

УДК 576.38:577.215.3:616.36-004

DOI: 10.37482/2687-1491-Z142

## **УРОВЕНЬ мРНК ГЕНА *Nos2* КАК МАРКЕР ФИБРОГЕНЕЗА ПЕЧЕНИ КРЫС, ИНДУЦИРОВАННОГО ТИОАЦЕТАМИДОМ**

Е.И. Лебедева\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1309-4248>

А.С. Бабенко\*\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5513-970X>

А.Т. Щастный\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2796-4240>

\*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет  
(Республика Беларусь, г. Витебск)

\*\*Белорусский государственный медицинский университет  
(Республика Беларусь, Минск)

**Цель работы** – оценка потенциала использования уровня мРНК гена *Nos2* в качестве маркера фиброгенеза у крыс на различных стадиях фиброза и цирроза печени, вызванных тиацетамидом. **Материалы и методы.** В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar массой 190–210 г. Фиброз и цирроз печени индуцировали раствором тиацетамида (путем введения в желудок с помощью зонда в дозе 200 мг на 1 кг массы тела животного 2 раза в неделю). Динамику процесса изучали в 9 временных точках в течение 17 недель. Уровень мРНК гена *Nos2* в печени выявляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Степень фиброза определяли в гистологических срезах, окрашенных по методу Маллори, согласно полуколичественной шкале K.G. Ishak. **Результаты.** В печени животных на протяжении всего эксперимента мРНК гена *Nos2* практически не реагировала на фиброгенез, индуцированный тиацетамидом. На начальной стадии фиброза (F1) отмечалось незначительное увеличение уровня мРНК гена *Nos2* – в пределах 5 %. Интенсивное развитие фиброза (F2–F4/F5) и увеличение выработки компонентов внеклеточного матрикса сопровождалось ростом уровня мРНК гена *Nos2* с пиковым значением, в 1,69 раза ( $p < 0,05$ ) превышающим стартовое (значение контрольной группы). В точке перехода фиброза в цирроз (F5) наблюдалось снижение уровня мРНК гена-мишени, а на стадии достоверного цирроза (F6) – последующее падение данного показателя ниже стартового. Таким образом, согласно полученным данным, наибольшим потенциалом в качестве маркера фиброгенеза печени мРНК гена *Nos2* обладает на стадии развитого фиброза, однако не может выступать как маркер на ранних его стадиях. Также невозможно использовать уровень мРНК гена *Nos2* в качестве маркерного параметра при оценке степени цирроза и динамики его развития.

**Ключевые слова:** печень крысы, тиацетамид, маркеры фиброгенеза печени, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, экспрессия мРНК *Nos2*.

Монооксид азота (NO) представляет собой сигнальную молекулу, выполняющую определенные функции в периоды роста, дифференцировки и апоптоза клеток. Признана его роль в патогенезе многих заболеваний [1, 2]. NO синтезируется тремя изоформами NO-синтаз (NOS).

**Ответственный за переписку:** Лебедева Елена Ивановна, адрес: 210009, Республика Беларусь, г. Витебск, просп. Фрунзе, д. 27; e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

**Для цитирования:** Лебедева Е.И., Бабенко А.С., Щастный А.Т. Уровень мРНК гена *Nos2* как маркер фиброгенеза печени крыс, индуцированного тиацетамидом // Журн. мед.-биол. исследований. 2023. Т. 11, № 2. С. 162–173. DOI: 10.37482/2687-1491-Z142

Две изоформы NOS (нейрональная nNOS/NOS1 и эндотелиальная eNOS/NOS3) являются конститутивными, а третья – индуцибельной (iNOS/NOS2). При физиологической норме экспрессия белка NOS2 в большинстве клеток отсутствует, индуцируется она бактериальными липополисахаридами и воспалительными цитокинами [2, 3].

В здоровой печени небольшое количество NO, синтезируемое NOS3, необходимо для поддержания гомеостаза и защиты от патологических состояний. NO, продуцируемый NOS2, вовлечен в патогенез многих заболеваний данного органа, включая фиброз, и образуется преимущественно в гепатоцитах и звездчатых макрофагах (клетки Купфера) [4, 5]. Несколькими годами ранее сообщалось о синтезе NOS2 и другими клетками печени: эндотелиоцитами синусоидных капилляров, перисинусоидными клетками, холангиоцитами [6].

У пациентов с вирусным гепатитом выявлена положительная корреляционная связь между экспрессией белка NOS2 в печени и фиброзом [7]. В печени экспериментальных животных, содержащихся на диете с большим количеством жира, отмечено повышение экспрессии мРНК *Nos2* [8, 9]. В ряде работ показано, что повреждение печени мышей и крыс четыреххлористым углеродом (CCl<sub>4</sub>) приводит к росту уровня мРНК *Nos2* [10–12]. Селективный ингибитор (FR260330) вызывал процесс регресса фиброза печени у крыс после перорального введения [13].

Индукция экспрессии мРНК *Nos2*, активация фермента и последующая продукция NO представляют собой многостадийный процесс, подвергающийся сложной регуляции на всех уровнях [2, 14]. Мигрирующие в печень гемопоэтические стволовые клетки костного мозга при фиброзе секретируют провоспалительные цитокины [15]. Предположительно, эти цитокины способны индуцировать синтез *Nos2* в клетках, но нельзя исключать и другие, в настоящее время не известные стимулы.

Вышеуказанные данные свидетельствуют, что *Nos2* выполняет определенную роль в фиброгенезе печени. К сожалению, молекулярно-клеточный механизм, с помощью которого *Nos2* способствует прогрессированию фиброза, до

конца не понятен. Сопоставляя данные исследователей, невозможно сделать конкретные выводы – в частности, какие клетки секретируют *Nos2* и что их побуждает к выполнению данной функции.

В данной работе мы поставили перед собой цель оценить потенциал использования уровня мРНК *Nos2* в качестве маркера фиброгенеза у крыс на различных стадиях фиброза и цирроза печени, вызванных тиоацетамидом. В изученной литературе подобные публикации отсутствуют.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar массой 190–210 г. Протокол исследования был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019). Фиброз и цирроз печени у животных индуцировали свежеприготовленным раствором тиоацетамида (ТАА), который вводили в желудок с помощью зонда в дозе 200 мг на 1 кг массы тела животного 2 раза в неделю в течение 17 недель. С использованием генератора случайных чисел животных разделили на 9 групп (по 12 особей в каждой) – контрольную и 8 опытных в зависимости от длительности воздействия ТАА: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17 недель. Крысы контрольной группы получали воду без ТАА в аналогичном объеме. Во время эксперимента погибло 9 животных.

**Забор биологического материала и пробоподготовка.** Животных выводили из эксперимента согласно разделению по группам. Сразу после декапитации из большой левой доли печени крыс скальпелем забирали фрагменты органа диаметром не более 5 мм. Работу проводили при температуре +20 °С с жестким соблюдением временных интервалов – манипуляции с одним животным занимали 100–140 с.

После забора образцы помещали в криопробирки и далее в жидкий азот для транспортировки и хранения непосредственно до начала процедуры выделения суммарной РНК. Гомогенизацию отобранного материала осуществляли

с использованием фарфоровых ступок и пестиков в присутствии жидкого азота, не допуская размораживания ткани.

**Выделение суммарной РНК и обратная транскрипция.** Выделение суммарной РНК осуществляли из всех образцов каждой группы животных одновременно, с соблюдением временных рамок от группы к группе. Анализ каждой фракции клеток обладает большим потенциалом, однако в настоящем исследовании его не выполняли. Работали с навесками органа порядка 20–50 мг. Непосредственно после приготовления препараты замораживали в жидком азоте. (Многие авторы по ряду порой не зависящих от них причин опускают эту информацию или предоставляют ее в ограниченном формате, что не позволяет сделать выводы о качестве забора и первичной подготовки биоматериала.)

Суммарную РНК из исследуемых образцов печени выделяли с помощью набора реагентов «АртРНК MiniSpin» («АртБиоТех», Беларусь) согласно протоколу производителя. После этой процедуры и очистки суммарную РНК элюировали с мини-колонок с помощью свободной от РНКаз воды высокой степени очистки (сопротивление – 18,2 МОм/см), входящей в состав набора. Контроль качественных характеристик образцов выполняли путем электрофореза в агарозном геле (выборочно) без денатурирующих условий (однократный трис-ацетатный буфер, 2 %-й агарозный гель). Количество суммарной РНК после выделения определяли с помощью спектрофотометрии (длина волны – 260 нм, спектрофотометр Specord 250 (Analytic Jena, Германия)). Выборочно снимали спектр поглощения 220–340 нм.

Синтез кДНК проводили с использованием олиго-dT-праймеров и набора реагентов ArtMMLV Total («АртБиоТех») в соответствии с инструкцией производителя. Для одной реакции применяли одинаковое стартовое количество суммарной РНК – 200 нг.

**Метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).** При ПЦР-РВ использовали реагенты производства «Праймтех» (Беларусь). Конечный объем реак-

ционной смеси составил 25 мкл, она содержала все необходимые компоненты: 2 мМ хлорида магния, 0,1 мМ смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов, 500 нМ олигонуклеотидов, включая зонд для ПЦР-РВ, 1,25 ед. термостабильной Taq-ДНК-полимеразы с соответствующим буферным раствором. Режим термоциклирования: +95 °С – 2 мин, затем 40 циклов: +95 °С – 5 с, +60 °С – 45 с. Детекция сигнала осуществлялась по каналу FAM после каждого цикла. В работе использовали прибор CFX96 Touch (BioRad, США). Эффективность реакций определяли с помощью метода стандартной кривой и серий разведений концентрированных образцов кДНК с шагом 5 раз. Критерием удовлетворительной эффективности считали не менее 95 %. Все реакции проводили в триплетах. В каждой экспериментальной и контрольной группе все 12 образцов анализировали отдельно для получения наибольшей достоверности и учета внутригрупповой вариации, фенотипической гетерогенности уровня экспрессии генов. Для оценки относительного уровня мРНК *Nos2* применяли метод  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

**Выбор олигонуклеотидов.** Использовали олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно-меченые зонды, универсальные для всех альтернативных сплайс-вариантов мРНК гена-мишени, доступных в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>). Выбор олигонуклеотидных праймеров и зондов проводили в бесплатном онлайн-приложении Primer3 v. 0.4.0 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). Уникальность и специфичность полученных олигонуклеотидов проверяли с помощью онлайн-сервиса Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Перечень выбранных молекулярных мишеней и кандидатов в референсные гены представлен в *табл. 1*.

В случае наличия нескольких вариантов мРНК, перед началом дизайна проводили их выравнивание с помощью бесплатного программного пакета Ugene v. 33 (UniPro, Россия). Для дизайна использовали консервативные участки последовательности мРНК (позволяющие анализировать все известные альтернативные сплайс-формы мРНК сум-

марно) с соблюдением правила о размещении одного или более олигонуклеотидов в месте соединения двух разных экзонов. Последовательности выбранных олигонуклеотидных праймеров и зондов представлены в табл. 2.

Таблица 1

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНА-МИШЕНИ И КАНДИДАТОВ В РЕФЕРЕНСНЫЕ ГЕНЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ИССЛЕДОВАНИИ**

**CHARACTERISTICS OF THE TARGET AND CANDIDATE REFERENCE GENES USED IN THE STUDY**

Ген	Статус	Идентификатор в базе NCBI	Референсная последовательность мРНК	Кодируемый белок
<i>Nos2</i>	Мишень	24599	NM_012611.3	Индукцибельная синтаза оксида азота (nitric oxide synthase 2)
<i>Hprt1</i>	Кандидат в референсные гены	24465	NM_012583.2	Гипоксантинфосфорибозилтрансфераза (hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1)
<i>Sdha</i>	Кандидат в референсные гены	157074	NM_130428.1	Субъединица А флавопротеина, входящего в комплекс сукцинатдегидрогеназы (succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A)
<i>Hes1</i> *	Кандидат в референсные гены	29577	NM_024360.4	Фактор транскрипции 1 семейства bHLH (basic helix-loop-helix) (hes family bHLH transcription factor 1)

Примечание: \* – ген *Hes1* использован в качестве кандидата в референсные гены, поскольку в предварительных экспериментах показал высокий уровень стабильности экспрессии; первоначально рассматривался как ген-мишень.

Таблица 2

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ И ФЛУОРЕСЦЕНТНО-МЕЧЕННЫХ ЗОНДОВ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ИССЛЕДОВАНИИ**

**SEQUENCES OF SPECIFIC OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS AND FLUORESCENT-LABELLED PROBES USED IN THE STUDY**

Название гена	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'	Модификация 5'/3'
<i>Nos2</i> прямой	TCACCCAGTTGTGCATCG	–
<i>Nos2</i> обратный	AGGACCAGAGGCAGCACAT	–
<i>Nos2</i> зонд	GGCTGGAAGCCCCGCTAT	FAM/BHQ1
<i>Hprt1</i> прямой	GGACAGGACTGAAAGACTTGCT	–
<i>Hprt1</i> обратный	ACAGAGGGCCACAATGTGAT	–
<i>Hprt1</i> зонд	CATGAAGGAGATGGGAGGCC	FAM/BHQ1
<i>Sdha</i> прямой	CCCACAGGTATCTATGGTGCT	–
<i>Sdha</i> обратный	TTGGCTGTTGATGAGAATGC	–
<i>Sdha</i> зонд	CATCACAGAAGGGTGCCGTG	FAM/BHQ1
<i>Hes1</i> прямой	GAAAGATAGCTCCCGGCAT	–
<i>Hes1</i> обратный	CGGAGGTGCTTCACTGTCAT	–
<i>Hes1</i> зонд	CCAAGCTGGAGAAGGCAGACA	FAM/BHQ1

**Морфологическое исследование.** Образцы печени диаметром 5 мм помещали в 10 %-й раствор нейтрального формалина на фосфатном буфере и фиксировали в течение 24 ч. Затем осуществляли обработку фиксированного материала с последующей заливкой в парафин с использованием автомата для гистологической обработки ткани STP-120 и станции для заливки ткани парафином EC-350 (Thermo Fisher Scientific, Германия). С помощью ротационного микротомы HM 340E (MICROM Laborgerate GmbH, Германия) изготавливали в среднем по 3-4 среза толщиной 4 мкм и помещали их на предметные стекла. Для получения обзорных гистологических препаратов срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином, а для выявления соединительной ткани – по методу Маллори в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических исследований HMS 70 (Thermo Fisher Scientific).

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили с использованием компьютерных программ ImageScope Color и cellSensStandard на базе микроскопа OLYMPUS BX51 (Япония). Степень фиброза (F) определяли согласно полуколичественной шкале K.G. Ishak [16].

**Статистический анализ.** Результаты количественных измерений оценивали в программах Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США), IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM Company, США), Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США).

В выборках для каждой недели эксперимента определяли нормальность частотного распределения признака по критерию Лиллиефорса. Получали описательные статистики и представляли количественные экспериментальные данные в виде средних и их соответствующих доверительных интервалов ( $M$  (95% ДИ: j-q)), медианы и значения 15-го и 85-го процентилей ( $Me$  (15%; 85%)). Об уровне статистической значимости различий изучаемых признаков в группах с нормальным частотным распределением данных судили по  $t$ -критерию Стьюдента; в случае отличия выборок от нормального частотного распределения использовали  $U$ -критерий Манна-Уитни.

## Результаты

### **Морфологический анализ печени крыс.**

В печени контрольных животных степень фиброза по шкале K.G. Ishak соответствовала F0. Небольшое количество соединительной ткани выявлялось вокруг сосудов триад, центральных и собирательных вен.

Через 3 недели введения ТАА в гистологических препаратах отмечалось разрастание соединительной ткани вокруг портальных зон с формированием неполных септ (портальный фиброз, степень F1). Мостовидный фиброз не верифицировался.

На фоне дальнейшей интоксикации (5 и 7 недель эксперимента) в печени крыс установлен портальный, мостовидный, местами центрлобулярный и диффузный перипортальный фиброз. Его степень по шкале K.G. Ishak соответствовала F2/F3 и F3/F4.

По истечении 9 недель (степень фиброза F4/F5) выявлены обширные разрастания соединительной ткани вокруг портальных зон. В отдельных местах около портальных зон отмечались единичные сформированные ложные печеночные дольки. Данный этап эксперимента рассматривали как начало процесса трансформации фиброза печени крыс в цирроз.

На следующем этапе эксперимента (11 недель) в гистологических препаратах установлена диффузная перестройка паренхимы органа с формированием ложных печеночных долек. Степень фиброза соответствовала F5 (неполный цирроз).

При продолжающейся загрузке животных (13 недель) морфологически отмечено тотальное поражение органа (F6 – достоверный цирроз).

К концу эксперимента (15 и 17 недель) наблюдались: тотальное образование ложных печеночных долек разных диаметра и формы с интенсивными очаговыми лимфоидно-гистиоцитарными инфильтратами; местами выраженное разрастание соединительной ткани вокруг долек.

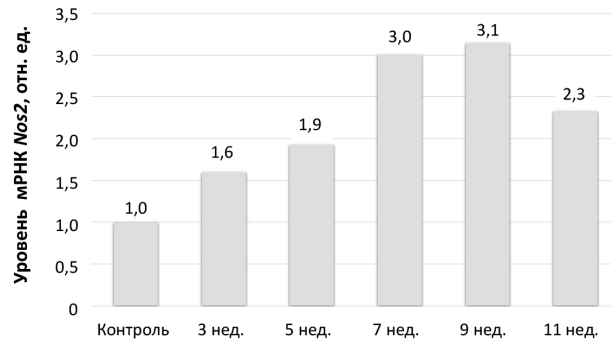
Особо следует отметить, что во всех гистологических препаратах жировая дистрофия не была выявлена.



**Динамика уровня мРНК гена *Nos2*.** В литературных источниках [10–12] при моделировании фиброза печени крыс исследователи часто отмечают рост уровня мРНК *Nos2*. Согласно полученным нами данным (без нормализации результатов ПЦР-РВ с применением референсных генов), в ходе инициации и развития фиброза наблюдался рост уровня мРНК *Nos2* с пиковыми значениями, в 3 ( $p < 0,05$ ) и более раза превышающими контрольное (рис. 1).

При использовании стандартной нормализации и часто применяемых в такого рода исследованиях референсных генов (*Hprt* и *Sdha*) мы получили схожие значения уровня мРНК *Nos2* в ходе фиброгенеза (рис. 2).

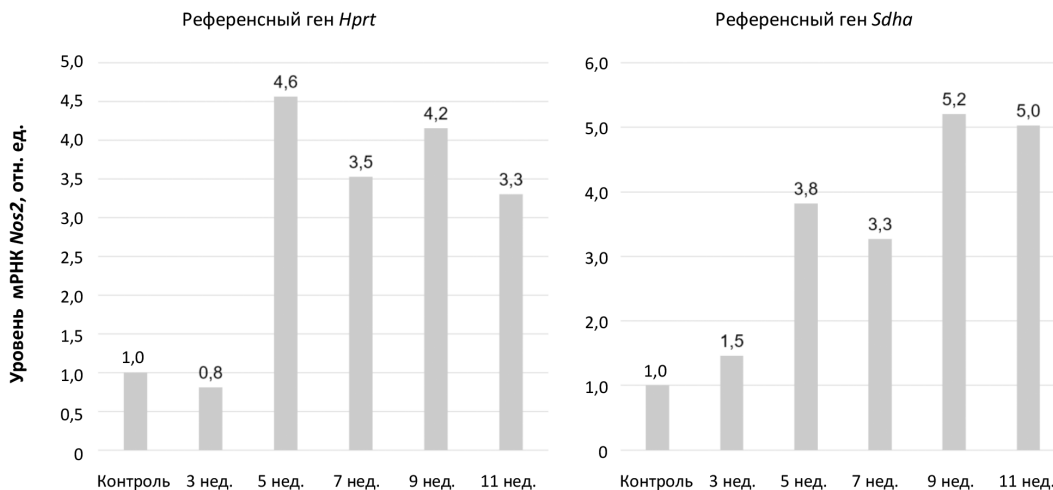
По сравнению с данными, представленными на рис. 1, на рис. 2 прослеживается немного больший рост уровня мРНК *Nos2*, однако он носит нелинейный характер (с несколькими пиками). Поскольку при нормализации данных ПЦР-РВ одним из требований к качеству референсного(ых) генов является минимальный отклик на условия эксперимента, то использование «стандартных» референсных генов мы посчитали некорректным. На протяжении эксперимента (17 недель) уровень гена-мишени *Nos2*



**Рис. 1.** Динамика уровня мРНК гена *Nos2* (в сравнении с контрольной точкой) при моделировании фиброза печени крыс тиаоацетамидом с нормализацией данных относительно вносимого стартового количества мРНК перед этапом обратной транскрипции и ПЦР-РВ (200 нг на реакцию)

**Fig. 1.** *Nos2* mRNA level dynamics (compared to the reference point) in thioacetamide-induced rat liver fibrosis, with data normalized by the initial amount of mRNA before reverse transcription and real-time PCR (200 ng/reaction)

колебался в пределах 1,66 цикла ( $Cq$ ,  $p < 0,05$ ). В то же время колебания *Hprt* составили 2,99 цикла ( $p < 0,05$ ), что говорит о большем вовлечении референсного гена, чем гена-ми-



**Рис. 2.** Динамика уровня мРНК *Nos2* (в сравнении с контрольной точкой) при моделировании фиброза печени крыс тиаоацетамидом с нормализацией данных относительно референсных генов *Hprt* и *Sdha*

**Fig. 2.** *Nos2* mRNA level dynamics (compared to the reference point) in thioacetamide-induced rat liver fibrosis, with data normalized by the reference genes *Hprt* and *Sdha*

шени *Nos2*, в ответ на экспериментальные условия. Аналогичная ситуация наблюдалась и в случае *Sdha* – колебания в пределах 1,88 цикла ( $p < 0,05$ ). При этом в зависимости от стадии фиброза уровень мРНК кандидатов в референсные гены изменялся скачкообразно.

По итогам предварительного исследования из всех генов-кандидатов был выбран *Hes1*, показавший наименьший отклик на экспериментальные условия (1,01 цикла), что соответствовало требованиям, предъявляемым к качеству референсных генов согласно правилам MIQE [17].

В печени крыс на протяжении всего эксперимента уровень мРНК *Nos2* практически не реагировал на фиброгенез печени, индуцированный ТАА (рис. 3). На начальных стадиях фиброза отмечались незначительные изменения уровня мРНК *Nos2* – в пределах 5 %, что мы считаем погрешностью. Интенсивное развитие фиброза и увеличение выработки компонентов внеклеточного матрикса на 5–9-й неделях эксперимента сопровождалось ростом уровня мРНК *Nos2* с пиковым значением, в 1,69 раза превышающим контрольное ( $p < 0,05$ ; разница между контролем и 9-й неделей эксперимента составила 69 %). В точке перехода фиброза в

цирроз (11 недель эксперимента) наблюдалось снижение уровня мРНК гена-мишени с последующим падением ниже стартового (в контрольной группе животных) к 13-й неделе эксперимента (стадия цирроза).

**Обсуждение.** Уровень мРНК *Nos2* и белка NOS2 авторы предшествующих работ изучали преимущественно на моделях фиброза, индуцированного четыреххлористым углеродом и диетой с высоким содержанием жира [8–12]. Найдены немногочисленные исследования, в которых применяли ТАА [18–21]. При моделировании данной патологии ученые использовали генетически гетерогенные группы (уровень SNP) крыс и мышей, разные диапазоны доз и концентраций, способы введения. Выраженность патоморфологических изменений печени в работах варьировала. Использование различных вариантов эксперимента приводило к формированию портального фиброза, мостовидного фиброза с неполными и полными соединительнотканными септами и редко сопровождалось цирротическими изменениями [8–12, 19]. В изученной литературе не найдено работ, в которых экспрессия мРНК *Nos2* исследовалась в динамике фиброза.

Печень является уникальным органом, в котором параллельно протекают патологические

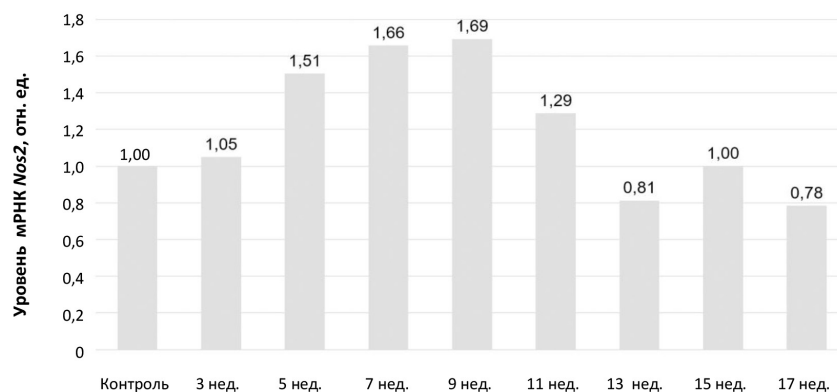


Рис. 3. Динамика уровня мРНК *Nos2* (в сравнении с контрольной точкой) при моделировании фиброза печени крыс тиоацетамидом с нормализацией данных относительно референсного гена *Hes1*

Fig. 3. *Nos2* mRNA level dynamics (compared to the reference point) in thioacetamide-induced rat liver fibrosis, with data normalized by the *Hes1* reference gene

изменения и процессы регенерации, срабатывают компенсаторно-приспособительные механизмы, происходит смена фенотипа клеток, молекулярного каскада сигнальных путей, микроРНК и прочих некодирующих РНК [22]. Мы изучали мРНК *Nos2* во временных точках, связанных к стадиям фиброза. Очень вероятно, что при остром повреждении печени уровень экспрессии мРНК *Nos2* может быть другой.

Особо следует отметить, что применение ТАА в отработанной нами опытным путем модели эксперимента не приводило к жировой дистрофии органа. Не упоминается о данной патологии у лабораторных животных и в других исследованиях, в которых использовали ТАА [18–21]. Вместе с тем известно, что  $CCl_4$  вызывает жировую дистрофию печени у лабораторных животных [20–23]. Метаболизм агентов, повреждающих данный орган, разный. ТАА является элективным гепатотоксином, известным с 1948 года. В печени ТАА окисляется до ацетамида, который, в свою очередь, превращается в тиоацетамид-S-оксид. Последний связывается с макромолекулами, отвечающими за изменение проницаемости клеточной мембраны и поглощение ионов кальция. Это увеличивает объем ядер и ядрышек, снижает активность митохондрий и вызывает некроз. Данные процессы сопровождаются изменением конформации белков, липидов и усилением свободнорадикальных процессов. Механизм, с помощью которых ТАА вызывает повреждение печени, весьма сложен и далек от полного понимания [19–21]. Окислительную биотрансформацию  $CCl_4$  осуществляют ферменты CYP2E1, CYP2B1, CYP2B2 и, возможно, CYP3A с образованием трихлорметильного радикала  $CCl_3^*$ . Этот радикал способен связываться с клеточными молекулами (нуклеиновые кислоты, белки, липиды), нарушая важнейшие клеточные процессы (например, метаболизм липидов с исходом в жировую дистрофию органа) [23]. Предположительно, в нашем исследовании метаболиты ТАА запускают другие, не изученные в настоящее время молекулярные механизмы повреждения, а экспрессия мРНК *Nos2* остается на прежнем уровне.

По данным современной научной литературы, при патологиях печени ген *Nos2* индуцируется преимущественно звездчатыми макрофагами и гепатоцитами [4, 5]. Звездчатые макрофаги обладают пластичностью (способностью к поляризации и перепрограммированию) и в ответ на смену сигналов микроокружения изменяют свой фенотип [24]. Это приводит к смене функций звездчатых макрофагов. Вероятно, в рамках проведенного нами эксперимента мРНК *Nos2* усиленно индуцировался в гепатоцитах. Уменьшение количества гепатоцитов при фиброгенезе сохраняло экспрессию мРНК гена практически на одном уровне во всех исследуемых временных точках.

Авторы работ [24, 25] изучали уровень мРНК *Nos2* в культуре клеток. Для каких-то определенных целей это оправданно, но проводить глубокие фундаментальные исследования и выявлять фармакологический эффект лекарственных средств необходимо в естественных условиях при сохранности системного кровотока, микроциркуляторного русла, иннервации, гематопаренхиматозных барьеров, воспроизведение которых в настоящее время методом *in vitro* невозможно.

Во всех встреченных нами работах [8–12], где оценивался уровень мРНК *Nos2*, мало внимания уделено нормализации данных ПЦР-РВ. Мы считаем, что это является одной из основных причин накопления противоречивых данных и сильной вариации значений индукции *Nos2* при фиброгенезе. Однако можно отметить тенденцию к росту уровня мРНК *Nos2* при воздействии большинства токсических агентов. Это свидетельствует о том, что мРНК этого гена тем или иным путем вовлекается в процессы фиброгенеза.

Таким образом, согласно нашим данным, наибольшим потенциалом в качестве маркера повреждения печени мРНК *Nos2* обладает на стадии развитого фиброза, однако не может выступать как маркер на ранних его стадиях. Также невозможно использовать уровень мРНК *Nos2* в качестве маркерного параметра при оценке степени цирроза и динамики его развития.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



## Список литературы

1. *Kashfi K.* Nitric Oxide in Cancer and Beyond // *Biochem. Pharmacol.* 2020. Vol. 176. Art. № 114006. DOI: [10.1016/j.bcp.2020.114006](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114006)
2. *Ahmad N., Ansari M.Y., Haqqi T.M.* Role of iNOS in Osteoarthritis: Pathological and Therapeutic Aspects // *J. Cell. Physiol.* 2020. Vol. 235, № 10. P. 6366–6376. DOI: [10.1002/jcp.29607](https://doi.org/10.1002/jcp.29607)
3. *Kashfi K., Kannikal J., Nath N.* Macrophage Reprogramming and Cancer Therapeutics: Role of iNOS-Derived NO // *Cells.* 2021. Vol. 10, № 11. Art. № 3194. DOI: [10.3390/cells10113194](https://doi.org/10.3390/cells10113194)
4. *Iwakiri Y.* Nitric Oxide in Liver Fibrosis: The Role of Inducible Nitric Oxide Synthase // *Clin. Mol. Hepatol.* 2015. Vol. 21, № 4. P. 319–325. DOI: [10.3350/cmh.2015.21.4.319](https://doi.org/10.3350/cmh.2015.21.4.319)
5. *Becerril S., Rodríguez A., Catalán V., Ramírez B., Unamuno X., Gómez-Ambrosi J., Frühbeck G.* iNOS Gene Ablation Prevents Liver Fibrosis in Leptin-Deficient *ob/ob* Mice // *Genes (Basel).* 2019. Vol. 10, № 3. Art. № 184. DOI: [10.3390/genes10030184](https://doi.org/10.3390/genes10030184)
6. *Iwakiri Y., Kim M.Y.* Nitric Oxide in Liver Diseases // *Trends Pharmacol. Sci.* 2015. Vol. 36, № 8. P. 524–536. DOI: [10.1016/j.tips.2015.05.001](https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.05.001)
7. *Atik E., Onlen Y., Savas L., Doran F.* Inducible Nitric Oxide Synthase and Histopathological Correlation in Chronic Viral Hepatitis // *Int. J. Infect. Dis.* 2008. Vol. 12, № 1. P. 12–15. DOI: [10.1016/j.ijid.2007.03.010](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2007.03.010)
8. *Wang W., Zhao C., Zhou J., Zhen Z., Wang Y., Shen C.* Simvastatin Ameliorates Liver Fibrosis via Mediating Nitric Oxide Synthase in Rats with Non-Alcoholic Steatohepatitis-Related Liver Fibrosis // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, № 10. Art. № e76538. DOI: [10.1371/journal.pone.0076538](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076538)
9. *Anavi S., Eisenberg-Bord M., Hahn-Obercyger M., Genin O., Pines M., Tirosh O.* The Role of iNOS in Cholesterol-Induced Liver Fibrosis // *Lab. Invest.* 2015. Vol. 95, № 8. P. 914–924. DOI: [10.1038/labinvest.2015.67](https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.67)
10. *Li D., Song Y., Wang Y., Guo Y., Zhang Z., Yang G., Wang G., Xu C.* *Nos2* Deficiency Enhances Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Aged Mice // *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2020. Vol. 23, № 5. P. 600–605. DOI: [10.22038/ijbms.2020.39528.9380](https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.39528.9380)
11. *Sadek K.M., Saleh E.A., Nasr S.M.* Molecular Hepatoprotective Effects of Lipoic Acid Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis in Rats: Hepatoprotection at Molecular Level // *Hum. Exp. Toxicol.* 2018. Vol. 37, № 2. P. 142–154. DOI: [10.1177/0960327117693066](https://doi.org/10.1177/0960327117693066)
12. *Spitzer J.A., Zheng M., Kolls J.K., Vande Stouwe C.V., Spitzer J.J.* Ethanol and LPS Modulate NF-kappaB Activation, Inducible NO Synthase and COX-2 Gene Expression in Rat Liver Cells *in vivo* // *Front. Biosci. (Landmark Ed.).* 2002. Vol. 7, № 1. P. 99–108. DOI: [10.2741/spitzer](https://doi.org/10.2741/spitzer)
13. *Kikuchi H., Katsuramaki T., Kukita K., Taketani S., Meguro M., Nagayama M., Isobe M., Mizuguchi T., Hirata K.* New Strategy for the Antifibrotic Therapy with Oral Administration of FR260330 (a Selective Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitor) in Rat Experimental Liver Cirrhosis // *Wound Repair Regen.* 2007. Vol. 15, № 6. P. 881–888. DOI: [10.1111/j.1524-475X.2007.00308.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00308.x)
14. *Zhang J., Li Y., Liu Q., Li R., Pu S., Yang L., Feng Y., Ma L.* SKLB023 as an iNOS Inhibitor Alleviated Liver Fibrosis by Inhibiting the TGF-beta/Smad Signaling Pathway // *RSC Adv.* 2018. Vol. 8, № 54. P. 30919–30924. DOI: [10.1039/c8ra04955f](https://doi.org/10.1039/c8ra04955f)
15. *Wen Y., Lambrecht J., Ju C., Tacke F.* Hepatic Macrophages in Liver Homeostasis and Diseases-Diversity, Plasticity and Therapeutic Opportunities // *Cell. Mol. Immunol.* 2021. Vol. 18, № 1. P. 45–56. DOI: [10.1038/s41423-020-00558-8](https://doi.org/10.1038/s41423-020-00558-8)
16. *Everhart J.E., Wright E.C., Goodman Z.D., Dienstag J.L., Hoefs J.C., Kleiner D.E., Ghany M.G., Mills A.S., Nash S.R., Govindarajan S., Rogers T.E., Greenson J.K., Brunt E.M., Bonkovsky H.L., Morishima C., Litman H.J.* Prognostic Value of Ishak Fibrosis Stage: Findings from the Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis Trial // *Hepatology.* 2010. Vol. 51, № 2. P. 585–594. DOI: [10.1002/hep.23315](https://doi.org/10.1002/hep.23315)
17. *Bustin S.A., Benes V., Garson J.A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., Mueller R., Nolan T., Pfaffl M.W., Shipley G.L., Vandesompele J., Wittwer C.T.* The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments // *Clin. Chem.* 2009. Vol. 55, № 4. P. 611–622. DOI: [10.1373/clinchem.2008.112797](https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797)
18. *Hernández R., Martínez-Lara E., Del Moral M.L., Blanco S., Cañuelo A., Siles E., Esteban F.J., Pedrosa J.A., Peinado M.A.* Upregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Maintains Nitric Oxide Production in the Cerebellum of Thioacetamide Cirrhotic Rats // *Neuroscience.* 2004. Vol. 126, № 4. P. 879–887. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2004.04.010](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.04.010)

19. Wallace M.C., Hamesch K., Lunova M., Kim Y., Weiskirchen R., Strnad P., Friedman S.L. Standard Operating Procedures in Experimental Liver Research: Thioacetamide Model in Mice and Rats // *Lab. Anim.* 2015. Vol. 49, suppl. 1. P. 21–29. DOI: [10.1177/0023677215573040](https://doi.org/10.1177/0023677215573040)
20. Yanguas S.C., Cogliati B., Willebrords J., Maes M., Colle I., van den Bossche B., de Oliveira C.P.M.S., Andraus W., Alves V.A.F., Leclercq I., Vinken M. Experimental Models of Liver Fibrosis // *Arch. Toxicol.* 2016. Vol. 90, № 5. P. 1025–1048. DOI: [10.1007/s00204-015-1543-4](https://doi.org/10.1007/s00204-015-1543-4)
21. Ravichandra A., Schwabe R.F. Mouse Models of Liver Fibrosis // *Methods Mol. Biol.* 2021. Vol. 2299. P. 339–356. DOI: [10.1007/978-1-0716-1382-5\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1382-5_23)
22. Novo E., Bocca C., Foglia B., Protopapa F., Maggiora M., Parola M., Cannito S. Liver Fibrogenesis: Un Update on Established and Emerging Basic Concepts // *Arch. Biochem. Biophys.* 2020. Vol. 689. Art. № 108445. DOI: [10.1016/j.abb.2020.108445](https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108445)
23. Liu Y., Meyer C., Xu C., Weng H., Hellerbrand C., ten Dijke P., Dooley S. Animal Models of Chronic Liver Diseases // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2013. Vol. 304, № 5. P. G449–G468. DOI: [10.1152/ajpgi.00199.2012](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00199.2012)
24. Philipp D., Suhr L., Wahlers T., Choi Y.-H., Paunel-Görgülü A. Preconditioning of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Highly Strengthens Their Potential to Promote IL-6-Dependent M2b Polarization // *Stem Cell Res. Ther.* 2018. Vol. 9, № 1. Art. № 286. DOI: [10.1186/s13287-018-1039-2](https://doi.org/10.1186/s13287-018-1039-2)
25. Palumbo P., Miconi G., Cinque B., Lombardi F., La Torre C., Dehcordi S.R., Galzio R., Cimini A., Giordano A., Cifone M.G. NOS2 Expression in Glioma Cell Lines and Glioma Primary Cell Cultures: Correlation with Neurosphere Generation and SOX-2 Expression // *Oncotarget.* 2017. Vol. 8, № 15. P. 25582–25598. DOI: [10.18632/oncotarget.16106](https://doi.org/10.18632/oncotarget.16106)

## References

1. Kashfi K. Nitric Oxide in Cancer and Beyond. *Biochem. Pharmacol.*, 2020, vol. 176. Art. no. 114006. DOI: [10.1016/j.bcp.2020.114006](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114006)
2. Ahmad N., Ansari M.Y., Haqqi T.M. Role of iNOS in Osteoarthritis: Pathological and Therapeutic Aspects. *J. Cell. Physiol.*, 2020, vol. 235, no. 10, pp. 6366–6376. DOI: [10.1002/jcp.29607](https://doi.org/10.1002/jcp.29607)
3. Kashfi K., Kannikal J., Nath N. Macrophage Reprogramming and Cancer Therapeutics: Role of iNOS-Derived NO. *Cells*, 2021, vol. 10, no. 11. Art. no. 3194. DOI: [10.3390/cells10113194](https://doi.org/10.3390/cells10113194)
4. Iwakiri Y. Nitric Oxide in Liver Fibrosis: The Role of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Clin. Mol. Hepatol.*, 2015, vol. 21, no. 4, pp. 319–325. DOI: [10.3350/cmh.2015.21.4.319](https://doi.org/10.3350/cmh.2015.21.4.319)
5. Becerril S., Rodríguez A., Catalán V., Ramírez B., Unamuno X., Gómez-Ambrosi J., Frühbeck G. iNOS Gene Ablation Prevents Liver Fibrosis in Leptin-Deficient *ob/ob* Mice. *Genes (Basel)*, 2019, vol. 10, no. 3. Art. no. 184. DOI: [10.3390/genes10030184](https://doi.org/10.3390/genes10030184)
6. Iwakiri Y., Kim M.Y. Nitric Oxide in Liver Diseases. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2015, vol. 36, no. 8, pp. 524–536. DOI: [10.1016/j.tips.2015.05.001](https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.05.001)
7. Atik E., Onlen Y., Savas L., Doran F. Inducible Nitric Oxide Synthase and Histopathological Correlation in Chronic Viral Hepatitis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2008, vol. 12, no. 1, pp. 12–15. DOI: [10.1016/j.ijid.2007.03.010](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2007.03.010)
8. Wang W., Zhao C., Zhou J., Zhen Z., Wang Y., Shen C. Simvastatin Ameliorates Liver Fibrosis via Mediating Nitric Oxide Synthase in Rats with Non-Alcoholic Steatohepatitis-Related Liver Fibrosis. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 10. Art. no. e76538. DOI: [10.1371/journal.pone.0076538](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076538)
9. Anavi S., Eisenberg-Bord M., Hahn-Obercyger M., Genin O., Pines M., Tirosh O. The Role of iNOS in Cholesterol-Induced Liver Fibrosis. *Lab. Invest.*, 2015, vol. 95, no. 8, pp. 914–924. DOI: [10.1038/labinvest.2015.67](https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.67)
10. Li D., Song Y., Wang Y., Guo Y., Zhang Z., Yang G., Wang G., Xu C. Nos2 Deficiency Enhances Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Aged Mice. *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 2020, vol. 23, no. 5, pp. 600–605. DOI: [10.22038/ijbms.2020.39528.9380](https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.39528.9380)
11. Sadek K.M., Saleh E.A., Nasr S.M. Molecular Hepatoprotective Effects of Lipoic Acid Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis in Rats: Hepatoprotection at Molecular Level. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2018, vol. 37, no. 2, pp. 142–154. DOI: [10.1177/0960327117693066](https://doi.org/10.1177/0960327117693066)

12. Spitzer J.A., Zheng M., Kolls J.K., Vande Stouwe C.V., Spitzer J.J. Ethanol and LPS Modulate NF-kappaB Activation, Inducible NO Synthase and COX-2 Gene Expression in Rat Liver Cells *in vivo*. *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*, 2002, pp. 7, no. 1, pp. 99–108. DOI: [10.2741/spitzer](https://doi.org/10.2741/spitzer)
13. Kikuchi H., Katsuramaki T., Kukita K., Taketani S., Meguro M., Nagayama M., Isobe M., Mizuguchi T., Hirata K. New Strategy for the Antifibrotic Therapy with Oral Administration of FR260330 (a Selective Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitor) in Rat Experimental Liver Cirrhosis. *Wound Repair Regen.*, 2007, vol. 15, no. 6, pp. 881–888. DOI: [10.1111/j.1524-475X.2007.00308.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00308.x)
14. Zhang J., Li Y., Liu Q., Li R., Pu S., Yang L., Feng Y., Ma L. SKLB023 as an iNOS Inhibitor Alleviated Liver Fibrosis by Inhibiting the TGF-beta/Smad Signaling Pathway. *RSC Adv.*, 2018, vol. 8, no. 54, pp. 30919–30924. DOI: [10.1039/c8ra04955f](https://doi.org/10.1039/c8ra04955f)
15. Wen Y., Lambrecht J., Ju C., Tacke F. Hepatic Macrophages in Liver Homeostasis and Diseases-Diversity, Plasticity and Therapeutic Opportunities. *Cell. Mol. Immunol.*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 45–56. DOI: [10.1038/s41423-020-00558-8](https://doi.org/10.1038/s41423-020-00558-8)
16. Everhart J.E., Wright E.C., Goodman Z.D., Dienstag J.L., Hoefs J.C., Kleiner D.E., Ghany M.G., Mills A.S., Nash S.R., Govindarajan S., Rogers T.E., Greenson J.K., Brunt E.M., Bonkovsky H.L., Morishima C., Litman H.J. Prognostic Value of Ishak Fibrosis Stage: Findings from the Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis Trial. *Hepatology*, 2010, vol. 51, no. 2, pp. 585–594. DOI: [10.1002/hep.23315](https://doi.org/10.1002/hep.23315)
17. Bustin S.A., Benes V., Garson J.A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., Mueller R., Nolan T., Pfaffl M.W., Shipley G.L., Vandesompele J., Wittwer C.T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clin. Chem.*, 2009, vol. 55, no. 4, pp. 611–622. DOI: [10.1373/clinchem.2008.112797](https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797)
18. Hernández R., Martínez-Lara E., Del Moral M.L., Blanco S., Cañuelo A., Siles E., Esteban F.J., Pedrosa J.A., Peinado M.A. Upregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Maintains Nitric Oxide Production in the Cerebellum of Thioacetamide Cirrhotic Rats. *Neuroscience*, 2004, vol. 126, no. 4, pp. 879–887. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2004.04.010](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.04.010)
19. Wallace M.C., Hamesch K., Lunova M., Kim Y., Weiskirchen R., Strnad P., Friedman S.L. Standard Operating Procedures in Experimental Liver Research: Thioacetamide Model in Mice and Rats. *Lab. Anim.*, 2015, vol. 49, suppl. 1, pp. 21–29. DOI: [10.1177/0023677215573040](https://doi.org/10.1177/0023677215573040)
20. Yanguas S.C., Cogliati B., Willebrords J., Maes M., Colle I., van den Bossche B., de Oliveira C.P.M.S., Andraus W., Alves V.A.F., Leclercq I., Vinken M. Experimental Models of Liver Fibrosis. *Arch. Toxicol.*, 2016, vol. 90, no. 5, pp. 1025–1048. DOI: [10.1007/s00204-015-1543-4](https://doi.org/10.1007/s00204-015-1543-4)
21. Ravichandra A., Schwabe R.F. Mouse Models of Liver Fibrosis. *Methods Mol. Biol.*, 2021, vol. 2299, pp. 339–356. DOI: [10.1007/978-1-0716-1382-5\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1382-5_23)
22. Novo E., Bocca C., Foglia B., Protopapa F., Maggiora M., Parola M., Cannito S. Liver Fibrogenesis: Un Update on Established and Emerging Basic Concepts. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2020, vol. 689, Art. no. 108445. DOI: [10.1016/j.abb.2020.108445](https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108445)
23. Liu Y., Meyer C., Xu C., Weng H., Hellerbrand C., ten Dijke P., Dooley S. Animal Models of Chronic Liver Diseases. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2013, vol. 304, no. 5, pp. G449–G468. DOI: [10.1152/ajpgi.00199.2012](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00199.2012)
24. Philipp D., Suhr L., Wahlers T., Choi Y.-H., Paunel-Görgülü A. Preconditioning of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Highly Strengthens Their Potential to Promote IL-6-Dependent M2b Polarization. *Stem Cell Res. Ther.*, 2018, vol. 9, no. 1, Art. no. 286. DOI: [10.1186/s13287-018-1039-2](https://doi.org/10.1186/s13287-018-1039-2)
25. Palumbo P., Miconi G., Cinque B., Lombardi F., La Torre C., Dehcordi S.R., Galzio R., Cimini A., Giordano A., Cifone M.G. NOS2 Expression in Glioma Cell Lines and Glioma Primary Cell Cultures: Correlation with Neurosphere Generation and SOX-2 Expression. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 15, pp. 25582–25598. DOI: [10.18632/oncotarget.16106](https://doi.org/10.18632/oncotarget.16106)

DOI: 10.37482/2687-1491-Z142

*Elena I. Lebedeva*\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1309-4248>  
*Andrey S. Babenka*\*\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5513-970X>  
*Anatoliy T. Shchastniy*\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2796-4240>

\*Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University  
(Vitebsk, Republic of Belarus)

\*\*Belarusian State Medical University  
(Minsk, Republic of Belarus)

### **Nos2 mRNA AS A MARKER OF THIOACETAMIDE-INDUCED LIVER FIBROGENESIS IN RATS**

The **aim** of this paper was to evaluate the potential of the mRNA level of the *Nos2* gene as a marker of fibrogenesis in rats at different stages of thioacetamide-induced liver fibrosis and cirrhosis. **Materials and methods.** The experiment involved 117 mature male Wistar rats weighing 190–210 g. Liver fibrosis and cirrhosis were induced by a thioacetamide solution administered through a gastric catheter at a dose of 200 mg per 1 kg of body weight 2 times a week. The dynamics of the process was studied at 9 timepoints over the course of 17 weeks. *Nos2* mRNA level in the liver was detected by means of real-time polymerase chain reaction. The stage of fibrosis was determined in histological sections stained using the Mallory method according to the Ishak semi-quantitative scale. **Results.** Throughout the experiment, *Nos2* mRNA had practically no reaction to the thioacetamide-induced liver fibrogenesis. At the mild fibrosis stage (F1), an insignificant rise in the level of *Nos2* mRNA was noted (within 5 %). Intensive development of fibrosis (F2–F4/F5) and an increase in the production of extracellular matrix components were accompanied by an increase in the level of *Nos2* mRNA with a peak value exceeding the initial level (control group value) by the factor of 1.69 ( $p < 0.05$ ). At the point of transition of fibrosis to cirrhosis (F5), a decrease in the level of mRNA of the target gene was observed, and at the stage of definite cirrhosis (F6), a subsequent drop below the initial level was detected. Thus, according to the data obtained, *Nos2* mRNA has the greatest potential as a marker of liver fibrogenesis at the stage of advanced fibrosis, but cannot act as a marker at the early stages. Moreover, *Nos2* mRNA level cannot be used as a marker when assessing the degree of cirrhosis and its development dynamics.

**Keywords:** rat liver, thioacetamide, markers of liver fibrogenesis, real-time polymerase chain reaction, *Nos2* mRNA expression.

Received 13 September 2022

Accepted 26 January 2023

Published 12 April 2023

Поступила 13.09.2022

Принята 26.01.2023

Опубликована 12.04.2023

**Corresponding author:** Elena Lebedeva, address: prosp. Frunze 27, Vitebsk, 210009, Republic of Belarus; e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

**For citation:** Lebedeva E.I., Babenka A.S., Shchastniy A.T. *Nos2* mRNA as a Marker of Thioacetamide-Induced Liver Fibrogenesis in Rats. *Journal of Medical and Biological Research*, 2023, vol. 11, no. 2, pp. 162–173. DOI: 10.37482/2687-1491-Z142