

ЗАСТОСУВАННЯ БІЦИКЛОЛУ ПРИ ЛІКУВАННІ ВАЖКОГО ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ: ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

К.В. Жданов¹, А.В. Саулевич¹, К.В. Козлов¹, С.М. Захаренко¹, В.С. Сукачов¹, В.Є. Карєв², Ю.Ф. Захарків¹, І.В. Потехін¹, Р.М. Мухтарова¹, Касьяненко К.В.¹, С.С. Карякіна¹,

М.Г. Чернока¹

1 Військово-медична академія ім. С.М. Кірова, Санкт-Петербург, Росія

2 Дитячий науково-клінічний центр інфекційних хвороб, Санкт-Петербург, Росія застосування біциклолу в лікуванні важкого фіброзу печінки: експериментальне обґрунтування

К.В. Жданов¹, А.В. Саулевича¹, К.В. Козлов¹, с.м. Захаренко¹, В.С. Сукачова¹, В.Є. Карєв², Ю.Ф. Захарків¹, І.В. Потехіна¹, Р.М. Мухтарова¹, К. Касьяненка¹, с.с. Карякіна¹, М.Г. Черненко¹

1 Військово-медична академія імені С.М. Кірова, Санкт-Петербург, Росія

2 Педіатричний науково-клінічний центр інфекційних хвороб, Санкт-Петербург, Росія

Резюме

Мета. Для визначення вираженості антифібротичного ефекту препарат Біциклोल - перспективний засіб для комплексного лікування хронічних дифузних захворювань печінки різної етіології.

Матеріали та методи: Дослідження включало 40 самців щурів Wistar вагою 180-200 г, які мали стадію F3 токсичного фіброзу печінки. Контрольна група складалася з 16 осіб, які отримували нормальне харчування, експериментальна група - 24, яким крім стандартної дієти призначали препарат «Біциклोल» протягом 30 днів. Оцінка результатів застосування препарату проводилася за допомогою гістологічного дослідження, методів біохімічного, молкулярно-біологічного та статистичного аналізу.

Результати. У групі осіб, які отримували препарат «Біциклोल», внутрішньолопатковий фіброз після закінчення терапії зберігався в 4,16% випадків ($p < 0,001$), стромальний фіброз порталного тракту відзначався в 62,5% випадків ($p < 0,001$), рівень виявлення перипорального сегментарного фіброзу склав 66,7% ($p < 0,001$). За шкалою METAVIR, тварини з експериментальної групи показали регрес фіброзу до стадії F1–F2 в 16,6%, тоді як в контрольній групі змінюється залишився на рівні тяжкого фіброзу F3 в 62,5% ($p < 0,05$), статистично значущого підвищення активності аланінамінотрансферази і зниження концентрації загального білка у осіб з контрольної групи не спостерігалось. Змін показників мікроценозу кишечника в досліджуваних групах не спостерігалось.

Висновок. Застосування препарату Біциклोल призводить до вираженого зниження фіброзних змін в печінковій тканині піддослідних тварин і супроводжувалося тимчасовим зниженням активності аланінамінотрансферази в сироватці крові. У дослідженні не було встановлено кореляційних зв'язків між терапевтичним впливом досліджуваного препарату і станом мікроценозу кишечника.

Ключові слова: індукція фіброзу, антифібротика, біциклोल, експеримент, біопсія печінки.

АБСТРАКТ

Мета. Оцінити антифібротичний ефект біциклолу з перспективними клінічними ефектами при дифузних паренхіматозних захворюваннях печінки

Матеріали та методи: Ми включили 40 дорослих щурів-самців Wistar (вага, від 180 до 200 г) з експериментально індукованим токсичним фіброзом печінки стадії F3. Контрольна група складалася з 16 щурів, які отримували стандарт-чау, експериментальна група з 24 щурів також отримувала 30-денну постачання біциклолу. Для оцінки результатів ми використовували гістологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні та статистичні методи.

Результати. В експериментальній групі міжлобулярний фіброз підтримувався в 4,16% ($p < 0,001$) випадків після закінчення терапії, стромальний фіброз портальних шляхів спостерігався у 62,5% ($p < 0,001$) справ. Коефіцієнт виявлення перипортального фіброзу в експериментальній групі склав 66,7% ($p < 0,001$). Щури з експериментальної групи показали регрес фіброзу печінки до стадії F1F2 у 16,6% (METAVIR), тоді як контрольна група мала фіброз печінки на стадії F3 у 62,5% ($p < 0,05$). Спостерігалось статистично значуще підвищення активності АЛТ і зниження загального рівня білка в контрольній групі. Змін профілю мікробіому кишківника у піддослідних тварин виявлено не було.

Висновок. Застосування біциклолу призводило до вираженого пригнічення фіброзних змін печінки у лабораторних тварин і тимчасового зниження рівня АЛТ в сироватці крові. Наше дослідження не показало зв'язку між терапевтичним впливом препарату та статусом мікробіому кишківника.

Ключові слова: Індукція фіброзу, антифібротичний, біциклол, експеримент, біопсія печінки.

Введення

Серед основних проблем сучасної охорони здоров'я одне з перших місць традиційно займають вірусні гепатити різної етіології, на частку яких припадає приблизно 1,4 млн смертей на рік в результаті гострої інфекції, а також онкологічні захворювання і цироз печінки, пов'язані з її запаленням, що можна порівняти з показниками смертності від ВІЛ і туберкульозу. [1]. Сучасні схеми протівірусної терапії хворих на хронічні вірусні гепатити передбачають або тривале пригнічення реплікації вірусу (аналогі нуклозу (t)ids при ХГЧ), або елімінацію збудника (препарати прямої протівірусної дії при ХГЧ). При цьому в ряді випадків етіотропна терапія не забезпечує стабілізації або регресу фіброзних змін в тканинах печінки (коморбідні хворі, пацієнти, які отримують протівірусну терапію на стадіях важкого фіброзу і компенсованого цирозу печінки), що вимагає пошуку нових терапевтичних варіантів, Варто відзначити, що інші захворювання печінки, що супроводжуються фіброзом, є одними з основних причин інвалідності та смертності серед населення планети. До них відносяться безалкогольна і алкогольна жирова хвороба печінки, аутоімунні захворювання.

Таким чином, терапія, спрямована на ключові ланки патогенезу, часто має вирішальне значення в лікуванні захворювань печінки, особливо на пізніх стадіях. Безумовно, основним методом лікування хронічних дифузних захворювань печінки є етіотропна терапія, спрямована на усунення основного фактора формування патологічного процесу. При цьому належна увага приділяється засобам симптоматичної та патогенетичної корекції, спрямованої на зниження вираженості запалення в тканинах печінки і запобігання утворенню фіброзу.

Одним з перспективних препаратів лінійки, так званих гепатопротекторів, є Біциклол, який має здатність пригнічувати вироблення фактора некрозу пухлин (ФНП- α) активними нейтрофілами, клітинами Купфера і макрофагами, а також сприяють зниженню інтенсивності вільнорадикальних процесів в клітинах. Описувана протизапальна активність, клінічно проявляється у вигляді нормалізації активності печінкових ферментів (аланінамінотрансферази і аспартамінотрансферази), теоретично повинна супроводжуватися антифібротичним ефектом [2].

Метою дослідження є визначення вираженості антифібротичної дії препарату Біциклол - перспективного засобу для комплексного лікування хронічних дифузних захворювань печінки різної етіології.

Цілі дослідження;

1. Для оцінки біохімічних і гістологічних показників у щурів після терапії біциклолом на стадії фіброзу печінки F3 в експериментальних умовах.
2. Встановити взаємозв'язок між терапевтичним впливом досліджуваного препарату, якісним і кількісним станом мікрофлори кишечника у лабораторних тварин.

Матеріали і методи

Експериментальна робота велася на базі віварію Військово-медичної академії. С.М. Кірова (ВМеда). Зміст і догляд за піддослідними тваринами здійснювалися відповідно до Закону РФ «Про ветеринарну медицину» No 4979-1 від 14.05.1993 року. [3]; «Рекомендації етичним комітетам, які проводять експертизу біомедичних досліджень» [4]; Директиви 2010/63/ЄС Європейського Парламенту та Ради Європейського Союзу [5]. Дослідження на тваринах затверджені незалежним комітетом з етики при VMedA (20.06.2017, Протокол No 191).

Дослідження включало 40 самців щурів Wistar вагою 180-200 г, в яких був індукован токсичний фіброз печінки (АФ), стадія F3. Тривалість формування ФП склала 53 дні.

В ході експерименту всі тварини отримували стандартний корм гризунів (Nuvilab CR1s Nuvital S. A., Коломбо-ПР, Бразилія), які склалися з 22% білка, 4% жиру, 4% сирової клітковини, що відповідало енергетичній цінності 290 ккал / 100 г. Кожна тварина отримувало 12 г корму протягом доби.

Далі шляхом випадкової вибірки лабораторних тварин розділили на 2 групи. Перша група представляла собою контрольну групу, що складалася з 16 щурів, які отримували нормальне харчування, друга група була експериментальною, куди входило 24 щура, яким призначали біциклол (БІЦ) всередину в дозі 25 мг 2 рази на добу (в ранкові та вечірні години) протягом 30 днів (мал.).



Були виявлені контрольні точки, при яких проводилися пункційна біопсія печінки (ПБП), біохімічний аналіз крові і визначення видового складу кишкового мікробіоценозу: точка відліку 1 (T1), яка відповідала першим дням експерименту; проміжні точки: точка 2 (T2) - 55-й день (відповідає стадії фіброзу F3); Точка 3 (T3) – 85-й день (відповідний періоду закінчення БІЦ-терапії) і кінцева точка 4 (T4) – 115-й день експерименту (довгострокові результати), при якому тварина була вбита, після чого був проведений анатомічний розтин, вилучена печінка і відправлена в гістологічну лабораторію. Детальна методика проведення ПБП описана в роботах [6, 7].

Індукція фіброзу печінки: виконується внутрішньоочеревинним введенням 50% ССл4 в оливковій олії з розрахунку 1 мл на кілограм маси тіла тварини двічі на тиждень з інтервалом між ін'єкціями 3 дні [8]. Всього було зроблено 14 ін'єкцій. Для потенціювання настання фіброзних змін в печінці тварини отримували 10% спирт через питний флакон у вільному доступі. На 53-й день експерименту щури перестали викликати АФ.

Для об'єктивної оцінки результатів використовувався гістологічний метод. Проби поміщали в розчин 10% нейтрального формаліну, в якому фіксували протягом 24 ч. Після фіксації зразки зневоднювали шляхом інкубації висопропіловими спиртами, а потім просочували парафінами за загальноприйнятою методикою. З парафінових блоків, використовуючи роторний мікротом, робили ділянки тканин товщиною 4 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином і пікрофуцином по Ван Гізону, після чого були поміщені під покривні склянки [9]. Вивчення гістологічних препаратів проводилося за допомогою біокулярного мікроскопа в пропущеному світлі із загальним збільшенням $\times 50$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Напівкількісна оцінка тяжкості фіброзу визначалася системою Метавір [10–16].

При гістологічному дослідженні гепатобіоптатів в 100% випадків визначалися портальні тракти. Кількість портальних трактів, що дозволяють визначити стадію фіброзу печінки, становило 8. Середній розмір біопсії становив 1 см.

Біохімічний аналіз крові

Перед взяттям крові хвіст щура опускали в теплу воду ($+ 35^{\circ}\text{C}$), а потім на корінь хвоста прикладали венозний джгут. Для пункції використовувався інсуліновий шприц [17].

При біохімічному дослідженні крові були визначені: загальний білок г / л, аланінамінотрансфераза (АЛТ) МО / л, білірубін загальний мкмоль / л, на біохімічному аналізаторі Spectrum виробництва компанії Hitachi (Японія).

З метою виявлення взаємозв'язків по патофізіологічному вектору кишково - печінка, який відіграє одну з провідних ролей в прогресуванні фіброзних змін в тканинах печінки, в дослідженні проаналізовано видовий склад мікроценозу кишечника методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для дослідження в реальному часі проводять ПЛР з флуоресцентним виявленням результатів ампліфікації з використанням тест-системи "Колонофлора" (ТОВ «АльфаЛаб», Санкт-Петербург). Метод заснований на використанні олігонуклеотидів і мічених олігонуклеотидних зондів Taqman, що доповнюють конкретні ділянки геному кожного з визначається мікроорганізмів. Реакція проводилася в мініоптиконному підсилювачі (BioRad, США). Результати були розраховані за допомогою значень порогового циклу. Тотальна ядерна ДНК була виділена за допомогою набору реагентів «ДНК-Експрес» («Літех», Санкт-Петербург) згідно з інструкцією виробника [18].

Статистичний аналіз

Статистичний аналіз зібраних даних проводився на персональному комп'ютері з використанням пакету додатків Statistica 10.0 для Windows. Математична обробка даних почалася з оцінки типу розподілу ознаки для нормальності з урахуванням критерію Шапіро-Вілка ($p < 0,05$) у вибірці і далі шляхом вивчення параметрів, що характеризують міру центрального тренда і розсіювання спостережень по площі значень ознаки. Для об'єктивної оцінки досліджуваних ознак були розраховані числові характеристики медіани (Me). Міра мінливості ознаки представлена у вигляді 25% і 75% квантилів [Q1; Q3]; значимість відмінностей у показниках центрального тренду показників у незалежних вибірках оцінювалася за допомогою критерію хі-квадрат (χ^2).

Результати та обговорення

За результатами біопсії печінки в точці T2 був виявлений індукований фіброз печінки (АФ) у всіх тварин, що відповідає стадії F3 по METAVIR. На наступній контрольній точці спостереження (T3 - завершення курсу БІЦ-терапії) в експериментальній групі у лабораторних щурів виявилися гістологічні ознаки відновлення патоморфологічних порушень будови тканини печінки. Так, у групі тварин, які отримували БІЦ, внутрішньолопатковий фіброз (ВДФ) після закінчення терапії зберігався в 1 випадку. стадії F1–F2, у 4 щурів (16,6%) гістологічні зміни зберігалися на рівні важкого фіброзу (F3 для METAVIR), тоді як у контрольній групі фіброз (F3 для METAVIR) спостерігався у 10 щурів (62,5%), помірний фіброз (F1–F2 для METAVIR) – у 6 (37,5%). Дані представлені в таблиці 1.

У контрольній групі тварин протягом періоду спостереження зберігалася точно така ж морфологічна картина (T-4), а в контрольній групі кількість щурів з важким фіброзом збільшилася до 12 (75%).

Так, згідно з результатами даного дослідження, під час 30-денної терапії лабораторних щурів БІК, при якій штучно індукувався АФ, що відповідає ступеню F-3 METAVIR, в порівнянні з контрольною групою

лабораторних тварин статистично значуще зниження вираженості морфологічних показників, що характеризують фіброзні зміни в тканинах печінки, при цьому спостережувані зміни були тривалими і зберігалися до кінця експерименту (115-й день).

Причому антифібротичний ефект біциклолу безпосередньо корелював з протизапальною активністю досліджуваного препарату (табл. 2). Так, за результатами біохімічного аналізу крові, проведеного на контрольно-пропускних пунктах, було встановлено, що на тлі індукованого важкого АФ при порівнянні Т2 з Т1 значно підвищувалася активність Т2.

Таблиця 1. Динаміка фіброзних змін у лабораторних щурів на тлі біциклотерапії (Т2 і Т3)

Індекс	Т2 n=40	Т3	
		Група 1 (контрольна), n=16	Група 2 (БІЦ), n=24
ВДФ «+»	100%	75%	4,16%*
ВДФ «-»	0%	25%	95,83%*
ФСПТ «+»	100%	93,75%	62,5%*
ФСПТ «-»	0%	6,25%	37,5%*
ПСФ «+»	100%	100%	66,7%*
ПСФ «-»	0%	0%	33,3%*
F1-F2	0%	37,5%	83,3%*
F3	100%	62,5%	16,6%*

* – $p < 0,01$, $\chi^2 > 3$.

(4,16%), тоді як в контрольній групі ця гістологічна ознака була виявлена в 12 випадках (75%), $p < 0,001$. Фіброз строми ворітного тракту (ФСПТ) в групі після БІЦ-терапії був виявлений в 15 випадках, що становило 62,5%, в контрольній групі – в 15 випадків (93,75%), $p < 0,001$. Коefіцієнт виявлення перипорального сегментарного фіброзу (PSF) в групі, яка отримувала БІЦ, склав 16 випадків (66,7%), тоді як в контрольній групі PSF був виявлений у всіх щурів, $p < 0,001$. В результаті інтегральний показник стадії АФ печінки за шкалою METAVIR був розподілений наступним чином: в групі піддослідних тварин (БІЦ) у 20 щурів (83,3%) спостерігався регрес фіброзу до АЛТ 122,15 [101,45; 154,3] ($p < 0,05$). В ході експериментальною терапією БІЦ в експериментальній групі тварин відзначено значне зниження активності альт - 118 [60,0; 131,0] порівняно з контролем

група – 150,75 [132,9; 172,9] (стор < 0,05).

У групі тварин, оброблених БІЦ, спостерігалось стійке збільшення активності АЛТ в точці Т4 в порівнянні з Т2 до 148 [91,5; 280,1] і зниження загальної концентрації білка 65,4 [59,3; 78,6]. У контрольній групі в цих точках продовжувала зберігатися тенденція до гіпопротеїнемії - 71,0 [68,6; 73,25] ($p < 0,05$) на тлі високої активності АЛТ.

Таблиця 2 Динаміка біохімічних показників крові у лабораторних щурів в ході експерименту

Контрольно	Показників		
	Білка	Білірубін	Alt
Т1 n=40	71,05 [68,6; 75,6]	3,2 [2,55; 4,1]	98,6 [80,0; 120,0]
Т2 n=40	75,65 [71,15; 78,7] *	2,25 [1,8; 3,1] *	122,15 [101,45; 154,3] *
Т3			
Конт	72,05 [68,7; 75,5] **	3,9 [3,25; 4,25]	150,75 [132,9; 172,9] *****
р БІЦ n=24	66,3 [59,3; 78,6] **	2,9 [1,8; 5,9]	118 [60,0; 131,0] **
Т4			
Контр n=16	71,0 [68,6; 73,25] ***	3,2 [2,1; 4,1]	156,5 [127,1; 182,15]
БІЦ n=24	65,4 [59,3; 78,6] ***	3,1 [0,6; 8,6]	148 [91,5; 280,1] ***, *****

$p < 0,05$ – критерій Вилкоксона (* – T1–T2; ** – T2-T3; *** – T2-T4; **** – T3– T4; ***** – T3 (контр) -T3 (БЦ)).

Таблиця 3 Вимоги до ресурсів за компонентами

Порівняльна оцінка мікроценозу кишечника у лабораторних щурів в ході експерименту (критерій Вилкоксона)

Показників	Контрольні точки Ключ				
	T1 Я [Q1; Запитання 3] Ig n=40	T2 Я [Q1; Запитання 3] Ig n=40	T	З	р
Грн.	11,3 [10,7; 11,4]	10,4 [10,3; 11,3]	42	2,13	0,03*
LB spp.	7,5 [6,9; 8,3]	7,6 [6,0; 8,3]	38	2,06	0,03*
BB spp.	9,4 [8,4; 9,9]	11,1 [9,4; 11,3]	21	3,13	0,001
Кишкова паличка	6,0 [5,7; 6,6]	5,9 [5,9; 6,0]	22,5	2,74	0,006
БФГ	10,9 [9,9; 11,3]	10,3 [10,0; 11,3]	101	0,13	0,89
F. prausnitzii	8,4 [7,8; 8,8]	8,3 [8,0; 9,3]	64,5	1,22	0,21
З Б/Ф	2,3 [1,3; 3,0]	2,0 [1,6; 2,0]	79	0,97	0,33
C. Складний	1 [1; 1]	1 [1; 1]	1	0	0
КЛ Спп.	1 [1; 1]	1 [1; 1]	9	1,2	0,2
CA spp.	1 [1; 1]	1 [1; 1]	1	0	0
S. aureus	1 [1; 1]	1 [1; 1]	1	1,34	0,17

* $p < 0,05$ якщо порівнювати з точкою T1.

Таблиця контрзапальних заходів 1.

Ефект від біциклолу розвинувся в рамках цього експерименту, швидше за все, тільки на тлі терапії досліджуваним препаратом, чотиритижневого терміну застосування якого, мабуть, недостатньо для формування повноцінної протизапальної відповіді, однак це питання вимагало подальшого вивчення.

З огляду на взаємозв'язок між функціональним станом кишечника, в першу чергу якісним і кількісним складом мікрофлори, і швидкістю прогресування фіброзу, стан дослідження було проаналізовано як додаткове завдання. мікробіоціноз (МК) кишечника у лабораторних щурів (табл. 3). Цей аналіз продемонстрував, що в точці T2 (важкий фіброз) спостерігалось значне зниження загальної бактеріальної маси (ВБМ) до 10,4 [10,3;11,3]lg підвищення показників *Lactobacillus* spp. до 7,6 [6;8,3]lg, *Bifidobacterium* spp. до 11,1 [9,4;11,3]lg ($p < 0,05$). Спостережувані зміни характерні для початкових дисбактеріотичних змін в кишечнику на тлі утворення АФ, що сприяють збільшенню транслокації антигенів мікроорганізмів за межі гістогематичного кишечника бар'єр, розвиток так званої метаболічної ендотоксемії, яка, в свою чергу, запускає процеси патоген-асоційованого фіброгенезу по кишково-печінковому вектору [19].

Слід зазначити, що після терапії біциклолами істотних змін показників МК у піддослідних тварин не спостерігалось. Причому вони залишилися на тому ж рівні, що і до призначення досліджуваного препарату. У зв'язку з цим, швидше за все, для аналізу активації механізмів, що характеризують зворотно спрямовану взаємодію в системі "кишечник - печінка", досліджуваного часового проміжку було недостатньо або терапії біциклол не зробив скільки-небудь істотного впливу на мікробіоценоз лабораторних щурів. У зв'язку з цим ми плануємо провести дослідження з більш тривалим спостереженням за зміною показників МЦ після ВІС-терапії, щоб визначити тривалість терапії, достатню для відновити МЦ на тлі регресії запальних і фіброзних змін в печінці, що наблизить нас до розробки комплексного комбінованого підходу до патогенетичної терапії хронічні дифузні захворювання печінки різної етіології, де основним клінічно значущим проявом є такий типовий патофізіологічний процес, як фіброгенез.

Висновок

Застосування біциклолу протягом 4 тижнів у лабораторних тварин з індукованим важким фіброзом печінки призводило до тривалого зниження вираженості фіброзних змін в тканинах печінки і супроводжувалося статистично значущим зниженням активності АЛТ в сироватці крові. У той же час підвищення активності АЛТ через 4 тижні після закінчення курсу терапії біциклолом, ймовірно, вказувало на необхідність більш тривалого призначення досліджуваного препарату на більш пізніх термінах стадії хронічного дифузного захворювання печінки.

Пілотне дослідження впливу протизапальної та антифібротичної терапії біциклолом на функціональний стан системи «кишечник - печінка» не показав ніякої достовірної залежності між лікувальним впливом досліджуваного препарату, якісним і кількісним станом мікрофлори кишечника у лабораторних тварин, які, втім, не виключає повністю можливого обернено спрямованого взаємодії по вектору «кишечник - печінка» і вимагає подальшого поглибленого вивчення.

Література

1. Глобальна стратегія сектору охорони здоров'я щодо вірусного гепатиту 2016-2021 // ВОЗ : сайт. – 2016 рік. – URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250042/WHO-HIV-2016.06-rus.pdf?sessionId=3305A8ADD24EF0B4216E4BDA82AAA4667?sequence=1> (дата звернення: 27.07.2020).
2. Препарат Біциклол при лікуванні гепатитів різної етіології. Друга російсько-китайська конференція, присвячена оригінальному препарату Біциклол
Універсальний медичний портал : сайт. – 2015 рік. URL-адреса: https://umedp.ru/articles/preparat_bitsiklol_v_lechenii_gepatitov_razlichnoy_etiologii_vtoraya_rossiyskokitayskaya_konferenci.html (доступ 27.07.2020).
3. Текст ФЗ "Про ветеринарну медицину" зі змінами і доповненнями на 2020 рік – Текст : електронний // Гарант : довідково-правова система. – URL: <https://base.garant.ru/10108225/> (дата звернення 27.07.2020).
4. Рекомендації комітетам з етики, які проводять експертизу біомедичних досліджень / ВООЗ. – Московська; Женева, 2000. – 36 с.
5. Директива 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010/63/ЄС Європейського Парламенту та Ради Європейського Союзу. 2010-і роки про охорону тварин, що використовуються в наукових цілях. – Текст : електронний // Гарант: довідково-правова система. – URL: <https://base.garant.ru/70350564/> (дата доступу: 27.07.2020).
6. Жданов К.В. Порівняльна оцінка ефективності аспіраційних і автоматичних систем для черезшкірної біопсії печінки у піддослідних щурів / К.В. Жданов [та ін.] // Вісник Російської військово-медичної академії. – 2019 рік. - Т. 66, No 2. - P.S. 96–101.
7. Саулевич, А.В. Клініко-експериментальне обґрунтування корекції дисбактеріозу кишечника у хворих на вірусний цироз печінки: Дис. ... Кандидат. мед. наук: 14.01.09 / Саулевич Андрій Валерійович; Військово-медична академія ім. С.М. Кіров. – СПб., 2019. – 109 с.
8. Скуратов, А.Г. Чотирихлористий вуглець модель гепатиту та цирозу печінки у щурів / А.Г. Скуратов // Експериментальна і клінічна гастроентерологія. – 2012 рік. – No 9. - P.S. 37–40.

9. Ісаков, В.А. Сучасні методи оцінки тяжкості фіброзу печінки / В.А. Ісаков, С.В. Морозов, Б.С. Каганов // Інфекційні хвороби. – 2009 рік. – № 4. – P.S. 44–49.
10. Карєв, В.Є. Клініко-імуно-морфологічні аспекти патогенезу хронічних інфекцій ВГБК та ВГС : автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук : спеціальність 14.01.09 / В.Є. Карєв. – СПб., 2016. – 22 с.
11. Цинцерлінг, А.В. Сучасні інфекції: патологічна анатомія і питання патогенезу: керівництво / А.В. Цинцерлінг, В.А. Зінцерлінг. - 2-е вид., дод. і іспр. – СПб.: Сотіс, 2002. – 346 с. – ISBN 5-85503-805-7.
12. Цинцерлінг, В.А. Клініко-морфологічні порівняння при окультних гепатитах В / В.А. Зінцерлінг [та ін.] Архів патології. – 2017 рік. - Т. 79, No 6. - P.S. 8–13.
13. Бедосса, П. Алгоритм градації активності при хронічному гепатиті С / Р. Бедосса, Т. Пойнард // Гепатологія. – 1996 р. . – Том. 24. – П. 289–293 pp.
14. Десмет, В.Я. Класифікація хронічних гепатитів: діагностика, градація і постановка / В.Ж. Десмет, М. Гербер, Дж.Х. Копито, М. Маннс та ін. // Гепатологія. – 1994 р. – Том. 19, Ні. 6. – П. 1513–1520 pp.
15. Джоселін, Х. Гістопатологічні методики / Н. Джоселін, доктор медицини Брюс-Грегоріос. - Філіппіни: Книгарня Доброї Волі, 1974 . – 600 с. – ISBN 978-1521524701.
16. Кнодел, Р.Г. Розробка та застосування чисельної бальної системи оцінки гістологічної активності при безсимптомному хронічному активному гепатиті / Р.Г. Кнодел, К.Г. Ішак, В.Ч. Чорний, Т.С. Чен та ін. // Гепатологія. – 1981 р. – Том. 1, Ні. 5. – П. 431–435 pp.
17. Методи лабораторної діагностики вірусних хвороб тварин : довідник / В.Н. Сюрін [та ін.]. – М.:Агропромиздат, 1986. – 351 с.
18. Тарасова, Є.А. Експрес-діагностика гострих кишкових інфекцій методом ПЛР / Е.А. Тарасова, М.А. Суворова // Гастроентерологія. – 2011 рік. – Ні. 4. – З. М33–М33а.
19. Карякін, С.С. Оцінка функціонального стану кишечника у хворих на хронічний гепатит С з надмірною вагою : Дис. ... Кандидат. мед. наук: 14.01.09 / Карякін Сергій Сергійович; Військово-медична академія ім. С.М. Кіров. – Санкт-Петербург, 2019. – 131 с.

Посилання

1. Global'naja strategija sektora zdravoohraneniya po virusnomu gepatitu 2016-2021 [Internet]. Всесвітня організація охорони здоров'я; 2016 р. [цит. за 2020 р. 27 липня]. Доступно за адресою: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250042/WHO-HIV-2016.06rus.pdf;jsessionid=3305A8ADD24EF0B4216E4BDA82AA4667?sequence=1/>.
2. Preparat Biciklol v lechenii gepatitov razlichnoj jetiologii. Vtoraja rossijsko-kitajskaja konferencija, posvjashhennaja original'nomu lekarstvennomu preparatu Biciklol [Internet]. Універсальний медичний портал; 2015 р. [цит. за 2020 р. 27 липня]. Доступно з: https://umedp.ru/articles/preparat_bitsiklol_v_lechenii_gepatitov_razlichnoj_etiologii_vtoraya_rossijskokitajskaja_konferentsi.html/.
3. Федеральний закон «О ветеринарии» tekst s izmenenijami i dopolnenijami na 2020 g. [Интернет]. Гарант; правочно-правова система ; 2020 р. [цит. за 2020 р. 27 липня]. Доступно з: <https://base.garant.ru/10108225/>.
4. Rekomendacii Komitetam po Jetike, provodjashhim jekspertizu biomedicinskih issledovanij / Всесвітня організація охорони здоров'я. – Московська; Женева, 2000. – 36 с.

5. Direktiva Evropejskogo parlamenta i Soveta Evropejskogo Sojuza 2010/63/ES ot 22 sent. 2010г. o zashhite zhivotnyh, ispol'zujushhihsja dlja nauchnyh celej [Internet]. Гарант; справедливо- правова система; 2020 р. [цит. за 2020 р. 27 липня]. Доступно з: <https://base.garant.ru/70350564/>.

6. Жданов К.В. Sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti primenenija aspiracionnoj i avtomaticheskoy sistem dlja perkutannoj biopsii pecheni u jeksperimental'nyh kryс / К.В. Жданов К.В. Козлов

А.В. Саулевич, В.С. Сукачов і д-р. // Вісник Росийской Военно- медицинской академії. – 2019 рік. – Т. 66, No 2. – С. 96-101.

Колектив авторів:

7. Саулевич, А.В. Клинико-јекспериментальное обоснование коррекции дисбиоза кишечника u бол'ных вирусными циррозами печени [дисертація]. [Санкт-Петербург]: ВМедА; 2019. – 109 с.

8. Скуратов, А.Г. Тетрахлорметановая модель гепатита і цирроза печени у крыс / А.Г. Skuratov // Јекспериментальна і клиническаја гастројентерологіја. – 2012 рік. – No9. – П. 37–40.

9. Ісаков, В.А. Современные методы оценки выраженности фиброз печени / В.А. Ісаков, С.В. Морозов, Б.С. Каганов // Інфекційні хвороби. – 2009 рік. - No4. – П. 44-49.

10. Карев, В.Є. Клинические і immuno-morfologicheskie aspekty patogeneza hronicheskoy HBV– і HCV–інфекції [магістерська дисертація]. [Санкт-Петербург]: ВМедА; 2016. – 22 с.

11. Цинцерлінг, А.В. Современные инфекции: патологоанатомія и вопросы патогенез: руководство / А.В. Цинцерлінг, В.А. Цинцерлінг. – 2-е изд., стопор. і іспр. – Санкт-Петербург : Сотіс, 2002. – 346 с. – ISBN 5-85503-805-7.

12. Цинцерлінг, В.А. Клініко-морфологічні ко-статури в оккультном гепатиті В / В.А. Цинцерлінг і д-р. //Архів патологоанатоміїв. – 2017 рік. – Т. 79, No 6. – П. 8–13.

13. Бедосса, П. Алгоритм градації активності при хронічному гепатиті С / Р. Бедосса, Т. Пойнард // Гепатологія. – 1996 р. . – Том. 24. – П. 289–293 pp.

14. Десмет, В.Я. Класифікація хронічних гепатитів: діагностика, градація і постановка / В.Ж. Десмет, М. Гербер, Дж.Х. Копито, М. Маннс та ін. // Гепатологія. – 1994 р. – Том. 19, Ні. 6. – П. 1513–1520 pp.

15. Джоселін, Х. Гістопатологічні методики / Н. Джоселін, доктор медицини Брюс-Грегоріос. - Філіппіни: Книгарня Доброї Волі, 1974 . – 600 с. – ISBN 978-1521524701.

16. Кнодел, Р.Г. Розробка та застосування чисельної бальної системи оцінки гістологічної активності при безсимптомному хронічному активному гепатиті / Р.Г. Кнодел, К.Г. Ішак, В.Ч. Чорний, Т.С. Чен та ін. // Гепатологія. – 1981 р. – Том. 1, Ні. 5. – П. 431–435 pp.