать индивидуальные особенности реакции животных. Использование усредненных значений может скрадывать реальные эффекты и приводить к ошибочным выводам.

Ключевые слова: крысы, тиаоцетамид, фиброз печени, морфология, сосуды, экспрессия мРНК.

INTRA-GROUP HETEROGENEITY OF MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC PARAMETERS IN WISTAR RATS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL FIBROGENESIS

¹LEBEDEVA E.I., ¹KUSHCHYN M.K., ¹LADZIK N.O., ²KRASOCHKO P.A., ³BABENKA A.S.

¹Vitebsk Order of Friendship of Peoples State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

³Belarussian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

When modeling toxic liver fibrosis in Wistar rats, heterogeneity in the values and, apparently, reactions of the main indicators of its progression, including markers of pathological angiogenesis and connective tissue accumulation, was established. A number of individual reactions of animals to the influence of experimental conditions were noted. When studying the effects of experimental conditions in a model of liver fibrosis using Wistar rats, it is necessary to take into account the individual characteristics of the animal's response. Using averages may mask real effects and lead to erroneous conclusions.

Keywords: rats, thioacetamide, liver fibrosis, morphology, vessels, mRNA expression.

Введение. Использование животных моделей для изучения механизмов инициации и развития различных патологических состояний живых организмов является одним из важнейших инструментов современной науки в биомедицинской отрасли. Их недостатком считают неоднородность данных в следствие индивидуальных особенностей реакции организма животных, что особенно заметно при малых группах [1, 2]. В ряде случаев «выбросы» значений удаляются из анализируемого набора данных или к рассмотрению принимают усредненные значения. Часто, даже при работе с практически идентичными моделями исследователи получают противоречивые результаты. Это приводит к затруднениям в понимании общего процесса на фоне недостаточного количества достоверных фактов [3, 4].

Мы считаем, что разделение экспериментальных групп животных на максимально возможное число подгрупп без усреднения и исключения «выбросов» позволяет получать более подробные и полные данные об изучаемых процессах.

Материал и методы исследований. Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета (Протокол № 6 от 03.01.2019 г.). Постановка экспериментального исследования с использованием лабораторных животных соответствовала рекомендациям Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директиве Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes) и рекомендациям FELASA Working Group Report (1994-1996).

Фиброз печени у крыс-самцов Вистар массой 190-210 г моделировали путем хронической интоксикации тиоацетамидом (ТАА). Свежеприготовленный раствор ТАА вводили интрагастрально через зонд в дозе 200 мг/кг массы тела 2 раза в нед в течение 9 нед. Крысы контрольной группы ($n=12$) получали воду без ТАА в аналогичном объеме. Экспериментальных животных рандомизировали на 4 группы ($n=12$ в каждой) в зависимости от длительности воздействия ТАА: 3 нед (1-я группа), 5 нед (2-я группа), 7 нед (3-я группа), 9 нед (4-я группа).

Уровень экспрессии мРНК генов *Ang*, *Vegf* и *Mmp-9* оценивали в образцах кДНК методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Для выявления соединительной ткани срезы печени окрашивали по методу Маллори. Степень фиброза определяли по полуколичественной шкале K.G. Ishak. Количество синусоидных капилляров, междольковых артерий и междольковых вен подсчитывали в 3-х непересекающихся полях зрения каждого гистологического среза. Результаты оценивали с помощью микроскопа OLYMPUS BX51 с использованием программ ImageScope Color и cellSens Standard.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc. США).

Результаты. Патоморфологические нарушения печени крыс и изменения уровня экспрессии мРНК генов *Ang*, *Vegf* и *Mmp-9* подробно изложены в статьях [5, 6].

Неоднородность морфологических и молекулярно-генетических изменений в печени оценивали на 3, 5, 7 и 9 нед эксперимента (прогрессирующий фиброз). Анализируемые параметры: уровень мРНК генов *Ang*, *Vegf* и *Mmp-9*; площадь соединительной ткани, количество междольковых артерий, междольковых вен, синусоидных капилляров, охватывают как процесс инициации и развития фиброза, так и сопутствующий патологический ангиогенез.

Со стороны количества синусоидных капилляров все группы животных показали высокую однородность – коэффициент вариации не превышал 33,3%. Процесс накопления соединительной ткани в группах проходил неравномерно и во всех контрольных точках вариация внутри группы превышала 50%. Увеличение числа междольковых вен и артерий носило индивидуальных характер с возможностью выделения 2-4 животных в отдельные подгруппы по этим признакам.

Аналогично со стороны генов-мишеней, вовлекаемых в процессы ангиогенеза и накопления соединительной ткани – наибольшую неоднородность отмечали на 5 и 7 нед эксперимента.

Необходимо отметить, что с конца 1980-х годов и по настоящее время генетическая однородность крыс линии Вистар является предметом дискуссий. Установлено, что геномы крыс Вистар, поддерживаемых в разных вивариях, статистически значимо отличаются. Этот факт может частично объяснить несколько различающиеся по силе эффекты экспериментальных условий при моделировании фиброза печени в разных лабораториях. В нашем случае мы наблюдали отличия в реакции на экспериментальные условия у порядка 20-30% животных в каждой группе при получении их для эксперимента из одного источника.

Заключение. Таким образом, при моделировании токсического фиброза печени установлена неоднородность значений и, по-видимому, реакций основных показателей его прогрессирования, включая маркеры патологического ангиогенеза и накопления соединительной ткани. Отмечен ряд индивидуальных реакций животных на воздействие экспериментальных условий. При изучении эффектов экспериментальных условий в модели фиброза печени с использованием крыс линии Вистар необходимо учитывать индивидуальные особенности реакции животных. Использование усредненных значений может скрадывать реальные эффекты и приводить к ошибочным выводам.

Литература

1. *Experimental models of liver fibrosis* / S. C. Yanguas [et al.] // *Arch. Toxicol.* – 2016. – Vol. 90, N 5. – P. 1025–1048. doi: 10.1007/s00204-015-1543-4.
2. *Ravichandra, A. Mouse Models of Liver Fibrosis* / A. Ravichandra, R. F. Schwabe // *Methods Mol. Biol.* – 2021. – Vol. 2299. P. 339-356. doi: 10.1007/978-1-0716-1382-5_23.
3. *Li, S. Animal models of drug-induced pulmonary fibrosis: an overview of molecular mechanisms and characteristics* / S. Li, J. Shi, H. Tang // *Cell Biol Toxicol.* – 2022. – Vol. 38, N 5. – P. 699–723. doi: 10.1007/s10565-021-09676-z.
4. *Li, Y. Animal models of stroke* / Y. Li, J. Zhang // *Animal Model Exp Med.* – 2021. – Vol. 4, N 3. – P. 204–219. doi: 10.1002/ame2.12179.

5. Лебедева Е.И. Новый подход к морфологической оценке степени фиброза печени у экспериментальных животных / Е. И. Лебедева, А. Т. Щастный, П. А. Красочко, А. С. Бабенко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины. – 2022. – Т. 58, вып. 1. – С. 92–100.

6. Лебедева, Е. И. Взаимное снижение уровня мРНК *ang* и *vegf* при прогрессирующем ангиогенезе венозной системы печени крыс Wistar в экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева, А. Т. Щастный, А. С. Бабенко // Молекулярная медицина. – 2022. – Том 20, №. 2. – С. 53–61.

СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ мРНК ANG И VEGF ПРИ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ КАПИЛЛЯРИЗАЦИИ СИНУСОИДОВ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ

¹ЛЕБЕДЕВА Е.И., ¹ЩАСТНЫЙ А.Т., ²КРАСОЧКО П.А., ³БАБЕНКО А.С.

¹УО «Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

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

³УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

*В печени крыс установили снижение экспрессии мРНК генов *Ang* и *Vegf* на всех сроках эксперимента (17 недель, $p=0,0000$) по сравнению с контролем. На стадии цирроза уровень мРНК *Ang* упал в 53,8 раза ($p=0,0000$), а *Vegf* – в 5,27 ($p=0,0000$). Прогрессирование фиброгенеза печени сопровождалось увеличением в синусоидных капиллярах площади клеток CD31+ в 7 раз ($p=0,0000$) по сравнению с контролем. На стадии процесса трансформации фиброза в цирроз в синусоидах появились клетки CD34+. Между генами *Ang* и *Vegf* и клетками CD31+ и CD34+ связь не выявлена. При этом между генами установили тесную корреляционную связь от $r = 0,70$ до $0,84$ ($p<0,05$). На всех стадиях фиброза до перехода его в цирроз между генами и соединительной тканью отметили отрицательные корреляционные связи умеренной силы $r = -0,49$ ($p<0,05$).*

Ключевые слова: крысы, фиброгенез печени, гены *Ang* и *Vegf*, клетки CD31+ и CD34+, корреляционные связи.

DECREASED mRNA LEVEL OF ANG AND VEGF IN PROGRESSIVE CAPILLARIZATION OF LIVER SINUSOIDS IN EXPERIMENTAL FIBROGENESIS

¹LEBEDEVA E.I., ¹SHCHASTNY A.A., ²KRASOCHKO P.A. ³BABENKA A.S.

¹Vitebsk Order of Friendship of Peoples State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

³Belarussian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

*In rat liver, a decrease in mRNA expression of *Ang* and *Vegf* genes was observed at all stages of the experiment (17 weeks, $p=0.0000$) compared to the control. At the stage of cirrhosis, the mRNA level of *Ang* dropped by 53.8 times ($p=0.0000$), and *Vegf* by 5.27 ($p=0.0000$). The progression of liver fibrogenesis was accompanied by a 7-fold increase ($p=0.0000$) in the area of CD31+ cells in the sinusoidal capillaries compared to the control. At the stage of fibrosis transformation into cirrhosis, CD34+ cells appeared in the sinusoids. No relationship was found between the *Ang* and *Vegf* genes and the CD31+ and CD34+ cells. However, a close correlation between the genes was established, ranging from $r = 0.70$ to 0.84 ($p<0.05$). At all stages of fibrosis before its transition to cirrhosis, negative correlation of moderate strength $r = -0.49$ ($p<0.05$) was noted between the genes and the connective tissue.*

Keywords: rats, liver fibrogenesis, *Ang* and *Vegf* genes, CD31+ and CD34+ cells, correlations.