New Day in Medicine
Новый День в Медицине
NDM

TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal









AVICENNA-MED.UZ

ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

10 (96) 2026

Сопредседатели редакционной коллегии:

Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ

Ред. коллегия:
М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
М.А. АБДУЛЛАЕВА
Х.А. АБДУМАДЖИДОВ
Б.З. АБДУСАМАТОВ
У.О. АБИДОВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
С.М. АХМЕДОВА
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Д.Т. АШУРОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.А. ДЖАЛИЛОВ
Н.Н. ЗОЛОТОВА
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
А.С. ИЛЬЯСОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
А.М. МАННАНОВ
И.Ю. МАМАТОВА
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
М.Р. МИРЗОЕВА
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Ф.С. ОРИПОВ
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОЕВ
С.А.ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Ш.Т. САЛИМОВ
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
Б.Б. ХАСАНОВ
Д.А. ХАСАНОВА
Б.З. ХАМДАМОВ
Э.Б. ХАККУЛОВ
Г.С. ХОДЖИЕВА
Г.У. НУРОВА
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
Ш.Ш. ЯРИКУЛОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
С.Н ГУСЕЙНОВА (Азарбайджан)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV(Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН
НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ
NEW DAY IN MEDICINE

Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал

УЧРЕДИТЕЛИ:

БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)

Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)

А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)

Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)

Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)

У.К. КАЮМОВ (Тошкент)

Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)

А.А. НОСИРОВ (Ташкент)

А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)

Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)

Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

10 (96)

www.bsmi.uz
https://newdaymedicine.com
E: ndmuz@mail.ru
Тел: +99890 8061882

2026
Октябрь

Received: 20.09.2026, Accepted: 06.10.2026, Published: 10.10.2026

УДК 616.441+616.37]-091.8:616.153.922-092.9-053

ХОЛЕСТЕРИНОВАЯ МОДЕЛЬ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА: МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОМПЛЕКСНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЩИТОВИДНОЙ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЁЗ

Хамедова Фируза Саидовна https://orcid.org/0009-0008-8744-4953
Султонова Лола Жаҳонқуловна https://orcid.org/0009-0007-1765-7286

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сины, Узбекистан, г. Бухара, ул. А. Навои. 1 Тел: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Резюме***

Воспроизводимость экспериментальных морфологических исследований при гиперлипидемии ограничена различиями в моделях, возрастных критериях, морфометрических показателях и статистическом анализе. Цель – обосновать и представить стандартизированный протокол комплексной морфологической оценки щитовидной (ЩЖ) и поджелудочной (ПЖ) желёз у крыс разного возраста при холестерин-индуцированной гиперлипидемии. Протокол построен по факторному плану 2×2 («возраст × диета»): 4 подгруппы белых беспородных крыс-самцов (n=10–12; N=40–48) в возрасте 5 и 18 месяцев на момент эвтаназии, что по шкале Sengupta соответствует ~15–17 и ~45 годам человека. Гиперлипидемию моделируют внутрижелудочным введением холестерина в подсолнечном масле (1,5 г/кг/сут, 60 сут); контрольные животные получают масло в том же объёме. Протокол включает липидный спектр в динамике (0, 30, 60 сут), гистологию (гематоксилин-эозин, ван Гизон), слепую полуколичественную оценку по шкале 0–3, морфометрию (диаметр фолликулов, высота тиреоцитов, индекс накопления коллоида, площадь и плотность островков Лангерганса, доля вакуолизированных ацинусов) и трёхблочную иммуногистохимическую панель (тиреоглобулин, инсулин, глюкагон; каспаза-3, Ki-67, Bcl-2/Bax; CD31/CD34, виментин, TNF-α/IL-6). Анализ литературы показал, что у крыс, в плазме которых ~60% холестерина переносят ЛПВП, 2% холестериновая диета повышает общий холестерин лишь в 1,4–1,8 раза, что требует обязательной биохимической верификации модели. Расчёт мощности: при n=12 выявляется эффект d=1,2 с мощностью 80%, главный эффект диеты (24 против 24) при d=0,8 – с мощностью 77%. Протокол соответствует требованиям ARRIVE 2.0 и может служить основой для сравнимых возрастных исследований эндокринных органов при дислипидемии.

Ключевые слова: гиперлипидемия, холестериновая модель, крысы, возраст, щитовидная железа, поджелудочная железа, морфометрия, иммуногистохимия, дизайн эксперимента, ARRIVE 2.0.

ТУРЛИ ЁШДАГИ КАЛАМУШЛАРДА ГИПЕРЛИПИДЕМИЯНИНГ ХОЛЕСТЕРИН МОДЕЛИ: ҚАЛҚОНСИМОН ВА ОШҚОЗОН ОСТИ БЕЗЛАРИНИ КОМПЛЕКС МОРФОЛОГИК БАҲОЛАШНИНГ МЕТОДОЛОГИК АСОСЛАРИ

Хамедова Фируза Саидовна, Султонова Лола Жаҳонқуловна

Абу али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институти Ўзбекистон, Бухоро ш., А.Навоий кўчаси. 1 Тел: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Резюме***

Гиперлипидемия бўйича экспериментал морфологик тадқиқотлар натижаларининг такрорланувчанлиги моделлар, ёш мезонлари, морфометрик кўрсаткичлар ва статистик таҳлилдаги фарқлар сабабли чекланган. Мақсад – холестерин билан чақирилган гиперлипидемияда турли ёшдаги каламушларнинг қалқонсимон (ҚСБ) ва ошқозон ости

(ООБ) безларини комплекс морфологик баҳолашнинг стандартлаштирилган протоколини асослаш. Протокол 2×2 омилли режага («ёш × парҳез») асосланган: эвтаназия пайтида 5 ва 18 ойлик оқ зотсиз эркак каламушларнинг 4 кичик гуруҳи (n=10–12; N=40–48); Сенгупта шкаласига кўра бу одамнинг ~15–17 ва ~45 ёшига тўғри келади. Гиперлипидемия кунгабоқар ёғидаги холестеринни зонд орқали (1,5 г/кг/сут, 60 кун) юбориш билан чақирилади; назорат ҳайвонлари шу ҳажмдаги ёғни олади. Протокол липид спектрини динамикада (0, 30, 60-кун), гистология (гематоксилин-эозин, ван Гизон), 0–3 шкала бўйича «кўр» ярим миқдорий баҳолаш, морфометрия ва уч блокли иммуногистокимёвий панелни (тиреоглобулин, инсулин, глюкагон; каспаза-3, Ки-67, Бсл-2/Бах; СД31/СД34, виментин, ТНФ-α/ИЛ-6) ўз ичига олади. Адабиётлар таҳлилига кўра, плазма холестерининг ~60% и ЙЗЛП таркибида бўлган каламушларда 2% холестеринли парҳез умумий холестеринни атиги 1,4–1,8 марта оширади; бу моделни биокимёвий тасдиқлашни мажбурий қилади. Қувват таҳлили: n=12 да d=1,2 таъсир 80% қувват билан, парҳезнинг асосий таъсири (24 га қарши 24) d=0,8 да 77% қувват билан аниқланади. Протокол ARRIVE 2.0 талабларига мос келади.

Калит сўзлар: гиперлипидемия, холестерин модели, каламушлар, ёш, қалқонсимон без, ошқозон ости бези, морфометрия, иммуногистокимё, эксперимент дизайни, ARRIVE 2.0.

CHOLESTEROL-INDUCED HYPERLIPIDEMIA IN RATS OF DIFFERENT AGES: A METHODOLOGICAL FRAMEWORK FOR COMPREHENSIVE MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE THYROID GLAND AND PANCREAS

Khamedova Firuza Saidovna, Sultonova Lola Jahonqulovna

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina, Uzbekistan, Bukhara, st. A. Navoi.
1 Tel: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ ***Resume***

The reproducibility of experimental morphological studies of hyperlipidemia is limited by differences in models, age criteria, morphometric indices and statistical analysis. The aim was to substantiate a standardized protocol for the comprehensive morphological assessment of the thyroid gland and pancreas in rats of different ages with cholesterol-induced hyperlipidemia. The protocol follows a 2×2 factorial design (age × diet): four subgroups of outbred male albino rats (n=10–12; N=40–48) aged 5 and 18 months at euthanasia, corresponding to ~15–17 and ~45 human years on the Sengupta scale. Hyperlipidemia is induced by intragastric cholesterol in sunflower oil (1.5 g/kg/day for 60 days); controls receive the same volume of oil. The protocol includes serial lipid profiling (days 0, 30, 60), histology (hematoxylin-eosin, van Gieson), blinded semi-quantitative scoring (0–3), morphometry (follicle diameter, thyrocyte height, colloid accumulation index, islet area and density, proportion of vacuolated acini) and a three-block immunohistochemical panel (thyroglobulin, insulin, glucagon; caspase-3, Ki-67, Bcl-2/Bax; CD31/CD34, vimentin, TNF-α/IL-6). Literature analysis shows that in rats, whose plasma cholesterol is ~60% HDL-bound, a 2% cholesterol diet raises total cholesterol only 1.4–1.8-fold, making biochemical verification of the model mandatory. Power analysis: n=12 detects d=1.2 with 80% power, and the main diet effect (24 vs 24) at d=0.8 with 77% power. The protocol complies with ARRIVE 2.0 and may serve as a basis for comparable age-related studies of endocrine organs in dyslipidemia.

Keywords: hyperlipidemia, cholesterol model, rats, age, thyroid gland, pancreas, morphometry, immunohistochemistry, experimental design, ARRIVE 2.0.

Актуальность

Гиперлипидемия остаётся одним из ведущих модифицируемых факторов риска: в 2017 г. с высоким уровнем холестерина не-ЛПВП было связано 3,9 млн смертей, причём половина из них пришлась на страны Азии [1]; в 2021 г. с повышенным ХС-ЛПНП ассоциировано 3,7 млн сердечно-сосудистых смертей и 87,7 млн DALY, а абсолютное число смертей с 1990 г. выросло на 48,7% преимущественно за счёт старения населения [2]. Помимо сосудистого русла, избыточный холестерин оказывает прямое цитотоксическое действие на паренхиматозные клетки через стресс эндоплазматического ретикулума, митохондриальную дисфункцию и

воспаление [3]. Мишенями этого действия являются и эндокринные органы, регулирующие обмен веществ: щитовидная железа (ЩЖ), функция которой тесно сопряжена с липидным обменом [4, 5], и поджелудочная железа (ПЖ), β-клетки которой чувствительны к накоплению холестерина [6].

Экспериментальные данные о влиянии гиперлипидемии на морфологию этих органов противоречивы, что в значительной мере объясняется методологической неоднородностью исследований: применяются разные диеты (жировые, холестериновые, комбинированные), сроки (от 4 до 24 недель), виды и линии животных, критерии возраста и морфометрические индексы [7–9]. Возраст как самостоятельный фактор изучен лишь в единичных работах, при этом реакция органов оказалась разнонаправленной: у молодых крыс изменения ЩЖ при высококалорийной диете выражены сильнее, чем у старых [9], тогда как в ПЖ возраст определяет 41,5–78,3% дисперсии деструктивных изменений [10]. Сопоставление таких данных затруднено отсутствием единого протокола.

Дополнительную сложность создают видовые особенности крыс. В плазме крыс ~60% холестерина переносится ЛПВП, поэтому они относительно устойчивы к алиментарной гиперхолестеринемии и слабо реагируют даже на высокие дозы экзогенного холестерина [11, 12]. Классическая модель Н.Н. Аничкова была разработана на кроликах [13]; её перенос на крыс требует модификации и обязательной биохимической верификации. Наконец, требования к отчётности о доклинических исследованиях (ARRIVE 2.0) предполагают явное описание дизайна, рандомизации, ослепления, расчёта объёма выборки и статистического плана [14].

Цель исследования: обосновать и представить стандартизированный протокол комплексной морфологической оценки щитовидной и поджелудочной желёз у крыс разного возраста при холестерин-индуцированной гиперлипидемии, включающий дизайн эксперимента, модель, морфометрические и иммуногистохимические критерии и статистический план.

Материал и метод

Обоснование протокола выполнено на основе анализа публикаций 2015–2026 гг. в базах PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, Google Scholar и eLIBRARY, посвящённых моделям гиперхолестеринемии у крыс, возрастной морфологии ЩЖ и ПЖ, принципам полуколичественной и цифровой гистологической оценки. Эквивалентность возраста крыс и человека рассчитывали по шкале P. Sengupta (2013) [15]. Мощность статистических критериев вычисляли по нецентральному t-распределению (двусторонний α=0,05) в среде Python 3 (SciPy); результаты продублированы в редактируемом файле MS Excel. Все количественные данные литературы приведены с указанием первоисточника.

1. Дизайн исследования и этические аспекты

Исследование спланировано как проспективный контролируемый эксперимент с факторным планом 2×2: фактор «возраст» (молодые и старшие животные) × фактор «диета» (холестериновая нагрузка и контроль). Такой план позволяет в рамках одного эксперимента оценить главный эффект гиперлипидемии, главный эффект возраста и – что принципиально – их взаимодействие, т.е. ответить на вопрос, зависит ли реакция органа на холестериновую нагрузку от возраста. Обе железы исследуются одновременно у одних и тех же животных, что позволяет сравнивать органоспецифичность ответа без межэкспериментальной вариабельности.

Исследование выполняется в соответствии с Директивой 2010/63/EU [16] и рекомендациями ARRIVE 2.0 [14]; протокол подлежит одобрению локальным этическим комитетом с указанием номера и даты решения. Число животных определяется минимально необходимым для достижения статистической мощности (принцип 3R). Все морфологические, морфометрические и иммуногистохимические оценки проводятся «вслепую» – исследователем, не осведомлённым о групповой принадлежности препаратов (кодирование слайдов).

2. Экспериментальные животные и обоснование возрастных групп

Используются белые беспородные крысы-самцы (исключение влияния эстрального цикла). Животных содержат в стандартных условиях вивария (естественный световой режим, температура 20–24 °C, относительная влажность 50–60%, свободный доступ к воде и стандартному корму) после 7–10-дневной адаптации. Распределение по подгруппам – рандомизированное (таблица случайных чисел или генератор случайных чисел) с последующей проверкой отсутствия исходных различий массы тела. Структура групп представлена в табл. 1.

Выбор возрастных точек обоснован шкалой возрастной эквивалентности P. Sengupta: крысы достигают половой зрелости к 6 неделям, социальной – к 5–6 месяцам, а во взрослом периоде один месяц жизни крысы соответствует приблизительно трём годам жизни человека; возрасту 6, 12, 18 и

24 мес соответствуют 18, 30, 45 и 60 лет человека [15] (рис. 1, табл. 2). Таким образом, животные в возрасте 5 мес отражают молодой взрослый организм с максимальным регенераторным потенциалом, а в возрасте 18 мес – период начала инволюции (~45 лет человека), когда уже выявляются возрастные изменения фолликулов ЩЖ [17], снижение пролиферации β-клеток [18] и нарастание стеатоза ПЖ [19, 20]. Для характеристики глубокого старения (≥60 лет человека) потребовались бы крысы в возрасте ≥24 мес.

Таблица 1 Структура экспериментальных групп (факторный план 2×2)

Подгруппа	Возраст на начало / в конце эксперимента	Воздействие (60 сут)	n
К-5 (контроль, молодые)	3 / 5 мес	Подсолнечное масло в эквивалентном объёме	10–12
К-18 (контроль, старшие)	16 / 18 мес	Подсолнечное масло в эквивалентном объёме	10–12
ГЛ-5 (гиперлипидемия, молодые)	3 / 5 мес	Холестерин 1,5 г/кг/сут в масле, внутрижелудочно	10–12
ГЛ-18 (гиперлипидемия, старшие)	16 / 18 мес	Холестерин 1,5 г/кг/сут в масле, внутрижелудочно	10–12

Примечание: К – контроль; ГЛ – гиперлипидемия; итого N=40–48 животных

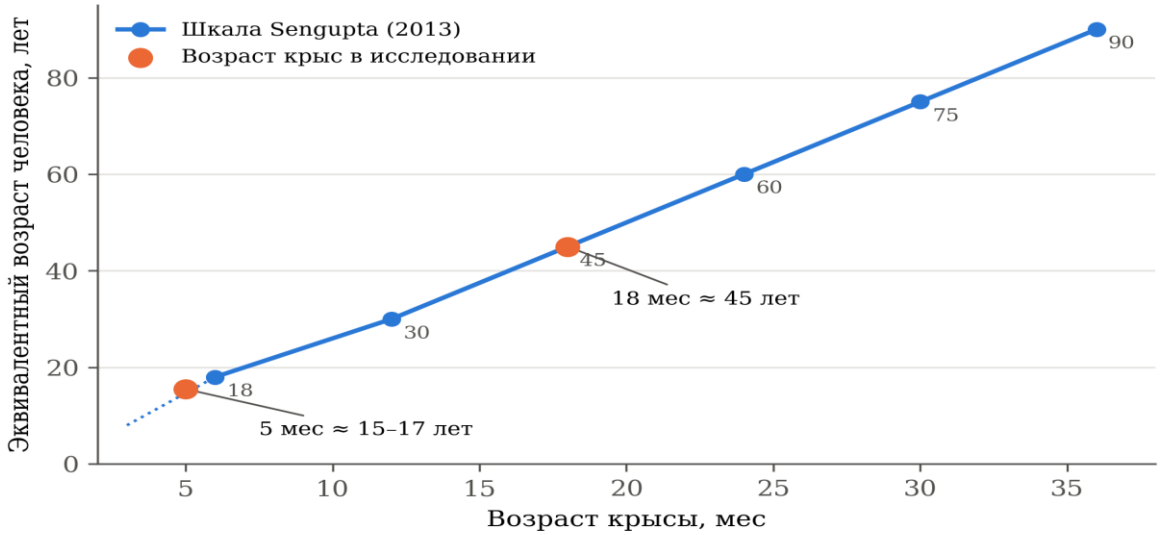


Рис 1 Соотношение возраста крысы и человека по шкале Sengupta (2013) [15] и возрастные точки протокола (значение для 5 мес получено экстраполяцией)

Таблица 2 Возрастная эквивалентность крыс и человека по данным Sengupta (2013)

Возраст крысы	Возраст человека	Биологический период	Значение для протокола
6 нед	~11–12 лет	Половое созревание	–
5–6 мес	~15–18 лет	Социальная зрелость, молодой взрослый	Подгруппы К-5 и ГЛ-5
12 мес	30 лет	Зрелый взрослый	–
18 мес	45 лет	Начало инволюции	Подгруппы К-18 и ГЛ-18
24 мес	60 лет	Старение	Рекомендуется для дальнейших исследований
30–36 мес	75–90 лет	Глубокое старение	–

Примечание: во взрослом периоде 1 сут жизни крысы ≈ 34,8 сут жизни человека; средняя продолжительность жизни лабораторных крыс – около 3 лет [15]

3. Модель холестерин-индуцированной гиперлипидемии

Гиперлипидемию моделируют модифицированным алиментарным методом по Н.Н. Аничкову [13]: холестерин, растворённый в подсолнечном масле, вводят ежедневно в одно и то же время внутрижелудочно через зонд в дозе 1,5 г/кг массы тела в сутки на протяжении 60 сут; дозу еженедельно корректируют по массе тела. Животные контрольных подгрупп получают подсолнечное масло в том же объёме, что исключает самостоятельное влияние масла как источника жирных кислот и калорий. Для повышения всасывания холестерина в ряде модификаций используют добавление желчных кислот (холат натрия 0,25–0,5%); применение этого компонента, если оно предусмотрено, должно быть явно указано. Принципиально важно, что протокол не предусматривает тиреостатиков (пропилтиоурацил, мерказолил), которые часто используют для потенцирования гиперхолестеринемии у крыс: они непосредственно изменяют морфологию ЩЖ и сделали бы невозможной оценку её собственной реакции на холестерин. Хронология эксперимента представлена на рис. 2.

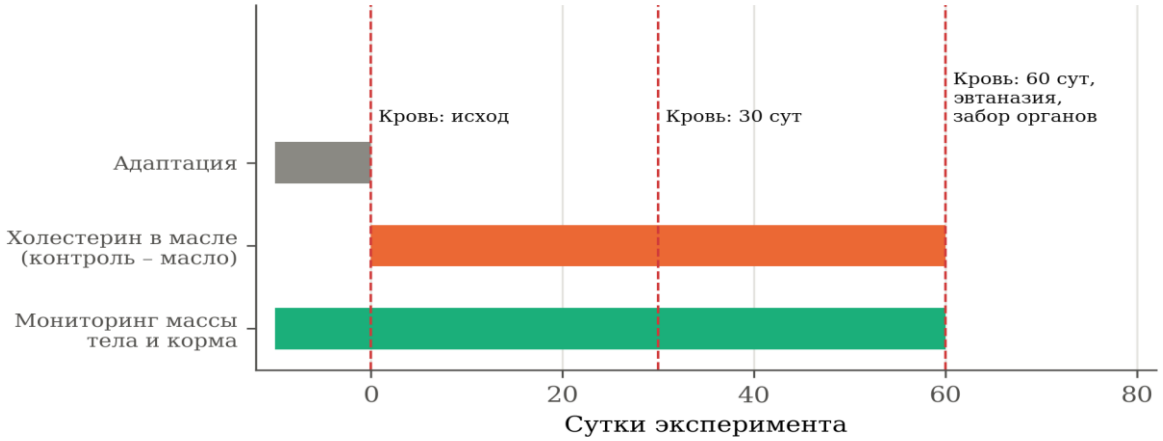


Рис. 2. Хронология эксперимента: адаптация, 60-суточная холестериновая нагрузка, точки забора крови (0, 30 и 60 сут) и эвтаназии

Анализ литературы (табл. 3, рис. 3) показывает, что ответ крыс на холестериновую нагрузку умерен и вариабелен. При 2% холестериновой диете без желчных кислот в течение 94 сут общий холестерин повышался в 1,8 раза, ХС-ЛПНП – в 2 раза, триглицериды – в ~5 раз, а ХС-ЛПВП снижался в 1,3 раза [21].

Таблица 3 Сравнительная характеристика моделей гиперхолестеринемии у крыс по данным литературы

Источник	Модель	Длительность	Основной результат
Csonka и соавт., 2017 [22]	Вистар ♂; 2% ХС + 0,25% холат натрия в корме	12 нед	ОХС ×1,42; ТГ без изменений; стеатоз печени; ПЖ без изменений
Sidorova и соавт., 2024 [21]	Вистар ♂; 1–2% ХС в полусинтетическом рационе	94 сут	2% ХС: ОХС ×1,8; ЛПНП ×2; ЛПВП ↓1,3 раза; ТГ ×5; ХС печени> ×6
Titov и соавт., 2017 [11]	Крысы; ХС 2,5 г/сут	2 мес	Достоверного роста ОХС и ТГ нет; ↑ХС-ЛПОНП
Madariaga и соавт., 2015 [23]	Вистар; липидная или сахарозная диета	3 мес	Стойкая гиперлипидемия не сформирована
Настоящий протокол	Беспородные ♂ 3 и 16 мес; ХС 1,5 г/кг/сут в масле, зонд	60 сут	Верификация: ОХС, ЛПНП, ЛПВП, ТГ на 0-е, 30-е и 60-е сутки

Примечание: ОХС – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ХС – холестерин; ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

При 2% холестерине с 0,25% холатом натрия в течение 12 нед общий холестерин вырос лишь с 2,89±0,22 до 4,09±0,20 ммоль/л (в 1,42 раза) без изменения триглицеридов; при этом развился стеатоз печени, но морфология ПЖ не изменилась [22]. В ряде работ диетические модели у крыс Вистар вообще не обеспечили стойкой гиперлипидемии [23], а введение 2,5 г холестерина в сутки в течение 2 мес не привело к достоверному повышению общего холестерина и триглицеридов [11]. Отсюда следует ключевое требование протокола: модель считается сформированной только при статистически значимом повышении общего холестерина и ХС-ЛПНП (и/или индекса атерогенности) в опытных подгруппах по сравнению с контролем на 30-е и 60-е сутки.

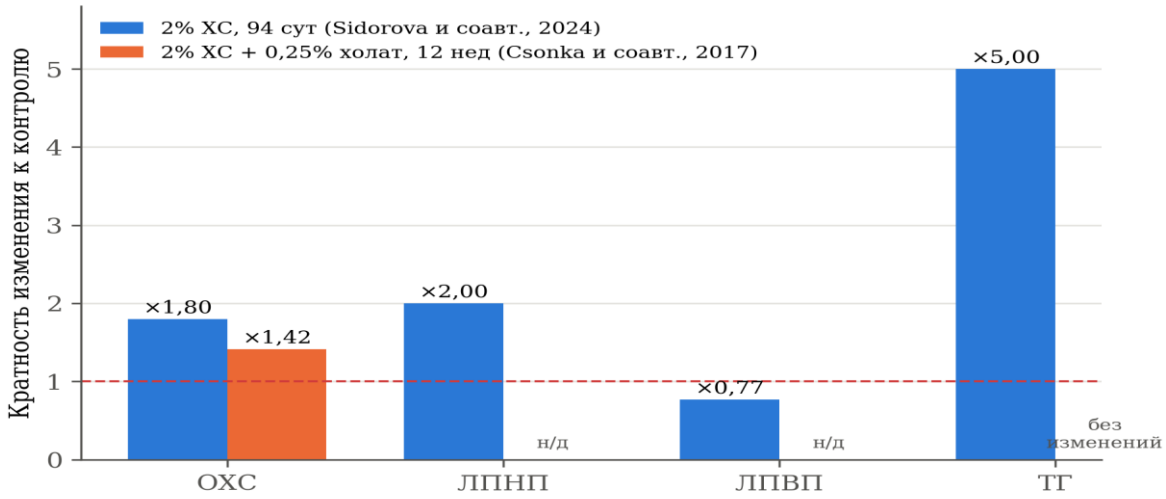


Рис 3 Кратность изменения липидных показателей сыворотки крови крыс при холестериновых диетах по данным литературы [21, 22] (красная линия – уровень контроля; н/д – нет данных)

4. Биохимическая верификация модели

Кровь забирают натощак в исходном состоянии, на 30-е и 60-е сутки (промежуточные пробы – из хвостовой вены, конечная – при эвтаназии). В сыворотке ферментативно-колориметрическими методами на автоматическом биохимическом анализаторе определяют общий холестерин, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и триглицериды. Индекс атерогенности рассчитывают, как (ОХС − ХС-ЛПВП)/ХС-ЛПВП. Поскольку формула Фридвальда [24] валидирована для человека и может давать систематическую погрешность у крыс с их ЛПВП-доминантным профилем [11], предпочтительно прямое определение ХС-ЛПНП; при расчётном методе это оговаривается. Для функциональной интерпретации морфологических данных определяют гормональный профиль методом ИФА с использованием наборов, валидированных для крыс: ТТГ, свободные Т4 и Т3 – для ЩЖ; инсулин, С-пептид и глюкагон, а также глюкозу натощак с расчётом индекса HOMA-IR – для ПЖ.

5. Забор и гистологическая обработка материала

По окончании эксперимента животных выводят из опыта под глубоким наркозом с последующей декапитацией и немедленной аутопсией. Щитовидную железу извлекают целиком (обе доли), поджелудочную – с разделением на головку, тело и хвост; органы взвешивают для расчёта относительной массы (мг/100 г массы тела) и описывают макроскопически. Материал фиксируют в 10% нейтральном забуференном формалине (объём ≥10-кратный, 24–48 ч), обезвоживают в спиртах восходящей концентрации (70%, 80%, 96%, абсолютный), просветляют в ксилоле и заливают в парафин. Изготавливают срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивают гематоксилином и эозином (обзорная оценка) и по ван Гизону (соединительная ткань, фиброз, артериолосклероз). Для каждого органа оценивают центральные и периферические отделы (ЩЖ) и все три отдела (ПЖ), что снижает ошибку, связанную с зональной неоднородностью: в ЩЖ крыс периферические фолликулы в норме крупнее центральных [9, 17].

6. Полуколичественная и морфометрическая оценка

Полуколичественная оценка проводится по 4-балльной шкале (0 – признак отсутствует; 1 – слабо выражен; 2 – умеренно выражен; 3 – резко выражен) в соответствии с принципами валидной

гистопатологической оценки: заранее определённые критерии для каждого балла, ослепление, калибровка на эталонных препаратах, оценка внутри- и межисследовательской согласованности (каппа Коэна) [25, 26]. Критерии приведены в табл. 4.

Таблица 4 Критерии полуколичественной оценки морфологических изменений (шкала 0–3)

Орган	Оцениваемый признак	Критерий балла
ЩЖ	Изменение формы и размеров фолликулов	Доля деформированных/кистозно расширенных или микрофолликулов: 0 – <5%; 1 – 5–25%; 2 – 26–50%; 3 – >50%
ЩЖ	Тип тироэпителия	Преобладание уплощённого или призматического эпителия (с указанием направления – гипо- или гиперфункция)
ЩЖ	Застой коллоида / резорбция	Плотный гомогенный коллоид без вакуолей или, напротив, выраженная резорбция
ЩЖ	Интерфолликулярный фиброз, артериолосклероз	Толщина и распространённость коллагеновых волокон (ван Гизон)
ПЖ	Стеатоз ацинарных клеток	Доля ацинусов с жировой вакуолизацией: 0 – <5%; 1 – 5–25%; 2 – 26–50%; 3 – >50%
ПЖ	Липоматоз интерстиция	Доля площади жировой ткани в поле зрения
ПЖ	Перидуктальный и междольковый фиброз	Распространённость фиброза (ван Гизон)
ПЖ	Изменения островков	Неровность контуров, атрофия, гиалиноз островков

Примечание: пороги по доле структур даны как рекомендуемые; все пороги фиксируются до начала оценки

Морфометрию выполняют на цифровых микрофотографиях, полученных при одинаковых освещении, балансе белого и увеличении, в программах ImageJ/Fiji [27] или QuPath [28] после калибровки масштаба. Для каждого животного анализируют не менее 5–10 случайно выбранных полей зрения; единицей статистического анализа является животное (среднее по полям), а не отдельное поле или фолликул, что исключает псевдорепликацию. Перечень показателей и расчётные формулы приведены в табл. 5; корректность формул индексов проверена на опубликованных данных [9].

Таблица 5 Морфометрические показатели протокола и их расчёт

Показатель	Расчёт / способ измерения	Интерпретация
Диаметр фолликула (наружный, внутренний), мкм	Среднее двух перпендикулярных диаметров; ≥50 фолликулов на животное	Размер структурно-функциональной единицы
Высота тиреоцитов (h), мкм	По перпендикуляру к базальной мембране, ≥100 клеток	↑ – активация; ↓ – гипофункция
Индекс накопления коллоида (ИНК)	Dвн / (2 × h)	↑ – накопление, ↓ – резорбция коллоида
Фолликулярно-коллоидный индекс	Площадь эпителия / площадь коллоида	↑ – преобладание эпителиального компонента
Площадь островков Лангерганса, мкм²	Обводка контура всех островков в срезе	Состояние эндокринного аппарата
Плотность островков, на 1 мм²	Число островков / площадь паренхимы	Количественная оценка эндокринной части
Доля вакуолизированных ацинусов, %	Число ацинусов с вакуолями / общее число × 100	Степень стеатоза ацинарных клеток
Доля жировой и соединительной ткани, %	Пороговая сегментация площади	Липоматоз и фиброз ПЖ; фиброз ЩЖ

Примечание: Dвн – внутренний диаметр фолликула; для проверки: при Dвн=29,6 мкм и h=11,2 мкм ИНК=1,32, что совпадает с опубликованным значением [9]

7. Иммуногистохимическая панель

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводится на парафиновых срезах по стандартному протоколу: депарафинизация, тепловая демаскировка антигенов, блокирование эндогенной пероксидазы и неспецифического связывания, инкубация с первичными антителами, полимерная пероксидазная система детекции, визуализация диаминобензидином (DAB), докрашивание гематоксилином Майера. В каждой серии используются положительный и отрицательный (без первичных антител) контроли. Первичные антитела выбирают с подтверждённой производителем реактивностью в отношении тканей крысы; при использовании мышиных моноклональных антител на тканях крысы применяются системы детекции, исключающие перекрёстное связывание с эндогенными иммуноглобулинами. Панель построена по трём функциональным блокам (табл. 6).

Таблица 6 Трёхблочная иммуногистохимическая панель и способы оценки

Блок	Маркер	Процесс	Способ оценки
I. Секреторная функция	Тиреоглобулин	Гормонсинтетическая функция фолликулов ЩЖ	Интенсивность и доля позитивного коллоида/эпителия (H-score)
	Инсулин / глюкагон	Сохранность β- и α-клеток, их соотношение	Доля позитивной площади островка; отношение β/α
II. Гибель и выживание клеток	Каспаза-3 (расщеплённая)	Апоптоз тиреоцитов и панкреатоцитов	Индекс позитивных клеток, %
	Ki-67	Пролиферация, регенераторный потенциал	Индекс позитивных ядер, %
	Bcl-2 / Bax	Баланс анти- и проапоптотических сигналов	H-score; отношение Bcl-2/Bax
III. Метаболический стресс и фиброз	CD31 / CD34	Микроциркуляторное русло	Плотность микрососудов (на 1 мм²)
	Виментин	Мезенхимальная трансформация, ранний фиброз	Доля позитивной площади, %
	TNF-α / IL-6	«Метаболическое» воспаление	H-score

Примечание: H-score = Σ (i × Pi), где i – интенсивность (0–3), Pi – доля клеток с данной интенсивностью (%); диапазон 0–300

8. Статистический план и обоснование объёма выборки

Данные представляют как M±m, а также медиану и межквартильный размах для порядковых шкал; обязательно приводят размер эффекта и 95% доверительный интервал. Нормальность распределения проверяют критерием Шапиро–Уилка, однородность дисперсий – критерием Левена. Основной метод – двухфакторный дисперсионный анализ («возраст × диета») с оценкой взаимодействия и апостериорными сравнениями с поправкой Холма–Бонферрони; при несоблюдении условий – логарифмическое преобразование или непараметрические аналоги (U-критерий Манна–Уитни, критерий Краскела–Уоллиса). Полуколичественные баллы анализируют только непараметрическими методами. Связь липидных показателей с морфометрическими и ИГХ-параметрами оценивают коэффициентами корреляции Пирсона или Спирмена с поправкой на множественные сравнения (FDR). Уровень значимости $p<0,05$.

Объём выборки обоснован расчётом мощности (рис. 4, табл. 7). При n=12 в подгруппе парное сравнение выявляет эффект d=1,2 с мощностью 80%, а эффект d=1,0 – с мощностью 65%; для d=1,0 требуется 17 животных. Преимущество факторного плана в том, что главный эффект диеты оценивается по всем животным (24 против 24), и эффект d=0,8 выявляется с мощностью 77%. Взаимодействие «возраст × диета» требует более крупных эффектов (при n=12 мощность 72% для d=1,5); однако по опубликованным данным возрастное различие в

ответе ЩЖ на высококалорийную диету очень велико: для площади фолликулов оно составляет около 4,0 стандартного отклонения [9], что при n=12 обеспечивает мощность, близкую к 100%. По методу ресурсного уравнения E = N − k = 44 при N=48 и k=4 [29], т.е. выше рекомендуемого диапазона 10–20; однако этот метод не учитывает множественности конечных точек и оценки взаимодействия, поэтому решающим является расчёт мощности.

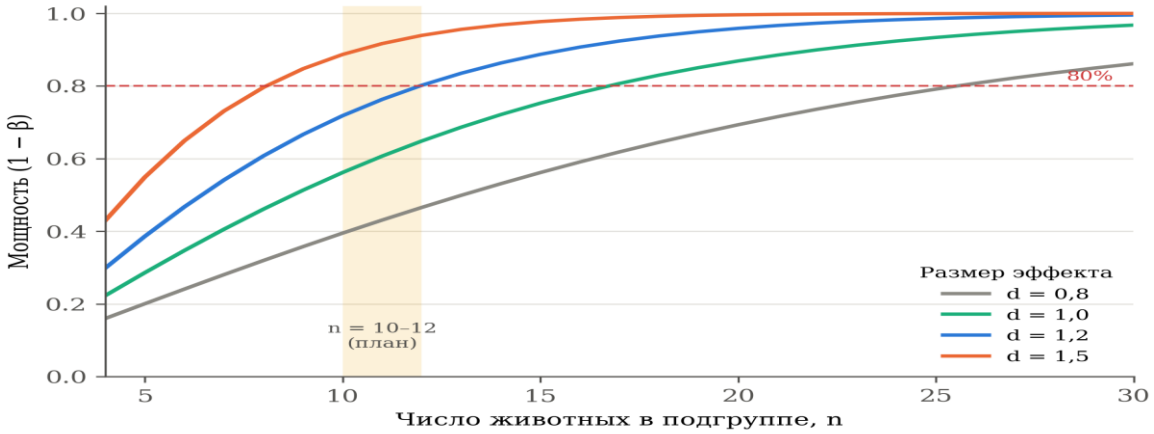


Рис. 4 Зависимость статистической мощности двустороннего t-критерия (α=0,05) от числа животных в подгруппе при разном размере эффекта d (расчёт по нецентральному t-распределению)

Таблица 7 Статистическая мощность при планируемом объёме выборки

Сравнение	сравниваемых группах	Размер эффекта	Мощность, %
Попарное (например, ГЛ-5 vs К-5)	10 vs 10	d = 1,2	71,8
Попарное	12 vs 12	d = 1,2	80,2
Попарное	12 vs 12	d = 1,0	64,9
Попарное	12 vs 12	d = 1,5	93,9
Главный эффект диеты (факторный план)	24 vs 24	d = 0,8	77,3
Взаимодействие «возраст × диета»	4 × 12	d = 1,5	71,9
Взаимодействие «возраст × диета»	4 × 12	d = 2,0	92,3

Примечание: для взаимодействия d – разность разностей средних, выраженная в единицах стандартного отклонения.

Результат и обсуждение

Представленный протокол отвечает на три методологические проблемы, выявленные при анализе литературы. Первая – недостаточная чувствительность крыс к алиментарному холестерину. Прирост общего холестерина при 2% холестериновой диете составляет лишь 1,4–1,8 раза [21, 22], а в отдельных работах гиперлипидемия не формируется вовсе [11, 23]. Это объясняется ЛПВП-доминантным профилем липопротеинов крыс и эффективным превращением холестерина в желчные кислоты [11, 12]. Поэтому в протоколе заложены трёхкратный биохимический контроль и заранее определённый критерий сформированности модели. Сознательный отказ от тиреостатиков, которые повышают «выход» модели, оправдан: они сами вызывают гиперплазию и перестройку фолликулов и нивелировали бы задачу исследования.

Вторая проблема – возрастные критерии. Нередко возраст 18 мес трактуется как «старческий» и приравнивается к 55–70 годам человека. По шкале Sengupta этот возраст соответствует ~45 годам, т.е. периоду начала инволюции, а старению (60 лет) отвечают 24 мес [15]. Корректная терминология («зрелые/старшие» вместо «старые») важна для экстраполяции результатов. Вместе с тем уже в 18 мес у грызунов выражены возрастные изменения: снижение пролиферации β-клеток (у мышей – с ~1% в 3 мес до 0,2% в 25 мес) [18], неоднородность фолликулов и снижение Т3 [17], нарастание стеатоза ПЖ, распространённость которого у людей увеличивается с 5,8% до 40 лет до 39,4% после 60 лет [20, 30]. Следовательно, выбранная пара возрастов достаточна для выявления возрастных различий, но не отражает глубокую старость.

Третья проблема – воспроизводимость морфологической оценки. Полуколичественные шкалы информативны лишь при заранее заданных критериях, ослеплении и проверке согласованности [25, 26]. Цифровая морфометрия в ImageJ/QuPath [27, 28] повышает объективность, а использование животного как единицы анализа исключает псевдорепликацию, характерную для работ, где статистика рассчитывается по отдельным фолликулам или полям зрения. Средства искусственного интеллекта при анализе изображений допустимы как вспомогательные только при валидации их результатов морфологом и описании алгоритма в публикации. Проверка расчётных индексов на опубликованных данных выявила расхождение в одной из работ между текстом (уменьшение внутреннего диаметра на 59%) и таблицей (на 33,1%) [9], что подчёркивает необходимость публикации первичных данных.

Протокол имеет ограничения. Исследование только самцов не позволяет оценить половые различия, особенно значимые для ЩЖ. Одна конечная точка (60 сут) не позволяет разграничить компенсаторную и дистрофическую фазы; оптимальным было бы включение промежуточной аутопсии на 30-е сутки. Отсутствие группы ≥24 мес ограничивает выводы о глубоком старении. Наконец, ИГХ-оценка на рутинных срезах полуколичественна; для ключевых маркеров желательна верификация количественными методами (вестерн-блот, ПЦР).

Заключение

1. Для изучения возрастных особенностей морфологических изменений щитовидной и поджелудочной желёз при гиперлипидемии оптимален факторный план 2×2 («возраст × диета») с одновременным исследованием обоих органов у одних животных и оценкой взаимодействия факторов.
2. Холестериновая модель у крыс требует обязательной биохимической верификации (0-е, 30-е, 60-е сутки) с заранее определённым критерием сформированности, поскольку прирост общего холестерина при диетических моделях составляет лишь 1,4–1,8 раза; применение тиреостатиков недопустимо.
3. Возрасты 5 и 18 мес соответствуют ~15–17 и ~45 годам человека и отражают молодой взрослый организм и начало инволюции; для оценки старения необходимы животные ≥24 мес.
4. Стандартизированная панель, включающая шкалу 0–3 с заданными критериями, морфометрические индексы (ИНК, фолликулярно-коллоидный индекс, площадь и плотность островков, доля вакуолизированных ацинусов) и трёхблочную ИГХ-панель, при слепой оценке и анализе на уровне животного обеспечивает воспроизводимость результатов.
5. Объём выборки 10–12 животных в подгруппе обеспечивает мощность ≥80% для крупных эффектов (d≥1,2) и главного эффекта диеты (d=0,8); отчётность по исследованию целесообразно оформлять в соответствии с ARRIVE 2.0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРА:

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Repositioning of the global epicentre of non-optimal cholesterol. Nature. 2020;582(7810):73–77. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2338-1
2. Zhao Y., Chen L., Dong J., et al. Global cardiovascular disease burden attributable to high low-density lipoprotein cholesterol, 1990–2021: an age-period-cohort analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2025;35(6):104030. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2025.104030
3. Song Y., Liu J., Zhao K., Gao L., Zhao J. Cholesterol-induced toxicity: an integrated view of the role of cholesterol in multiple diseases. Cell Metab. 2021;33(10):1911–1925. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.001
4. Liu H., Peng D. Update on dyslipidemia in hypothyroidism: the mechanism of dyslipidemia in hypothyroidism. Endocr Connect. 2022;11(2). https://doi.org/10.1530/EC-21-0002
5. Jing M., Shao S., Ma S., Gao L., Wang Q., Zhou M. Exploring the link between obesity and hypothyroidism in autoimmune thyroid diseases: a metabolic perspective. Front Mol Biosci. 2024;11:1379124. https://doi.org/10.3389/fmolb.2024.1379124
6. Perego C., Da Dalt L., Pirillo A., Galli A., Catapano A.L., Norata G.D. Cholesterol metabolism, pancreatic β-cell function and diabetes. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2019;1865(9):2149–2156. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.04.012

7. Shao S.S., Zhao Y.F., Song Y.F., et al. Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats. Acta Pharmacol Sin. 2014;35(11):1411–1420. https://doi.org/10.1038/aps.2014.82
8. Liao Z., Kong Y., Zeng L., Wan Q., Hu J., Cai Y. Effects of high-fat diet on thyroid autoimmunity in the female rat. BMC Endocr Disord. 2022;22(1):179. https://doi.org/10.1186/s12902-022-01093-5
9. Yanko R., Levashov M. Histomorphological features of the thyroid gland in rats of different ages with alimentary-induced obesity. Environ Exp Biol. 2022;20:171–177. https://doi.org/10.22364/eeb.20.16
10. Kvitnitskaya-Ryzhova T.Y., et al. The influence of age factor on changes in morphometric indices of rat pancreas in modeling of insulin resistance and its correction with N-stearoylethanolamine. World of Medicine and Biology. 2022;18(2):204–209. https://doi.org/10.26724/2079-8334-2022-2-80-204-209
11. Титов В.Н., Котловский М.Ю., Якименко А.В., и др. Модель экзогенной гиперхолестеринемии у крыс и жирные кислоты плазмы крови; видовые особенности липопротеинов, статины и ω-3 полиеновые кислоты. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017;61(1):27–36.
12. Emini Veseli B., Perrotta P., De Meyer G.R.A., et al. Animal models of atherosclerosis. Eur J Pharmacol. 2017;816:3–13. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010
13. Finking G., Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885–1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. Atherosclerosis. 1997;135(1):1–7. https://doi.org/10.1016/S0021-9150(97)00161-5
14. Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A., et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2020;18(7). https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410
15. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. Int J Prev Med. 2013;4(6):624–630.
16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Off J Eur Union. 2010;L276:33–79.
17. Lee J., Yi S., Kang Y.E., et al. Morphological and functional changes in the thyroid follicles of the aged murine and humans. J Pathol Transl Med. 2016;50(6):426–435. https://doi.org/10.4132/jptm.2016.07.19
18. Tudurí E., Soriano S., Almagro L., et al. The pancreatic β-cell in ageing: implications in age-related diabetes. Ageing Res Rev. 2022;80:101674. https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101674
19. Löhr J.M., Panic N., Vujasinovic M., Verbeke C.S. The ageing pancreas: a systematic review of the evidence and analysis of the consequences. J Intern Med. 2018;283(5):446–460. https://doi.org/10.1111/joim.12745
20. Jiang W., Wang K., Zhang L., Li Y., Zhang X., Deng B., et al. Prevalence of fatty pancreas and its associations with pancreatic disease and metabolic disorders: a systematic review and meta-analysis of 124 studies. Front Nutr. 2026;13:1904539. https://doi.org/10.3389/fnut.2026.1904539
21. Sidorova Y.S., Petrov N.A., Markova Y.M., Kolobanov A.I., Zorin S.N. The influence of a high-cholesterol diet and forced training on lipid metabolism and intestinal microbiota in male Wistar rats. Int J Mol Sci. 2024;25(10):5383. https://doi.org/10.3390/ijms25105383
22. Csonka C., Baranyai T., Tiszlavicz L., et al. Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pancreas. Lipids Health Dis. 2017;16(1):144. https://doi.org/10.1186/s12944-017-0537-z
23. Madariaga Y.G., Cárdenas M.B., Irsula M.T., et al. Assessment of four experimental models of hyperlipidemia. Lab Anim (NY). 2015;44(4):135–140. https://doi.org/10.1038/laban.710
24. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972;18(6):499–502.
25. Gibson-Corley K.N., Olivier A.K., Meyerholz D.K. Principles for valid histopathologic scoring in research. Vet Pathol. 2013;50(6):1007–1015. https://doi.org/10.1177/0300985813485099
26. Meyerholz D.K., Beck A.P. Principles and approaches for reproducible scoring of tissue stains in research. Lab Invest. 2018;98(7):844–855. https://doi.org/10.1038/s41374-018-0057-0
27. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods. 2012;9(7):671–675. https://doi.org/10.1038/nmeth.2089
28. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., et al. QuPath: open source software for digital pathology image analysis. Sci Rep. 2017;7(1):16878. https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5
29. Charan J., Kantharia N.D. How to calculate sample size in animal studies? J Pharmacol Pharmacother. 2013;4(4):303–306. https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726
30. Wagner R., Eckstein S.S., Yamazaki H., et al. Metabolic implications of pancreatic fat accumulation. Nat Rev Endocrinol. 2022;18(1):43–54. https://doi.org/10.1038/s41574-021-00573-3

Поступила 20.09.2026