

УДК 611.37.018.1:612.014.2]:611.085

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Д. А. Евсеенко (Ayveng@yandex.ru), З. А. Дундаров

УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

В обзоре приводится информация о разных моделях формирования цирроза печени в лабораторных условиях. Дана краткая характеристика патофизиологических, биохимических аспектов моделей, морфологическая картина цирроза печени в зависимости от способа моделирования.

Ключевые слова: лабораторные животные, модель, цирроз печени.

EXPERIMENTAL FORMATION OF LIVER CIRRHOSIS IN ANIMALS UNDER LABORATORY CONDITIONS

D. A. Evseenko, Z. A. Dundarov

Educational Institution "Gomel State Medical University", Gomel, Belarus

The review provides information on various models of the formation of liver cirrhosis under laboratory conditions. The brief characteristic of pathophysiological and biochemical aspects of the models, as well as morphological picture of cirrhosis of the liver depending on the method of modeling are given.

Keywords: laboratory animals, model, cirrhosis of the liver.

Стремительное развитие медицинской науки неуклонно диктует современному миру поиск решения важных социальных задач, которые стоят перед обществом. Летальность от цирроза печени в Европейском союзе составляет в среднем 1,8% (170 000 чел.), самые высокие показатели смертности наблюдаются на Юго-Востоке и Северо-Востоке Европы [1]. Проблема наличия ЦП также влечет значительные экономические нагрузки на общество вследствие финансовых затрат на лечение пациентов с установленным ЦП и его осложнениями, что косвенно и напрямую отражается на эффективности проводимых исследований, профилактике, лечении, реабилитации пациентов с ЦП.

В настоящее время возникает потребность в моделировании ЦП у лабораторного животного для изучения сложных механизмов патогенеза заболевания с последующей терапевтической, хирургической коррекцией, оценкой эффективности проведенной терапии.

Представленный анализ литературных данных по предложенным способам формирования цирроза печени у животных в лабораторных условиях для выбора наиболее оптимальной модели для научно-исследовательской работы.

Для моделирования наиболее часто применяют лабораторных животных семейства мышинных: крысы, мыши. Несколько реже встречаются модели на других животных: кролики, хомяки, собаки, свиньи и т. д.

Модели формирования ЦП можно разделить следующим образом:

- хирургические;
- химические;
- алиментарные;

- генно-модифицированные;
- инфекционные;
- спонтанные.

Выбор вида лабораторного животного определяется способом моделирования ЦП. Генно-модифицированные модели в последнее время чаще встречаются у мышей, чем у крыс. Однако для хирургического моделирования предпочтительнее использовать крупных животных: свиней, собак, кроликов, чем крыс, мышей. Алиментарные модели, как правило, воспроизводятся на более мелких животных в силу продолжительности эксперимента и, как следствие, экономических затрат. Химические модели целесообразнее использовать также на семействе мышинных из-за удобства содержания, разведения, обращения с животными в сравнении с более крупными млекопитающими. Примерами наиболее распространенных видов крыс для эксперимента могут служить Wistar, Sprague-Dawley, Osborne-Mendel, Long-Evans, Holtzman, Slonaker и Albany.

В 1991 г. Terblanche и Hickman были сформулированы и предложены условия для выполнения лабораторного эксперимента с животными [2]:

- степень печеночной недостаточности должна быть обратимой, чтобы после направленной эффективной терапии животное смогло выжить;
- последовательность стадий развития ЦП лабораторного животного должна быть максимально приближенной к клинической картине человека;
- лабораторное животное должно быть достаточно крупным, чтобы патологию и последующую терапию можно было проецировать на человека;

– ЦП должен являться причиной смерти либо вести к грозным летальным осложнениям;

– в ходе моделирования должно быть получено терапевтическое окно (широта терапевтического действия), т. е. между индукцией патологии и смертью животного важно определить ценность предполагаемого лечения;

– метаболизм лабораторного животного должен быть максимально схож с метаболизмом человека;

– экспериментальные модели должны полностью соответствовать действующим нормативно-правовым и этическим стандартам;

– соблюдение техники безопасности исследователем во время проведения эксперимента необходимо.

Хирургические модели формирования ЦП можно разделить на четыре основных типа: гепатэктомия, резекция участка печени, частичная или полная деваскуляризация печеночной ткани и лигирование желчных протоков.

Гепатэктомия неизбежно ведет к острой печеночной недостаточности и смерти лабораторного животного, что является действием, неудовлетворяющим условиям Terblanche – Hickman, если в дальнейшем не предусмотрена трансплантация печени. Продолжительность печеночной комы зависит от длительности трансплантации донорского органа и может быть меньше по времени, чем продолжительность комы у человека. Отсутствие перфузии печеночной ткани ведет к отсутствию высвобождаемых в кровяном русле цитокинов и активных продуктов деградации гепатоцитов. Таким образом, эту модель можно считать неподходящей для оценки терапии в искусственной поддержке печени в условиях острой печеночной недостаточности [3].

Регенерация печени, смертность лабораторных животных напрямую зависят от объема оперативного вмешательства с учетом минимальной массы печеночной ткани, необходимой для осуществления оперативного вмешательства. В 2015 г. Delire путем применения трехмерной визуализации кровоснабжения печени посредством структурированной лобарной анатомии и оптимизации предложенных ранее техник резекции указывает на недельную выживаемость 100% животных после резекции 90% объема печеночной ткани [4]. Увеличение портального объема циркулирующей крови (ОЦК) на единицу площади нерезецированной печеночной ткани сопровождается эндотоксической нагрузкой на печень и синдромом портальной гипертензии. Повреждение эндотелиального клеточного пласта приводит к активации метаболизма клеток Купфера, высвобождению цитокинов, контролируемых индукцию острой печеночной недостаточности. Морфологическая картина представлена липодистрофией разной степени

выраженности, преимущественным поражением центрлобулярных зон [5, 6]. Резекция участка печеночной ткани, часто сочетающаяся с деваскуляризацией в определенном объеме оперативного вмешательства, редко используется, поскольку в настоящее время нет единого стандарта объема операции [7].

Модель деваскуляризации печеночной ткани может быть частичной и абсолютной, что не является тождественным понятию гепатэктомии. Частичная деваскуляризация может быть осуществлена путем наложения портокавального шунта с отсроченным интраоперационным наложением временной клипсы на печеночную артерию. Закономерно возникшее кислородное голодание приводит к дисфункции дыхательной цепи митохондрий с уменьшением количества аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) за счет ингибирования окислительного фосфорилирования и образования реакционноспособных активных форм кислорода (АФК), которые активируют клетки Купфера, перекисное окисление липидов (ПОЛ), что в конечном итоге ведет к апоптозу и некрозу. Морфологическая верификация ЦП выживших животных не имеет существенных признаков наличия ЦП, что связано с минимальными изменениями в уровне трансаминаз, относительно нормальном уровне глюкозы. Таким образом, модель частичной деваскуляризации можно считать приемлемой для воспроизведения в лабораторных условиях острой печеночной недостаточности, но не ЦП, который требует более длительного времени формирования [8].

Лигирование желчных протоков впервые описано Cameron и Oakley в начале 1930-х годов. Эта модель получила широкое распространение во всем мире из-за несложного оперативного вмешательства, следствием которого является внутривнутрипеченочный холестаз с исходом во вторичный билиарный цирроз печени. После выполнения срединной лапаротомии выполняется лигирование d. choledochus с последующим его пересечением [9]. Послеоперационный период лабораторное животное проводит в клетке с инфракрасной лампой для лучшей адаптации. После – в обычной клетке с пищей и водой. Проведение послеоперационной анальгезии осуществляется примерно в течение трех суток. В зависимости от желаемой степени фиброза животные выводятся из эксперимента на седьмые сутки, 14-20 и 30-60 суток. Пресинусоидальный фиброз развивался уже к 10-м суткам, а перипортальный фиброз, который прогрессировал на протяжении всего эксперимента, был сформирован к 20-м суткам.

История использования гепатотоксинов насчитывает не один десяток лет. Яды с гепатотропным действием широко применяются для моделирования ЦП. К наиболее известным и

применимым для моделирования ЦП в лабораторных условиях гепатотоксинам можно отнести этанол, тиацетамид, диметилнитрозамин, галогенпроизводные углеводов (тетрахлорметан), парацетамол и др.

Потребление этанола ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) лабораторными животными относят к доступным методам формирования жировой дистрофии, фиброза и некроза печени. В печеночной ткани этанол метаболизируется алкогольдегидрогеназами и ферментами системы цитохрома P450. Изменение гистоархитектоники печеночной ткани происходит за счет гиперпродукции активных форм кислорода (АФК), истощения системы глутатиона, активации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и усиления синтеза коллагена [10]. Совокупность этих процессов является пусковым механизмом, приводящим к апоптозу гепатоцитов, воспалению, активации клеток Ито. Важно отметить индивидуальную избирательность семейства мышинных к потреблению этанола, за исключением мышей NAR-2 и C57BL/6. Эта модель в большинстве случаев используется в комбинации с другими гепатотоксинами для воспроизведения ЦП в лабораторных условиях. Введение этанола может быть осуществлено ингаляционно и интрагастрально. При ингаляционном введении животных помещают в клетку из плексигласа. Подача в клетку паров этанола 95% со свежим воздухом со скоростью от 5 л/мин до 10 л/мин ведет к уровню спирта в крови от 175 до 250 мг/л-1. Периодическая регуляция потока смеси осуществляется для поддержания концентрации этанола в диапазоне 12-20 мг/л. Далее животному вводится раствор этанола (1,6 г/кг) с последующим интраперитонеальным введением фермента алкогольдегидрогеназы (1 моль-3/кг) для стабилизации концентрации этанола в крови. Длительность эксперимента составляет около 6 месяцев.

При интрагастральном введении этанола животных содержат в клетках при температуре около 22°C с циркадным ритмом день/ночь в соотношении 1:1 на стандартных кормах. Перед введением животных в эксперимент выжидается двухнедельная их адаптация к пребыванию в лабораторных условиях. Для более активного потребления этанола готовят 5% раствор сахарозы и 10% раствор этанола, смешивают и готовый раствор предлагают в свободном доступе животному. Концентрация раствора этанола очень вариабельна в зависимости от ожидаемого результата и может составлять от 5 до 40% [11]. Морфологическая картина депарафинизированных срезов сильно вариабельна в зависимости от пола лабораторного животного, его массы, периода пребывания в лабораторных условиях, концентрации, продолжительности потребления этанола [11,12]. Однако Арутюнян И. В. (2012 г.)

отмечает, что при длительном интрагастральном введении алкоголя ЦП получить не удастся [22].

Воспроизведение тиацетамидной модели посредством интраперитонеального введения амида тиаоуксусной кислоты ($\text{CH}_3\text{C}(\text{S})\text{NH}_2$) влечет за собой ингибирование активности ферментов, участвующих в β -окислении жирных кислот, расщеплении метионина и повышение активности белков, участвующих в регуляции ПОЛ. Косвенно можно судить о механизме повреждающего действия, который опосредован избытком АФК, т. к. глубина поражения уменьшается при воздействии антиоксидантов. Дозировка токсина вариабельна и колеблется от 100 до 200 мг/кг массы тела животного трижды в неделю на протяжении 6-8 недель. При пероральном введении дозировка возрастает до 300 мг/кг. В 2015 г. модель была стандартизирована в дозировке 150 мг/кг интраперитонеально трижды в неделю в период времени от 8 до 12 недель. Морфологическая картина соответствует показателям по Ishak (1991 г.) и аналогична микронодулярной форме ЦП спустя 8 недель – 93% животных, спустя 12 недель – 100% животных [13]. Существенные недостатки этой модели – относительная труднодоступность вещества, высокая токсичность (DL_{50} – 20 мг/кг), канцерогенность.

Диметилнитрозамин ($\text{C}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$) представляет собой желтую маслянистую жидкость. Используется для воспроизведения ЦП на животных в лабораторных условиях. Патолофизиологические аспекты сводятся к гиперпродукции АФК, которые пагубно влияют на клеточную организацию и инициируют развитие центроглобулярного некроза, спленомегалии, асцита, кровоизлияния в легкие, кишечник. Микроскопическое исследование указывает на формирование соединительнотканых септ на месте некроза, наличие васкулита с инфильтрацией, множественный тромбоз мелких сосудов. В клетках Купфера в большинстве наблюдений были отмечены включения гемосидерина. Токсин вводится внутримышечно в дозировке 10 мг/кг трижды в неделю на протяжении 3-4 недель в зависимости от глубины формирования поражения печеночной ткани. Проникает через плаценту. Из недостатков применения следует отметить канцерогенность, гепатотоксичность (DL_{50} – 40 мг/кг), тератогенность [14].

Наибольшее внимание в современной литературе уделено моделированию тетрахлаорметановой (четырёххлористый углерод, CCl_4) модели ЦП [15, 16]. История использования CCl_4 начинается в 1930-1940 гг. Тетрахлорметан представляет собой бесцветную жидкость с ароматическим запахом. Пути введения гепатотоксина разнообразны: подкожно, интраперитонеально, интрагастрально, ингаляционно. Большинство

исследователей предпочитают эту модель, принимая во внимание превосходную воспроизводимость, хорошую выживаемость лабораторных животных. Для включения в опыт мышей следует обследовать на наличие соматической патологии, стресса, отличной от нормальной реакции на внешние раздражители. В ряде работ указывается на предпочтительное использование самок в эксперименте, т. к. летальность среди самцов на ранних сроках модели высока [17].

Биотрансформация CCl_4 в печеночной ткани приводит к образованию трихлорметильного радикала ($CCl_3\cdot$), который участвует в образовании АФК и инактивирует процессы ПОЛ. Дозировка CCl_4 зависит от способа введения. При ингаляционном способе животные вначале должны получать фенобарбитал в дозировке 0,3 г/л в питьевой воде в свободном доступе в течение недели. Далее на дно плоскодонной колбы наливается CCl_4 . В жидкость помещается трубка-приток, по которой подается сжатый воздух со скоростью 2 л/мин. Трубка-отток размещается на 2-3 см выше уровня жидкости (по аналогии с аппаратом Боброва), дистальный конец ее направлен в клетку с лабораторными животными, количество которых не должно превышать 6 особей. Важно отметить, что ингаляционный способ введения непременно должен проводиться в вентилируемом помещении, с соблюдением всех правил безопасности обращения с CCl_4 . Интраперитонеальный способ введения является наиболее распространенным. Четыреххлористый углерод разводят на оливковом, минеральном, кукурузном маслах, близких по температуре к комнатным. Инъекция проводится под общим наркозом (изофлюран, галотан и др.). Дозировка остается переменной и зависит от длительности эксперимента. Обычно доза колеблется в пределах от 300 до 1000 мкл/кг 2-3 раза в неделю на протяжении 4-6 недель. Для потенцирования гепатотропного эффекта принято сочетать эту модель с добавлением разных концентраций этанола к питьевой воде [15]. Недавно модель мыши C57BL/6 была стандартизирована для формирования ЦП. Гепатотоксин вводится в диапазоне концентрации от 0,5 до 0,7 мкл/г массы тела дважды в неделю на протяжении 6 недель, либо трижды в неделю на протяжении 4 недель.

Дорсальное подкожное введение раствора оливкового масла и CCl_4 в соотношении 1:1 дважды в неделю на протяжении 3-4 недель также может рассматриваться в качестве модели формирования ЦП. Этот метод также сочетается с потреблением этанола разной концентрации. К недостаткам относят возможное образование некроза, гранулемы в месте инъекции, что требует иссечения мягких тканей.

Одним из вариантов формирования цирротической модели печени является введение

через желудочный зонд раствора CCl_4 на 50% масляном растворе. Дозировка составляет 0,3 мл/100 г массы животного трижды в неделю, либо в дозе 0,2 мл/100 г массы животного дважды в неделю в утренние часы за 4 часа до приема пищи на протяжении 19 недель [16]. Для потенцирования и синергизма гепатотропного эффекта животным предоставлялся в свободном доступе 5% раствор этанола. Недостатки модели сводятся к общим: высокая токсичность CCl_4 , при несоблюдении правил обращения – контактные дерматиты, экзема, крапивница.

Общая морфологическая картина вне зависимости от пути введения CCl_4 характеризуется плотной, бугристо-узловой поверхностью печени красновато-желтой окраски с закругленным краем, спленомегалией, у отдельных животных развивался асцит через 16 и 19 недель от начала эксперимента, в брюшной полости отмечалось наличие крови алого цвета с пониженной свертываемостью. Депарафинизированные срезы печени окрашиваются в зависимости от потребности. При окрашивании по Ван-Гизону – гематоксилином и эозином, по Массону определялись деструктивные изменения с исходом в распад гепатоцитов, особенно резко выраженные в центральных отделах долек. В этих же клетках выявлены мелкие и средней величины вакуоли с ровным контуром. При дополнительной окраске смесью суданов III, IV с целью выявления нейтральных жиров вакуоли окрашиваются в цвет от желтого до красного (рис. 1).

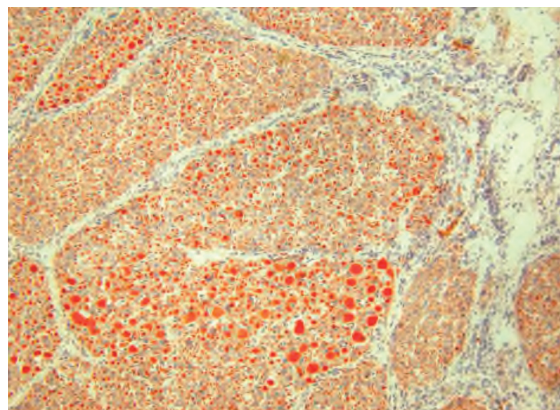


Рисунок 1. – Срез печени животных через 19 недель эксперимента. Окраска нейтральных жиров. Увеличение: $\times 200$. Окраска смесью суданов III и IV

Пролиферативная и инфильтративная клеточная реакция выражена слабо. Из-за токсического повреждения капилляров наблюдался отек долек. Локально определялся умеренно выраженный отек, который вел к расширению пространств Диссе. Местами отек более выражен и проявляется декомпенсацией печеночных клеток: нарушением связи и образованием щелевидных пространств между отдельными клеточными элементами, которые составляют тра-

бекулу, в результате чего стирается нормальная гистоархитектоника печеночной ткани (рис. 2).

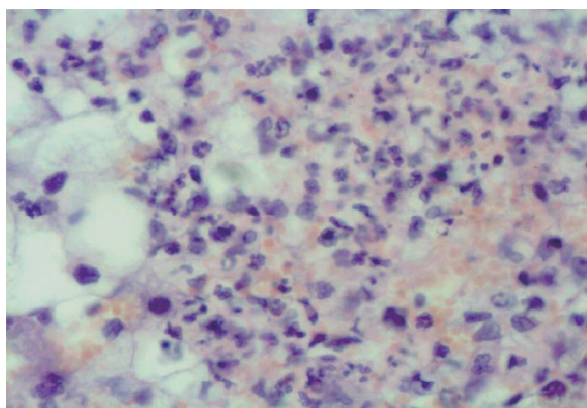


Рисунок 2. – Деструкция гепатоцитов в центральных отделах долек, инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами, жировая дистрофия гепатоцитов. Увеличение: $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином

Между печеночными дольками определялось разрастание соединительнотканых волокон вокруг портальных трактов, узловое трансформацией паренхимы с формированием ложных долек, разделенных между собой фиброзными тяжами (рис. 3).

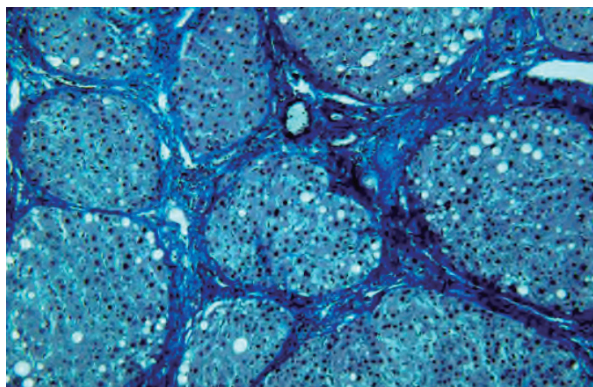


Рисунок 3. – Срез печени животных через 19 недель эксперимента. Увеличение: $\times 200$. Окраска по методу Массона

Гепатоциты с картиной глыбчатой агрегации матрикса, соответствующей зернистой дистрофии, главным образом на периферии формируют фокусы узловое гиперплазии с отсутствием правильно сформированной желчевыводящей и кровеносной систем. Беспорядочное расположение фокусов узловое гиперплазии в среде соединительной ткани в конечном итоге ведет к формированию цирротической печени [15, 16].

Парацетамол (параацетиламинофенол, АРАР) относится к доступным гепатотропным ядам. К основным токсичным эффектам нестероидного противовоспалительного вещества относят: усиление действия при голодании, потреблении этанола, дозозависимую токсичность и потенцирование индукторами активации системы цитохрома Р450. В литературных источниках нет дозировки препарата, которая приводит к

острой печеночной недостаточности. Дозировку в 1 г/кг массы тела при однократном введении в желудок приводит А. Г. Скуратов [15]. Особенностью модели является наличие метгемоглобинемии, которая приводит к циркуляторной (гемодинамической) гипоксии вследствие снижения транспортной функции крови. Метаболизм парацетамола осуществляется в основном в печеночной ткани посредством сульфирования и глюкоронирования. При передозировке отмечается активация работы системы цитохрома Р450 с последующим образованием N-ацетил-пара-бензохинонимина (NAPBQI), который способствует гиперпродукции АФК и ведет к нарушению потока Ca^{2+} в митохондриях, образованию OH^- , NO_3^- , NO_2^- . Совокупность этих процессов неизбежно приводит к активации апоптоза. NAPBQI подвергается нативной детоксикации в системе глутатиона. Таким образом, ингибируя систему глутатиона, токсический эффект NAPBQI может быть усилен. Макроскопическая картина, в отличие от тетрахлорметановой модели, характеризуется отсутствием гепатомегалии [15].

Алиментарные (диетические) модели формирования ЦП могут быть вызваны либо избытком какого-либо компонента в рационе питания животного, либо его недостатком.

Метионин-холин-дефицитная диета является широко распространенной моделью, которая приводит к формированию стеатоза, окислительному стрессу посредством гиперпродукции АФК и впоследствии – к ЦП. Снижение биосинтеза фосфатидилхолина (молекула, участвующая в строении клеточной мембраны) *de novo* из холина, необходимого для транспорта триглицеридов посредством липопротеидов очень низкой плотности, ведет к стеатозу. Дефицит метионина, являющегося одной из незаменимых аминокислот, приводит к снижению синтеза S-аденозилметионина и глутатиона, которые представляют две важные антиоксидантные системы. Таким образом, снижение количества метионина в пище животного предрасполагает к окислительному стрессу, воспалению и фиброзу [18]. Продолжительность диеты составляет около 5 недель и она, как правило, сочетается с потреблением этанола разной концентрации.

Диета с высоким содержанием животных жиров может использоваться для индукции стеатоза у разных лабораторных животных и является дополнением к иным алиментарным диетам. Отмечена большая восприимчивость крыс линии Sprague-Dawley, Zucker к этой диете вследствие наличия естественной мутации в рецепторах к лептину (адипокин: пептидный гормон, регулирующий энергетический обмен), что проявляется повышением аппетита, избыточной массой тела животного, резистентностью к инсулину. Привле-

кательным может считаться моделирование на линейной мышши Fat Aussie, имеющей дефект в гене *Alms-1*, ведущий к расстройству пищевого поведения (сытости). Эти мышши спустя 20-24 недели имеют повышенный уровень трансминаз, прогрессирующее от стеатоза к стеатогепатиту с исходом в перипортальный фиброз. Однако в других исследованиях не подтверждается наличия прогрессирования заболевания в фиброз печени [4]. В некоторой степени эту диету можно считать подобной диете с повышенным уровнем содержания холестерина в пище. Важно учесть, что данная диета является индуктором экспрессии генов, влияющих на метаболизм *pcnsgaas*.

В современных данных имеется информация о более чем 3000 видах генно-модифицированных лабораторных животных. Разные виды трансгенных животных, нокаутных по одному или нескольким генам, могут быть использованы для изучения синдрома хронического холестаза, аутоиммунного фиброза печени, склерозирующего холангита, прогрессирующего семейного внутривисцерального холестаза разных типов (болезнь Byler), цирроза печени разной этиологии и др. Начиная с 1970 г., разработано множество аутоиммунных моделей, объединенных одним условием: лабораторному животному вводился гетерологический гомогенизат печеночной ткани с добавлением различных индукторов активации аутоиммунного повреждения. Фиброз, опосредованный Т-клеточной реакцией, вероятно, является реакцией на сочетанное действие факторов окружающей среды, сопряженной со слабой иммунологической толерантностью и генетической предрасположенностью. Относительная трудность моделирования заключается в постепенном снижении иммунологической толерантности и долговременном поддержании иммунных изменений для развития хронического гепатита с последующим переходом в ЦП [4]. На сегодняшний день оптимальной признана модель трансгенного вида мышши CYP2D6. Моноксигеназа цитохрома CYP2D6 используется в качестве триггера в пусковом механизме развития аутоиммунного гепатита (АИГ) 2-го типа. Одна из отличительных особенностей АИГ второго типа – наличие аутоантигена к микросомальному антигену печень-почка 1-го типа, который распознает наличие CYP2D6. Доставка CYP2D6 у мышши FVB или C57BL/6 осуществляется с помощью аденовируса Ad-2D6 путем прямого транспорта непосредственно в печень. Комбинация внутривенного и интраперитонеального пути введения Ad-2D6 обеспечивает стойкое длительное аутоиммунное повреждение печени [19].

Модель печеночного шистосомоза среди иных инфекционных моделей наиболее распространена и является результатом инфицирования *Schistosoma mansoni* (в редких случаях *Schistosoma haematobium*) и используется для

исследования патофизиологии, иммунологии и биохимии поражения печеночной ткани. Эпидемиологическая обстановка в странах Африки, Дальнего Востока характеризуется более 200 млн инфицированных человек, по данным ВОЗ. Ежегодно погибают около 200 тысяч человек. У лабораторных мышши прогрессирует печеночный неоангиогенез, который приводит к формированию шистосомального перипортального фиброза (фиброз Symmers) с признаками синдрома портальной гипертензии: наличие асцита, варикозно-расширенных вен пищевода и кардии желудка. Происходит формирование гранулем. Однако в литературных источниках описано сохранение лобулярной структуры печени, отсутствие узелковой регенераторной гиперплазии, что в целом оставляет нетронутым естественную архитектуру печени. Ангиогенез можно считать двойкой предпосылкой как к усугублению степени тяжести фиброзных изменений, так и к их регрессии [20].

Благодаря генной инженерии, некоторые лабораторные животные в определенной степени стали восприимчивы к HBV- и HCV-инфекции, что позволяет изучить морфологическое строение печени в ответ на персистенцию вируса и оценить эффективность предполагаемого лечения. Для воспроизведения этой лабораторной модели важно выполнять определенные этапы в зависимости от генома инфекции. Введение HBV-инфекции осуществляется при помощи гидродинамической инъекции как для иммунокомпетентных мышши, так и для иммунодефицитных мышши. Это демонстрирует непосредственное участие клеточной иммунной системы в контроле инфицирования HBV *in vivo*. Эффективность данного метода достигается при помощи аденовирусной доставки генома HBV непосредственно в печеночную ткань. В случае HCV-инфекции важную роль играет белок CD81 и окклюдин, которые необходимы для инфицирования мышши. Уровень репликации зависит от строения генома конкретных мышши. В некоторых случаях отмечается устойчивая виремия наряду с развитием фиброза с последующим исходом в ЦП [21]. Описаны модели инфицирования HCV у шимпанзе и *Tupaia*.

Помимо классических моделей ЦП у лабораторных животных в литературе встречаются так называемые спонтанные модели. У мышши, нокаутных по гену *Gclc*, отсутствует фермент, который участвует в синтезе глутатиона (эндогенный антиоксидант), вследствие этого животные погибали к 30 суткам. Добавление к питьевой воде L-N-ацетилцистеина вело к четырехмесячной выживаемости при сохранении удовлетворительного состояния животных. На аутопсии у 100% животных определялся микронодулярный ЦП. Подобные модели можно считать достаточно сложными для воспроизведения, однако они

позволяют исследовать, например, воздействие окислительного стресса на организм [22].

Выводы

1. Моделирование ЦП посредством хирургического вмешательства можно считать трудоемким, длительно выполнимым для большого количества лабораторных животных с риском нагноения послеоперационной раны.

2. Алиментарные модели – финансово затратные. Возможен риск отсутствия морфологической картины ЦП.

3. Инфекционные, генно-модифицированные модели тяжело воспроизводить в силу отсутствия инфекционных агентов и нокаутных мышей по определенным генам.

4. Химическая модель, на наш взгляд, является наиболее оптимальной из вышеперечисленных и характеризуется относительной технической простотой выполнения внутрибрюшинной инъекции СС14, что в дальнейшем ведет к формированию ЦП, сопоставимого по ряду морфологических критериев с ЦП человека.

References

- Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J. Hepatol.* 2013;58(3):593-608. doi: 10.1016/j.jhep.2012.12.005.
- He GL, Feng L, Cai L, Zhou CJ, Cheng Y, Jiang ZS, Pan MX, Gao Y. Artificial liver support in pigs with acetaminophen-induced acute liver failure. *World J. Gastroenterol.* 2017;23(18):3262-3268. doi: 10.3748/wjg.v23.i18.3262.
- Tonnesen K. Experimental liver failure. A comparison between hepatectomy and hepatic devascularization in the pig. *Acta Chir. Scand.* 1977;143(5):271-277.
- Delire B, Stärkel P, Leclercq I. Animal Models for Fibrotic Liver Diseases: What We Have, What We Need, and What Is under Development. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015;3(1):53-66. doi: 10.14218/JCTH.2014.00035.
- Panis Y, McMullan DM, Emond JC. Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection. *Surgery.* 1997;121(2):142-149.
- Lee SW, Kim SH, Min SO, Kim KS. Ideal Experimental Rat Models for Liver Diseases. *Korean J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2011;15(2):67-77. doi: 10.14701/kjhbps.2011.15.2.67.
- Tuñón MJ, Alvarez M, Culebras JM, González-Gallego J. An overview of animal models for investigating the pathogenesis and therapeutic strategies in acute hepatic failure. *World J. Gastroenterol.* 2009;15(25):3086-3098.
- Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M, Oshima A, Shito M, Kawachi S, Karahashi T, Kumamoto Y, Yoshida M, Kitajima M. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation.* 1997;64(10):1398-1403.
- Tag CG, Sauer-Lehnen S, Weiskirchen S, Borkham-Kamphorst E, Tolba RH, Tacke F, Weiskirchen R. Bile Duct Ligation in Mice: Induction of Inflammatory Liver Injury and Fibrosis by Obstructive Cholestasis. *J. Vis. Exp.* 2015;10(96). doi: 10.3791/52438.
- Beier JI, McClain CJ. Mechanisms and cell signaling in alcoholic liver disease. *Biol. Chem.* 2010;391(11):1249-1264. doi: 10.1515/BC.2010.137.
- Lopez MF, Grahame NJ, Becker HC. Development of ethanol withdrawal-related sensitization and relapse drinking in mice selected for high- or low-ethanol preference. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2011;35(5):953-962. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01426.x.
- Morales-González JA, Sernas-Morales ML, Morales-González Á, González-López LL, Madrigal-Santillán EO, Vargas-Mendoza N, Fregoso-Aguilar TA, Anguiano-Robledo L, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I, Chamorro-Cevallos G. Morphological and biochemical effects of weekend alcohol consumption in rats: Role of concentration and gender. *World J. Hepatol.* 2018;10(2):297-307. doi: 10.4254/wjh.v10.i2.297.
- Liu F, Chen L, Rao HY, Teng X, Ren YY, Lu YQ, Zhang W, Wu N, Liu FF, Wei L. Automated evaluation of liver fibrosis in thioacetamide, carbon tetrachloride, and bile duct ligation rodent models using second-harmonic generation/two-photon excited fluorescence microscopy. *Lab. Invest.* 2017;97(1):84-92. doi: 10.1038/labinvest.2016.128.
- Liu X, Dai R, Ke M, Suheryani I, Meng W, Deng Y. Differential Proteomic Analysis of Dimethylnitrosamine (DMN)-Induced Liver Fibrosis. *Proteomics.* 2017;17(22):1700267. doi: 10.1002/pmic.201700267.
- Skuratov AG, Lyzikov AN, Voropaev EV, Achinovich SL, Osipov BB. Jekspierimentalnoe modelirovanie toksicheskogo povrezhdenija pečeni [Experimental modeling of toxic hepatic injury]. *Problemy zdorovja i jekologii* [Problems of health and ecology]. 2011;(4):27-33. (Russian).
- Lebedeva EI, Prudnikov VS, Mjadelec OD. Jekspierimentalnaja model toksicheskogo cirroza pečeni u belyh krys. *Uchenye zapiski uchrezhdenija obrazovanija Vitebskaja ordena «Znak pocheta» gosudarstvennaja akademija veterinarnojo mediciny.* 2015;5(1 Pt1):84-88. (Russian).
- Strnad P, Tao GZ, Zhou Q, Harada M, Toivola DM, Brunt EM, Omary MB. Keratin mutation predisposes to mouse liver fibrosis and unmasks differential effects of the carbon tetrachloride and thioacetamide models. *Gastroenterology.* 2008;134(4):1169-1179. doi: 10.1053/j.gastro.2008.01.035.
- Caballero F, Fernandez A, Matias N, Martinez L, Fucho R, Elena M, Caballeria J, Morales A, Fernandez-Checa JC, Garcia-Ruiz C. Specific contribution of methionine and choline in nutritional nonalcoholic steatohepatitis: impact on mitochondrial S-adenosyl-L-methionine and glutathione. *J. Biol. Chem.* 2010;111(24):18528-18536. doi: 10.1074/jbc.M109.099333.
- Hintermann E, Ehser J, Christen U. The CYP2D6 Animal Model: How to Induce Autoimmune Hepatitis in Mice. *J. Vis. Exp.* 2012;(60):e3644. doi: 10.3791/3644.
- Andrade ZA, Santana TS. Angiogenesis and schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2010;105(4):436-439. doi: 10.1590/S0074-02762010000400013.
- Thomas E, Liang TJ. Experimental models of hepatitis B and C – new insights and progress. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016;13(6):362-374. doi: 10.1038/nrgastro.2016.37.
- Arutjunjan IV, Makarov AV, Fathudinov TH, Bolshakova GB. Modelirovanie cirroza pečeni na laboratornyh zhivotnyh [Liver cirrhosis models in laboratory animals]. *Klinicheskaja i jekspierimentalnaja morfologija* [The Journal of Clinical and Experimental Morphology]. 2012;(2):45-50. (Russian).

Поступила: 29.08.2018

Принята к печати: 10.09.2018