

Экспериментальные модели фиброза

Вадим Анатольевич Косолапов ✉, Роман Александрович Литвинов,
Александр Алексеевич Спасов

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Аннотация. Фиброз, как патологический процесс, характеризуется избыточным накоплением внеклеточного матрикса и может поражать различные органы и ткани, включая легкие, печень, сердце и почки, приводя к тяжелым заболеваниям и ухудшению качества жизни. Основными механизмами фиброза являются нарушения клеточных сигнальных путей, их регуляции, взаимодействия, включая нарушения в обмене клеток регуляторными сигналами, нарушенные механизмы клеточной адгезии, изменения во внеклеточном матриксе. Все это делает поиск новых средств с антифиброзной активностью актуальным. В обзоре рассмотрены основные механизмы развития фиброза с упором на экспериментальные модели, а также потенциал и ограничения экспериментальных моделей фиброза в контексте дальнейшего поиска и изучения новых лекарственных средств с антифиброзной активностью.

Ключевые слова: фиброз, экспериментальные модели, блеомицин

Experimental models of fibrosis

Vadim A. Kosolapov ✉, Roman A. Litvinov, Alexander A. Spasov

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Abstract. Fibrosis, as a pathological process, is characterized by excessive accumulation of extracellular matrix and can affect various organs and tissues, including the lungs, liver, heart and kidneys, leading to serious morbidity and poor quality of life. The main mechanisms of fibrosis are disturbances in cellular signaling pathways, their regulation, interaction, including disturbances in the exchange of cellular regulatory signals, impaired mechanisms of cell adhesion, and changes in the extracellular matrix. All this makes the search for new agents with antifibrotic activity to be urgent. The review examines the basic mechanisms of the development of fibrosis with an emphasis on experimental models, as well as the potential and limitations of experimental models of fibrosis in the context of further search and study of new drugs with antifibrotic activity.

Keywords: fibrosis, experimental models, bleomycin

В последние десятилетия фиброз стал предметом интенсивных исследований. Это патологический процесс, характеризующийся избыточным накоплением внеклеточного матрикса (ВКМ), включая коллаген, фибронектин и другие компоненты, в тканях организма [1]. Механизмы формирования фиброза вбирают нарушения в клеточной сигнализации, регуляции, взаимодействиях, включая нарушения в обмене клеток регуляторными сигналами, нарушенные механизмы клеточной адгезии, изменения в ВКМ, и следующие за этим изменения клеточной активности и нарушения в иммунном ответе. Все перечисленные события относятся к системным.

На молекулярном уровне фиброз связан с дисбалансом между синтезом и деградацией компонентов ВКМ, что приводит к утолщению и уплотнению тканей, нарушению их функций. Этот процесс регулируется сигнальными путями, а также механорецепцией.

Среди сигнальных факторов и каскадов в развитии фиброзной патологии высокое значение отведено TGF- β [2], MEK/ERK и MAPK [3,4], Nf-kB [5, 6], PI3K/Act (фосфатидилинозитол-3-киназа/протеинкиназа B) [7], JAK/STAT (янус-киназы/сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции) [8], Hedgehog (ежовый сигналинг) [9, 10], путям сигналинга Wnt (Wingless/Int каскад) [11, 12], бета-катенина [13]. Участники каскадов способны или инициировать запуск профиброзных изменений, взаимодействуя с рецепторами, или быть медиаторами в передаче сигнала, или выступать в роли транскрипционных факторов, производя изменения в синтетической активности клетки, что завершается формированием молекулярного фундамента будущих макроскопических изменений в тканях и органах.

Механорецепция осуществляется посредством передачи сигнала из внеклеточного пространства в клетку, что опосредуется фибронектином и интегринами. Таким

образом, данный вид сигналинга зависит от сборки компонентов, вовлеченных в формирование связи клетки и ВКМ, например, сборки фибронектина [1] и активности интегринов [14]. Сигнальный путь Hippo представляет собой эволюционно консервативный киназный каскад, основные компоненты пути включают киназы MST1/2 и LATS1/2, которые фосфорилируют и ингибируют транскрипционные кофакторы YAP и TAZ. Данный путь также имеет значение для формирования фиброзных изменений [15]. YAP/TAZ являются механосенситивными факторами [15]. При этом отмечено, что пути передачи сигнала, традиционно ассоциируемые с механосигналингом и не ассоциируемые с таковым, имеют пересечения. Так, части путей, связанных с TGF β и Wnt, и путей, связанных с YAP/TAZ, сходятся в сложную сеть, которая управляет активацией и поддержанием фенотипа миофибробластов [12].

Миофибробласты представляют собой ключевого клеточного игрока в формировании фиброза. Так, отличительной чертой фиброза является чрезмерное накопление ВКМ, в основном продуцируемого именно патологическими миофибробластами и миофибробластоподобными клетками [15]. Возникновение миофибробластов связано с дифференцировкой фибробластов под воздействием факторов роста, таких как TGF β . Этот процесс является ключевым в нормальном заживлении ран, и ему способствуют такие факторы роста, как TGF β , Wnts, молекулярные структуры, связанные с повреждением (фибронектиновые ткани), и жесткость тканей. Чем жестче матрикс, тем более склонны фибробласты превращаться в миофибробласты [16].

Хроническое воспаление, вызванное различными факторами, в том числе стойкими инфекциями, аутоиммунными и аллергическими реакциями, химическими агентами, радиацией и повреждением тканей – является ансамблем событий, также влекущим развитие фиброза [17]. В ответ на повреждения активируются механизмы иммунной защиты, ответственные за выработку провоспалительных цитокинов и факторов роста, включая TGF- β . Эти молекулы стимулируют активацию фибробластов и их дифференцировку в миофибробласты.

На макроскопическом уровне фиброз может поражать различные органы и ткани, включая легкие, печень, сердце и почки, приводя к серьезным заболеваниям и ухудшению качества жизни. В легких фиброз проявляется в форме идиопатического легочного фиброза, характеризующегося прогрессирующей утратой дыхательной функции [18]. В печени фиброз может привести к циррозу, что значительно увеличивает риск развития печеночной недостаточности и портальной гипертензии [19]. Кардиальный фиброз способствует развитию сердечной недостаточности и аритмий [20], а почечный фиброз может привести к хронической почечной недостаточности [21]. Эти патологические

изменения связаны с перечисленными выше каскадами, чем подчеркивается важность понимания молекулярных механизмов фиброза для разработки эффективных терапевтических стратегий. Все перечисленные молекулярные механизмы имеют в разной степени выраженный потенциал выступать в качестве мишеней для терапии фиброзирующих патологий, поэтому требуют к себе более пристального внимания. Данные механизмы имеют значение при моделировании фиброзных патологий.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Систематизация современных данных о подходах к моделированию фиброзных болезней.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы рассмотрим основные механизмы развития фиброза с упором на применяемые модели, а также стратегии к разработке антифиброзных средств, потенциала и ограничений экспериментальных моделей в контексте дальнейшего поиска и изучения новых лекарственных средств с антифиброзной активностью.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модели фиброза печени

Модели с использованием гепатотоксинов

Четыреххлористый углерод (CCl₄) – самый известный гепатотоксин при моделировании фиброза печени у грызунов. CCl₄ метаболизируется цитохромом P₄₅₀ 2E1 (CYP2E1) до трихлорметильного радикала и трихлорметилпероксида, повреждая гепатоциты и эндотелиальные клетки [22,23,24,25]. Поражение печени при однократном введении CCl₄ в дозах 0,75–2,0 мл/кг восстанавливается достаточно быстро, поэтому необходимы повторные инъекции. Поскольку CCl₄ повреждает гепатоциты, эта модель может быть предложена для изучения механизма фиброза, вызванного повреждением гепатоцитов при хроническом гепатите В и С. С этой целью часто применяют пероральное и внутрибрюшинное введение CCl₄, однако при ингаляционной модели развивается цирроз печени и асцит. Модель с ингаляцией CCl₄ полезна для изучения конечной стадии фиброза печени [26]. Учитывая высокую воспроизводимость моделей с введением CCl₄, многие исследователи используют ее в качестве основной для изучения фиброза печени.

Тиоацетамид (ТАА) занимает второе место по использованию в качестве гепатотоксина, индуцирующего фиброз печени у грызунов [27]. Тиоацетамид в дозах 50–200 мг/кг вызывает повреждение печени и фиброз за счет метаболического окисления, формируя активные гепатотоксичные метаболиты сульфоксид ТАА и сульфодиоксид ТАА, конвертируемые CYP2E1 [28]. Токсические метаболиты вызывают окислительный

стресс центролобулярных клеток, некроз и воспаление, тем самым активируя гепато-целлюлярную карциному (ГЦК) и индуцируя фиброз [29]. Модель ТАА способствует повреждению гепатоцитов в зонах 1 и 3 и развитию портально-портального и портально-центрального мостовидного фиброза соответственно. Повреждение носит прогрессирующий и стойкий характер. Введение ТАА с питьевой водой вызывает постоянное повреждение печени, что может воспроизводить хронические гепатиты В и С человека лучше, чем CCl_4 модель.

Диметилнитрозамин (ДМН) – это нитрозамин, известный канцероген, вызывающий фиброз печени у грызунов. ДМН индуцирует отложение железа, накопление жира, центролобулярный застой и геморрагический некроз [30, 31]. Прогрессирование фиброза вызывает порто-портальный и портально-центральный мостовидный фиброз, усиление перекрестных сшивок коллагена, при котором коллаген типа III является доминирующим по сравнению с типом I [32]. Модель ДМН приводит к тяжелому фиброзу и демонстрирует повышенную экспрессию актина гладких мышц [33], что делает его полезным при изучении механизмов фиброза.

Модели неалкогольного стеатогепатита (НАСГ)

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) становится сегодня основной причиной хронических заболеваний печени [34]. НАСГ развивается у 20–25 % пациентов с НАЖБП. У пациентов с НАСГ может развиваться фиброз, а у некоторых из них цирроз печени [35]. Поскольку фиброз является наиболее важным прогностическим фактором [36, 37], экспериментальные модели НАЖБП фиброза имеют решающее значение для исследования НАЖБП.

Диета с высоким содержанием жиров (ДВСЖ) приводит к ожирению печени и может использоваться для изучения НАЖБП и его перехода в НАСГ и фиброз. ДВСЖ, содержащая 40–60 % жировых калорий, подходит для изучения ожирения, резистентности к инсулину и простого стеатоза. В основном ДВСЖ содержат насыщенные жиры в качестве основного источника [38] из-за того, что насыщенные жиры способствуют развитию НАСГ лучше, чем ненасыщенные [39]. Хотя ДВСЖ повышает уровень аланинамино-трансферазы в сыворотке крови и воспалительную экспрессию генов через 2–6 месяцев кормления, для развития легкого фиброза требуется примерно 50 недель [40].

Можно использовать модифицированные модели ДВСЖ. Фруктоза, которой много содержится в сладких газированных напитках и конфетах, увеличивает липогенез печени и ингибирует β -окисление жирных кислот [41]. Сочетание ДВСЖ и питья с добавлением фруктозы/глюкозы в течение 4–6 месяцев вызывает стеатоз, некровоспаление, инсулинорезистентность и фиброз [42,43]. Используется ДВСЖ с содержанием

холестерина 0,2–2 %, поскольку он способствует воспалению и фиброзу [44]. ДВСЖ с добавлением фруктозы и холестерина в течение 6 месяцев индуцирует НАСГ с гепатоцеллюлярным баллонированием, прогрессирующим фиброзом и проявлениями метаболического синдрома [45]. В систематическом обзоре [46] показано, что модель ДВСЖ с высоким содержанием фруктозы у грызунов напоминает человеческую НАЖБП.

Диета с дефицитом метионина и холина (МХД) приводит к нарушению метаболизма жиров и развитию стеатоза печени, что может прогрессировать до стеатогепатита и фиброза. Диеты МХД содержат высокое содержание сахарозы и умеренное количество жира, и при этом дефицит метионина и холина. Дефицит этих основных компонентов предотвращает экспорт липидов из гепатоцитов, что приводит к накоплению липидов в печени, нарушение β -окисления и выработки активных форм кислорода [47]. Диета МХД вызывает НАСГ через 3 недели и фиброз через 5–8 недель [48], что значительно быстрее, чем при ДВСЖ, однако на ее фоне не проявляются системные метаболические проявления, такие как увеличение массы тела, дислипидемия и резистентность к инсулину [49], что делает ее менее распространенной при исследованиях болезней печени.

Холин-дефицитная диета (ХД) – еще одна модель НАСГ с дефицитом холина и добавлением метионина, из которого образуется небольшое количество холина, что позволяет грызунам выживать дольше. ХД через 6 месяцев приводит к увеличению массы тела, слабой инсулинорезистентности и фиброзу. При более длительном моделировании ХД (84 недели) развивается гепато-целлюлярная карцинома, что делает ее применимой для изучения ГЦК, индуцированного НАСГ [50].

ДВСЖ с дефицитом холина (ХД-ДВСЖ) индуцирует основные особенности НАСГ: стеатоз, воспаление и фиброз с системными метаболическими нарушениями – увеличением массы тела и резистентностью к инсулину. ХД-ДВСЖ вызывает перичеселлюлярный фиброз через 6 недель, мостиковый фиброз – через 24 недели, ГЦК – через 12–15 месяцев [51], что делает ее применимой для исследований НАСГ-фиброза и релевантной для человека.

Гибридная модель ДВСЖ в сочетании с CCl_4 используется для воспроизведения более сложного и реалистичного патогенеза НАСГ, включая фиброз. Транскриптомный анализ этой модели показал сходные с НАСГ человека паттерны экспрессии генов [52].

Билиарные модели фиброза

Модель с лигированием желчного протока воспроизводит холестаз, связанный с дефектами клеточной секреции желчи или механической обструкцией желчного протока [53]. После хирургического лигирования внепеченочных желчных протоков уровень

билирубина повышается через 7 дней, уровни сывороточных аминотрансфераз повышаются ко 2–3-й неделе, перипортальный фиброз начинается через 10 дней, портально-портальный мостовидный фиброз развивается через 3 недели [54]. Прием витамина К может увеличить выживаемость.

Диета с *3,5-дизтоксикарбонил-1,4-дигидроколлиндином* (ДДК) – еще одна модель холестатического фиброза печени. ДДК вызывает секрецию порфиринов в желчные протоки и образование кристаллов порфирина и закупорку желчи в протоках, что приводит к фиброзу через 4–8 недель кормления [55].

На трансгенных мышах линии *MDR2*^{-/-} моделируется склерозирующий холангит. У мышей *MDR2*^{-/-} присутствует дефект секреции фосфолипидов в желчь, что приводит к перипортальному фиброзу [56]. У этих животных повышенная экспрессия профиброгенных генов проявляется ко 2 неделе жизни, прогрессирующий билиарный фиброз развивается через 4–8 недель, а ГЦК после 4–6 месяцев [57].

Еще одна трансгенная линия для изучения фиброза печени – мыши с делецией *TGF- β* -активированной киназы 1 в гепатоцитах, у которых спонтанно развивается перипортальный и перипортальный фиброз печени с 1-месячного возраста с последующим образованием ГЦК к 6 месяцам [58].

Алкоголь-индуцированные модели фиброза

Алкогольная болезнь печени охватывает заболевания от стеатоза до тяжелых формы, включая алкогольный гепатит и цирроз печени, вызванные злоупотреблением алкоголем. Хроническое употребление алкоголя вызывает стеатоз, и у 20–40 % этих пациентов развивается фиброз [59]. Однако в большинстве моделей с нагрузкой алкоголем у грызунов фиброз практически не развивается, либо развивается умеренно [60, 61], что делает эти подходы мало релевантными для изучения печеночного фиброза. Комбинированные модели у грызунов с введением алкоголя и гепатотоксинов приводят к формированию фиброза [62], но вклад алкоголя и токсина при этом сложно вычленить.

Модели фиброза легких

Блеомициновые модели. Блеомицин (БЛМ) – известное химиотерапевтическое средство, используемое для лечения некоторых неопластических заболеваний, таких как лимфомы, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак яичек, рак яичников. Эффекты БЛМ изучались на различных экспериментальных моделях животных, включая мышей, крыс, хомяков, кроликов, морских свинок и собак, которые крайне неоднородны, поскольку препарат вводят в разных дозах и разными путями. Модели на крысах и мышах наиболее широко используются для индукции фиброза легких [63, 64]. В мышинной модели течение развития забо-

левания отличается от наблюдаемого у людей. У мышей фиброз легких появляется между 14 и 28 днями после однократного введения блеомицина, а в течение 6 недель легкие восстанавливаются самостоятельно, и признаки фиброза остаются минимальными или отсутствуют [65]. У человека фиброз является результатом повторяющихся повреждений альвеолярного эпителия в конечном итоге вызывают прогрессирующий и необратимый фиброз. В большинстве исследований используются мыши C57Bl/6, и лишь немногие авторы используют другие линии, такие как 129, CBA, Balb/c и ICR. Фактически, линия C57Bl/6 более восприимчива, чем мыши Balb/c, к БЛМ-индуцированному фиброзу. Эти различия могут указывать на вариабельность экспрессии БЛМ гидролазы у различных линий животных [64, 66].

Модели БЛМ-индуцированного фиброза легких у животных характеризуются высокой воспроизводимостью и способностью имитировать основные гистологические особенности, наблюдаемые у пациентов, получавших БЛМ в качестве противоопухолевого препарата. Несмотря на большой интерес к изучению механизмов действия БЛМ и приверженность различных исследовательских групп, молекулярные процессы, участвующие в индукции фиброза, до сих пор полностью не изучены. Можно предположить, что БЛМ способен вызывать повреждение легких в две фазы: первая характеризуется преобладанием воспалительного компонента в течение 2 недель после введения препарата, а затем фиброзным событием между третьей и четвертой неделями. В отношении конкретных механизмов и процессов, участвующих в развитии легочного фиброза, очень важен способ введения БЛМ. Препарат можно вводить внутрибрюшинно, внутривенно, подкожно или интратрахеально, но наиболее часто используются внутривенный (в/в) и интратрахеальный пути. В/в введение (20 мг/кг два раза в неделю в течение 4–8 недель) имитирует введение препарата пациентам во время химиотерапевтического лечения. Первоначально повреждение ограничивается клетками легочного интерстиция и может включать признаки острого повреждения легких (повреждение альвеолярного эпителия, утечка жидкости и белков плазмы в альвеолярное пространство, альвеолярная консолидация и образование гиалиновых мембран). Также наблюдаются очаговый некроз эпителиальных клеток I типа и индукция метаплазии эпителиальных клеток II типа, а также воспалительные инфильтраты и фиброз в субплевральных областях [67]. К сожалению, этот метод введения не способен гарантировать полное развитие фиброза у всех животных. Промежуток времени для развития заболевания относительно велик, поскольку первоначальные поражения на эпителиальном уровне наблюдаются примерно через 4 недели лечения. Интратрахеальное введение первоначально

приводит к повреждению альвеолярных эпителиальных клеток, увеличению нейтрофильного и лимфоцитарного панальвеолита, наличию альвеолярных воспалительных клеток, пролиферации фибробластов и синтезу внеклеточного матрикса. Преимущество внутритрахеального введения состоит в том, что однократная доза БЛМ способна стимулировать повреждение легких и, как следствие, фиброз у грызунов, вызывая воспалительную реакцию и усиливая апоптоз эпителия, который происходит в течение недели после введения. Начало фиброза в этой модели можно биохимически и гистологически наблюдать к 14-му дню, при этом максимальный ответ обычно регистрируется примерно на 21–28-й день. К сожалению, на мышинной модели поражение легких после интратрахеального БЛМ является компенсированным, поскольку фиброз разрешается через 28 дней после введения препарата, а у мышей C57Bl/6J функция легких восстанавливается примерно через 6 недель после первоначального введения [63, 68].

Модели фиброза почек

Экспериментальные модели широко используют для изучения механизмов, участвующих в прогрессировании заболеваний почек до фиброза [69]. Возрастное почечное фиброзирование начинается раньше и становится более тяжелым у крыс-самцов, чем у самок, а крысы Sprague-Dawley менее устойчивы, чем другие линии крыс. Исследования старения на мышах показывают, что линия и пол также влияют на прогрессирование почечной недостаточности [70]. Для изучения фиброза почек используются индуцированные модели (хирургические и химические), спонтанные модели, генетические модели и модели *in vitro* [71, 72].

Химические модели

Хлорид ртути (HgCl_2) – введение *per os* крысам Sprague-Dawley один раз в день в течение 9 недель приводит к интерстициальному фиброзу почек с повышенным количеством коллагена. Эффект HgCl_2 характеризуется активацией почечных фибробластов, перепроизводством и отложением внеклеточного матрикса, повышением перекисного окисления липидов в почках [73], увеличением активности NF κ B и некрозом ткани.

Ванадат – вводят подкожно крысам Sprague-Dawley в возрасте 11 недель в дозе 0,9 мг/кг в сутки в течение 16 дней, что приводит к воспалению и фиброзу, при этом патологические и биохимические изменения наиболее выражены в ткани почек. Через 12 дней клеточная пролиферация в коре и мозговом слое значительно повышалась, и наблюдался фиброз почек, максимальное отложение коллагена наблюдалось через 25 дней [74].

Уранила нитрат – вводимый внутривентрально (0,3 или 0,5 мг/100 г) вызывает в почках крыс легкий или умеренный очаговый интерстициальный фиброз

через 4 недели. Через 20 недель были выявлены фиброзные участки, содержащие атрофические канальцы с утолщенной базальной мембраной и умеренной лимфоцитарной инфильтрацией. Введение уранилнитрата индуцирует почечный фиброз дозозависимым образом [75]. Уранилнитрат, по-видимому, – оптимальная модель интерстициального фиброза почек.

Фолиевая кислота, вводимая внутривентрально (240 мг/кг), вызывала у мышей быстрое появление кристаллов фолиевой кислоты в канальцах с последующей тяжелой нефротоксичностью через 1–14 дней после введения. К 28–42 дням у этих животных развивался очаговый интерстициальный фиброз. Тяжелые повреждения, вызванные фолиевой кислотой, связаны с прямым токсическим действием на эпителиальные клетки канальцев и обструкцией отдельных канальцев, что делает ее применимой для изучения интерстициального фиброза [76].

Циклоспорин А – первичный ингибитор кальциневрина, используется в клинической практике как иммунодепрессивное средство для повышения эффективности трансплантации органов. Однако длительное его применение может вызвать почечный фиброз, что частично ограничивает его применение [77]. Модель циклоспорина А применима для изучения интерстициального фиброза [76], но обладает рядом недостатков: высокая стоимость, токсичность для печени, длительный период эксперимента, а также значительно более высокие концентрации циклоспорина А, используемые в исследованиях на животных, по сравнению с дозами в клинической практике [78].

Хирургические модели

Модель редукции почек на $\frac{5}{6}$ использовалась на различных линиях крыс и мышей для изучения патогенеза гломерулосклероза, а также для оценки изменений при хронической почечной недостаточности, а именно фиброзе почек [69, 79]. Односторонняя обструкция мочеточника является наиболее широко используемой моделью интерстициального фиброза вследствие быстрой канальцевой атрофии, фиброза и повреждения матрикса [80].

Ишемия-реперфузия моделируется односторонней перевязкой почечной артерии на 20 или 45 мин у крыс Wistar, а у мышей C57BL/6 – на 45 или 60 мин [81]. Спустя сутки правую почку удаляют через дорсальный разрез для устранения компенсаторных эффектов контралатеральной почки. Морфологические изменения, характерные для гломерулосклероза и интерстициального фиброза, наблюдаются между 20 и 40 неделями после ишемии почек [82].

Модели фиброза, вызванного сахарным диабетом, окислительным стрессом

Стрептозототин-индуцированный сахарный диабет – введение стрептозототина (65 мг/кг внутривенно) у крыс через 4 или 8 недель вызывает отложение

коллагена в почках, повышенный уровень фибронектина и TGF β в плазме [83]. Эту модель можно рассматривать как модель почечного фиброза при изучении осложнений сахарного диабета.

Адриамицин – противоопухолевый препарат, индуцирующий побочные эффекты, такие как активация перекисного окисления липидов в эпителии клубочков. Адриамицин индуцировал нефропатию крыс и мышей с массивной протеинурией, поражением, базальной мембраны канальцев, вызывая воспалительную реакцию и интерстициальный фиброз [84,85]. Модель нефропатии, индуцированной адриамицином, может использоваться для изучения фокально-сегментарного гломерулосклероза и нефротического синдрома [86].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные модели на животных необходимы, поскольку они позволяют исследовать патологические механизмы *in vivo*. Идеальная животная модель должна максимально точно имитировать патологию у человека, быть высоко воспроизводимой и последовательной, простой в исполнении, широко доступной и не слишком дорогостоящей. Общие преимущества моделей на животных заключаются в способности воспроизводить сложные генетические, биохимические, экологические и фенотипические взаимодействия.

Одними из наиболее релевантных и валидных животных моделей фиброза можно считать модели с блеомицином [87]. Их преимущества включают низкую стоимость, простоту, быстроту, высокую воспроизводимость и широкое использование в исследованиях идиопатического легочного фиброза. Блеомициновая модель хорошо характеризуется, клинически релевантна и способна вызывать фиброз при различных путях введения. Недостаток блеомициновой модели заключается в самоограничивающемся характере фиброза, что контрастирует с типичным прогрессирующим хроническим фиброзом, наблюдаемым у человека. Несмотря на свои ограничения, она подходит для изучения патофизиологии прогрессирующего фиброза, а также для доклинических исследований новых лекарственных средств. Целесообразно использовать комбинированные модели фиброза, сочетая введение блеомицина с другими профиброзными факторами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Altrock E., Sens C., Wuerfel C. et al. Inhibition of fibronectin deposition improves experimental liver fibrosis. *Journal of hepatology*. 2015;62(3):625–633. doi: 10.1016/j.jhep.2014.06.010.
2. Wermuth P.J., Jimenez S.A. Abrogation of transforming growth factor- β -induced tissue fibrosis in TBR1caCol1a2Cre transgenic mice by the second generation tyrosine kinase inhibitor SKI-606 (Bosutinib). *PloS one*. 2018;13(5):e0196559. doi: 10.1371/journal.pone.0196559.

3. Madala S.K., Schmidt S., Davidson C. et al. MEK-ERK pathway modulation ameliorates pulmonary fibrosis associated with epidermal growth factor receptor activation. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2012; 46(3), 380–388. doi: 10.1165/rcmb.2011-0237OC.

4. Lee J., An J.N., Hwang J.H. et al. (2019). p38 MAPK activity is associated with the histological degree of interstitial fibrosis in IgA nephropathy patients. *PloS one*. 14(3):e0213981. doi: 10.1371/journal.pone.0213981.

5. Sieber P., Schäfer A., Lieberherr R. et al. NF- κ B drives epithelial-mesenchymal mechanisms of lung fibrosis in a translational lung cell model. *JCI insight*. 2023;8(3):e154719. doi: 10.1172/jci.insight.154719.

6. Dong J., Ma Q. In Vivo Activation and Pro-Fibrotic Function of NF- κ B in Fibroblastic Cells During Pulmonary Inflammation and Fibrosis Induced by Carbon Nanotubes. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:1140. doi: 10.3389/fphar.2019.01140.

7. Wang J., Hu K., Cai X. et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Acta pharmaceutica Sinica*. 2022;B;12(1):18–32. doi: 10.1016/j.apsb.2021.07.023.

8. Liu J., Wang F., Luo F. The Role of JAK/STAT Pathway in Fibrotic Diseases: Molecular and Cellular Mechanisms. *Biomolecules*. 2023;13(1):119. doi: 10.3390/biom13010119.

9. Gu D., Soepriatna A.H., Zhang W. et al. Activation of the Hedgehog signaling pathway leads to fibrosis in aortic valves. *Cell & bioscience*. 2023;13(1):43. doi: 10.1186/s13578-023-00980-1.

10. Effendi W.I., Nagano T. The Hedgehog Signaling Pathway in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Resurrection Time. *International journal of molecular sciences*. 2021; 23(1):171. doi: 10.3390/ijms23010171.

11. Akhmetshina A., Palumbo K., Dees C. et al. Activation of canonical Wnt signalling is required for TGF- β -mediated fibrosis. *Nature communications*. 2012;3:735. doi: 10.1038/ncomms1734.

12. Piersma B., Ban R.A., Boersema M. Signaling in Fibrosis: TGF- β , WNT, and YAP/TAZ Converge. *Frontiers in medicine*. 2015;2:59. doi: 10.3389/fmed.2015.00059.

13. Lam A.P., Gottardi C.J. β -catenin signaling: a novel mediator of fibrosis and potential therapeutic target. *Current opinion in rheumatology*. 2011;23(6):562–567. doi: 10.1097/BOR.0b013e32834b3309.

14. Sawant M., Wang F., Koester J. et al. Ablation of integrin-mediated cell-collagen communication alleviates fibrosis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2023;82(11):1474–1486. doi: 10.1136/ard-2023-224129.

15. Mia M.M., Singh M.K. New Insights into Hippo/YAP Signaling in Fibrotic Diseases. *Cells*. 2022;11(13):2065. doi: 10.3390/cells11132065.

16. Phan S.H. Biology of fibroblasts and myofibroblasts. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2008;5(3):334–337. doi: 10.1513/pats.200708-146DR.

17. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of pathology*. 2008;214(2):199–210. doi: 10.1002/path.2277.

18. Sankari A., Chapman K., Ullah S. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In StatPearls. StatPearls Publishing, 2024.
19. Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(2):209–218. doi: 10.1172/JCI24282.
20. Czubryt M.P., Hale T.M. Cardiac fibrosis: Pathobiology and therapeutic targets. *Cellular signalling*. 2021; 85:110066. doi: 10.1016/j.cellsig.2021.110066.
21. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney international*. 2006;69(2):213–217. doi: 10.1038/sj.ki.5000054.
22. Yanguas S.C., Cogliati B., Willebrords J. et al. Experimental models of liver fibrosis. *Archives of toxicology*. 2016; 90:1025–1048.
23. Weber L.W., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical reviews in toxicology*. 2003;33:105–136.
24. Boll M., Weber L.W., Becker E., Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*. 2001;56:649–659.
25. Slater T.F., Cheeseman K.H., Ingold K.U. Carbon tetrachloride toxicity as a model for studying free-radical mediated liver injury. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 1985;311:633–645.
26. Domenicali M., Caraceni P., Giannone F. et al. A novel model of CCl₄-induced cirrhosis with ascites in the mouse. *Journal of hepatology*. 2009;51:991–999.
27. Fitzhugh O.G., Nelson A.A. Liver tumors in rats fed thiourea or thioacetamide. *Science*. 1948;108:626–628.
28. Hajovsky H., Hu G., Koen Y. et al. Metabolism and toxicity of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in rat hepatocytes. *Chemical research in toxicology*. 2012;25:1955–1963.
29. Kang J.S., Wanibuchi H., Morimura K. et al. Role of CYP2E1 in thioacetamide-induced mouse hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*. 2008;228:295–300.
30. He J.Y., Ge W.H., Chen Y. Iron deposition and fat accumulation in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rat. *World journal of gastroenterology*. 2007;13:2061–2065.
31. Jezequel A.M., Mancini R., Rinaldesi M.L. et al. A morphological study of the early stages of hepatic fibrosis induced by low doses of dimethylnitrosamine in the rat. *Journal of hepatology*. 1987;5:174–181.
32. George J., Chandrakasan G. Molecular characteristics of dimethylnitrosamine induced fibrotic liver collagen. *Biochimica et biophysica acta*. 1996; 1292:215–222.
33. Park H.J., Kim H.G., Wang J.H. et al. Comparison of TGFβ, PDGF, and CTGF in hepatic fibrosis models using DMN, CCl₄, and TAA. *Drug and chemical toxicology*. 2016;39:111–118.
34. Riaz K., Azhari H., Charette J.H. et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*. 2022;7:851–861.
35. Rinella M.E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*. 2015;313:2263–2273.
36. Ekstedt M., Hagstrom H., Nasr P. et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61:1547–1554.
37. Lee K.C., Wu P.S., Lin H.C. Pathogenesis and treatment of non-alcoholic steatohepatitis and its fibrosis. *Clinical and molecular hepatology*. 2023;29:77–98.
38. Eng J.M., Estall J.L. Diet-induced models of non-alcoholic fatty liver disease: food for thought on sugar, fat, and cholesterol. *Cells*. 2021;10:1805.
39. Rosqvist F., Kullberg J., Stahlman M. et al. Overeating saturated fat promotes fatty liver and ceramides compared with polyunsaturated fat: a randomized trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2019;104:6207–6219.
40. Ito M., Suzuki J., Tsujioka S. et al. Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2007;37:50–57.
41. Jensen T., Abdelmalek M.F., Sullivan S. et al. Fructose and sugar: a major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2018;68:1063–1075.
42. Kohli R., Kirby M., Xanthakos S.A. et al. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010;52:934–944.
43. Radhakrishnan S., Yeung S.F., Ke J.Y. et al. Considerations when choosing high-fat, high-fructose, and high-cholesterol diets to induce experimental nonalcoholic fatty liver disease in laboratory animal models. *Current developments in nutrition*. 2021;5:nzab138.
44. Ioannou G.N., Subramanian S., Chait A. et al. Cholesterol crystallization within hepatocyte lipid droplets and its role in murine NASH. *Journal of lipid research*. 2017; 58:1067–1079.
45. Charlton M., Krishnan A., Viker K. et al. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. 2011;301:G825–G834.
46. Im Y.R., Hunter H., de Gracia Hahn D. et al. A systematic review of animal models of NAFLD finds high-fat, highfructose diets most closely resemble human NAFLD. *Hepatology*. 2021;74:1884–1901.
47. Anstee Q.M., Goldin R.D. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *International journal of experimental pathology*. 2006; 87:1–16.
48. Farrell G., Schattenberg J.M., Leclercq I. et al. Mouse models of nonalcoholic steatohepatitis: toward optimization of their relevance to human nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2019;69:2241–2257.
49. Takahashi Y., Soejima Y., Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World journal of gastroenterology*. 2012; 18:2300–2308.

50. Denda A., Kitayama W., Kishida H. et al. Development of hepatocellular adenomas and carcinomas associated with fibrosis in C57BL/6J male mice given a cholinedeficient, L-amino acid-defined diet. *Japanese journal of cancer research: Gann*. 2002;93:125–132.
51. Febbraio M.A., Reibe S., Shalapour S. et al. Preclinical models for studying NASH-driven HCC: how useful are they? *Cell metabolism*. 2019;29:18–26.
52. Tsuchida T., Lee Y.A., Fujiwara N. et al. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer. *Journal of hepatology*. 2018;69:385–395.
53. Hirschfield G.M., Heathcote E.J., Gershwin M.E. Pathogenesis of cholestatic liver disease and therapeutic approaches. *Gastroenterology*. 2010;139:1481–1496.
54. Tag C.G., Sauer-Lehnen S., Weiskirchen S. et al. Bile duct ligation in mice: induction of inflammatory liver injury and fibrosis by obstructive cholestasis. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2015;96:52438.
55. Deng X., Zhang X., Li W. et al. Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes. *Cell Stem Cell*. 2018;23:114–122.
56. Fickert P., Fuchsbichler A., Wagner M. et al. Regurgitation of bile acids from leaky bile ducts causes sclerosing cholangitis in Mdr2 (Abcb4) knockout mice. *Gastroenterology*. 2004;127:261–274.
57. Ikenaga N., Liu S.B., Sverdlov D.Y. et al. A new Mdr2(-/-) mouse model of sclerosing cholangitis with rapid fibrosis progression, early-onset portal hypertension, and liver cancer. *The American journal of pathology*. 2015;185:325–334.
58. Song I.J., Yang Y.M., Inokuchi-Shimizu S. et al. The contribution of toll-like receptor signaling to the development of liver fibrosis and cancer in hepatocyte-specific TAK1-deleted mice. *International journal of cancer*. 2018;142:81–91.
59. Crabb D.W., Im G.Y., Szabo G. et al. Diagnosis and treatment of alcohol-associated liver diseases: 2019 practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2020;71:306–333.
60. Liang S., Zhong Z., Kim S.Y. et al. Murine macrophage autophagy protects against alcohol-induced liver injury by degrading interferon regulatory factor 1 (IRF1) and removing damaged mitochondria. *The Journal of biological chemistry*. 2019;294:12359–12369.
61. Bertola A., Mathews S., Ki S.H. et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model). *Nature protocols*. 2013;8:627–637.
62. Brol M.J., Rosch F., Schierwagen R. et al. Combination of CCl4 with alcoholic and metabolic injuries mimics human liver fibrosis. *American journal of physiology: Gastrointestinal and liver physiology*. 2019;317:G182–G194.
63. Moore B.B., Hogaboam C.M. Murine models of pulmonary fibrosis. *American journal of physiology: Lung cellular and molecular physiology*. 2008;294:152–160.
64. Walters D.M., Kleeberger S.R. Mouse models of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Current protocols in pharmacology*. 2008;5(46):1–17.
65. Degryse A.L., Tanjore H., Xu X.C. et al. Repetitive intratracheal bleomycin models several features of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of physiology: Lung cellular and molecular physiology*. 2010;299:442–452.
66. Rafii R., Juarez M.M., Albertson T.E., Chan A.L. A review of current and novel therapies for idiopathic pulmonary fibrosis. *Journal of thoracic disease*. 2013;5:48–73.
67. Della Latta V., Cecchetti A., Del Ry S., Morales M.A. Bleomycin in the setting of lung fibrosis induction: From biological mechanisms to counteractions. *Pharmacological research*. 2015;97:122–130. doi: 10.1016/j.phrs.2015.04.012.
68. Mouratis M.A., Aidinis V. Modeling pulmonary fibrosis with bleomycin. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2011;17:355–361.
69. Fogo A.B. Progression and potential regression of glomerulosclerosis. *Kidney international*. 2001;59(2):804–819.
70. Yang H.C., Zuo Y., Fogo A.B. Models of chronic kidney disease. *Drug discovery today. Disease models*. 2010;7(1–2):13–19.
71. Bing P, Maode L, Li F., Sheng H. Expression of renal transforming growth factor-beta and its receptors in a rat model of chronic cyclosporine-induced nephropathy. *Transplantation proceedings*. 2006;38(7):2176–2179.
72. Ucero A.C., Benito-Martin A., Fuentes-Calvo I. et al. TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) promotes kidney fibrosis and RAS-dependent proliferation of cultured renal fibroblast. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1832(10):1744–1755.
73. Wang Q.L., Yuan J.L., Tao Y.Y. et al. Fuzheng huayu recipe and vitamin E reverse renal interstitial fibrosis through counteracting TGF-beta 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition. *Journal of ethnopharmacology*. 2010;127(3):631–640.
74. Al-Bayati M.A., Giri S.N., Raabe O.G. et al. Time and dose-response study of the effects of vanadate on rats: Morphological and biochemical changes in organs. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology : official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*. 1989;9(5–6):435–455.
75. Appenroth D., Lupp A., Kriegsmann J. et al. Temporary warm ischaemia, 5/6 nephrectomy and single uranyl nitrate administration – comparison of three models intended to cause renal fibrosis in rats. *Experimental and toxicologic pathology: official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*. 2001;53(4):316–324.
76. Yang H.C., Zuo Y., Fogo A.B. Models of chronic kidney disease. *Drug discovery today. Disease models*. 2010;7(1–2):13–19.
77. Nielsen F.T., Jensen B.L., Hansen P.B. et al. The mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone reduces renal interstitial fibrosis after long-term cyclosporine treatment in rat: Antagonizing cyclosporine nephrotoxicity. *BMC nephrology*. 2013;14:42.
78. Kim J.Y., Ghee J.Y., Lim S.W. et al. Comparison of early and late conversion of sirolimus in experimental model of chronic cyclosporine nephropathy. *Journal of Korean medical science*. 2012;27(2):160–169.
79. Chow K-M., Liu Z-C., Chang TM-S. Animal remnant kidney model of chronic renal failure revisited. *Hong Kong journal of nephrology*. 2003;5(2):57–64.

80. Tan X., Li Y., Liu Y. Therapeutic role and potential mechanisms of active vitamin D in renal interstitial fibrosis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2007;103(3–5):491–496.

81. Liu M., Agreda P., Crow M. et al. Effects of delayed rapamycin treatment on renal fibrosis and inflammation in experimental ischemia reperfusion injury. *Transplantation proceedings*. 41(10):2009;4065–4071.

82. Takada M., Nadeau K.C., Shaw G.D., Tilney N.L. Prevention of late renal changes after initial ischemia/reperfusion injury by blocking early selectin binding. *Transplantation*. 1997;64(11):1520–1525.

83. Miric G., Dallemagne C., Endre Z. et al. Reversal of cardiac and renal fibrosis by pirfenidone and spironolactone in streptozotocin-diabetic rats. *British journal of pharmacology*. 2001;133(5):687–694.

84. Zhao J., Wang H., Cao A.L. et al. Renal tubulointerstitial fibrosis: A review in animal models. *Journal of Integrative Nephrology and Andrology*. 2015;2(3):75–80.

85. Silveira K.D., Barroso L.C., Vieira A.T. et al. Beneficial effects of the activation of the angiotensin-(1-7) MAS receptor in a murine model of adriamycin-induced nephropathy. *PLoS One*. 2013;8(6):e66082.

86. Tan R.J., Zhou L., Zhou D. et al. Endothelin receptor A blockade is an ineffective treatment for Adriamycin nephropathy. *PLoS One*. 2013;8(11):e79963.

87. Ishida Y., Kuninaka Y., Mukaida N., Kondo T. Immune Mechanisms of pulmonary fibrosis with bleomycin. *International journal of molecular sciences*. 2023;24:3149. doi: 10.3390/ijms24043149.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

В.А. Косолапов – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, заведующий лабораторией метаботропных лекарственных средств, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; ✉ vad-ak@mail.ru

Р.А. Литвинов – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики, старший научный сотрудник лаборатории метаботропных лекарственных средств, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; litvinov.volgmu@mail.ru

А.А. Спасов – доктор медицинских наук, академик Российской академии наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики, научный руководитель, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; aspasov@mail.ru

Статья поступила в редакцию 13.05.2024; одобрена после рецензирования 28.08.2024; принята к публикации 06.09.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

V.A. Kosolapov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Head of the Laboratory of Metabotropic Medicines, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; ✉ vad-ak@mail.ru

R.A. Litvinov – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Senior Researcher at the Laboratory of Metabotropic Medicines, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; litvinov.volgmu@mail.ru

A.A. Spasov – Doctor of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Scientific Supervisor, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; aspasov@mail.ru

The article was submitted 13.05.2024; approved after reviewing 28.08.2024; accepted for publication 06.09.2024.