

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

“Журнал НАМН України”, 2016, т. 22, № 3-4.— С. 283-297

УДК 612.67-017.1:616.8-009.7

**Ю. Б. Чайковский, Д. М. Иродов*, М. В. Драгулян*, Т. П. Гулько*, П. В. Бучек*,
А. В. Корсак, А. В. Неверовский, В. А. Кордюм***

*Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца МЗ Украины, 01601 Киев
Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03143 Киев

МОДЕЛЬ СИСТЕМНОГО ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА

В последние десятилетия основные патологии человека приняли, в своем большинстве, хронический характер с множественными нарушениями. Сегодня биология и медицина вышли на принципиально новые возможности лечения. Наиболее перспективными в этом плане являются технологии, использующие стволовые клетки и сигнальные молекулы. Они потенциально могут восстановить те системные поражения организма, которые лежат в основе хроники. Для этого необходима адекватная и практически реально достижимая модель. В статье анализируется один из вариантов создания такой модели. В качестве модельных животных выбраны мыши, а в качестве агента, вызывающего системные поражения организма, используется CCl_4 . Приведенный анализ литературы показывает, что несмотря на широко распространенное мнение о том, что поражения CCl_4 хорошо изучены, это далеко от действительности. Каждый исследователь меняет схемы, а общепринятой моделью поражения CCl_4 является цирроз печени только у крыс. Результаты проведенных авторами исследований позволили разработать методику системного поражения организма мышей с использованием CCl_4 . Приведена схема такой методики, даны ее граничные условия и приведены выборочные примеры, показывающие наличие и характер системного поражения.

Ключевые слова: четыреххлористый углерод, модельные мыши, цирроз печени, системное поражение органов

Повреждения организма — события, часто возникающие в жизни людей. И в зависимости от степени повреждений, они могут носить как локальный (ушиб, порез, заноза и пр.) так и системный (обширные ожоги, тяжелые травмы, хронические отравления и пр.) характер, затрагивающий (хотя и в разной мере) все органы и функции человека

(или животного). Повреждения, согласно смыслу этого термина, обычно связывают с нарушениями, вызванными механическими, термическими, ядовитыми (выделениями живого мира: яды змей, насекомых, растений и пр.) воздействиями или сильно действующей химией (концентрированные кислоты, щелочи, ядохимикаты и пр.). Это всегда

**Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца
Кафедра гистологии и эмбриологии**

Ю. Б. Чайковский — зав. кафедрой, чл.-кор. НАМН Украины
А. В. Корсак — ассистент, к.м.н.
А. В. Неверовский — студент 5 курса

**Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Отдел регуляторных механизмов клетки**

В. А. Кордюм — зав. отделом, акад. НАМН Украины
П. В. Бучек — м.н.с.
Д. М. Иродов — м.н.с. (onix@imbg.org.ua)
М. В. Драгулян — н.с.
Т. П. Гулько — ведущий инж.

©Ю. Б. Чайковский, Д. М. Иродов, М. В. Драгулян, Т. П. Гулько, П. В. Бучек,
А. В. Корсак, А. В. Неверовский, В. А. Кордюм, 2016.

плохо, опасно, но явно видимо вследствие сразу же возникающих патологических процессов. Защита от таких повреждений, как правило, хорошо проработана медициной в виде стандартных (или стандартизированных) лечебных процедур.

Но в реальной жизни приходится постоянно сталкиваться с невидимыми повреждающими агентами, действующими не сразу, и вследствие этого, незаметно. В воздухе это выхлопы двигателей транспорта, недоокисленные продукты от сгорания в топках электростанций, летучие продукты химических предприятий, газообразные выделения бытовой химии и пр. В воде это хлорорганические соединения, недоочищенные продукты стоков, соли тяжелых металлов и пр. В пище это очень многие «экономически выгодные» заменители, пищевые добавки, нитраты и нитриты, консерванты, красители, подсластители и др. В результате у людей, не обладающих очень крепким здоровьем, все эти вредные продукты постепенно разрушают органы и ткани, вызывая системные поражения. Почти все системы у человека, как правило, зарезервированы на все случаи жизни в природе. Но поскольку мы живем не в природе, то зарезервированного не хватает.

Это та хроника, которую существующими методами чаще всего нельзя вылечить, ее можно только лечить, что и делают. Вместе с прогрессом в науке и технологиях развивается и медицина. С появлением новых возможностей становятся необходимыми и новые модели, на которых можно проверить, отработать то, что будет использоваться в клинике. Поскольку универсальных моделей не существует, то они создаются под задачу и с расчетом реалий нашей жизни и причин нездоровья в ней. Для отработки лечения хронических патологий, вызываемых ставшей уже обычной средой обитания людей (по крайней мере в крупных городах), необходима адекватная модель. Как модель «наших» системных поражений, она должна удовлетворять ряду требований. Первым требованиям является доступность модели и чисто экономическая возможность выполнений на ней работ, требующих и численности животных, и условий их содержания, и особенностей работы с ними. Далее следует требование системности. То, что будет использоваться для вызывания поражения должно действовать на большинство систем организма. Но в организме человека то, что вызывает системное поражение, не действует на все одинаково равномерно. Это же должно быть присуще и экспериментальным моделям. Любая степень поражения должна быть доступна для оценки влияния на разный уровень повреждений. Следующий блок требований касается адекватности модели. Наконец, она должна быть приемлема для реализации на ней планируемых средств лечения.

Уровень сегодняшней медицины таков, что она не только потеряла четкие очертания методологии, определяющие ее как медицину. Сегодня уже даже названия того, что есть медицина становятся иными и по общему, вкладываемому в них смыслу, и по области деятельности: биомедицина, наномедицина, нетрадиционная медицина, различные варианты биотехнологий человека и пр. Единственным, что остается неизблемым — это конечный пункт приложения такой деятельности, т. е. человек. Но только как «конечный». А пути к нему уже очень разнообразны даже концептуально. И один из самых интенсивно разрабатываемых сейчас подходов к лечению — это превентивная медицина. То есть недопущение развития патологических состояний или подготовка организма к тому, чтобы он сам справился с разрушающей ситуацией. Одним из таких «сам» — являются его стволовые клетки, и сигнальные молекулы, указывающие стволовым клеткам куда идти и что делать, а клеткам поврежденных тканей, что активировать, синтезировать, блокировать и пр.

Одновременно сигнальные молекулы готовят для стволовых клеток поле деятельности в зонах поражения. В них они переставают, настраивают ткань, органы на их восстановление, своими внутриклеточными возможностями. И это все направляется также на восприятие тканью (органами) стволовых клеток, для реализации их стволовых функций, возможностей, координацию всего процесса самоизлечения. Именно такой комплекс процессов необходимо реализовать при системных поражениях на экспериментальных моделях, для того, чтобы перейти от пролечивания к технологии восстановления-излечения.

Анализ имеющихся в литературе данных показал, что длительное введение четыреххлористого углерода мышам может приводить не только к поражению печени, но и повреждению легких. Это давало основание полагать, что можно найти такой режим воздействия, при котором поражение организма примет системный характер. Это становится понятным при анализе патологических процессов, возникающих при действии CCl_4 . И первое, что требует особого внимания — это его механизм действия. Сам по себе CCl_4 , не вызывает никаких глобальных поражений. Его токсическое действие на организм создает сам организм [9], [11], [12]. Путь этот начинается с клетки (рис. 1), по отношению к которой проникший в нее CCl_4 является внешним агентом (ксенобиотиком) который требует устранения.

Для устранения ксенобиотиков и промежуточных продуктов нормального метаболизма в клетке существует сложная многоцелевая и многоуровневая система детоксикации. Ее первой линией являются цитохромы P450 (CYP). Их известно уже до

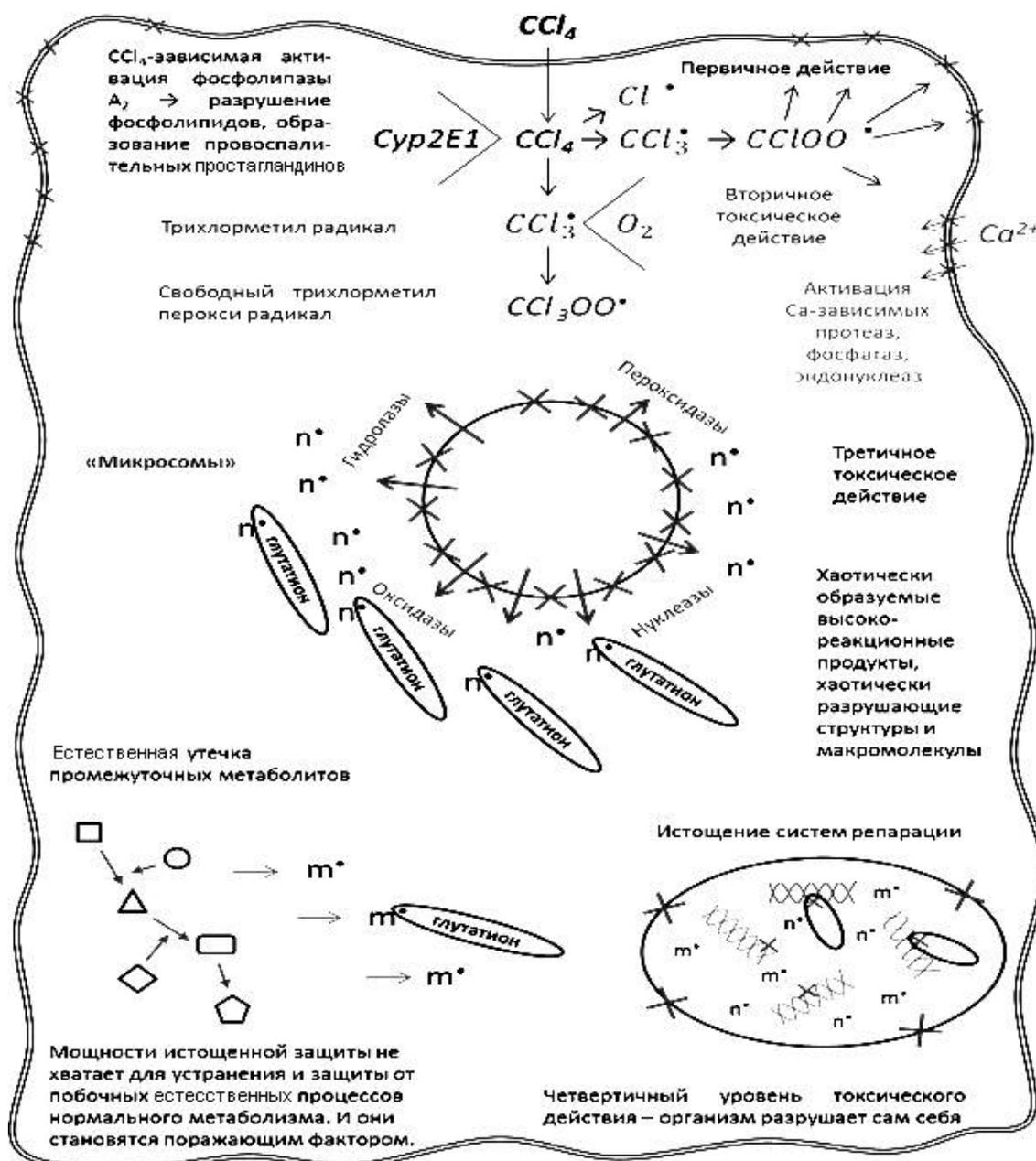


Рис. 1. Схема событий, сопровождающих воздействие CCl_4 на клетку.

сотни. По своему действию — это ферменты, переводящие различные (для природных продуктов — любые) органические соединения в энергетически напряженную и потому высоко-реакционно способную форму. После такой активации, ферменты второй линии защиты могут их разрушить до состава, который клетке уже не опасен и может быть из нее (а затем из организма) выведен вовне. Каждый такой фермент реагирует с определенной химической группой на молекуле ксенобиотика. CCl_4 подпадает в основном под действие того цитохрома P450, который имеет обозначение $2E_1(CYP2E_1)$. Но кроме того, его метаболизируют также $CYP2B_1$,

$CYP2B_2$ и, возможно, $CYP3A$ [13]. Сам по себе CCl_4 мало активен и, попав в клетку, он, как первый уровень поражения, обладает очень слабым повреждающим действием. Но преобразования, которые производят с CCl_4 его монооксидазы, идут не по пути дезактивации, а по пути нарастающей активации. Первой реакцией (то, что выполняет $CYP2E_1$) является образование трихлорметил радикала. Далее может вступить в действие кислород и перевести трихлорметил радикал в значительно более энерго-напряженный трихлорметил перокси радикал, обладающий особо высоким разрушительным потенциалом. Кроме того, образуется третий

радикал — хлора [2]. Эти радикалы атакуют «всё», и, в первую очередь, полиненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов мембран, которые наиболее чувствительны к действию этих радикалов. Повреждение фосфолипидов ведет к локальным разрушениям мембран клетки (и цитоплазматической, и внутренних), что приводит к дезорганизации мембраносвязанных процессов. Так возникает второй, теперь уже ярко выраженный уровень поражения, вызываемый вторичным токсическим действием (свободными радикалами, образовавшимися из первичного агента — CCl_4)

Разрушение мембран приводит к двойному эффекту. Из внутриклеточных окруженных мембранами компартментов под общим названием «микросом» (лизосомы, пероксисомы, эндосомы и пр), выходят локализованные в них ферменты (оксидазы, пероксидазы, гидролазы и пр), образующие в содержащихся в клетке молекулах высокорекреакционные центры. Кроме того, из микросом высвобождаются также ферменты, непосредственно деградирующие макромолекулы (нуклеазы, протеазы). Одновременно вследствие нарушения цитоплазматической мембраны, в клетку извне начинает неконтролируемо поступать Ca^{2+} . Он, теперь уже бесконтрольно, активирует Ca^{2+} -зависимые протеазы, фосфатазы, эндонуклеазы и пр. Все это приводит к непрерывному, образованию разнообразных высокорекреактивных соединений, которые хаотически разрушают макромолекулы как таковые и образуемые ими клеточные структуры в том числе. Так вследствие разрушения мембран свободными радикалами, образовавшимися из CCl_4 , возникает третий уровень поражения, обусловленный третичным токсическим действием продуктов, образуемых ферментами, вышедшими из микросом, (Ca^{2+} -активированных и Ca^{2+} -независимых).

В клетке существует мощная и глубоко эшелонированная защита как от реактивных форм кислорода, так и от вызываемых ими повреждений. Наиболее эффективными являются система глутатиона, для инактивации реактивных форм (любой природы и происхождения), и репарация — для восстановления от повреждений в геноме. Они активируются и снижают токсическое действие всех уровней поражений. Но когда CCl_4 поступает в организм непрерывно, поражающие факторы образуются также постоянно, непрерывно вызывая повреждения, что приводит к истощению систем защиты и восстановления. Длительная и чрезмерная стимуляция всегда приводит к истощению. Стимуляция — это перегрузка. Она может быть даже полезной или необходимой только кратковременно. А в случае постоянного введения CCl_4 она реализуется непрерывно. Такая перегрузка оканчивается паде-

нием активности защитных и восстанавливающих систем, которые существуют в клетке в основном для обеспечения собственного, абсолютно необходимого, нормального метаболизма. При его (метаболизме) функционировании практически на всех, кроме конечных, этапах, образуются высоко-реакционноспособные промежуточные метаболиты, необходимые для осуществления последующих метаболических превращений цепей обмена веществ. Но какая-то часть этих продуктов, по чисто случайным, вероятностным отклонениям, уходит из активных центров ферментов. Эти высоко-реакционноспособные промежуточные продукты и являются основными мишенями систем защиты и восстановления. Таких, потенциально опасных, продуктов в клетке образуется достаточно много [8]. В норме их количество при всем совершенстве метаболизма существенно превышает то вредное, что (тоже в норме) попадает в клетки организма извне. А истощение систем защиты и восстановления, от разрушающих продуктов трех уровней поражения под действием CCl_4 , приводит к тому, что нормальная утечка высокорекреакционных промежуточных продуктов нормального метаболизма, становится уже неконтролируемой, а сами они неразрушенными, превращаясь в четвертый (возможно, самый мощный) уровень поражения. Лишенный необходимого уровня активности защитных систем, организм разрушает сам себя. Наступает финал — клетки гибнут.

Это клеточный уровень в чистом виде. Но организм слишком сложная система, чтобы в нем могло быть что-то «в чистом виде». И задолго до стадии гибели клеток, через какое-то время после начала введения CCl_4 , в патологический процесс вовлекается весь организм. Развивающееся системное поражение организма становится следствием взаимозависимых и взаимосвязанных механизмов. Первый, описанный выше, — клеточный. Он в той или иной мере работает во всех клетках организма. Второй связан с особенностями функционирования организма как системы. Организм как система описан и изучен «по-крупному», по отдельным метаболическим цепям, сигнальным каскадам и др. Это все детально нарисовано и продолжает изучаться и дорисовываться в бесчисленных публикациях. Но абсолютно непонятной продолжает оставаться пространственно-временная динамика совокупного процесса. Один из ее элементов входит в число основных механизмов, определяющих системность поражения. Он связан с тем, что по аналогии с внутриклеточными процессами можно назвать «домашним хозяйством». Для организма этот термин можно использовать в смысле процессов, идущих только и непосредственно для выполнения внутриорганизмических функций.

Ближе всего к этому подходит термин «гомеостаз», но он по своему происхождению и употреблению не включает внутриклеточные процессы, которые собственно и обеспечивают гомеостаз. А «домашнее хозяйство» подразумевает все в совмещении всех уровней, от молекулярного до функций управления всего внутриорганизменного, вплоть до центральной нервной системы. Таким «домашним хозяйством» на уровне организма является некий двуединый процесс. Это обеспечение всех клеток продуктами питания (тем, что в них, после всех промежуточных процессов попадает из потребляемой извне пищи, как первый этап всего последующего метаболизма). И одновременно — удаление выделяемых клетками отходов — того, что клетка сама уже не может разрушить и реутилизировать, но что накапливаясь, может привести к сбоям функций и гибели.

Организовано такое обеспечение настолько, в общем, «просто», что понять его на уровне первичных механизмов пока не представляется возможным. Такая простота и непостижимость детализации заключается в том, что и питательные вещества для клеток, и их отбросы равномерно распределены в общей системе, которой является кровотоки. В кровь непрерывно поступает все, из межклеточного пространства, выбросы всех клеток организма. Поступающее от каждой клетки в отдельности объединяется, непрерывно перемешивается и обобщается. По мере выхода клеточных отходов во внеклеточное пространство формируется поток всех выбросов от всех клеток в виде той их смеси, которая называется лимфой. Лимфа непрерывно поступает в кровотоки. И в ту же самую кровь из кишечника поступает то, что пройдя клетки кишечника, а затем и печень, становится питательными веществами для всех (!) клеток организма. Это вся смесь отходов и «продуктов питания» непрерывно циркулирует по всему организму.

De facto, кровеносная система является «сточной канализацией» организма и его «артерией жизни» одновременно. А кровь — это не имеющая аналогов динамическая смесь продуктов первой жизненной необходимости (кислорода, питательных веществ, воды) и одновременно и совместно всех видов отходов клеточной жизнедеятельности, выбрасываемого из клеток молекулярного мусора, остатков деградирующих погибших клеток, вредных газов и летучих веществ. Все это растворено в водной фазе крови и сосуществует в виде такой все содержащей смеси и тоже одновременно и вместе. И сосуществует такое — в очень сложной динамике.

Все это одновременно: очищается (в каком-то только небольшом проценте за каждый цикл «прокачки») в основном в печени и поглощается всеми клетками, как питание. Как клетки печени отличают

весь тот спектр «отходов», которые надо поглощать (избирательно), чтобы убрать разрушив, из всей смеси «всего», описывают только в общем виде. Скавенджер-рецепторов известно уже более десятка, но как происходит ими выборка из всего состава необходимого для детоксикации, предпочитают не детализировать т.к. изучение поглощения проводят пока только на индивидуальных продуктах, а все остальное является экстраполяцией и обобщениями. Одновременно «питательные вещества» (тоже во всем их спектре — от металлов микроэлементов до сложных молекул «незаменимых» компонентов, например, витаминов) каким-то способом избирательно проникают, поглощаются (тоже только в небольшом проценте за каждый цикл «прокачки») через стенки капилляров, распределяясь между всеми клетками тканей — ведь обеспечивать «домашнее хозяйство» надо всем клеткам всего организма. И клетки выбирают из своего межклеточного пространства, из того, что они в него выбросили, как отходы, поступающие из капилляров питательные вещества. Отходы же постепенно мигрируют в лимфатические сосуды и выбрасываются в кровь, откуда опять ... и т.д.

И так в течение всей жизни в норме (т.е. при самых благоприятных условиях). При поступлении в организм CCl_4 печень как центральный орган детоксикации (главная «очистная станция» домашнего хозяйства организма), основную его элиминацию берет на себя. Выполняют это, как и детоксикацию всех отходов, поступающих в кровь от всех клеток организма в норме, в основном клетки печени. Но под действием CCl_4 в них начинают и развиваются описанные выше каскады поражений. А наиболее повреждаемыми являются гепатоциты. Эффективность очистной функции печени падает. В крови начинает расти как уровень непрерывно поступающего CCl_4 , так и уровень недоочистки собственных отходов. Поступающий в организм CCl_4 метаболизируется с помощью цитохрома P450, служащего для детоксикации собственных множественных высокорекционных продуктов нормального метаболизма почти во всех типах клеток. При росте его уровня, (по мере разрушения им же, в первую очередь гепатоцитов) растет всеобщее (хотя и в неодинаковой мере) поражающее действие, как каскадов разрушения от CCl_4 , так и от накапливаемых собственных отбросов. Организм начинает многоуровнево разрушать сам себя. На все это накладывается нарастание «системного воспаления» за счет активации провоспалительных цитокинов, роста уровня провоспалительных простогландинов и пр. Так развивается процесс системного поражения организма.

По своей природе, степень восприимчивости и реагируемости на все это разных тканей, разных

органов разная. Соответственно характер и степень поражений в них будет разный, что и наблюдается — при любом системном поражении органы и ткани повреждаются все, но в очень разной мере. В этом плане описываемая модель достаточно адекватна происходящему в жизни. В выбранной модели имеется одно «универсальное достоинство». Оно обусловлено тем, что поражения клеток, тканей и органов вызывает не непосредственно сам CCl_4 . Оно вызывается повреждающими агентами каскадов реакций, которые реализуются при всех системных поражениях, возникающих «в обычной жизни». В этом плане, как модель поражения от различных токсических ксенобиотиков, CCl_4 давно и широко используется в различных исследованиях [1, 7]. Это связано с тем, что те ксенобиотики (красители, загустители, консерванты, ароматизаторы и др.), которые обильно присутствуют в нашей пище, а также неприродные соединения в воде и воздухе, в основном действуют по одному и тому же механизму. Под действием различных членов субпопуляции цитохромов P450 они, так же, как и CCl_4 , индуцируют каскады высокоактивных продуктов, разрушающих клетки. А используя CCl_4 , степень поражения модели легко управлять. Для этого достаточно выбрать нужную схему эксперимента.

В литературе имеется большое количество работ, посвященных токсическим эффектам CCl_4 . Они выполнялись на самых разных объектах — от влияния на отдельные процессы *in vitro* до обширных экспериментов на животных. Такое достаточно многочисленное и имеющее длительную историю поле исследований породило почти всеобщее убеждение в том, что «здесь уже все известно». Действительно, то что связано с тонкими механизмами поражающего действия изучено (почти исключительно *in vitro*) относительно детально. Не вызывает никакого сомнения и то, что CCl_4 вреден. Но уже на уровне постановки модели такого действия в реальном времени хронического отравления, все оказалось совсем не так однозначно.

В кратком виде оценку ситуации в этой области можно изложить цитатой из обзора Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C. US: «Большое количество исследований (приблизительно 50) было проведено на системах млекопитающих после применения CCl_4 *in vivo*. Большинство из них дало отрицательные результаты, которые обсуждены ниже. Отрицательные результаты были видны почти во всех исследованиях, в которых генотоксический эффект определяли в нецелевых (т. е. не печеночных) тканях.» [9].

Из этого следует, что при всей привлекательности и теоретической обоснованности, даже поражение печени получали далеко не всегда. А уже

о системном поражении организма в этих работах и говорить не приходится. Анализ работ в этой области исследований показывает просто-таки «бесконечный» разброс схем экспериментов, проводимых и описываемых в литературе.

Пожалуй, наиболее наглядным в этом плане является описание рекомендаций как надо ставить эксперименты, чтобы получить «цирроз». Некоторые из них настолько скрупулезны, что расписывают в деталях все, вплоть до фирмы, выпускающей шприцы, которые надо использовать в таких экспериментах [3]. А почти во всех последующих работах всеми авторами используется все иначе (и у каждого автора — свое). Такое бывает только в том случае, если рекомендованные методы работают только у их авторов в их конкретных постановках (хотя рекомендуются, как универсальные). Так в сводке T. G. Marques и соавт. [10], из приведенной таблицы с перечнем экспериментов по изучению токсического действия CCl_4 на крысах (в период 2008-2009 гг.), следует, что ставили опыты во временном диапазоне от 36 ч до 18 недель, а иногда даже без указания срока. А уж схемы и дозы были самые разные. При всей странности ситуации, получается, что в масштабных, с длительной историей, исследованиях по токсическому воздействию CCl_4 , надежная, конкретно воспроизводимая для использования, как общепринятая, стандартизированная, дающая надежные результаты процедура, получена не была. При этом следует отметить, что из всех возможных поражений от CCl_4 в большинстве работ изучали только события в печени. Это объясняется тем, что исходили из того, что CCl_4 вызывает цирроз, и важен в основном (или даже) только как модель цирроза печени у человека. Очень скоро стало понятно, что именно как цирроз — моделью такого поражения (достаточно адекватной) является развитие поражения печени только у крыс. И в тех опытах, которые были поставлены так, что ожидаемое воспроизводилось (и на которые и ссылаются в литературе) этот процесс изучили детально. У мышей цирроз (как его описывают у человека) под действием CCl_4 не возникает [3]. И это дает основания, создает предпосылку для того, чтобы отработать на них модель системного поражения всего организма. Идея настолько привлекательна, что в этом направлении работы ведутся все время (хотя публикации об успешных результатах крайне редки). Как удачный пример решения можно привести публикацию M. Das и соавт. [4]. В ней показано поражение и печени и легких. Высказана также идея, что это может быть хорошей моделью. Но поражения печени у мышей (в данном исследовании), вызывали не чистым CCl_4 , а своеобразным комплексом — с предварительным недельным, а затем в течение всего эксперимента

(12-недельным), сопровождением фенобарбиталом. Он стимулирует активность цитохромов P450 и таким образом усиливает действие CCl_4 . Но это уже дополнительное и непредсказуемое действие. И как особенность полученных результатов, авторы отмечают, что в легких (в отличие от печени) не были обнаружены перекисленные липиды. В то же время в экспериментах на крысах, без использования фенобарбитала, перекисленные липиды в легких присутствовали. Авторы делают вывод, что поскольку поражение легких при действии CCl_4 в их экспериментах не сопровождалось каскадом перекисного окисления липидов, то имеет место какой-то другой механизм их поражения. Но это уже меняет весь процесс, так как выводит из системы поражающих эффектов центральный пункт – разрушение мембран. Возможно, это следствие использования фенобарбитала. Но сам факт поражения не только печени, но и легких весьма показателен (хотя главными критериями в цитируемой работе была гипертензия и изменения в сосудах). Имеется детально излагаемое сообщение о сроках и эффектах от введения CCl_4 . Но при этом указывается, что независимо от эффекта и схемы, проходило самовосстановление [3]. Описывались поражения и почек [6] и других органов. Модели с применением нокаутных мышей [5] больше годятся для решения частных задач.

Практическая реализация. Исходя из приведенного выше анализа данных литературы, мы попытались практически реализовать такую модель системного поражения, вызванную длительным воздействием CCl_4 .

Реализуя практическую модель, мы понимали, что явление «системного поражения» уже само по себе обобщающее и подразумевает гетерогенность состояний. Следовательно, ожидать в данном случае единообразия не приходится — нарушения касаются слишком большого количества взаимосвязанных процессов и механизмов. Тяжесть и характер нарушений отдельных органов при одинаковом воздействии у экспериментальных животных, как и у людей, носит индивидуальный характер даже внутри одной линии, поскольку зависит от слишком многих факторов, включая сезонность. Однако общие тенденции проследить все-таки удастся.

Описываемая здесь модель создавалась для изучения интегрального действия восстанавливающих агентов сигнального характера, особенностью действия которых является с одной стороны различный характер взаимодействия с поврежденными и неповрежденными клетками, а с другой — перераспределение среди тканей и органов в зависимости от характера и тяжести их нарушений. Поэтому при постановке данной модели мы не ставили себе целью детальное изучение механизмов

и характера нарушений, а лишь получение явно регистрируемого системного поражения. Адекватно задаче были выбраны и системы анализов. Наиболее объективным, демонстративным точным и наглядным является гистологическая характеристика тканей органа. Для человека она используется только в редчайших случаях на биопсийном или операционном материале. Но при постановке модели на экспериментальных животных она полностью доступна и была выбрана в качестве основного показателя. А в качестве общепринятых клинических анализов использовались интегральные характеристики состояния животных свидетельствующие о нарушениях в органах в целом — это активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), показатели СОЭ, количество лейкоцитов в крови, относительная масса органов и описание их морфологии (макро- и микроскопической). Что же касается тонких анализов, то их целесообразно проводить в сравнении с результатами таких анализов в экспериментах по лечению. Тогда разница покажет эффективность воздействий.

Выбор животных. При системных поражениях в первую очередь реализуются генетически детерминированные «наследственные предрасположенности». У человека наиболее широко распространены сосудистые и онкологические предрасположенности, обуславливающие первые две причины смертности. Сосудистые повреждения при введении CCl_4 ранее были описаны в литературе [4]. Что же касается опухолевых предрасположенностей, то в описанных до этого времени исследованиях их не было вследствие использования мышей без онкопредопределенности. Поэтому для приближения модели к «оригиналу» в эксперимент была взята высококораквая линия мышей *ICR*.

Была поставлена серия опытов для отработки условий достижения системного поражения организма разной степени тяжести. Необходимо было найти и тот порог развития процесса, после которого самовосстановление и возврат к условной норме уже становятся невозможными. Для поиска оптимальной схемы получения системного поражения мы исследовали широкий круг доз CCl_4 , частот его введения и длительностей эксперимента. Было поставлено более десяти независимых экспериментов. Наиболее результативной оказалась доза 30 % раствора очищенного CCl_4 на оливковом масле из расчета 1,5 мкл на грамм массы тела животного, два раза в неделю, внутривентриально в течение 12 недель.

Ниже приведено описание одного из таких экспериментов. Были сформированы три группы 2-месячных самцов мышей линии *ICR* массой тела 20-24. Первая группа — контроль. Животным второй и третьей групп в течение 12 недель, два раза в неделю внутривентриально вводили 30 % раствор

CCl₄ на оливковом масле из расчета 1 мкл на 1 г массы тела животного. Вторая группа, которую мы назвали «Модель», выводилась из эксперимента через 3 сут после последнего введения CCl₄. В третью группу входили животные, которым после окончания введения CCl₄ уже больше ничего не вводили. Ее мы назвали «Самовосстановление». Этим животных выводили из эксперимента через 3-9 недель после окончания курса введения CCl₄.

При анализе мониторинговых показателей оказалось, что экспериментальные животные (хотя это были линейные животные, линейность которых подтверждалась фенотипическими проявлениями особенностей данной линии) гетерогенны по реакции на CCl₄. Одна группа не выдерживала нагрузки CCl₄ и не доживала до запланированных 12 недель—срока, при которой у большинства животных развивалось выраженное поражение основных органов. По состоянию на 12 недель нагрузки CCl₄, в силу особенностей линии, у некото-

рых животных индуцировался канцерогенез. Эту группу мы не анализировали, поскольку наличие развитой опухоли существенно сдвигает физиологический профиль всех систем организма. Еще одна группа животных характеризовалась недостаточными резервами для самовосстановления, чтобы дожить до конца выделенного 12-недельного курса CCl₄. Остальные животные имели приблизительно одинаковую выраженность поражения различных органов (одинаковое состояние). Но и среди них можно было условно выделить еще две подгруппы по степени поражения и возможностям самовосстановления. Это хорошо заметно при анализе уровней АЛТ и АСТ (рис. 2).

В первой подгруппе отмечалось тяжелое поражение печени, которое практически не менялось и через 8 недель самовосстановления. Вторую группу составили животные, у которых так же отмечались дистрофические изменения печени, но при этом не наблюдалось массовое разрушение клеток печени.

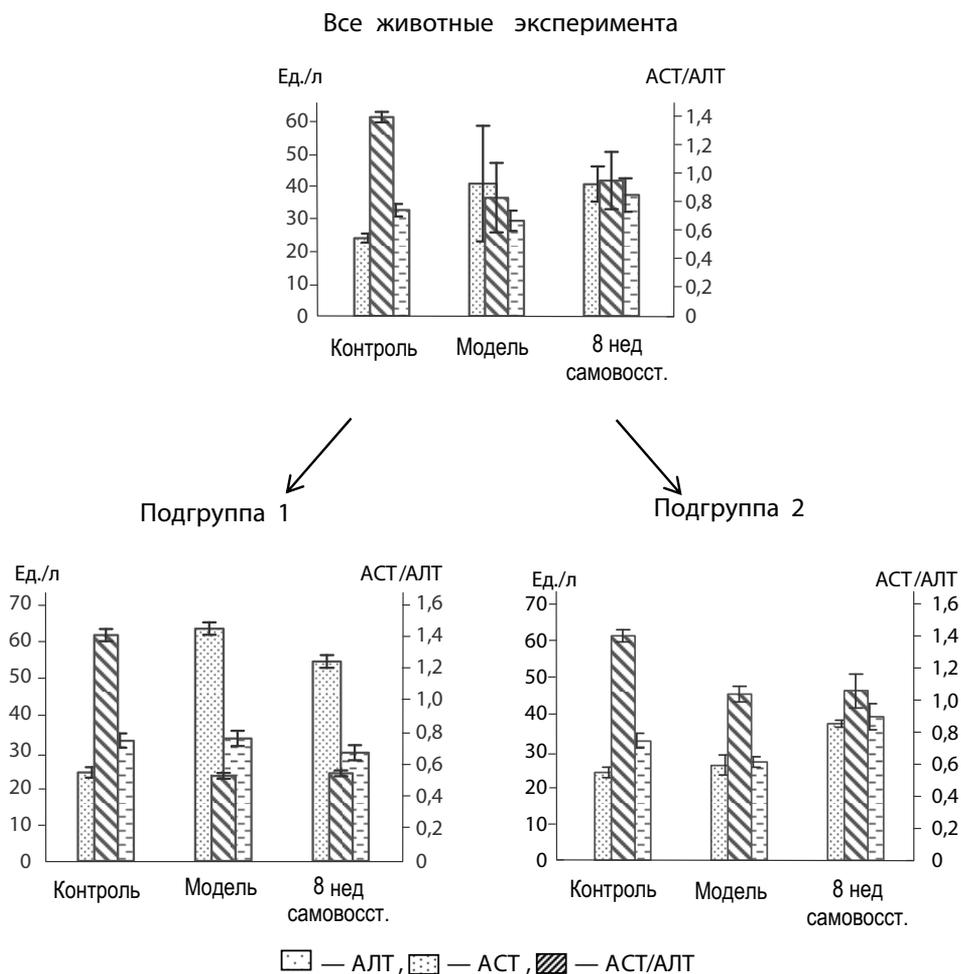


Рис. 2. Два типа изменений уровня диагностических аминотрансфераз в крови животных, в рамках одного эксперимента — с доминирующим поражением печени (подгруппа 1) и с более равномерным поражением различных органов (подгруппа 2).

Общая закономерность изменения внутренних органов по оценке их массы также демонстрирует индивидуальную восприимчивость к CCl_4 , существенные различия чувствительности по отношению к четыреххлористому углероду. Так по массе селезенки (первичного органа иммунной системы), чаще других реагирующего, это видно как высокая гетерогенность ее массы при самовосстановлении (рис. 3).

Анализ СОЭ крови животных (рис. 4) показывает, что патологический процесс, регистрируемый по показателю идущего воспаления (СОЭ), продолжается и через 8 недель после окончания введения четыреххлористого углерода. Процесс поражения органов можно довести до любого уровня, продолжая вводить CCl_4 , или прекращая такую процедуру. Но только через 10-12 недель введения CCl_4 , процесс системного поражения развивается до критической стадии необратимости.

Показатели состава отдельных фракций белой крови оказались неинформативными, но

интегральный показатель (абсолютное количество лейкоцитов) демонстрирует продолжающийся патологический процесс и после прекращения введения CCl_4 . При наблюдаемых изменениях в органах следовало бы ожидать высокий уровень лейкоцитов уже на стадии формирования модели. Однако небольшое изменение их количества к 12-й неделе нагрузки, и резкое увеличение их количества после окончания нагрузки CCl_4 свидетельствует о подавлении защитной реакции организма под воздействием CCl_4 (рис. 5). После прекращения инъекций CCl_4 наблюдается частичное восстановление защитной реакции организма, которая сопровождается значительным повышением числа клеток белой крови.

Патолого-морфологическое описание подтверждает серьезные поражения большинства органов и систем жизнеобеспечения. Самые яркие изменения затрагивают печень, легкие, селезенку и поджелудочную железу. Последняя разрастается и часто прирастает к желудку. В печени наблюда-

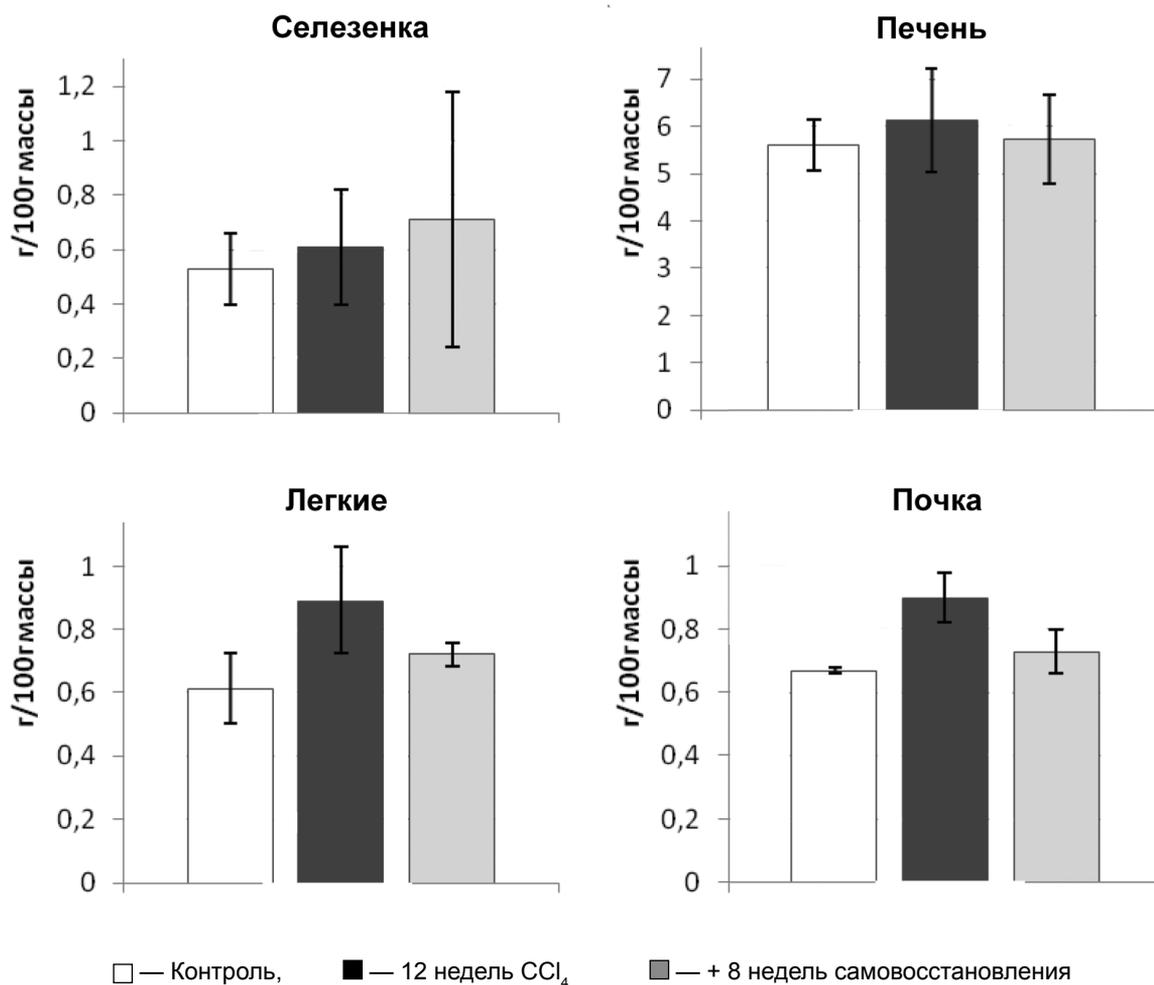


Рис. 3. Изменение относительной массы органов у мышей контрольной и экспериментальных групп.

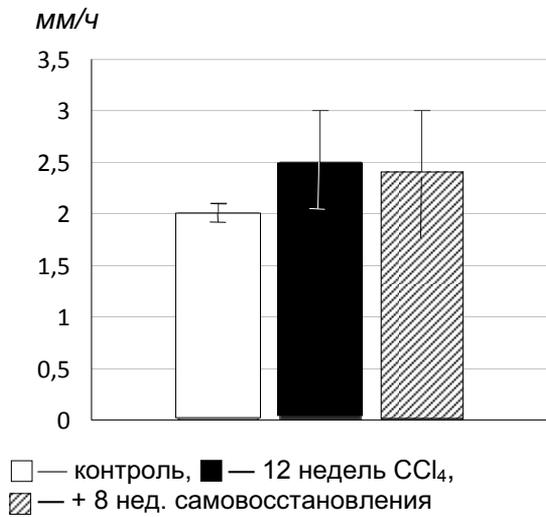


Рис. 4. Изменение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) у мышей контрольной и экспериментальных групп через 12 недель введения CCl₄ и 8 недель самовосстановления.

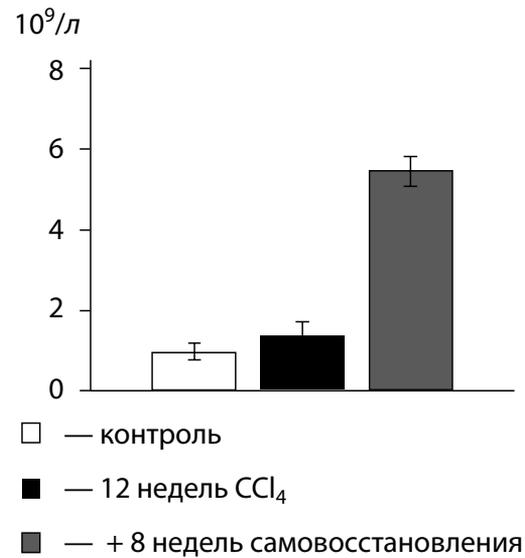


Рис. 5. Изменение количества лейкоцитов у мышей контрольной и экспериментальных групп через 12 недель введения CCl₄ и 8 недель самовосстановления.

**Усредненное описание состояния некоторых внутренних органов мышей, использованных в работе
(контрольных и опытных)**

Группа	Контроль — здоровые животные	«Модель» — системные поражения (после 12-недельного курса инъекций CCl ₄)	«Самовосстановление» (через 3 недели после прекращения курса инъекций CCl ₄)
Печень	Печень коричневого цвета, однородная, гладкая, средней плотности, края острые	Печень бледно-коричневого цвета, увеличена, структура зернистая, плотная, края тупые	Печень бледно-коричневого цвета, увеличена, структура крупнозернистая, плотная, края тупые
Селезенка	Селезенка темно-бордового цвета, правильной формы, средней консистенции, гладкая	Селезенка темно-бордового цвета, увеличена, плотная, шероховатая, с кровоизлияниями	Селезенка темно-бордового цвета, увеличена, плотная, с кровоизлияниями
Легкие	Легкие розового цвета, воздушные, правильной формы	Легкие серовато-коричневого цвета, нормальных размеров, зернисто-пузырчатые	Легкие серо-коричневого цвета, увеличены, пузырьчатые, мягкие по консистенции, деформированы
Желудок, поджелудочная железа, брыжеечные лимфоузлы	Желудок не деформирован, поджелудочная железа нормального размера, брыжеечные лимфоузлы не увеличены	Желудок деформирован с разросшейся поджелудочной железой, брыжеечные лимфоузлы увеличены	Желудок деформирован с разросшейся и часто приросшей поджелудочной железой, брыжеечные лимфоузлы увеличены

ются признаки зернистости, жировой дистрофии гепатоцитов, острой венозной гиперемии, уплотнения и наличие тупых краев. Отмечается уплотнение и наличие острой гиперемии селезенки; увеличение плотности почек, явно выраженная гиперемия и увеличение легких. В группе самовосстановления животных на протяжении 8 недель были отмечены те же изменения органов, характерные для модели, но иногда с меньшей степенью развития изменений (таблица), что говорит о частичном самовосстановлении. Здесь следует иметь в виду, что до окончания эксперимента в группе самовосстановления дожили самые крепкие особи.

Без видимых изменений оставалась только сердечная мышца. Состояние мозга не оценивали.

Гистологическая картина печени модельных мышей (инъекции CCl₄ мышам в течение 12 недель) характеризуется выраженными изменениями общей структуры с наличием мелкоузловой перестройки ткани и незначительно выраженными фиброзными изменениями стромы в виде увеличенного количества коллагеновых волокон в области портальных трактов. Определяется дисконплектация печеночных балок с наличием зон альтерации, гепатоциты теряют полигональную форму, увеличены в размере за счет отека (рис. 6). Цитоплазма гепатоцитов незначительно просветленная за счет мелких вакуолей, преимущественно в центральных участках печеночных долек, что свидетельствует об умеренно выраженной вакуольной и жировой

дистрофии. Ядра печеночных клеток увеличены за счет отека, выглядят просветленными, общее количество ядер уменьшено. Центральные вены, сосуды триад расширены, полнокровны, межбалочные синусоиды неравномерные с зонами сужения и расширения, имеется гиперплазия клеток Купфера. Местами наблюдается выраженная диффузная рассеянная сегментоядерная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы печени (рис 6.)

Моделирование цирроза печени на мышах введением CCl_4 сопровождается поражением и других органов. Паренхима легкого характеризуется утратой нормальной альвеолярной гистоархитектони-

ки с дегенеративными изменениями альвеолярных перегородок и бронхиол. Наблюдается спадание альвеол с уменьшением их просвета, межальвеолярные септы утолщаются за счет клеточной инфильтрации и склероза (рис. 7). Альвеолоциты I и II типа четко не дифференцируются. Эпителий терминальных бронхиол дезорганизован, местами с разрывами, клетки Клара неправильной формы, количество их уменьшено. Просвет терминальных бронхиол редуцирован. Определяются очаги агрегации фибробластов с повышенным коллагенообразованием. Кровенаполнение сосудов неравномерное, в просвете кровеносных сосудов

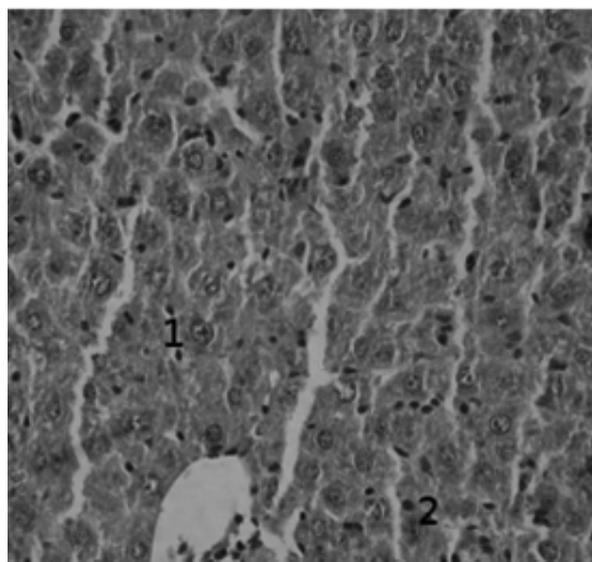
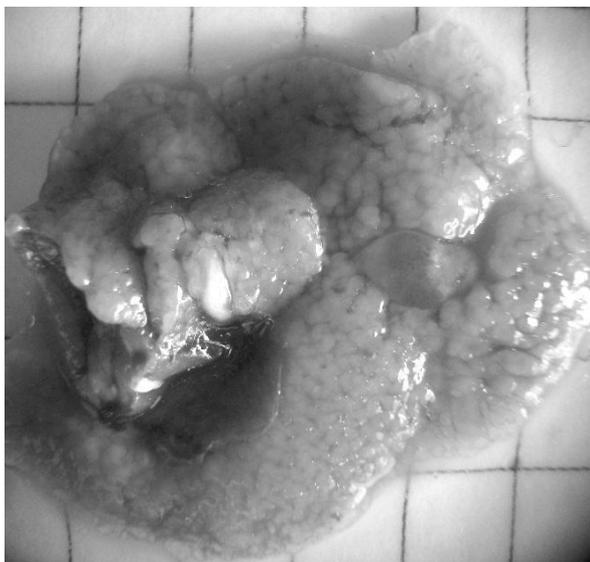


Рис. 6. Общий вид и микрофотография пораженной печени мыши после 12-недельного курса инъекций CCl_4 . 1 — альтеративно-дегенеративные изменения. Дисконплектация печеночных балок. Отек, утрата полигональной формы гепатоцитов. 2 — набухшие ядра гепатоцитов (гематоксилин-эозин, $\times 400$).

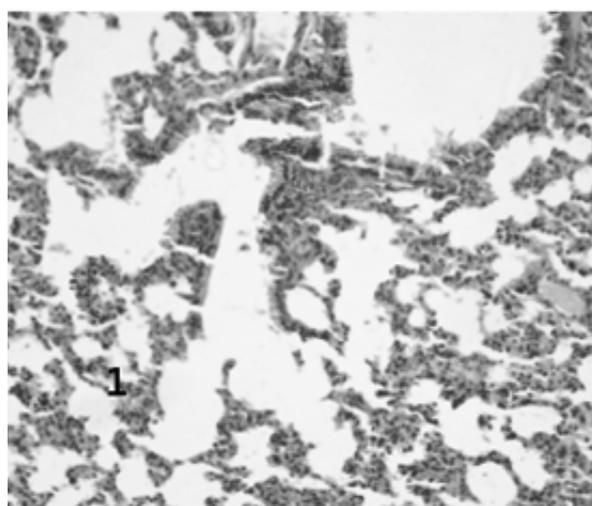


Рис. 7. Общий вид и микрофотография пораженного легкого мыши после 12-недельного курса инъекций CCl_4 . Альтеративно-дегенеративные изменения. Утрата нормальной альвеолярной гистоархитектоники с дегенеративными изменениями альвеолярных перегородок и бронхиол. 1 — спадание альвеол с уменьшением их просвета (гематоксилин-эозин, $\times 200$).

наблюдаются агрегаты форменных элементов крови. Определяется рассеянная сегментоядерная лейкоцитарная инфильтрация.

Паренхима почки модельных животных характеризуется альтеративно-дегенеративными изменениями как кортикального, так и мозгового вещества. Наблюдается чередование участков капиллярного полнокровия с эритроцитарными стазами и очагов слабого кровенаполнения с облитерацией просвета сосудов. Выраженный интерстициальный отек с участками склероза и фиброза (рис. 8). Определяется преимущественно атрофия почечных клубочков, местами расширения пространства Боумана, изредка – очаги некроза и склероза гломерул, диффузная лейкоцитарная инфильтрация коркового и мозгового вещества. Эпителий почечных канальцев находится в состоянии дистрофии и некроза, границы между эпителиоцитами не прослеживаются, ядра уменьшены в размере. Просвет почечных канальцев расширен, в некоторых местах заполнен отслоившимися эпителиоцитами.

Ближе к терминальной стадии, наступает поражение некоторых и других органов, в частности селезенки и поджелудочной железы. Однако, такая картина «статистическая». Индивидуальная же восприимчивость и характер поражений органов у разных животных может различаться очень сильно.

Таким образом, мы наблюдаем гетерогенность в популяции, которая совершенно незаметна в нормальных условиях, но проявляется при глубоком истощении восстановительного потенциала клетки. Такой результат нельзя назвать неожиданным, учитывая тот факт, что линейность мышей контролируется по ограниченному числу генетических маркеров, а восстановительные механизмы клет-

ки – крайне сложная многокомпонентная система с огромным количеством взаимосвязей. Планируя эксперименты с использованием описываемой модели, следует учитывать, что внутри популяции любых линейных животных по реакции на внешнее токсическое воздействие существуют особи, которые слишком слабы, чтобы выдержать нагрузку, которую выдерживает основная масса популяции. Но имеются также и такие, на которые токсический агент действует слабее.

Но такая гетерогенность популяции проявляется только при неблагоприятных воздействиях. В данном эксперименте это был токсический агент, по групповому определению агентов подобного типа – ксенобиотик. Это очень наглядно видно при анализе показателей АЛТ и АСТ (см. рис. 2). У животных контрольной группы эти показатели очень близки и ни на какую гетерогенность не указывают. Столь же сближены располагаются величины коэффициента де Ритиса. На основании этих данных можно сделать вывод об однородности популяции. Но реакция, степень восприимчивости, поражаемости от токсического ксенобиотика, у них оказывается высоко индивидуальной. По АЛТ она достигает почти трехкратной величины и двукратной по коэффициенту де Ритиса. Видно, насколько различается чувствительность/устойчивость разных (в норме, вроде бы идентичных) индивидуумов к внешним факторам.

При длительном самоизлечивании по отдельным показателям происходят изменения, но, как видно из величин коэффициента де Ритиса, восстановления печени не происходит. А изменения отдельных показателей характеризуют два состояния — при непрерывном поступлении в организм

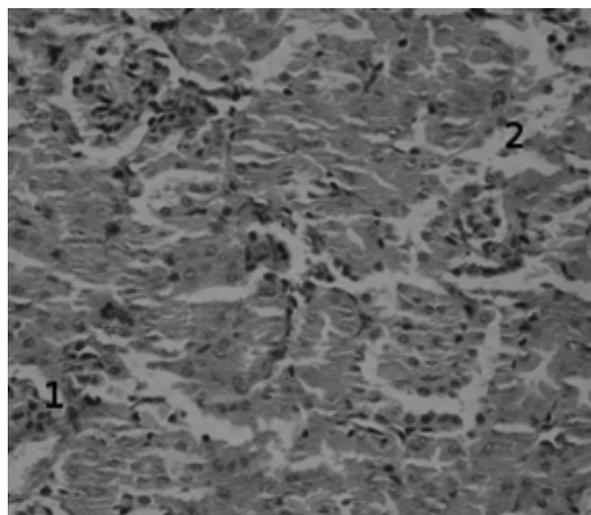
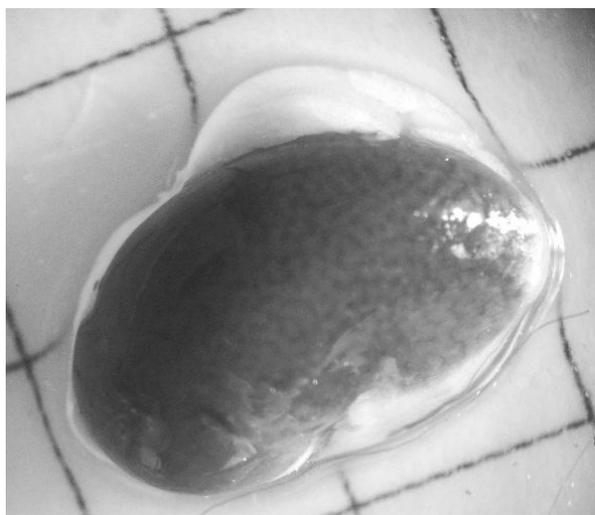


Рис. 8. Общий вид и микрофотография пораженной почки мыши после 12-недельного курса инъекций CCl_4 . Альтеративно-дегенеративные изменения коркового вещества. 1 — атрофия почечных клубочков, местами расширения пространств Боумана. 2 — выраженный интерстициальный отек. (гемаоксилин-эозин, $\times 200$).

токсического агента, и после его прекращения, но в состоянии уже возникшего хронического патологического процесса.

При всей значимости обычных общепринятых методов оценки состояния опытных животных (АЛТ, АСТ, масса органов и др.) они не дают адекватной картины т. к. усреднение при индивидуальной восприимчивости не соответствует реальности.

Такая индивидуальность реакции у разных мышей одной линии, на первый взгляд, может быть крайне странной. Но анализ особенности линейности животных показывает, что иначе и не может быть. Линейность животных (и соответствующая селекция на линейность) проводится по ограниченному числу маркеров. Это генетические (и, соответственно, фенотипические) идентичности по тем свойствам, которые характеризуют линию, а также периодические контрольные тесты на идентичность животных линии по приживляемости пересаженной кожи от одной особи к другой. Кроме того, само размножение идет внутри линии, что предотвращает попадание чужого генетического материала и способствует усреднению всех остальных генов популяции. Но в отношении генетически определяемых процессов, участвующих в каскадах развития системного поражения, такой отбор при селекции на линейность не только не производится, но и не детектируется. В то же время в него вовлечено значительное количество индивидуальных молекулярных, биохимических и сложных комплексных системных процессов. Такие процессы обусловлены как индивидуальными, так и взаимосвязанными событиями, в которых участвуют продукты значительной части генов всего генома. Это хорошо видно из каскадов развития разрушений клетки на рис. 1. Еще более сложно и многогранно последующее системное поражение всего организма.

В разных линиях такой разброс индивидуальных различий может быть разным, но, как таковой, он неизбежен. В то же время в литературе он не обсуждается. Возможно, это объясняется тем, что, во-первых, основные работы по влиянию CCl_4 проводились на крысах и весьма ограниченные на мышах. И почти всегда предметом исследования была печень. Поскольку же цирроз у мышей четыреххлористым углеродом не вызывается, то кроме констатации этого факта и обычной оценки поражений печени, заканчивающихся гибелью животных, исследования не проводились. Имеются работы и по механизму действия CCl_4 , но и они ограничивались ранними стадиями.

А у людей «линейности» нет. Разброс реакций на одно и то же воздействие очень большой. И именно как модель для последующей разработки технологий восстановления, такой разброс будет

приближением к реальности при экстраполяции на человека.

Отличаются между собой по абсолютным величинам и независимые постановки экспериментов. Можно предполагать, что это связано с тем, что в разные сезоны, при погодных изменениях, животные по своим физиологическим, биохимическим и прочим свойствам будут отличаться. Поскольку же у мышей циклы репродукции относительно короткие, то молодняк разных (по времени) пометов будет по физиологическим количественным показателям не идентичен. Анализы органов здоровых животных (контролей к опытам) такое предположение подтверждают. Соответственно норме будут происходить изменения и при патологии. Неидентичность животных разных по времени пометов не может не влиять и на абсолютные величины показателей в опытных вариантах. Но при всех таких отличиях, общая направленность процессов поражения вызываемых CCl_4 , в опытных группах имеет одинаковый характер.

Таким образом, разработанная схема получения системного поражения у мышей за счет длительного введения им четыреххлористого углерода дает хорошую воспроизводимость по общей направленности процесса. Но воспроизводимость требует точного соблюдения схемы эксперимента. При этом следует учитывать, что мыши разных линий могут отличаться по чувствительности к CCl_4 . Единой количественной схемы (доза, интервалы, циклы) для всех линий не может быть. Поэтому и абсолютизированные разработки протоколов не используют. Можно дать только некую базовую схему. Но предварительно целесообразно проверить восприимчивость выбранной линии. Для этого можно взять за основу предлагаемую схему с вариантом большей и вариантом меньшей дозы CCl_4 . А общее время введения CCl_4 выбирается уже под задачу.

Кроме этого, поскольку в описываемой модели достигаются пограничные состояния истощения одновременно нескольких защитных систем организма, имеет место выраженная неоднородность даже линейных животных по их реакции на поражающие факторы индуцируемые CCl_4 . Это приводит к тому, что в опытных группах абсолютные величины показателей поражений разных органов у разных индивидуальных животных могут значительно различаться. Но, несмотря на такие индивидуальные различия статистическая направленность и характер системного поражения, вызываемые CCl_4 , сохраняется. Сложность модели требует наличия всех видов контролей в каждом отдельно запланированном эксперименте. Сравнение (но не качественное, а количественное) разных независимых экспериментов может приводить к некорректным выводам.

Исследования на животных с наследственной предрасположенностью к опухолям позволяют сделать предварительный вывод о том, что наличие генетической предрасположенности к опухолеобразованию существенно не влияет на ее реализацию при системном поражении ксенобиотиками.

Список использованной литературы

1. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients // *Toxicology*.– 2003.– **189**, № 2:– P. 13-27.
2. Brattin W. J., Glende E. A., Recknagel R. O. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity // *J. Free Radic. Biol. Med.*– 1985.– **1**, № 1:– P. 27-38.
3. Constandinou C., Henderson N., Iredale J. P. Modeling liver fibrosis in rodents // *Methods Mol. Med.*– 2005.– **11**.– P. 37-50.
4. Das M., Boerma M., Goree J. R. et al. Pathological changes in pulmonary circulation in carbon tetrachloride (CCl₄)-induced cirrhotic mice // *PLoS One*.– 2014.– **9**, № 4.– P. 43-56.
5. Das M., Fessel J., Tang H., West J. A process-based review of mouse models of pulmonary hypertension // *Pulm Circ.*– 2012.– **2**, № 4.– P. 15-33.
6. Ganie S. A., Haq E., Hamid A. et al. Carbon tetrachloride induced kidney and lung tissue damages and antioxidant activities of the aqueous rhizome extract of *Podophyllum hexandrum* // *BMC Complement Altern. Med.*– 2011.– **11**. – doi: 10.1186/1472-6882-11-17.
7. Geerts A. M., Vanheule E., Praet M. et al. Comparison of three research models of portal hypertension in mice: macroscopic, histological and portal pressure evaluation // *Int. J. Exp. Pathol.*– 2008.– **89**, № 4.– P. 51-63.
8. Kordium V. The concept of “origin” — problem definition and attempt of analysis // *Biopolym. Cell.*– 2013.– **29**, № 5:– P. 28-40.
9. Manibusan M. K., Odin M., Eastmond D. A. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review // *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*– 2007.– **1**, № 1.– P. 32-39.
10. Marques T. G., Chaib E., da Fonseca J.H. Review of experimental models for inducing hepatic cirrhosis by bile duct ligation and carbon tetrachloride injection // *Acta Cir. Bras.*– 2012.– **27**.– P. 589-594.
11. McGregor D., Lang M. Carbon tetrachloride: genetic effects and other modes of action // *Mutat. Res.*– 1996.– **366**, № 3.– P. 81-95.
12. Recknagel R. O., Glende E.A., Dolak J.A., Waller R. L. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity // *Pharmacol. Ther.*– 1989.– **43**, № 1.– P. 39-54.
13. Weber L. W. D., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model // *Crit. Rev. Toxicol.*– 2003.– **33**, № 2.– P. 25-36.

Получено 14.09.2016 г.

МОДЕЛЬ СИСТЕМНОГО УРАЖЕННЯ ОРГАНІЗМУ

Ю. Б. Чайковський, Д. М. Іродов*, М. В. Драгулян*, Т. П. Гулько*, П. В. Бучек*,
А. В. Корсак, А. В. Неверовський, В. А. Кордюм*

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України, 01601 Київ
*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, 03143 Київ

В останні десятиліття основні патології людини прийняли, у своїй більшості, хронічний характер з множинними порушеннями. Сьогодні біологія і медицина вийшли на принципово нові можливості лікування. Найбільш перспективними в цьому плані є технології, що використовують стовбурові клітини і сигнальні молекули. Вони потенційно можуть відновити ті системні ураження організму, які лежать в основі хроніки. Для цього необхідна адекватна і практично реально практично досягнута модель. У статті аналізується один із варіантів створення такої моделі. Як модельні тварин обрані миші, а в якості агента, що викликає системні ураження організму використовується CCl₄. Наведений літературний аналіз показує, що, незважаючи на широко поширену думку про те, що ураження за рахунок CCl₄ добре відпрацьовано, це далеко від дійсності. Кожен дослідник змінює схеми, а загальноприйнятою моделлю ураження CCl₄ є цироз печінки і тільки у щурів. Результати проведених авторами досліджень дозволили розробити методику системного ураження організму мишей з використання CCl₄. Наведено схему такої методики, її граничні умови і наведені вибіркові приклади, що показують наявність і характер системного ураження.

THE MODEL OF SYSTEMIC LESION OF THE ORGANISM

**Yu. B. Chaikovsky, D. M. Irodov*, M. V. Drahulian*, T. P. Gulko*, P. V. Buchek*,
A. V. Korsak, A. V. Neverovskiy, V. A. Kordium***

A. A. Bogomolets National Medical University Ministry of Health Ukraine, 01601 Kyiv
*Institute of Molecular Biology and Genetics National Academy of Sciences Ukraine, 03143 Kyiv

In recent decades most major human pathologies have assumed a chronic course with multiple disorders. Modern biology and medicine have come to conceptually new treatment possibilities. The technologies, using stem cells and signaling molecules, are the most promising trends in this respect. They have the potential of restoring systemic lesions, which are the basis of chronicity. It requires an adequate and practically implementable and achievable model. The article presents the analysis of one of the variants of elaborating the mentioned model. Mice were selected as model animals and CCl_4 was used as an agent, causing systemic lesions. The presented analysis of scientific literature demonstrates that, regardless of a common opinion that lesions due to CCl_4 are well-tried and tested, it is far from being true. Each investigator changes schemes, and the common model of the lesion due to CCl_4 is only hepatic cirrhosis and only in rats. The results of studies, conducted by the authors, allowed elaborating the methodology of systematic lesion of mice using CCl_4 . The scheme of the mentioned methodology is presented, the boundary conditions are indicated and the selected examples are shown to demonstrate the presence and character of a systemic lesion.