

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 *vegф* 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**

**<sup>1</sup>ЛЕБЕДЕВА Е.И., <sup>1</sup>ЩАСТНЫЙ А.Т., <sup>2</sup>КРАСОЧКО П.А., <sup>3</sup>БАБЕНКО А.С.**

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

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

<sup>3</sup>УО «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**

**<sup>1</sup>LEBEDEVA E.I., <sup>1</sup>SHCHASTNY A.A., <sup>2</sup>KRASOCHKO P.A. <sup>3</sup>BABENKA A.S.**

<sup>1</sup>Vitebsk Order of Friendship of Peoples State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Belarussian 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.

**Введение.** Ежегодно во всем мире более миллиона человек умирает от вирусных гепатитов, гепатоцеллюлярной карциномы и примерно столько же от осложнений цирроза печени [1]. Понимание молекулярных механизмов патологического ангиогенеза остается фундаментальной проблемой в гепатологии [2]. Основными регуляторами капилляризации синусоидов при фиброзе печени считают *Vegf* и *Ang* (факторы роста сосудов). Одним из подходов в остановке данного процесса является блокада молекулярного каскада пути VEGF, но клиническое использование этого метода ограничено из-за отсутствия надежных маркеров и побочных эффектов [3, 4, 5].

В рамках настоящего исследования мы предприняли попытку оценить связь уровня мРНК генов *Ang* и *Vegf* с процессом капилляризации синусоидов печени в экспериментальном фиброгенезе.

**Материалы 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 и цирроз печени у крыс-самцов Вистар массой 190-210 г моделировали путем хронической интоксикации тиацетамидом (ТАА). Свежеприготовленный раствор ТАА вводили интрагастрально через зонд в дозе 200 мг/кг массы тела 2 раза в нед в течение 17 нед. Крысы контрольной группы ( $n=12$ ) получали воду без ТАА в аналогичном объеме. Животных рандомизировали на 8 групп ( $n=12$  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), 11 нед (5-я группа), 13 нед (6-я группа), 15 нед (7-я группа), 17 нед (8-я группа).

Уровень экспрессии генов *Ang* и *Vegf* 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. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах [6]. В качестве маркера эндотелиоцитов применяли моноклональные мышинные антитела CD31 (разведение 1:500) и поликлональные мышинные антитела CD34 (разведение 1:100) согласно инструкции производителя.

Результаты оценивали на микроскопе OLYMPUS BX51 с использованием программ ImageScope Color и cellSens Standard. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc. США), IBM SPSS Statistics 23.0 (An IBM Company, 28.0.1, США), Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США).

**Результаты исследований.** В настоящем исследовании уровень мРНК генов *Ang* и *Vegf* изучали в пуле вариантов, т.е. суммарную мРНК каждого из генов-мишеней без разделения на альтернативные варианты сплайсинга. Результаты показали снижение уровней экспрессии на всех сроках эксперимента. На стадии цирроза экспрессия мРНК *Ang* упала в 53,8 раза ( $p=0,0000$ ), а *Vegf* – в 5,27 ( $p=0,0000$ ) по сравнению с контролем.

В синусоидах печени контрольных крыс эндотелиоциты вытянутой формы с палочковидным темноокрашенным ядром экспрессировали только маркер CD31. Прогрессирование фиброза и цирроза печени сопровождалось увеличением в синусоидах площади клеток CD31+ в 7 раз ( $p=0,0000$ ) по сравнению с контролем. К концу эксперимента в большинстве ложных печеночных долек синусоиды имели вид выраженной густой сети.

На стадии F4/F5 – это начала процесса трансформации фиброза в цирроз в синусоидах ближе к периферии отдельных ложных печеночных долек появились клетки CD34+ и их

площадь была равной 2,00 (1,00;3,00). Они имели вытянутую форму, округло-вытянутые и более светлые ядра по сравнению с клетками CD31+ синусоидов. Следует отметить, что в портальных зонах и соединительнотканых септах среди клеток лимфоидно-гистиоцитарного инфильтрата на стадии фиброза F4 выявили островки клеток CD34+ морфологически отличающиеся от описанных. Это были клетки округлой формы с темноокрашенными ядрами.

Методом непараметрической ранговой корреляции Спирмена 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  $r = -0,49$  ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** При фиброгенезе печени крыс Вистар, индуцированного тиацетамидом, экспрессия мРНК генов *Ang* и *Vegf* не связана с пролиферацией клеток CD31+ и CD34+. Эндотелиоциты синусоидов претерпевают морфологические и функциональные изменения. Установленные на всех стадиях фиброза корреляционные связи между генами *Ang* и *Vegf* и соединительной тканью дают основание предположить, что падение их уровней экспрессии приводит к активации механизмов, способствующих прогрессированию фиброза печени.

#### Литература

1. Elsherif, S. A. Role of macrophages in liver cirrhosis: fibrogenesis and resolution / S. A. Elsherif, A. S. Alm // *Anat Cell Biol.* – 2022. – Vol. 55, N 1. – P. 14-19. <https://doi: 10.5115/acb.21.046>.
2. The endothelium as a driver of liver fibrosis and regeneration / E. Lafoz [et al.] // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, N 4. – P. 929. <https://doi: 10.3390/cells9040929>.
3. Pathological process of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases / Y. Ni [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, N 43. – P. 7666-7677. <https://doi: 10.3748/wjg.v23.i43.7666>.
4. Garbuzenko, D.V. Antiangiogenic therapy for portal hypertension in liver cirrhosis: Current progress and perspectives / D. V. Garbuzenko, N. O. Arefyev, E. L. Kazachkov // *World J. Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 24, N 33. – P. 3738-3748. <https://doi: 10.3748/wjg.v24.i33.3738>.
5. Emerging Roles of Liver Sinusoidal Endothelial Cells in Nonalcoholic Steatohepatitis / K. Furuta [et al.] // *Clin. Cancer. Re.* – 2020. – Vol. 9, N 11. – P. 395. doi: 10.3390/biology9110395.
6. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / под ред Д.Э. Коржевского. Санкт-Петербург, 2014. 119 с.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЧИ КОШЕК ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ЦИСТИТЕ

ЛУГИНА С.И., ЦАРЬКОВА М.С.

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии  
имени К.И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация

Инфекции мочевыводящих путей являются проблемой, часто поражающей взрослых и старых животных. Среди этих заболеваний бактериальный цистит является одним из наиболее распространенных патологий у кошек. Анализ образцов мочи является важнейшим диагностическим инструментом для выявления, мониторинга и качественного дальнейшего лечения бактериального цистита. Определение изменений химического состава мочи может дать представление о природе и тяжести инфекции. Одна из основных проблем, связанных с диагностикой бактериального цистита, заключается в отсутствии однозначных клинических признаков. Часто некоторые симптомы могут быть общими для различных заболеваний и важно правильно интерпретировать полученные результаты.

**Ключевые слова:** острый цистит, кошки, общий анализ мочи, мочевого осадок, лабораторная диагностика.

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И КАДРОВОЙ  
ПОЛИТИКИ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАКА ПОЧЕТА»  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

КАФЕДРА ЭПИЗООТОЛОГИИ  
И ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ УО ВГАВМ

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ  
ВИРУСОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ И БОЛЕЗНЕЙ  
ПЧЕЛ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

**МАТЕРИАЛЫ**

**Международной научно-практической конференции,  
посвященной 95-летию со дня рождения доктора  
ветеринарных наук, профессора Смирновой Нины  
Ивановны  
и Дню белорусской науки**

**(7-8 декабря 2023 г.)**

Текстовое электронное издание сетевого распространения

**ISBN 978-985-591-194-5**

© УО «Витебская ордена «Знак  
Почета» государственная академия  
ветеринарной медицины», 2024