

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНЗДРАВА РОССИИ

На правах рукописи

Карпов Михаил Александрович

**СТРУКТУРНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФИБРОЗА
РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОКИСЛЕННЫМ
ДЕКСТРАНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

3.3.2. Патологическая анатомия

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор

Надеев Александр Петрович

доктор медицинских наук, профессор,

академик РАН

Шкурупий Вячеслав Алексеевич

Новосибирск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	18
1.1 Современные представления об этиологии фиброза и влиянии свойств этиологических факторов на его развитие.	18
1.2 Механизмы инициации процесса фиброза.	19
1.3 Регуляция фиброза.	20
1.3.1 Роль макрофагов в развитии фиброза.	22
1.3.2 Структура и функции фибробластов.	24
1.3. Роль эпителиально-мезенхимального и мезенхимально- эпителиального перехода в фиброзе.	28
1.3.4 Регуляция эпителиально-мезенхимального и мезенхимально- эпителиального перехода, роль в развитии фиброза.	29
1.3.5 Апоптоз и аутофагия при фиброзе.	31
1.4 Обмен коллагена в норме и патологии.	33
1.5 Особенности фиброза в коже.	36
1.6 Особенности фиброза в печени.	39
1.6.1 Особенности фиброза печени при воздействии тетрахлорметаном (CCl ₄)	40
1.6.2 Особенности фиброза печени при воздействии этанолом.	40
1.6.3 Современные взгляды на развитие фиброза печени.	41
1.7 Формирование спек брюшной полости.	44
1.7.1 Этиология спаек.	44
1.7.2 Механизмы формирования спаек.	45
1.8 Структура и свойства окисленного декстрана.	48
1.8.1 Влияние окисленного декстрана на процессы фиброзирования органов и тканей.	49
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	51

2.1 Моделирование и исследование глубокого термического ожога кожи 3Б степени.	51
2.2 Моделирование и исследование спаек брюшной полости.	53
2.3 Моделирование и исследование посттоксического фиброза и цирроза печени.	55
2.4 Гистологическая обработка и гистологическое исследование экспериментального материала.	57
2.5 Иммуногистохимическое исследование.	57
2.6 Трансмиссионная электронная микроскопия.	58
2.7 Статистическая обработка данных.	59
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	60
3.1 Процесс заживления ожоговой травмы и образование рубца после ожога кожи 3Б степени (эксперимент № 1).	60
3.1.1 Исследование формирования рубца кожи после ожога 3Б степени (эксперимент № 2)	68
3.2 Исследование механизмов фиброза и цирроза печени при продолжительном токсическом воздействии смешанной этиологии (этаноловой и CCl ₄) у крыс и воздействии на процесс фиброзирования окисленным декстраном.	93
3.2.1 Механизмы формирования фиброза печени в условиях острого токсического гепатоза при воздействии окисленным декстраном.	114
3.2.1.1 Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и процесса фиброзирования печени в условиях острого токсического гепатоза и воздействии окисленным декстраном.	123
3.2.1.2 Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода в процессе фиброзирования печени при остром токсическом гепатозе и воздействии окисленным декстраном.	130
3.2.2 Посттоксический фиброз печени при воздействия окисленным декстраном в условиях хронического гепатоза смешанной этиологии.	134

3.2.2.1	Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и процесса фиброзирования печени при посттоксическом фиброзе печени и воздействии окисленным декстраном.	142
3.2.2.2	Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода в при посттоксическом фиброзе печени и воздействии окисленным декстраном.	149
3.2.3	Воздействие окисленным декстраном при формировании цирроза печени.	158
3.2.3.1	Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и фиброза печени при посттоксическом циррозе и воздействии окисленным декстраном.	162
3.2.3.2	Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при посттоксическом циррозе и воздействии окисленным декстраном.	166
3.3	Экспериментальное исследование фиброза при формировании спаек брюшной полости.	173
3.3.1	Микроскопическое исследование спаек брюшной полости у крыс. ...	18
3.3.2	Исследование молекулярных механизмов фиброза и ультраструктурных изменений внеклеточного матрикса в спайках брюшной полости.	188
3.3.2.1	Морфо-функциональное состояние макрофагов в процессе фиброзирования и формирования спаек брюшной полости.	189
3.3.2.2	Исследование активности макрофагов и их функционального статуса в спайках брюшной полости.	194
3.3.2.3	Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального и мезенхимабно-эпителиального перехода в процессе фиброзирования спаек брюшной полости.	199
3.3.2.4	Исследование морфо-функционального состояния фибробластов и молекулярных механизмов преобразования внеклеточного матрикса при	

фиброзировании спаек в процессе их формирования в эксперименте.	203
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.	218
4.1 Морфогенез фиброза при термическом ожоге кожи 3Б степени и воздействии на процесс образования рубца окисленным декстраном.	218
4.1.1 Применение композиции на основе окисленного декстрана при формировании рубца после термического ожога кожи 3Б степени.	222
4.2 Морфо- и патогенез формирования посттоксического фиброза и цирроза печени при воздействии окисленным декстраном в различные периоды их развития.	229
4.2.1 Формирование посттоксического цирроза печени, особенности его морфогенеза.	230
4.2.2 Фиброзирование печени при остром токсическом повреждении печени и воздействии окисленным декстраном.	233
4.2.3 Формирование фиброза печени после длительного (хронического) токсического воздействия и применении окисленным декстраном.	236
4.2.4 Фиброз при посттоксическом циррозе печени и при воздействии окисленным декстраном.	240
4.3 Фиброз при формировании спаек брюшной полости.	243
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	254
ВЫВОДЫ.	260
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	263
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	264
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	303
ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное) Таблицы данных.	322

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Фиброз сопровождает развитие и является исходом множества остро возникающих заболеваний и патологических процессов, многочисленные хронические заболевания различной природы, как неинфекционного, так и инфекционного происхождения [45; 48; 109; 137; 200; 226]. В качестве примера хронических заболеваний можно привести социально-значимые заболевания, такие как атеросклероз, артериальная гипертензия, хронические вирусные гепатиты, «пылевые» болезни и многие другие. Примерами острых заболеваний может послужить рубцевание после ожогов, формирование стеноза кишечника, трахеи после перенесенных воспалительных заболеваний, спайки брюшной полости и прочие [200; 204].

Во всех случаях возникающий фиброз не ограничивается, а возникнув, сопровождает болезнь на протяжении жизни человека, зачастую приводя не только к снижению качества жизни, но и инвалидизации [48; 86; 187]. Так, например, формирование спаек в брюшной полости ведет к развитию кишечной непроходимости, после тяжелых ожогов формируются келоидные рубцы и контрактуры, а при фиброзе печени – цирроз.

Нередко фиброз, прогрессируя, деформирует органы, нарушает архитектуру органов и тканей [161; 247]. Так, например, сопровождая артериальную гипертензию, фиброзирование почек приводит к их сморщиванию, при хроническом гепатите или нарушении кровообращения в печени возникает цирроз. В исходе пневмокониозов развивается пневмосклероз. Или в результате организации экссудата образуются спайки, сужения просвета полых органов или протоков.

Фиброз развивается не только при заболеваниях, так, к примеру, в результате атрофии фетальных сосудов возникает облитерация их просветов или интерстициальный фиброз органов при старении [226]. Существует и, так называемый, идиопатический фиброз, причины которого не ясны, без видимых

признаков повреждения в органах развивается и прогрессирует фиброз, вплоть до цирротической их трансформации и органной недостаточности.

Вне зависимости от причин при фиброзе происходит накопление во внеклеточном матриксе коллагена, склерозируются сосуды, процесс обретает необратимый характер. В настоящее время процесс широко изучен, исследования этого процесса продолжаются. Несмотря на множество известных научных данных и фактов, касающихся механизмов развития фиброза, механизмы его по-прежнему недостаточно изучены, и, как следствие, по настоящее время эффективных средств лечения и профилактики этот процесс не имеет, склероз считается с точки зрения лечебных подходов явлением необратимым [38; 136; 200; 226; 233]. Нередко лечение носит радикальный характер и требует повторных вмешательств, к примеру, трансплантация печени при циррозе, рассечение спаек брюшной полости и малого таза механическим путем [8; 38; 41; 200].

Фиброз в настоящее время относят к процессу неполной репаративной регенерации. Однако имеется и противоречие, в ряде случаев склероз органов возникает без предшествующих некротических, глубоких дистрофических изменений органов и тканей, воспаления, как, например, идиопатический фиброз органов. В ряде случаев склерозирование органов носит избыточный характер, например, при пылевых болезнях, объём новообразующейся соединительной ткани избыточно накапливается в органах и прогрессирует.

Известно, что склероз (фиброз) обладает особенностями механизмов развития в различных органах, касающихся индуцирования этого процесса, и клеток, участвующих в его реализации этого процесса, в зависимости от особенностей анатомической и гистологической структуры органа или ткани [226; 235].

Фиброз в различных экспериментальных условиях возникает при нарушении границ, отделяющих внешнюю и внутреннюю среду на различных структурных уровнях – организменном, тканевом, клеточном, и проявляет себя как процесс адаптации организма к изменяющимся условиям внешней среды, реализующегося на различных уровнях, попытке организма, органа или ткани,

приспособиться к нарушенному гомеостазу и нивелировать структурные изменения. Кроме того, фиброз может проявлять себя как нарушенный процесс адаптации, не имея явных механизмов ограничения, реализуясь избыточно, например, при формировании воспалительных полипов, стеноза полых органов или контрактур при ожогах.

Исходя из изложенного предположения, внешней средой для клеток и тканей, органов может служить их окружение – соседние клетки, внеклеточный матрикс и структуры, расположенные в нем, замкнутые и сообщающиеся с внешней средой полости.

Степень разработанности темы диссертации

При исследовании гранулематоза в печени мышей, индуцированного БЦЖ, частицами кремния, обнаруживали более выраженный процесс фиброзирования гранулем, обусловленный воздействием неорганического фактора, однако выраженность деструктивных изменений в печени не отличалась [6; 7]. При исследовании гриппа N5N1 обнаруживали в легких проявления раннего фиброза [2]. В ходе исследований различных заболеваний, в том числе воспроизведенных в эксперименте, воздействуя на них окисленным декстраном (ОД), заметили, что в различных экспериментальных условиях, присутствию этого разветвленного, окисленного различными путями полисахарида, сопутствует снижение проявлений склероза в органах и тканях [23; 30].

В научной литературе имеются многочисленные сведения об особенностях развития фиброза в различных органах и тканях [109]. При этом однотипность эффекта от воздействия ОД в различных экспериментальных условиях указывает на неспецифичность процесса фиброза, его пато- и морфогенетических механизмов.

Остается неясным, в каком патогенетическом звене механизмов развития фиброза возможно воздействие ОД, приводящее к однотипным эффектам. Какая часть патогенеза или морфогенеза фиброза придаёт ему неспецифический характер, хотя известно, что в реализации процесса склероза или фиброза

задействованы различные типы клеток, в том числе органотипические и узкоспециализированные.

Объект исследования

Объектами исследования послужили фрагменты ткани печени, кожа, спайки брюшной полости у крыс при моделировании фиброза перечисленных органов и структур в различных экспериментальных условиях.

Предмет исследования

Соединительная ткань, образующаяся при фиброзе, циррозе печени, послеожогового рубца кожи и в процессе формирования спаек брюшной полости. Кроме того, исследовали структуру данных органов, тканей на различных уровнях организации.

Цель исследования

Изучить структурные и молекулярно-клеточные механизмы фиброза ожоговой, токсической, этиологии и формировании спаек брюшной полости у крыс и в условиях воздействия окисленным декстраном.

Задачи исследования

1. Изучить морфологические проявления фиброза и регенерации в коже после термического ожога 3Б степени и при воздействии окисленного декстрана.
2. Изучить структурные изменения в печени, проявления репаративной регенерации в условиях посттоксического фиброза и цирроза печени и при воздействии окисленного декстрана.
3. Изучить морфогенез фиброза при формировании спаек брюшной полости и при воздействии окисленного декстрана.
4. Исследовать динамику воспалительной реакции и её влияние на процесс фиброза ожоговой, токсической, этиологии и формировании спаек брюшной полости.

5. Исследовать динамику процессов обмена коллагена при экспериментальном фиброзе различной этиологии (термический ожог кожи, посттоксический цирроз печени, спайки брюшной полости) и в условиях воздействия окисленного декстрана.

6. Исследовать экспрессию маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, их роль в процессе фиброза при формировании цирроза печени после токсического повреждения, спаек брюшной полости и при воздействии окисленного декстрана.

7. Изучить экспрессию про- и противовоспалительных цитокинов в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени при развитии посттоксического фиброза и цирроза печени, в клетках спаек брюшной полости и при воздействии окисленного декстрана.

8. Изучить особенности экспрессии металлопротеиназ и их ингибиторов, профибротических ростовых факторов при циррозе печени, в спайках брюшной полости, а также при воздействии окисленного декстрана.

9. Изучить ультраструктуру макрофагов, фибробластов, образование коллагена в процессе фиброзирования спаек брюшной полости и при воздействии окисленного декстрана.

10. Изучить структурные механизмы воздействия окисленного декстрана при фиброзе.

11. Разработать схему пато- и морфогенеза фиброза в органах и тканях при различной этиологии и в условиях воздействия окисленного декстрана.

Научная новизна

Впервые продемонстрирована связь проявлений эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) с фиброзом в различных экспериментальных условиях – при фиброзе печени и формировании спаек преобладает экспрессия маркеров клеток мезенхимального типа, а при воздействии ОД в большей мере экспрессированы маркеры эпителиального типа клеток, реализующих мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП),

проявляющиеся в фибробластах, эндотелиальных клетках сосудов, эпителии желчных протоков печени, мезотелии брюшины.

Выявлены особенности реагирования различных типов клеток в процессе фиброзирования печени, формирования рубца после термического ожога кожи, формирования спаек брюшной полости в условиях применения ОД. Формирование и увеличение размеров ложных долек связаны с эпителиально-мезенхимальным переходом паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени. Раннее отторжение струпа обусловлено пролиферацией эпидермиса и способствует «очищению» области ожога от некротических масс, формированию меньшей площади более эластичному рубцу при воздействии ОД. При формировании и спаек брюшной полости эпителизация и восстановление эпителиального барьера мезотелием не влияют на масштаб спаечного процесса, но влияние оказывают макрофаги и активность фагоцитоза в ранний период эксперимента, пролиферация и склероз сосудов спаек.

Впервые показано, что экссудативные проявления воспалительной реакции, пролиферация и склероз сосудов, сохраняющаяся экспрессия провоспалительных цитокинов макрофагами, низкая фагоцитозная активность, способствуют раннему и выраженному развитию фиброза в различных экспериментальных условиях. Воздействие ОД ведет к увеличению фагоцитозной активности макрофагов, ограничивает проявления экссудации, способствует более быстрому очищению области повреждения, пролиферации более тонкостенных сосудов, таким образом улучшая трофические условия для регенераторного процесса.

Впервые исследованы закономерности механизмов синтеза и деградации коллагена при фиброзировании тканей, органов в различных экспериментальных условиях, связанные с увеличением активности синтеза коллагена фибробластами, повышенной экспрессией FGF и TGF- β при сохранении баланса между матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами.

Впервые исследованы особенности синтеза и деградации коллагена при воздействии ОД в различных экспериментальных условиях (формировании посттоксического цирроза печени и спайках брюшной полости),

характеризующиеся меньшей коллагенпродуцирующей активностью фибробластов, апоптозом фибробластов и уменьшением их количества, меньшей экспрессией профиброгенных факторов ИЛ-1, FGF и TGF- β .

Обнаружено, что воздействие окисленного декстрана способствует изменению морфофункционального состояния макрофагов, характерных для M2 статуса проявляющиеся экспрессией макрофагами медиаторов, увеличению фагоцитозной активности макрофагов в различных экспериментальных условиях.

Впервые показаны ультраструктурные отличия макрофагов с признаками M1 поляризации при формировании спаек брюшной полости и макрофагов, демонстрирующих признаки M2 поляризации при воздействии окисленного декстрана, заключающиеся в большей выраженности лизосомального аппарата, эндоплазматического ретикулума, большем объеме цитоплазмы у макрофагов крыс, получавших ОД.

Впервые показано, что в условиях формирования спаек брюшной полости при экспрессии признаков M2 поляризации макрофагов процессы фагоцитоза более активные, чем при экспрессии признаков M1 поляризации.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Проведенное исследование дополняет и углубляет сведения о фундаментальных аспектах развития фиброза различной этиологии и локализации, обосновывая гипотезу о проявлениях фиброза как компенсаторно-приспособительного процесса, направленного на поддержание гомеостаза внутренней среды, поддержание и восстановление барьера с внешней средой. На основе полученных при исследовании данных разработана схема пато- и морфогенеза фиброза в экспериментальных условиях.

Результаты проведенного исследования способствуют разработке лекарственных средств, направленных на профилактику и коррекцию фиброза органов различной этиологии.

Получен патент на изобретение RU 2789 693 C1 (опубликовано 07.02.2023) «Средство для снижения патоморфологических проявлений посттоксического цирроза печени и его осложнений».

Результаты исследования используются в учебном процессе и научно-исследовательской деятельности кафедры патологической анатомии, кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, исследовательской деятельности лаборатории ультраструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Методология и методы диссертационного исследования

В работе использованы стандартные методологические подходы к исследованию – научный поиск с использованием научных литературных источников, формирование рабочей гипотезы, поиск путей решения и научной проблематики фиброза в различных экспериментальных условиях. Осуществлен выбор экспериментальных моделей и постановка экспериментов с последующим получением необходимых образцов тканей органов для реализации поставленных задач. В ходе исследования использованы методы морфометрии с последующим анализом данных и оформлением полученных результатов в форме печатных работ, докладов на научных конференциях.

Положения, выносимые на защиту

1. Фиброз в различных экспериментальных условиях является универсальным компенсаторным и приспособительным механизмом, запускается и поддерживается одноклеточными патологическими и молекулярными механизмами, но использует разные типы клеток в зависимости от органа и ткани.

2. Ключевым звеном в развитии фиброза тканей и органов после повреждения в различных экспериментальных условиях является эпителиально-мезенхимальный переход.

3. Обмен коллагена (накопление и разрушение) при фиброзе различной этиологии регулируется про- и противовоспалительными цитокинами и зависит от морфофункционального состояния макрофагов в различных экспериментальных условиях.

4. Окисленный декстран оказывает однотипное влияние на процесс фиброза в различных экспериментальных условиях – препятствует развитию фиброза, способствует трансформации макрофагов в M2 тип, усилению их фагоцитозной активности, полноте регенерации органов и тканей.

5. На выраженность (объем и скорость формирования) фиброза влияет не только объем некроза, но и внешние факторы, воздействующие после повреждения.

Степень достоверности

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена достаточным объемом исследованного материала (в эксперименте с термическим ожогом 3Б степени было задействовано 143 крысы, при моделировании посттоксического фиброза и цирроза печени использованы 150 крыс, в экспериментальном исследовании формирования спаек брюшной полости использованы 45 крыс); адекватностью поставленных задач и примененными методами обработки полученных данных с использованием цифровой фотосъемки, компьютерным морфометрическим и статистическим анализом данных; обсуждением на научных и научно-практических конференциях полученных результатов с обоснованием выводов, публикацией результатов исследований в рецензируемых изданиях.

Апробация результатов

По материалам исследований, проведенных в рамках диссертации основные результаты были представлены в виде докладов и опубликованы в форме тезисов, материалов к научно-практическим конференциям: 7-й Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные и медик-экологические проблемы компенсации и приспособления» (Новосибирск, 2015); 8-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2018); VI съезду Российского общества патологоанатомов (Москва, 2022); VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Челябинск, 2023); IV Международной научно-практической конференции «Бородинские чтения» (Новосибирск, 2024); научно-практической конференции врачей-патологоанатомов и судебно-медицинских экспертов, посвященной 70-летию кафедры патологической анатомии (Благовещенск, 2024); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию кафедры патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России и 40-летию основания Челябинского областного патологоанатомического бюро (Челябинск, 2024).

Диссертационная работа апробирована на заседании Проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2025).

Исследования выполнены в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при действии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии

соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения» № 121061500014-3.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и используются в лекционном курсе и занятиях семинарского типа на: кафедре патологической анатомии; кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина; кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; в экспериментальной работе лаборатории ультраструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Публикации

По теме диссертации опубликована 21 научная работа, в том числе 1 патент на изобретение и 12 статей в научных журналах и изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей в журналах категории K1, 5 публикаций в журналах категории K2, входящих в список изданий, распределенных по категориям K1, K2, K3, в том числе 6 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 331 странице машинописного текста и состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение полученных результатов), заключения, выводов,

списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Диссертация содержит 42 таблицы. Работа проиллюстрирована с помощью 112 рисунков. Список литературы представлен 273 источниками, из них 239 в зарубежных и 34 в российских изданиях.

Личный вклад автора

Автором проведен подбор экспериментальных моделей исследований, планирование и выполнение экспериментов, сформулированы цели и задачи, выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы, отражающий современное состояние по данной проблеме, определен методологический подход, позволяющий наиболее полно решить поставленные в исследовании задачи, самостоятельно выполнены все этапы работы, проведена статистическая обработка данных, интерпретированы и опубликованы результаты. Трансмиссионная электронная микроскопия проведена в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН при участии доктора биологических наук Бгатовой Н. П.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Фиброз или склероз представляет собой процесс избыточного образования плотной «фиброзной» соединительной ткани во внеклеточном матриксе [109; 235]. Этот процесс сопровождает развитие многих заболеваний, патологических процессов, возникает в различных органах и тканях, включая опухоли [75; 235]. Склероз возникает в исходе повреждения структур органов, ведет к структурным изменениям и, как следствие, нарушению функции органов [78; 109; 235].

1.1 Современные представления об этиологии фиброза и влиянии свойств этиологических факторов на его развитие

Фиброз, как правило, не рассматривают в качестве самостоятельного заболевания, за исключением идиопатических фиброзов органов, таких как идиопатический фиброз легких или печени [86; 110]. Внимание отводят разнообразным «стрессовым» воздействиям и «триггерам», таким как аллергические реакции, химические, физические и средовые факторы [86; 110; 163]. При этом этиология идиопатических фиброзов в настоящее время не ясна [86; 249].

Крайняя выраженность процесса приводит к склерозу, фибротической деформации органов, формируя самостоятельное заболевание, в основе которого лежит процесс избыточного образования соединительной ткани, такое как цирроз печени и многие другие [86; 109; 187; 233; 249]. Однако развитие цирроза этиологически становится связанным с предшествующими острыми или хроническими заболеваниями, патологическими процессами, являясь их исходом, но по мере формирования обретает черты самостоятельного заболевания [235].

В некоторых исследованиях отводят роль повреждению и некрозу тканей в индукции фиброза [163; 181]. Кроме того, в научной литературе обсуждаются в качестве вероятных факторов риска такие факторы как пол, возраст, воздействие активированных метаболитов кислорода (АМК), эпигенетические причины,

мутации и транслокации, «повышение» апоптоза, утрата стабильности стволовых клеток, некоторые иные факторы [249]. Известна значимость воздействия «пылевых» частиц кремния, угля и прочих подобных веществ, их соединений, при воздействии которых изменения описывают как «массивный» фиброз органов, в частности, легких [166; 205]. Однако влияние свойств этиологического фактора на процесс развития фиброза и его выраженность в органах и тканях, пато- и морфогенетические механизмы подобного рода воздействия широко не рассматриваются.

1.2 Механизмы инициации процесса фиброза

Повреждение структур органов и тканей инициирует процесс фиброза [86; 163; 235]. Однако в ряде случаев склерозу не предшествует повреждение структур органов, в таких случаях запуск процесса фиброзирования органов осуществляется при воздействии широкой группы средовых и пылевых воздействий [46].

При воздействии пылевых частиц первоначально проявлений повреждения структур органов не обнаруживают, а процессы дистрофии и некроза связывают с ходом дальнейшего воспаления. В научных литературных данных встречаются результаты исследований, демонстрирующие индукцию механизмов апоптоза «пылевыми частицами» [71; 250]. Однако, согласно современным представлениям об апоптозе, фиброз не возникает в исходе этого процесса [71; 131; 142]. При этом воздействие «пылевых» частиц сопровождается выраженным, прогрессирующим и «массивным» фиброзом органов [45; 142; 250]. Имеющиеся в научной литературе сведения указывают на возникающую при воздействии таких частиц воспалительную реакцию, обнаруживают связь прогрессирования фиброза органов при аллергических реакциях с воспалением [132].

Замечено, что при аллергических реакциях возникают проявления склероза органов, однако прямого повреждения структур органов не происходит, но обнаруживают связь повреждения структур и развития склероза с воспалительной

реакцией [86; 163]. Хотя подобные данные противоречат общепринятому представлению о фиброзе, как исходе деструктивных процессов, а именно некроза, образование коллагена и склероз объясняют альтерацией, возникающей при воспалении, и, как следствие – склероза. Противоречие заключается в том, что в ходе развития фиброза активированные фагоциты взаимодействуя с фибробластами, стимулируют синтез коллагена, таким образом, сам ход воспалительной реакции, характер фагоцитоза в воспалительном инфильтрате определяют развитие фиброза [154; 156]. Кроме того, известно, что ряд факторов способны напрямую воздействовать на фибробласты или индуцировать иммунный ответ без предшествующего повреждения, что в дальнейшем способствует активации фибробластов и продукции ими компонентов внеклеточного матрикса, в частности, коллагена [154; 163].

Внимание отводят и вторичному повреждению тканей при воспалительной реакции, связанному с выработкой ферментов «литической» направленности, гидролаз и протеаз, клетками, участвующими в ходе воспалительной реакции. Это способствует поддержанию воспаления и фиброзированию органов [53; 83; 154; 182; 217; 241].

Таким образом, в настоящее время, несмотря на широкую изученность процесса склероза (фиброза) механизмы его индукции и развития остаются неясными, а имеющиеся данные противоречивыми. В свою очередь, отсутствие понимания патогенеза фиброза различных органов определяет отсутствие возможности его коррекции [86].

1.3 Регуляция фиброза

Иницирующие фиброз процессы, в частности, некроз или же воспалительная реакция сопровождаются миграцией и активацией, функционированием в очаге повреждения разнообразных клеток, таких как нейтрофилы, макрофаги, тучные клетки и прочие [129; 154; 156; 225].

Гибель клеток при повреждении и воспалении способствует выработке разнообразных медиаторов, выделение которых может осуществляться структурами поврежденных органов и тканей, мигрировавшими в область альтерации макрофагами [82; 105; 120; 175; 182; 225]. В очаг повреждения поступают из разнообразных источников ростовые факторы, такие как FGF, PDGF, секретируются такие медиаторы как TGF β , TNF α , IL1, некоторые другие интерлейкины. Продуцируемые и экспрессируемые макрофагами цитокины и ростовые факторы способствуют активации системы SMAD, MAPK, NF- κ B [109; 156]. Это обеспечивает комплекс последующих изменений, в том числе активации и пролиферации фибробластов, пролиферации и дифференцировке миофибробластов, синтез коллагенов, происходит торможение апоптоза, возрастает экспрессия VEGF, пролиферируют сосуды [19; 25; 156]. После этих процессов фибробласты пролиферируют, дифференцируются, продуцируют коллаген и иные компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ). При этом внутриклеточно запускаются разнообразные пути и механизмы, ответственные за поддержание продукции коллагена и ВКМ – возрастает экспрессия α SMA, фибронектина, начинается продукция коллагенов 1 и 2 типа, тканевых ингибиторов матриксных протеиназ (TIMP) [156; 175].

Продукция IL-1, TNF α активированными макрофагами, с последующей активацией сигнального пути NF- κ B, стимулирует экспрессию профиброгенных факторов, таких как TGF β and PDGF, а экспрессия IL-10 способствует ограничению продукции коллагена [55; 204; 209]. Кроме того, продукция провоспалительных цитокинов активированными макрофагами способствует связыванию IL-4 и IL-13, и транскрипции генов, ответственных за синтез коллагена, таких как STAT6 [209; 229]. Кроме того, TGF β влияет на рецепторы тирозин-киназы, запуская процесс фосфорилирования и активации SMAD системы, так инициируется трансформация фибробластов в миофибробласты [55; 204].

Одним из поддерживающих фиброз факторов является гипоксия и оксидативный стресс, возникающие в результате склерозирования сосудов и структурных изменений капилляров [106].

В настоящее время процесс считают недостаточно изученным, а эффективные средства, влияющие на механизмы развития фиброза отсутствуют. Понимание молекулярных механизмов развития фиброза будет способствовать разработке новых средств и подходов к предотвращению этого процесса при всех заболеваниях, сопровождающихся фиброзом [185].

1.3.1 Роль макрофагов в развитии фиброза

Макрофаги наряду с фибробластами являются ключевыми клетками, участвующими в развитии и регуляции процесса склерозирования органов и фиброза [59; 106; 154; 156; 167].

Макрофаги относятся к системе мононуклеарных фагоцитов [10; 30; 31]. Эта система обладает свойством ауторегуляции, в том числе экспрессируя гранулоцитарно-макрофагальный ростовой фактор (GM-CSF), способствуя пополнению макрофагами очага воспаления [12].

Активированные макрофаги способны к выделению и экспрессии разнообразных факторов, поддерживающих как процессы воспаления, регенерации, фиброза, так и к непосредственной их функции – фагоцитозу [154; 246; 264]. Процесс фагоцитоза представляет собой поглощение частиц, которые охватываются и погружаются в цитоплазму макрофага, заключаясь в фагосому [100]. В процессе фагоцитоза от шероховатого эндоплазматического ретикулума к фагосомам перемещаются лизосомы, которых обнаруживают большое количество при активном процессе фагоцитоза [100; 246]. В зависимости от размера поглощенных частиц и способности их лизировать, макрофаги могут находиться в активированном состоянии, влиять на активность фибробластов и выработку ими коллагена [220; 241].

Активность макрофагов выражается в разнообразии их свойств и статуса [165; 264]. В одних случаях макрофаги будут поддерживать воспаление, проявляя провоспалительную активность, характеризуя M1 статус, в других случаях демонстрируют признаки M2 статуса [43; 153; 165; 225; 264]. При этом макрофаги в очаге воспаления способны менять свой фенотип из M1 статуса в M2 статус, а также в обратном направлении [240; 252]. Однако среди M2 поляризованных макрофагов также наблюдают определенное разнообразие, в научной литературе, наиболее часто описывают подтипы макрофагов M2a, M2b, M2c, отличающихся в своих фенотипических проявлениях и способности регулировать отличные друг от друга реакции, к примеру фагоцитоз, стимулирование иммунной активности лимфоцитов, поддержание и стимулирование регенерации [49; 148; 165; 264].

Таким образом, направленность поляризации и фенотипических свойств макрофагов обуславливает развитие фиброза [31; 148; 165]. Однако имеющиеся в научной литературе сведения несколько противоречивы. Так, для макрофагов M2 субтипа характерной является экспрессия прорегенераторных и профибротических медиаторов, таких как IL-10, TGF β и некоторые другие. Для M1 статуса характерна экспрессия провоспалительных медиаторов, к примеру, таких как IL-1, TNF α и ряда других медиаторов [153; 264]. Хотя макрофагам M1 типа, способным повреждать ткани почек, не отводят существенной роли в развитии фиброза, продукция IL-1 такими макрофагами способна стимулировать фибробласты к синтезу коллагена [31; 82]. Таким образом, роль макрофагов, их различных субтипов в процессе фиброза явная, однако несколько противоречива и недостаточно ясна [106; 167]. Кроме того, в литературе отсутствуют данные об ультраструктурных характеристиках и морфологии макрофагов с различным фенотипом.

В изменении фенотипа макрофага важную роль отводят обмену аргинина. Так, в одном случае обмен сопровождается активацией индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) с последующим синтезом окиси азота (NO), которая в свою очередь взаимодействуя с цитруллином ингибирует клеточную пролиферацию, макрофаги поддерживают M1 статус [102; 165; 187; 204]. Однако синтез АМК

способствует индукции каспазо-зависимого механизма апоптоза в макрофагах [102]. В другом случае, с участием аргиназы образуется орнитин, а в качестве конечного продукта образуется мочевины, активируется пролиферация клеток и репаративные процессы, макрофаги поддерживают M2 статус [102; 165; 187; 207; 264].

Одним из процессов, способствующих внутриклеточному обновлению макрофагов, является аутофагия, проявления которой обнаруживают в активированных макрофагах [4; 148; 149; 187]. При этом явления аутофагии описаны в научной литературе в связи с оксидативным стрессом и продукцией NO, АМК в макрофагах [187]. При этом процессу аутофагии в макрофагах отводят роль защитного процесса, при котором макрофаги имеют свойство иммуносупрессии, экспрессируя PD-L1 [149]. Однако об этом процессе в научной литературе содержится мало сведений, механизмы аутофагии в макрофагах и роль в процессе фиброза не ясны.

1.3.2 Структура и функции фибробластов

Фибробласты – клетки мезенхимального происхождения, которые являются основными структурными элементами соединительной ткани, осуществляющими синтез внеклеточного матрикса, его компонентов [76; 114; 237]. Формируя соединительную ткань, фибробласты поддерживают и участвуют в регенерации после повреждения, поддержании структурной организации органов и тканей [66; 76; 85; 106; 114]. Эти клетки способны не только воспринимать сигналы биологически активных веществ, но и самостоятельно синтезировать и секретировать разнообразные медиаторы, ростовые факторы и метаболиты [85; 114]. Фибробласты являются мезенхимальными клетками, формирующими, регулирующими обмен в соединительной ткани, участвующими в её деградации [219; 237]. Фибробласты образуют компоненты внеклеточного матрикса, в частности коллаген, формирующий основу органов и тканей [46; 219; 266].

Фибробласты в норме имеют средний размер 20 мкм, однако размеры варьиабельны при различном функциональном состоянии, типе клеток [231; 237; 259]. Так, среди зрелых форм фибробластов выделяют миофибробласты, фиброциты и фиброкласты [26; 231]. Фибробласты имеют веретеновидную форму, хотя форма различных субтипов этих клеток отличается, они могут иметь вытянутую и звездчатую форму. Кроме того, для фибробластов характерно наличие отростков. В их цитоплазме в большом количестве содержится эндоплазматический ретикулум, секреторные везикулы, экзо- и эндосомы, митохондрии, ядро овальной или округлой формы, окружено двухконтурной кариолемой [13; 231]. В цитоплазме органелл содержится мало, однако при функциональной активности выражен шероховатый эндоплазматический ретикулум, представлены цистерны, а ядра и митохондрии становятся крупными [29].

Согласно современным представлениям, фибробласты берут происхождение из полипотентной стволовой клетки костного мозга. В ходе дальнейшей дифференцировки образуются циркулирующие стволовые клетки периферической крови и фибробластоподобные клетки, которые в последующем формируют пул периваскулоцитов, в свою очередь дающих начало миофибробластам. Однако и стволовые мезенхимальные клетки способны дифференцироваться в префибробласты, из которых происходят дифференцирующиеся фибробласты, дающие, в свою очередь, начало зрелым фибробластам, способным обретать фенотип миофибробластов, фиброцитов и фиброкластов [13; 26; 219; 231; 237]. При этом миофибробласты отличаются в функциональном и фенотипическом отношении от других форм фибробластов, они экспрессируют α SMA, fibronectin, cadherin секретируют различные типы коллагена, имеют «звездчатую» форму. Фиброциты же имеют вытянутую веретеновидную форму, экспрессируют Vimentin, им отводят роль в поддержании структуры органов и соединительной ткани [26; 145; 219]. Для фиброкластов характерным считают наличие способности фагоцитоза и гидролитической активности [26]. Кроме того, фибробласты в зависимости от функционального состояния делят на покоящиеся,

миофибробласты, секреторные фибробласты. Покоящиеся фибробласты – наиболее многочисленны в структуре соединительной ткани, для них характерна экспрессия CD34, S100A4, они присутствуют в норме [13; 145; 179]. В условиях патологии, после повреждения, увеличивается содержание миофибробластов, обладающих характеристиками как фибробластов, так и гладких миоцитов, обретая контрактильную способность за счет перестройки цитоскелета и появления филаментов в цитоплазме, с чем связана способность такого типа фибробластов к перемещению путем «тракции» [179; 219]. В функциональном отношении миофибробласты активно участвуют в обмене, построении внеклеточного матрикса, синтезе коллагена. Преобладание секреторных фибробластов ассоциировано с повышенной экспрессией IL-6, IL-8, и замечено при незаживающих язвах кожи, связанных с сахарным диабетом, или длительно текущих хронических болезнях [11; 13; 26; 179; 219; 222].

Известно, что популяция фибробластов в тканях гетерогенна, представлена различными их типами. Кроме того, клетки фибробластического ряда способны реверсировать до стволовой мезенхимальной клетки или периваскулоцитов, в дальнейшем вновь трансформируясь в дифференцированные типы [145; 219; 237].

Переход из одного функционального статуса фибробласта в другой, а также в стволовую мезенхимальную клетку медируется TGF β и PDGF. В ткани TGF β связывает гетеро-тетрамерные рецепторные комплексы, приводя, в «типичном» варианте, к активации SMAD каскада [67; 145; 237]. Однако возможен и нетипичный путь, связанный с активацией механизмов трансформации клеток, связанный с митоген-активированной протеинкиназой (MAPK). Оба пути обеспечивают экспрессию транскрипционных факторов SNAIL/SLUG, вектор дифференцировки в трансформирующихся фибробластах поддерживается сигнальным путем Notch, индуцирующим транскрипционный фактор HOX (Homebox). Однако не всегда реализация описанных выше механизмов способствует трансформации клеток и развитию фиброза. В ряде случаев экспрессия PDGF не сопровождается фиброзом, а способствует лишь пролиферации фибробластов местно. Роль сигнальных путей, участвующих в

трансформации в настоящее время недостаточно изучена, существуют предположения об участии разнообразных механизмов запуска трансформации между функциональными типами фибробластов в зависимости от топографии фиброза в различных органах и тканях [13; 145; 179; 219; 237].

Некоторые авторы выделяют «органотипические» формы фибробластов, так, например, клетки дермальных сосочков, сердца, легких и почек, отличия в большей степени определяют их функциональная активность и возможность дифференцироваться типичные для этих органов клетки [85; 114; 145; 219; 237].

Участвуя в процессе восстановления структуры соединительной ткани после повреждения, фибробласты могут делиться на месте [46; 79; 219]. Кроме того, фибробласты способны мигрировать в область деструкции, путем образования микродефектов (каналов) в экстрацеллюлярном матриксе, запуская процесс, описываемый в литературе как «тракция», возникающий при повреждении кожи, после чего, достигнув очага повреждения начинают пролиферировать [60; 79; 219; 222; 237].

Функциональная активность фибробластов регулируется разнообразными клетками, к таковым относят эндотелиоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, а также продукция коллагена может быть стимулирована при повреждении структур органов и тканей [126; 158]. Известно, что при воспалении продукция IL-1, TNF α , IL-6 стимулируют активность и синтез коллагена фибробластами. Кроме того, в научной литературе имеются сведения о зависимости активности фибробластов различных локализаций, к примеру, фибробласты сосочкового слоя дермы проявляют в интактных условиях большую активность в сравнении с аналогичного типа клетками гиподермы [79; 114; 219; 237]. Кроме того, в синтезе коллагена участвует TGF β [67]. Однако в научной литературе не освещается механизм блокирования функции фибробластов при естественном (спонтанном) развитии фиброза, механизмах, ограничивающих процесс синтеза коллагена фибробластами и фиброзированию органов.

1.3.3 Роль эпителиально-мезенхимального и мезенхимально-эпителиального перехода в фиброзе

Эпителиально-мезенхимальный переход описывается в научной литературе как явление изменения фенотипа и свойств клеток эпителиального происхождения в пользу клеток мезенхимального происхождения, в частности, миофибробластов, реализуя в конечных проявлениях этого процесса трансформации клеток, процесс фиброза, сопровождаясь синтезом коллагена [101; 107; 191; 219; 237].

Plikus M. V. et al. (2021) продемонстрировал возможность трансформации широкого ряда клеток в миофибробласты: клетки костного мозга; эндотелий; мезотелий; другие виды эпителия; макрофаги; перициты и адипоциты [208; 237].

Среди научных сведений обнаруживаются данные о трансформации альвеолоцитов в миофибробласты при воздействии пылевых частиц оксида циркония, идиопатическом фиброзе легких, трансформации эпителия бронхов в коллаген продуцирующие клетки [42; 107; 149; 214].

Таким образом, процесс фиброзирования органов связан не только с пролиферацией и миграцией фибробластов, но и трансформацией клеток органов в фибробласты и миофибробласты путем эпителиально-мезенхимального перехода [107].

Однако фиброз органов сопряжен с повреждением структур органов, нарушением их архитектоники, склерозированием сосудов, что в свою очередь ведет к необходимости реализации процессов регенерации и компенсации. Органы и ткани при фиброзе, склерозе находятся в неблагоприятных трофических условиях, из чего следует вероятность срыва компенсаторно-приспособительных процессов и регенерации. Даже в неблагоприятных условиях среды клетки и ткани живого организма стремятся к гомеостазу [253].

Один из механизмов, возникающих при повреждении органов и тканей, склерозе органов реализует возможность клеток мезенхимального происхождения восполнять структуру тканей с эпителиальным происхождением – мезенхимально-эпителиальный переход [101; 191; 230; 253]. Способность

фибробластов менять свой фенотип соответственно активности клетки, ассоциированная с экспрессией TGF- β и запуском MAPK, SMAD сигнальных путей, связанная с перестройкой цитоскелета, отражает пластичность структуры фибробластов, их возможность трансформации в другие типы клеток [81; 154; 267]. Так, например, миофибробласты, расположенные в сосочковом слое дермы способны трансформироваться в клетки волосяных фолликулов [146; 191; 237]. Однако согласно имеющимся литературным данным, такие клетки несколько отличаются от исходного эпителия, в частности, продолжительностью своего существования, они описываются как «короткоживущие» эпителиоциты [237].

В научной литературе имеются данные о трансформации клеток мезенхимального происхождения в фибробласты, это явление относят к проявлениям ЭМП, однако в некоторых источниках такое проявление именуют мезенхимально-мезенхимальным переходом [191]. Так, например, зрелые адипоциты, в условиях повреждения, способны входить в цикл деления, результатом которого будет являться образование миофибробластов, способных продуцировать коллаген [101; 237].

Однако сущность явления ЭМП, механизмы, возможности клеток реверсировать в обратном направлении (МЭП), взаимоотношение этих процессов при фиброзе остаются малоизученными.

1.3.4 Регуляция эпителиально-мезенхимального и мезенхимально-эпителиального перехода, роль в развитии фиброза

Проявления ЭМП встречаются как в естественных, так и патологических условиях [20; 50; 119; 230]. Как и любой процесс, инициация ЭМП требует воздействия факторов или возникновения соответствующих условий [58; 119; 230]. В частности, внимание отводят межклеточным взаимоотношениям, а именно утрате межклеточных контактов, связи с базальной мембраной [20; 58; 202; 230]. Поддерживают и образуют межклеточную связь такие белки клеточных соединений как e-cadherin, цитокератины, ZO-1, а связь с базальной мембраной

поддерживается с участием laminin, entactin [9; 20; 33]. Нарушение межклеточных контактов описано при различных по этиологии и патогенезу заболеваниях, связанных как с воздействием биологических, так и физических, механических воздействиях, например, при травматических повреждениях [9; 22; 33; 119]. Замечена связь ЭМП с воздействием веществ неорганической природы. Так, например, обнаружена связь развития мезотелиомы брюшины с механизмами ЭМП и воздействием талька [202]. Среди разнообразия пусковых воздействующих факторов особое внимание отводят TGF- β в развитии ЭМП [9; 50; 81; 101; 119; 267]. Кроме того, известна роль FGF в процессе трансформации клетки и смены её фенотипа [9; 20; 119]. Экспрессия и продукция таких белков, как TGF- β , FGF, HGF, IGF1, EGF, PDGF, TNF α влияет на соответствующие рецепторы клеток, в которых в дальнейшем реализуется ЭМП [20; 92; 101; 119; 121; 143; 215]. После связывания медиаторов с рецепторами клеток запускается «канонический» (классический, типичный) каскад (SMAD), и «неканонический» (MAPK) пути, направленные на трансформацию клетки [119; 237]. После активации каскадов SMAD и MAPK блокируется апоптоз, активируется Snail и Slug, Twist1, Zeb1 [125]. Клетки утрачивают эпителиальные контакты, начинается синтез актина, клетки становятся способными к перемещению, перестраивается цитоскелет. Процесс трансформации рассматривается как «бинарный», клетки, за исключением опухолевых, могут трансформироваться в обратном направлении [119; 237; 243]. Описано три типа эпителиально-мезенхимального перехода: 1-й тип связан с трансформацией мезенхимального типа клеток и дифференцировкой эмбриональных клеток в эпителиальный тип (такой путь описывают как мезенхимально-эпителиальный переход); 2-й тип участвует в развитии фиброза путем трансформации фибробластов в миофибробласты; 3-й тип свойственен опухолям [97].

Процесс поддерживается молекулами биологически-активных веществ, которые способны индуцировать ЭМП, в частности TGF- β , FGF. Кроме того, процессы трансформации клеток сопряжены с экспрессией ряда микроРНК, таких как miR-153, miR-326, miR-340, miR-374, miR-487b, miR-493, miR-630, miR-1343 и

некоторых других, влияющих на пролиферацию фибробластов и обмен коллагена во внеклеточном матриксе, включая рост активности металлопротеиназ [14; 97; 237]. В результате развития ЭМП и как конечное его проявление появляются миофибробласты, которые начинают сборку коллагена и органы или ткань склерозируются [97; 119; 237].

1.3.5 Апоптоз и аутофагия при фиброзе

Апоптоз является, по большей части, физиологическим процессом, направленным на самоуничтожение клетки, направленным на поддержание функции и размеров органов, структуры ткани [122; 159; 255]. Согласно литературным данным, апоптоз реализуется в клетках, регулирующих процесс склероза органов, а именно – в макрофагах и фибробластах [122]. Процесс апоптоза может запускаться в активированных фибробластах, в процессе развития фиброза, а при завершении процесса ремоделирования внеклеточного матрикса апоптоз инактивируется [159; 270]. Апоптоз в фибробластах запускается при их чрезмерной активности, регулируя, таким образом, процесс фиброза и позволяет ограничивать фиброзирование органов [69; 255]. При этом в механизме запуска апоптоза в миофибробластах важная роль принадлежит ингибированию белков BCL-2/BCL-xL. Активаторами апоптоза фибробластов и миофибробластов служат BID, BIM, BAD, NOXA, PUMA. Индуцирующее апоптоз влияние оказывает и TGF β [1; 255; 270].

При чрезмерно выраженной функции фибробластов и их пролиферативной активности в процессе апоптоза участвует транскрипционный фактор p53 [1; 159]. При этом P53 способствует активации фактора, P21-циклин-зависимые киназы, приводя к ингибированию фазы деления G1. Однако P21 может ингибировать CDK1-cyclin-B комплексы, способствуя ингибированию фазы деления G2 [159; 184].

Апоптоз в макрофагах возникает при воспалении и фиброзе, развивающемся как один из вариантов ответа на повреждение ткани, зависит от

функциональной активности фагоцитирующих клеток [270]. Так, Yang G. И et al. (2023) описывали проявления апоптоза в макрофагах M1 и M2 субтипа при легочном фиброзе, отсутствие запуска апоптоза при M0 статусе макрофагов [178]. Запуску механизмов апоптоза способствует выработка провоспалительных цитокинов, активация TNF и FAS рецепторов, приводящих к активации каспазного механизма апоптоза с участием каспаз 3, 7, 9 [1; 18; 255]. Механизмы развития апоптоза фибробластов и макрофагов, роль в развитии фиброза недостаточно изучена.

Одним из процессов регулирующих численность клеток при фиброзировании органов является аутофагия – физиологический процесс поддержания гомеостаза в клетках различных органов и тканей [249; 270]. Аутофагии способствует комплекс факторов – mTOR, MAPK, JAK2/STAT3 signaling, p65, and Keap1/Nrf2 [249]. Аутофагия, по данным научной литературы, встречается во всех клетках различных органов, может возникать в клетках макрофагах и фибробластах, процесс связан с продукцией TGF β [249; 270]. Известно, что аутофагию в макрофагах запускают разнообразные факторы, влияющие на их активность и обретение фенотипов M1, M2, оказывая стимулирующее действие на продукцию коллагена [178]. Однако в фагоцитах и фибробластах процесс аутофагии и её роли в механизмах фиброза изучен недостаточно.

Аутофагия подразделяется на селективную и неселективную форму [239]. Неселективная аутофагия протекает с образованием структуры, окруженной двухслойной мембраной и содержащей цитоплазму с органеллами – аутофагосомы. Селективная форма аутофагии реализуется путем захвата материала в везикулы, содержащие литические ферменты разнообразного материала, и направлена на элиминацию отдельных ультраструктур и белков в клетке [94; 272]. Неселективная аутофагия (макроаутофагия) связана с аутофагическими протеиновыми комплексами (ATG), а неселективная – с протеинами мембран LAMP2A [123]. Связывание cargo-рецепторов ведет к формированию аутофагосом [272].

Процесс формирования аутофагосом связан с формированием фагофор, которые в дальнейшем окружают содержимое цитоплазмы, лежащее аутофагии, после чего мембрана фагофоры замыкается [94]. Подобные структуры образуются на эндоплазматическом ретикулеуме при участии трансмембранных белков Atg [123]. Далее происходит слияние с лизосомой и последующим лизисом содержимого [94; 249; 270].

1.4 Обмен коллагена в норме и патологии

Коллаген представлен в экстрацеллюлярном матриксе всех органов и тканей, в том числе минерализованных, таких как костная ткань, хрящевая [26; 114; 134; 191; 237; 274]. Коллагеновые волокна имеют линейную структуру, однако во внеклеточном матриксе формируют объёмную 3D сеть, формирующуюся из переплетений под различными углами волокон [47; 169; 194; 212].

В обмене коллагена ведущая роль принадлежит фибробластам. Эти клетки способны синтезировать коллаген и продуцируют ряд факторов, способствующих его деградации [134; 201; 212; 274].

В частности, наибольшую роль в деградации коллагена отводят матриксным металлопротеиназам (ММП) различных типов. Так, среди подобных энзимов в литературных данных отводят роль коллагеназам (ММП1), желатиназам (ММП2), стромолизинам (ММП3, ММП11), сериновым протеазам (активатор плазминогена), цистеиновым протеазам (некоторые катепсины). Активность различных ММП обнаруживают при различных патологических процессах, например, воспаление, метастазирование опухолей. Активность ММП проявляется и в ходе нормальных обменных процессов во внеклеточном матриксе.

В зависимости от типа образуемого коллагена, его структуры, толщины волокон и пространственной ориентации, свойства внеклеточного матрикса варьируют [162; 212]. Коллаген и фибробласты с точки зрения структуры и

функции соединительной ткани неразрывно связаны и обеспечивают устойчивость к внешним, в том числе, механическим воздействиям [106; 274].

В настоящее время существует теория сборки коллагена из проколлагена во внеклеточном матриксе [80; 201; 204]. Коллаген представляет из себя связку полипептидов, включающих от 70 до 140 аминокислот. Сборка коллагеновых фибрилл и коллагеновых волокон осуществляется автономно и самостоятельно, под влиянием сродства химических связей их физического электрического заряда с участием разнообразных ферментов [80; 157; 204]. Однако современная концепция не объясняет в полной мере сборку разнообразных типов коллагена из однотипного предшественника, синтезируемого фибробластами [80; 84].

Вдоль шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭПР) на рибосомах осуществляется сборка α -1 и α -2 цепей препроколлагена, которые связываются с сигнальными пептидами и проникают в шероховатый ЭПР, образуя про- α -цепи проколлагена (α -1- и α -2-цепи) в роли кофактора переноса молекул участвует аскорбиновая кислота. Далее проколлаген поступает в аппарат Гольджи, транспортируется и выделяется «экзоцистами». Вне фибробласта с участием пептидазы формирует тропоколлаген. Формирование коллагена происходит за счет ковалентных связей и участия ферментов гидроксилизина, лизил оксидазы и лизина, при этом формирующиеся коллагеновые микрофибриллы образуют с определенной периодичностью связи, формируя фибриллы, далее связываясь вторичными связями и формируя коллагеновое волокно, объединяясь в пучки, формируя квазигексагональные структуры [80; 84; 113; 157].

Коллаген 1 типа представлен фибриллами длиной около 200 нм, однако длина и диаметры фибрилл крайне переменны. Разнообразие комбинаций химических связей и типов протеинов, включенных в состав коллагена определяет различия типов волокон [263].

Наиболее часто встречающийся тип коллагена, представленный в большинстве органов и тканей – коллаген 1 типа. Ruma M. et al. предполагают, что синтез коллагена 1 типа не зависит от типа поляризации макрофагов, но стимулирует поляризацию макрофагов в M2 фенотип [255]. Известно, что

пространственные структуры коллагена включают в себя не только перечисленные выше органические соединения, но и минеральные вещества, такие как Ca, Si, Fe, Cu и другие микроэлементы [52; 165].

За счет процессов синтеза и деградации коллагена осуществляется обмен коллагена. В кожных ранах в ходе формирования коллагеновых волокон и их обновления синтез коллагена 3 типа сменяется 1 типом коллагена, который постепенно замещает предшествующий коллаген. Коллагеновые волокна начинают располагаться более компактно, плотность коллагена возрастает [35; 37].

Известно, что коллагеновая сеть после повреждения тканей кожи формируется в течение одного месяца, а в дальнейшем следует продолжительный процесс ремоделирования внеклеточного матрикса и коллагена, а при избыточном синтезе коллагена формируется гипертрофический келоидный рубец [111]. Однако механизмы регуляции синтеза коллагенов различных типов в органах, в том числе механизм ограничения процесса синтеза коллагена, в настоящее время недостаточно изучены [235]. Так, через неделю после повреждения плотность коллагена достигает около 3 % конечной плотности, спустя три недели – 30 %, а по истечению 3 месяцев – около 80 % окончательной плотности [89]. Таким образом, процесс представляется протяженным во времени и не имеющим очевидной ограниченности.

Одним из путей обмена и деградации коллагена является его фагоцитоз. Было замечено, что не всегда присутствует изменение активности ММР, участвующих в обмене коллагена при различных, как нормальных, так и патологических условиях [61; 68; 191]. Таким образом, ключевой клеткой поддерживающей процесс обмена и деградации коллагена напрямую является макрофаг и, вероятно, его подтипы, однако процессы фагоцитоза коллагена, условия реализации этого процесса в норме и патологии широко не исследованы.

1.5 Особенности фиброза в коже

Фиброз в коже возникает при разнообразных по этиологии процессах и заболеваниях, к примеру, таких как отеки (лимфедема), склеродерма, нефрогенный системный склероз, кроме того наблюдается при рубцевании ожогов и разнообразных ран, в том числе, с формированием келоидных рубцов, многие другие заболевания [23; 93; 144; 185; 199; 255; 241]. Склерозирование кожи может являться результатом проводимого лечения – применение лазера, местных стероидных препаратов, иммуномодулирующих препаратов, некоторые другие средства и методы терапии [185; 255].

В механизмах заживления дефектов кожи отводят внимание пролиферации базального слоя эпидермиса, формирующего акантотические очаги «элонгации», иногда переплетающиеся между собой и характеризующие попытку сохранить цитоархитектонику слоев [185]. В результате такой пролиферации увеличивается толщина эпидермиса [211]. Важную роль в развитии фиброза в коже выполняет базальная мембрана, в структуре которой обнаруживают коллаген 4 типа и ламинины. Эпидермис при повреждении осуществляет выброс провоспалительных медиаторов, обеспечивающих не только формирование воспалительного инфильтрата, но и активацию процесса ЭМП, образования миофибробластов и депонирования коллагена 1 типа [93; 255].

Сформулированных отличий в механизмах фиброза при разнообразии патологии кожи в литературных научных источниках не встречается. Однако описана роль разнообразных клеток и процессов, сопряженных с процессом склероза и способствующих ему [235].

Основными клетками, реализующими фиброз в коже, являются фибробласты и миофибробласты, продуцирующие компоненты внеклеточного матрикса [185; 204]. Кроме того, описана роль кератиноцитов в склерозировании кожи путем продукции регуляторов воспалительной реакции [93; 211]. Описано влияние клеток воспалительных инфильтратов (лимфоцитов и макрофагов), заключающееся в продукции медиаторов, активирующих фибробласты, особая

роль в развитии фиброза, они способны секретировать MMP и TIMP различных типов. При введении поддерживающих воспаление и экспрессию разнообразных биологически активных веществ, способствующих пролиферации клеток соединительной ткани и эпидермиса в месте повреждения [23; 182; 220; 235; 240]. К таким медиаторам относят $TNF\alpha$, широкий спектр интерлейкинов (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12), интерфероны [162; 169; 211]. Кроме того, значение предают ЭМП, индуцирующемуся в результате экспрессии $TGF\beta$ и FGF [158; 235]. Показано, что M1 поляризованные макрофаги способствуют замедлению процесса регенерации в отличие от M2 макрофагов [215].

Внеклеточный матрикс кожи описывают как «рыболовную сеть», состоящую из коллагена 1, 3, 6,7, 9, 12 типов, FACIT коллагенов, но при фиброзе начинает преобладать коллаген 1 типа [161; 263].

Основными регуляторами обмена коллагена в коже являются MMP 1 и 3, TIMP 1 и 9. Остальные типы матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов также вовлечены в процесс фиброза, однако по данным литературы, им отводится второстепенное значение [182; 185; 204; 208].

Взаимодействие клеток в коже при её повреждении, экспрессия широкого разнообразия медиаторов, регулирующих обмен внеклеточного матрикса ферментов ведет к формированию «порочного круга» в развитии фиброза кожи, самоподдерживанию и персистенции процесса после его индукции [208].

Формирование рубца кожи после ожога тесно связано с механизмами регенерации и зависит от глубины повреждения [97]. При поверхностном повреждении эпидермиса возможна эпителизация дефекта без образования рубца, но чем более глубоко повреждение, тем более крупный очаг рубцовой ткани формируется, кроме того, чем более продолжительно заживление ожога, тем больше вероятности возникновения гипертрофического (келлоидного) рубца [97; 116; 173; 199; 218].

Образование келоидного рубца связывают с различными белками vimentin, SMA, integrin, коллагеном, $TGF\beta$ сигнальным путем [97; 263]. В процесс фиброза вовлечены придатки кожи (железы и волосяные фолликулы) [97; 169].

Наблюдают экспрессию TGF β , активацию NOTCH и Smad сигнальных путей в процессе фиброза кожи, как и при склерозировании других органов [161; 182; 185; 267]. Наблюдают признаки ЭМП при заживлении кожных ран, в том числе при ожогах [97; 103; 117; 150; 169]. Процесс формирования рубца после ожога связан с экспрессией EGF, HGF, bFGF, TGF- α , TGF- β , эти медиаторы способствуют пролиферации кератиноцитов и прогениторных клеток, структур придатков кожи, однако этим же медиаторам принадлежит роль в активации и пролиферации миофибробластов, синтезе коллагена [116; 161]. Кроме того, двоякое влияние перечисленных выше медиаторов способствует как проявлениям и регуляции ЭМП, так и МЭП, в трансформации участвуют интрефолликулярные клетки и стволовые клетки из волосяных фолликулов [117; 150; 169; 244]. Кроме того, в процессе ЭМП при формировании рубца кожи участвуют миофибробласты, эпидермальные стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки костного мозга и эндотелиоциты [106; 173; 221]. Пролиферация кератиноцитов осуществляется от периферии дефекта к центру, до полной эпителизации дефекта, формируется широкий эпителиальный пласт, дермо-эпидермальное сочленение, коллаген 3 типа вытесняется коллагеном 1 типа. Известно, что соотношение коллагена 1 и 3 типа составляет в неизменной коже 5:1, в гипертрофических рубцах 6:1, а в келоидном рубце 17:1 [116; 169; 173; 221]. Эпителиоциты, образуемые путем МЭП отличаются меньшей продолжительностью существования в отличие от исходных кератиноцитов интактной кожи [237].

В ходе заживления кожных ран и ожогов обнаруживают проявления ангиогенеза [197]. Пролиферацию сосудов связывают с экспрессией таких факторов как FGF α (FGF-1), bFGF (FGF-2), TGF- α , TGF- β , PGE₂, TNF- α , VEGF, EGF [97; 150; 129]. Торможение пролиферации сосудов наблюдают при экспрессии thrombospondin-1, ростового фактора соединительной ткани, TIMP, интерфероны (α , β , γ), ангио- и эндостатины. Основными клетками, продуцирующими вышеперечисленные медиаторы, являются макрофаги, тучные и эндотелиальные клетки [97; 150; 169].

Одной из особенностей фиброза кожи и формирования рубцов кожи является участие механорецепторов (интегрины, ионные каналы, рецепторы G-протеина и ростовых факторов), активация которых влечет за собой продукцию TGF- β 1/2 и α -SMA [169; 199; 263]. Так одним из физиотерапевтических подходов к профилактике формирования келлоидных рубцов стало применение компрессионного белья [199].

Несмотря на широкую изученность фиброза кожи, процесс требует более глубоких исследований и понимания [185; 235].

1.6 Особенности фиброза в печени

Цирроз печени, как конечная стадия фиброза печени по данным на 2017 год, послужил причиной смерти 2,4 % от всех причин летальных исходов (1,32 миллиона случаев) в мире [226]. По данным 2018 года выявлено около 4,5 миллионов случаев хронической болезни печени у лиц старше 18 лет, сопровождающейся различной степенью выраженности фиброзом печени. Среди основных предрасполагающих факторов были выявлены мужской пол, старший возраст, экономически и социально-неблагополучная категория населения, к факторам риска отнесены гипергликемия, ожирение, артериальная гипертензия и дислиппротеидемия [200; 226].

Фиброз печени может возникнуть в результате воздействия разнообразных факторов как биологических, так и химических [48; 137; 200]. Фиброз печени является результатом повреждения паренхимы печени, в свою очередь, в исходе фиброзирования печени развивается цирроз [48; 226].

Среди биологических факторов ведущими являются хронические вирусные гепатиты, паразитозы и многие другие [200; 204]. В ряде случаев фиброз возникает при заболеваниях аутоиммунной природы [137; 204]. Среди воздействий токсических химических веществ внимание отводят не только воздействиям бытовых факторов (употребление алкоголя), но и воздействию профессиональных факторов, в том числе тетрахлорид углерода (тетрахлорметан,

CCl_4), а также лекарственных препаратов [45; 109; 226]. Встречается фиброз неясной этиологии, в том числе, случаи, когда повреждение гепатоцитов и биохимических маркеров деструкции паренхимы не обнаруживают [200; 226].

1.6.1 Особенности фиброза печени при воздействии тетрахлорметаном (CCl_4)

Воздействие CCl_4 на гепатоциты сопровождается образованием радикальных форм CCl_3 и CCl_2 , ограничивающих транспорт липидов из клетки и усиливающих их синтез. Таким образом, процесс сопровождается развитием жирового гепатоза с последующей гибелью гепатоцитов путем некроза и апоптоза [45; 256]. С другой стороны, метаболизм CCl_4 регулируется цитохромом P450, который входит в систему микросомальной этанол-оксидазной системы, воздействие на гепатоциты приводит к оксидативному стрессу, повреждению ультраструктур гепатоцитов (шероховатого ЭПР и митохондрий), таким образом, при сочетанном воздействии с этанолом потенцируется влияние CCl_4 , усиливается деструктивный эффект в отношении гепатоцитов [36; 256]. Воздействие CCl_4 приводит к выбросу провоспалительных цитокинов – $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , MCP-1 , индуцируя ответную воспалительную реакцию и дальнейший фиброз [36].

1.6.2 Особенности фиброза печени при воздействии этанолом

Воздействие этанола на гепатоциты ведет к усилению продукции и активности NADH усилению продукции глицерол-фосфата, который объединяясь с жирными кислотами ведет к образованию и накоплению триглицеридов [136]. При воздействии этанола подавляется антиоксидантная система, что ведет к развитию оксидативного стресса [36; 136]. Таким образом, изменение метаболических процессов в гепатоцитах ведет к их дистрофии и некрозу. Воздействие этанола сопровождается увеличением концентрации провоспалительных цитокинов, в частности $\text{TNF-}\alpha$, возрастает активность клеток

Купфера [103; 253]. В результате токсического повреждения гепатоцитов этанолом увеличивается концентрация IL-10 и родственных им цитокинов, увеличивается концентрация СК-18 и СК-19, характерных для этанолового повреждения печени [136].

Повреждение гепатоцитов и активация клеток Купфера сопровождаются увеличением концентрации VEGF в крови, экспрессии их рецепторов в ткани печени в сочетании с ростом содержания провоспалительных цитокинов; происходит активация сигнального пути MAPK, способствуя пролиферации фибробластов и трансформации клеток в миофибробласты, дальнейшему развитию фиброза органа [136; 226; 240]. Как в случае воздействия CCl₄, так и при воздействии этанолом запускается «неканонический путь» трансформации миофибробластов [36; 256].

1.6.3 Современные взгляды на развитие фиброза печени

Развитие фиброза в печени отличается взаимодействием разнообразных органотипических клеток, в частности, звездчатых клеток (клеток Ито), миофибробластов и эндотелиоцитов, а также макрофагов и нейтрофилов, портальных фибробластов [103; 226; 233].

Szafranska K. et al. (2021) при электронно-микроскопическом исследовании печени заметили, что в процессе фиброза печени (как при заболеваниях, так и в ходе «старения» организма) синусоидные капилляры утрачивают «фенестры» (нанопоры), этот процесс описывают как «капилляризация синусоидов». Преобразование сосудистой стенки и утраты нанопор связано с накоплением в пространствах Диссе, а также в базальной пластинке, коллагена, эндотелиоциты при этом становятся более вытянутыми и уплощаются. Формирующиеся изменения затрудняют транспорт веществ между сосудами и гепатоцитами, в том числе лекарственных препаратов [253]. Кроме того, эндотелиоциты являются источником провоспалительных цитокинов, способствующих индукции фиброза и способных участвовать в ЭМП (в частности эндотелиально-мезенхимальный

переход), трансформируясь в миофибробласты, по мере трансформации утрачивая экспрессию E-cadherin и VEGFR [240; 271]. Процесс трансформации эндотелиоцитов регулируется макрофагами, экспрессирующими IL-10, подобные проявления описаны в миокарде при ишемическом его повреждении и в почках [118; 139; 240].

Определенную роль в развитии фиброза отводят клеткам Ито (звездчатым клеткам), которые способны изменять свой фенотип и обретать способность к синтезу коллагена [38; 36; 145; 226; 236]. Wan S. et al. (2024) продемонстрировали, что при фиброзе печени у мышей при введении TGF β , а также в биоптатах печени пациентов с фиброзом органа увеличена коэкспрессия Ki-67 и α SMA в звездчатых клетках, а около звездчатых клеток обнаруживали отложение коллагена [40].

В развитии фиброза печени важную роль играет ЭМП [38]. В научной литературе имеются сведения о трансформации гепатоцитов путем ЭМП при фиброзе печени, в том числе, индуцированном CCl₄: обнаруживали уменьшение экспрессии гепатоцитами E-cadherin, и напротив – увеличение экспрессии N-cadherin, vimentin [38; 233].

Процесс ЭМП при фиброзе и циррозе печени совершается с участием Snail1, Slug (Snail2), ZEB1 и регулируется TGF β . При фиброзе печени описаны проявления «канонического» и «неканонического» пути ЭМП, SMAD-зависимого и независимого [225; 233].

Процесс ЭМП при фиброзе печени реализуют не только клетки Ито и гепатоциты, но и эпителий желчевыводящих путей. Так же, как и при фиброзе других органов, важную роль в реализации ЭМП клетками структур печени отводят ламинину и интегринам, формирующих межклеточные контакты и обеспечивающим связь с базальной мембраной [38; 233].

В результате ЭМП клетки печени (эпителий желчных протоков и гепатоциты) утрачивают межклеточные связи и связь с базальным слоем, обретают способность к миграции, изменяя цитоскелет и обретая фенотип клеток способных к синтезу коллагена – миофибробластов. Современные взгляды на

ЭМП при развитии фиброза органов, предполагают возможность обратной трансформации клеток [103; 226; 233].

Дальнейший синтез коллагена и его обмен регулируется матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами, основными источниками которых служат активированные клетки Купфера, звездчатые клетки и миофибробласты [103; 200; 226; 233; 243].

Регуляторную роль в развитии фиброза и цирроза печени отводят макрофагам как мигрирующим, так и резидентным (клеткам Купфера), продуцирующим IL-10 и TGF β , вероятно, меняющим свой функциональный статус [103; 253]. Однако, как M1, так и M2 макрофаги способны активировать звездчатые клетки и опосредовать таким образом развитие фиброза [103].

Клетки, участвующие в процессе ЭМП, способны сохранять экспрессию как антигенов эпителиального типа клеток, так и мезенхимального типа, такое явление называют «неполный» (частичный) ЭМП, а при завершённом ЭМП, способны трансформироваться в обратном направлении [103; 271].

Учитывая возможность клеток менять свои функции при ЭМП, наличие упоминаний о «неполном» ЭМП, остается неясным в настоящее время, насколько образующиеся при ЭМП гепатоциты или клетки желчных протоков способны поддерживать свойственную этим структурам функцию. В эксперименте *in vitro* Топоока Y. et al. (2024) продемонстрировали, что гепатоциты, образовавшиеся в результате ЭМТ способны продуцировать альбумины [232].

В настоящее время сохраняется точка зрения на фиброз и цирроз печени как на необратимые процессы [38; 136; 184; 200; 226; 233]. Исходя из известных механизмов развития фиброза печени, осуществляется поиск средств, препятствующих развитию фиброза и цирроза печени, однако эффективность их низкая, обратного развития фиброза не происходит [38; 200; 226]. В части случаев удается путем устранения влияния этиологического фактора препятствовать развитию и прогрессированию фиброза печени, ограничить процесс, однако этиотропная терапия напрямую не оказывает влияния на процесс фиброза [200]. В экспериментальных условиях показана противифибротическая эффективность

блокирования TGF β и механизмов ЭМП, однако обратного развития фиброза не происходит, а клиническое применение блокаторов TGF β и наблюдение за пациентами при такой терапии представляет из себя экономически дорогостоящий процесс [226]. Таким образом, механизмы фиброзирования печени в условиях разнообразия этиологии и поиск потенциальных средств, не только тормозящих развитие фиброза, последующего цирроза печени, требуют дальнейших исследований [45; 137; 226].

1.7 Формирование спек брюшной полости

Спайки образуются в различных замкнутых полостях, например, в брюшной, плевральной, амниотической полости. Формирование спаек в различных условиях и в различной топографии ведет к нарушению функций соответствующих расположению спаек органов, снижению качества жизни и в ряде случаев к инвалидизации [21; 34; 41; 128; 248].

Спайки брюшной полости формируются при воспалительных заболеваниях органов брюшной полости и малого таза, после оперативных вмешательств [8; 34; 41; 128]. Частота встречаемости у пациентов после оперативных вмешательств, в том числе эндоскопических малоинвазивных, составляет около 93 %. При этом, формирование спаек нередко требует повторных оперативных вмешательств для их рассечения [8; 41].

1.7.1 Этиология спаек

Среди этиологических факторов рассматривают физические, химические, механические и биологические факторы [8; 41; 197]. К физическим факторам относят высушивание брюшины под действием воздушных масс, к примеру, при объёмных операциях и широком хирургическом доступе, или использование двуокиси углерода при малоинвазивных эндоскопических операциях, использование плазменных и лазерных скальпелей. В качестве примеров

химических факторов упоминают дезинфицирующие растворы, такие как спирт или йод, широко обсуждается воздействие частиц талька [197]. Распространены спайки, возникающие по причине воздействия биологических факторов, в частности обсеменении полостей бактериальными агентами при перитоните или пневмонии. К механическим факторам относят травмирующее воздействие пинцета, скальпеля, хирургических салфеток и подобные воздействия.

1.7.2 Механизмы формирования спаек

В механизмах образования спаек ведущую роль отводят местному расстройству кровообращения, сопровождающемуся повышенной сосудистой проницаемостью и плазморрагией или напротив – ишемией, приводящей к повреждению мезотелия. Кроме ишемического фактора к повреждению мезотелия приводят разнообразные ранее упомянутые факторы. Таким образом, процесс сопряжен с развитием воспалительной реакции, протекающей с образованием разнообразных форм экссудата [128; 129; 197; 231].

Важной частью механизма формирования спаек является возможность восстановления барьера, а именно мезотелия, отграничивающего брюшную полость (внешняя среда) от тканей поврежденной брюшины. Мезотелий, как правило, эпителизирует и закрывает дефекты в течение 3–5 дней, таким образом в случае «рассасывания» экссудата спайка не образуется, однако в 63–97 % случаев спайки образуются, преобладающее большинство спаек формируется после лапаротомии и открытых операциях гинекологического профиля на органах малого таза [41; 128]. Спустя 5 дней после индукции спаечного процесса в экспериментальном исследовании Fischer A. et al. (2020) продемонстрировали, что мезотелий экспрессирует антигены фибробластов (GFP, CD45, PDGFR α). При электронно-микроскопическом исследовании показали, что в местах контакта области повреждения мезотелия с соседней неповрежденной поверхностью серозной оболочки, а между мезотелиальными клетками образуются контакты в виде «мостиков» спустя 3 часа после альтерации. Было показано путем

конфокальной и иммунофлюоресцентной микроскопии, что спустя 24 часа клетки двух поверхностей мигрируют и перемешиваются, далее в этой области формируются спайки [196; 231].

В образовании спаек важную роль играет плазминоген, способный расщеплять один из компонентов субстрата спаек – фибрин, таким образом, дефицит или инактивация указанного фермента способствует образованию сращений [8; 128].

Дальнейший механизм образования спаек связан, главным образом, с реакцией нейтрофилов и макрофагов, их способностью элиминировать этиологический фактор, лизировать и фагоцитировать продукты повреждения тканей, экссудат [177; 269]. Так, ряд авторов отмечают, что недостаточность фагоцитозной функции макрофагов ведет к формированию спаек, поскольку образующийся экссудат подвергается организации [34; 44; 63; 269].

Известно, что макрофаги могут находиться в различных функциональных состояниях. Находящиеся в активированном состоянии макрофаги способны стимулировать процесс фиброгенеза, проявляя провоспалительную активность и поддерживая, таким образом, формирование спаек [217; 269]. Фагоцитозная и провоспалительная активность макрофагов связана с их функциональным статусом. В настоящее время функциональный статус и ультраструктура макрофагов при формировании спаек недостаточно изучены.

Известно, что макрофаги, проявляющие провоспалительную активность, находятся в статусе M1, для них характерна экспрессия ИЛ-1, ФНО α , ИФН γ . Макрофаги, имеющие статус M2, проявляют противовоспалительную, прорегенераторную активность, способствуют фагоцитозу и экспрессируют в зависимости от подтипа разнообразные маркеры, в частности, такие как ИЛ-10 и TGF- β [99; 133; 192]. Показано, что в присутствии липополисахарида штаммов бактерий *Porphyromonas gingivalis* в пародонте макрофаги изменяют функциональный статус в пользу M2 типа [3]. На поляризацию макрофагов влияет семейство фактора FGF и микро РНК семейства miR 30 [175].

В процессе организации формируется соединительная ткань. Первоначально в скопление экссудата из поврежденной брюшины мигрируют незрелые клетки мезодермального происхождения и дифференцируются в фибробласты, начинается синтез внеклеточного матрикса, откладывается коллаген [135; 269]. По мере фагоцитоза в инфильтратах спаек фибробласты начинают преобладать над макрофагами [196]. В процессе фиброза макрофаги способны стимулировать синтез коллагена фибробластами [90]. В спайках образуется и преобладает коллаген 1 и 3 типа [62]. Наиболее активно синтезируется коллаген 1 типа с 14-х суток в экспериментальных условиях *in vivo* [90; 135]. Конфигурация коллагена в пространстве разнообразна в различных органах, представлена тонкими или широкими переплетающимися коллагеновыми волокнами, толщиной около 6,8 мкм, иногда расположенными относительно параллельно [65]. Синтез мономеров коллагена осуществляют фибробласты, которые могут осуществлять продукцию тропоколлагена в различных формах своей дифференцировки [27; 57; 223]. Однако о структуре фибробластов, механизмах синтеза и секреции коллагена представлено мало сведений, а описание изменений в фибробластах в ходе формирования спаек и морфологии клеток, образующих коллаген спаек отсутствует.

В настоящее время не ясно, какие формы фибробластов участвуют в процессе формирования спаек. Foster D. S. et al. (2020) продемонстрировали, что фибробласты в спайках представлены разнообразными формами, а источником фибробластов в спайках являются клетки брюшины и серозной оболочки органов брюшной полости [90]. Liang S. et al. (2024) в своих работах указывают, что в структуре спаек содержатся индикаторы миофибробластов – коллаген 1-го типа, *vimentin* и некоторые другие [134].

D'Urso M. et al. (2024) предполагают что дифференцировку фибробластов в миофибробласты поддерживает типичный TGF β -зависимый путь, с участием в процессе образования спаек проявлений ЭМП, демонстрируя в исследованиях *in vitro*, что дифференцировка дермальных фибробластов в миофибробласты происходит в течение 4 дней при введении в культуру клеток 10 нг/мл TGF β ,

обнаруживая зависимость ориентации фибробластов от микроокружения и направленности фибронектинового адгезивного субстрата [227].

При повреждении брюшины мезотелиальные клетки TGF β -зависимым путем ЭМП трансформируются в коллагенообразующие и продуцируют преимущественно коллаген 1 типа, формируя соединительнотканную основу спайки [21; 32]. Эти же клетки в дальнейшем участвуют в эпителизации спаек и дефектов брюшины, завершая формирование дефекта, таким образом, говорят о «дисфункции» мезотелиальных клеток [21; 135].

В настоящее время научные сведения указывают, что для предотвращения формирования спаек важен период до 3–5 суток, когда осуществляется формирование спайки и отсутствует полная эпителизация новообразованных соединительнотканых тяжей, однако методы профилактики спаек в практической медицине применяют редко, в связи с тем, что такие методы несовершенны и обладают низкой эффективностью [8; 34; 128; 135]. Так, для профилактики образования спаек брюшной полости и малого таза апробируют применение наночастиц лигустразина, гиалуроновую кислоту в эксперименте [128; 135]. После эпителизации спаек говорят о стабилизированных спайках, которые рассекают хирургическим путем, однако этот метод поддерживает образование спаек и, как правило, приводит к повторному их образованию [128; 41; 135].

1.8 Структура и свойства окисленного декстрана

Окисленный декстран (ОД) является разветвленным полисахаридом, обладающим свободными связями и разнообразной молекулярной массой от 3 до 200 кДа [30; 208; 211; 173]. ОД, попадая в ткань, захватывается макрофагами, однако деградация его в вакуолярном аппарате макрофага медленная. Метаболизм ОД, до полного выведения его из организма, занимает около 7 суток [30]. Окисленные формы декстрана обладают большим количеством свободных связей, способных присоединять разнообразные молекулы [23; 30]. Находясь в вакуолярном аппарате макрофагов, поддерживает их активность, в частности,

стимулирует процессы эндоцитоза [23]. В многочисленных исследованиях ОД демонстрировал свойства лизосомотропности, влияя на фагоцитоз в макрофагах, способствуя завершенности процесса при БЦЖ-индуцированном гранулематозе, экспериментальном кандидозе, гриппе [5; 15; 23; 24].

Среди биологических эффектов декстранов упоминается способность стимулировать продукцию макрофагами ИЛ-10, ИФН- γ , оказывая иммуномодулирующий эффект [17].

Кроме того, ОД оказывает гемостатические эффекты, способствуя высвобождению кальция и активации коагуляционного каскада. Гемостатический эффект наблюдали при заживлении ран, повреждении печени [173].

Pajares-Chamorro N. et al. (2021) продемонстрировали микробицидные эффекты ОД в отношении метциллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus* (MRSA) [221].

В научной литературе имеются сведения об антиоксидантных свойствах ОД. Fu Y. et al. (2021) обнаружили снижение содержания активированных метаболитов кислорода и радикальных соединений при воздействии ОД, в частности, при заживлении ран [96].

Однако эффекты Декстранов во многом зависят от молекулярной массы и количества свободных связей. Bosek M. et al. (2022) описывают, что проявления коагулирующих свойств декстранов достигает максимальной выраженности при молекулярной массе 500 кДа и концентрации раствора 3–4 г/дл, однако проявления свойств декстранов, зависимость их от молекулярной массы и концентрации, таких как стимулирование продукции иммуноглобулинов, фибриногена и антиоксидантных свойств требует дальнейшего изучения [210].

1.8.1 Влияние окисленного декстрана на процессы фиброзирования органов и тканей

В присутствии ОД выраженность фиброза при разнообразных патологических процессах с различной этиологией снижается. Таким образом, ОД

обладает противofiбротическим эффектом. При этом, проявления этого эффекта однотипны в различных моделях, что указывает на связь и однотипность реагирования макрофагов, фибробластов, находящихся в склерозирующей ткани, следовательно, на наличие однотипных механизмов в реализации фиброза органов и тканей [23; 30].

При экспериментальном гриппе у мышей обнаруживали избыточное накопление коллагена в интерстиции легких, а при воздействии на процесс ОД проявления фиброзирования были выражены в меньшей степени [23].

Однако до настоящего времени в достаточной степени не ясны и не объяснены биологические эффекты влияния ОД на биологические процессы в живом организме [210].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех проведенных экспериментах были использованы крысы-самцы породы Wistar, массой 190–210 г. Использовали экспериментальные модели глубоких ожогов 3Б степени, спаек брюшной полости, посттоксических гепатозов и цирроза печени. Эксперименты одобрены комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ ФИЦ ФТМ, ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России и выполнены в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях.

Животных содержали изолированно друг от друга в стандартных условиях вивария, они имели свободный доступ к воде и пище, на стандартной лабораторной диете.

Во всех экспериментальных условиях перед началом моделирования экспериментальных условий животных вводили в состояние наркоза. Состояние наркоза обеспечивали путем внутримышечного введения в бедренную мышцу раствора смеси тилетамина (50 мг) и золазепама (50 мг) по 0,1 мл на 100 г массы тела. Крыс во всех экспериментальных условиях выводили из эксперимента следующим образом: животных вводили в состояние наркоза, после чего производили декапитацию.

2.1 Моделирование и исследование глубокого термического ожога кожи 3Б степени

Были проведены 2 эксперимента с термическим ожогом кожи 3Б степени. В обоих экспериментах ожоговую травму кожи проводили по методике Клебановас Ю. и соавт. (2005), Большаковой И. Н. и соавт (2008), модифицированной нами – медной пластиной диаметром 25 мм, нагретой от электроприбора с нагревателем 220В/80Вт (Rexant, Китай) до температуры 260 °С, которую накладывали на кожу спины, граничащей с поясничной областью

(Клебановас Ю., 2005; Большакова И. Н., 2008). Длительность экспозиции составляла 11 секунд.

В эксперименте с ожогом кожи № 1 первую группу составили нелеченные животные (1-я группа) с ожогом кожи 3Б степени, вторую (2-я группа) – крысы с ожогом кожи 3Б степени, которым ежедневно на область ожога наносили 5 % водный раствор ОД с молекулярной массой около 40 кДа при комнатной температуре 23–24 °С. В последующем на 1-е, 5-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки после ожога получали образцы кожи, несколько превышающие площадь ожога для суждения о характере процессов, происходящих в краях ожоговой травмы. В каждой группе, на каждый период исследования приходилось по 7 животных, всего в эксперименте было задействовано 70 крыс. Кроме того была группа интактных животных, состоящая дополнительно из 5 крыс.

В эксперименте с ожогом кожи № 2 крыс ($n = 63$) разделили на 3 группы, по 7 крыс в каждой, на каждый период эксперимента: 1-я группа – животные со спонтанным заживлением ожога; 2-й группе крыс на область ожога ежедневно один раз в день наносили смесь препаратов на основе 5 %-го водного раствора ОД включающую антибиотик широкого спектра действия (метронидазол 0,1 %) и анестетик (лидокаин 0,04 %); крысам 3-й группы животных на область ожоговой травмы наносили ежедневно один раз в день наносили пантенол. Материал (кожу области ожога с прилежащей неизменной визуальной кожей) забирали на 21-е, 28-е и 32-е сутки с момента нанесения термического ожога. Еще 5 животных использовали в качестве интактного контроля.

Для оценки динамики репаративного процесса у животных всех исследованных групп в состоянии наркоза делали фотоснимки ожоговой раны кожи. Для этого использовали фотокамеру Nikon, закрепленную на штативе, на расстоянии 100 см от поверхности раны. Площадь ожоговой травмы определяли по ее фотоснимкам с помощью программы Corel Draw 10.0, и выражали в миллиметрах. Перед получением срезов образцы кожи в парафиновых блоках ориентировали в плоскости, перпендикулярной дну ожоговой раны.

2.2 Моделирование и исследование спаек брюшной полости

Спаечный процесс моделировали у двухмесячных самцов белых крыс породы Wistar, средней массой 217 г, полученных в виварии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России.

Животные были разделены на 2 группы, в каждой группе по 10 особей. Первую группу (1-я группа) составили животные со спайками в брюшной полости без применения лечения. Крысам второй группы (2-я группа) однократно вводили в брюшную полость 2,0 мл 5 % водного раствора окисленного декстрана с молекулярной массой 40 кДа, степенью окисления до 10 %.

Кроме того, была сформирована группа интактных животных (3-я группа), которую составили 5 особей, их использовали в качестве «интактного» контроля для оценки состояния неизмененной брюшины и брыжейки.

В условиях стерильной операционной с соблюдением правил асептики и антисептики крыс вводили в состояние наркоза, для этой цели применяли комбинированную общую анестезию путём внутримышечного введения 1,0 мл раствора на 1 кг массы тела водного раствора смеси тилетамина гидрохлорида и золазепама. Животные погружались в состояние наркоза через 3–5 минут, после чего выбривали живот, ограничивали операционное поле стерильными салфетками, обрабатывали операционное поле 70 % спиртом. По белой линии живота совершали вертикальный линейный разрез кожи, а затем и передней брюшной стенки, брюшины. Длина разреза составляла 3 см. Петли кишечника выводили из брюшной полости на стерильные салфетки.

После извлечения петель кишечника из брюшной полости производили скарификацию париетальной брюшины и сальника скарификатором (по 6 «насечек» длиной 0,5 см), петли кишечника высушивали потоком воздуха с расстояния 70 см в течение 10 секунд. За время операции, нанесенные скарификатором «насечки» закрывались небольшими сгустками крови.

По завершению манипуляций петли кишечника укладывали в брюшную полость, операционную рану ушивали послойно. Для ушивания брюшины

применяли нить кетгут 2/0, кожу ушивали рассасывающейся нитью производителя SERAG weissner, SERAFIT 2/0. После ушивания брюшной стенки и кожи операционную рану обрабатывали 70 % раствором спирта. Животным второй группы перед наложением последнего шва в брюшную полость однократно вводили по 2 мл 5 % водного раствора окисленного декстрана с молекулярной массой 40 кДа со степенью окисления до 10 %, а после ушивания брюшной полости операционную рану однократно орошали 1 мл аналогичного раствора окисленного декстрана.

В исследовании использовали окисленный путём пероксидазного окисления по запатентованной методике декстран. Полученный декстран не обладает побочными свойствами, полностью выводится из организма в течение 7 суток.

После ушивания операционной раны крысам 2-й группы по латеральным поверхностям передней брюшной стенки осуществляли легкие массирующие движения с целью более равномерного распределения окисленного декстрана по брюшной полости.

Материал получали на 7-е и 21-е сутки с предварительной общей анестезией и последующей декапитацией, производили вскрытие. При вскрытии брюшной полости определяли выраженность спаечного процесса путём оценки в баллах показателей распространенности спаек в брюшной полости, их количества и внешнего вида. Оценку характера и распространенности спаечного процесса проводили по методике Аюшиновой Н. И. и соавт. (2012), модифицированной нами. Критериями служили распространенность спаек в брюшной полости по «этажам», внешний вид спаек, наличие или отсутствие сдавления органов

2.3 Моделирование посттоксического фиброза и цирроза печени брюшной полости спайками или стеноза просветов полых органов брюшной полости.

В связи с тем, что процесс формирования спаек связан с миграцией клеток, участвующих в формировании спаек, из области повреждения серозных оболочек органов брюшной полости, вместе со спайкой забирали брыжейку и серозную оболочку кишечника.

2.3 Моделирование и исследование посттоксического фиброза и цирроза печени

Токсический гепатоз с исходом в фиброз и цирроз моделировали путём интраперитонеального введения 50 % масляного раствора четыреххлористого углерода и перорального введения 6,5 % водного раствора этилового спирта. Модель была нами модифицирована с целью снижения числа летальных исходов у крыс в ходе постановки эксперимента, для этого изменили кратность введения четыреххлористого углерода (CCl_4), в нашем эксперименте она составила 1 раз в 4 суток. После интраперитонеального введения CCl_4 в последующие 3 дня энтерально вводили 6,5 % водный раствор этилового спирта.

6,5 % водно-спиртовой раствор этилового спирта и 50 % масляный раствор четыреххлористого углерода (CCl_4) вводили поочередно по следующей схеме: 1-й день интраперитонеально вводили CCl_4 с расчетом 1 мл/кг массы тела, а в последующие 3 дня – 6,5 % водный раствор этилового спирта, повторяя действия на протяжении 60 суток до возникновения цирроза печени, наличие которого подтверждалось формированием характерного внешнего вида узловой плотной печени, на разрезе которой были видны ложные дольки. По истечению 60 суток воздействие токсическими факторами (CCl_4 и водный раствор этилового спирта) прекращали.

6,5 % водный раствор этилового спирта не вводили в дни введения 50 % масляного раствора (CCl_4) и 5 % раствора окисленного декстрана для уменьшения летальности среди животных.

Животные были разделены на 4 группы:

1-ю группу (контроль гепатоза и цирроза печени) составили 30 крыс, получавших исключительно токсические факторы (CCl_4 и водный раствор этилового спирта). Животных выводили из эксперимента на 31-е, 61-е, 91-е сутки

2-ю группу (введение ОД при остром гепатозе) составили 20 крыс, которым в 1-е сутки интраперитонеально вводили масляный раствор CCl_4 . На 2-е сутки интерпеританеально вводили 5 % водный раствор окисленного декстрана в объёме

2 мл на каждую особь. На 3-е и 4-е сутки энтерально вводили 6,5 % водно-спиртовой раствор через поилку объемом 450 мл. Цикл и последовательность введения (CCl_4) раствора окисленного декстрана и водно-спиртового раствора повторяли до 60 суток. Животных выводили из эксперимента на 31-е (10 крыс), 61-е (10 крыс) сутки.

3-й группе (введение ОД при формирующемся фиброзе печени в условиях хронического гепатоза), состоящей из 20 крыс в 1-е сутки в брюшную полость вводили 50 % масляный раствор четыреххлористого углерода (CCl_4) из расчета 1 мл/кг массы тела. На 2-е, 3-е, 4-е сутки энтерально вводили 6,5 % водно-спиртовой раствор через поилку объемом 450 мл. Цикл и последовательность введения (CCl_4) и водно-спиртового раствора повторялся до 30-х суток. Начиная с 30-х после очередного введения 50 % масляного раствора CCl_4 на следующий день в брюшную полость вводили 5 % водный раствор окисленного декстрана, далее в течение двух дней вводили энтерально 6,5 % водно-спиртовой раствор, цикл повторяли до 60 суток. После 60 суток введение токсических факторов прекращали, но до 90-х суток крысам интраперитонеально вводили только 5 % водный раствор окисленного декстрана с кратностью 1 раз в каждые 4 суток. Животных выводили из эксперимента на 61-е, 91-е сутки.

4-й группе (введение ОД при циррозе печени) крыс в 1-е сутки в брюшную полость был введен 50 % масляный раствор четыреххлористого углерода (CCl_4) из расчета 1 мл/кг массы тела. На 2-е, 3-е, 4-е сутки энтерально вводили 6,5 % водно-спиртовой раствор через поилку объемом 450 мл. Цикл и последовательность введения (CCl_4) и водно-спиртового раствора повторяли до 60 суток. После 60-х суток формировался цирроз печени, а токсический фактор отменяли. Далее, в условиях сформированного цирроза печени интраперитонеально вводили 5 % водный раствор окисленного декстрана, по 2,0 мл каждому животному в течение 30 суток. Животных выводили из эксперимента на 91-е сутки.

2.4 Гистологическая обработка и гистологическое исследование экспериментального материала

Изъятые органы и ткани фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине. После фиксации производили вырезку материала с последующей проводкой через серию спиртов возрастающей концентрации, ксилол, заливали фрагменты тканей в парафин, получали парафиновые блоки, с которых при помощи микротомы Carl Zeiss изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, срезы укладывали на гистологические стекла. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и изучали в светооптическом микроскопе AxioStar plus «Carl Zeiss». Для выявления коллагена различных типов применяли дополнительную окраску по Ван Гизону и импрегнацией серебром. Для выявления клеток Ито применяли окрашивание реактивом Шиффа с докрашиванием азуром 2 [16]. При изучении срезов путем световой микроскопии использовали комбинированное увеличение. Осуществляли подсчет концентрации коллагеновых фуксинофильных волокон в единице объема с последующим вычислением объемной плотности (V_v , %) коллагена, подсчет численной плотности (N_{ai}) сосудов, фибробластов, макрофагов и нейтрофилов в морфометрической сетке окуляра микроскопа. При исследовании ожогов кожи в эксперименте № 1 подсчет клеточного состава инфильтрата осуществляли с учетом тучных клеток и лимфоцитов. Тестовая площадь морфометрической сетки составила 1600 мкм² при увеличении в 400 раз и 2500 мкм² при увеличении в 100 раз. Увеличение в 100, 200 и 400 раз использовали для демонстрации фотоснимков. Измерение размеров различных структур производили при помощи окуляр-микрометра, результат выражали в микрометрах (мкм).

2.5 Иммуногистохимическое исследование

В экспериментах со спайками брюшной полости и токсическим поражением печени использовали иммуногистохимический метод исследования. Для

исследования применяли стандартный пероксидазный метод с использованием моноклональных антител к интерлейкину-1 (IL-1), фактору некроза опухолей- α (TNF- α), интерферону- γ (ИФ- γ), матриксным металлопротеиназам (MMP) 2-го и 9-го типа, тканевому ингибитору матриксных протеиназ (TIMP) 1-го типа, трансформирующему фактору роста- β (TGF- β), E-кадгерину (E-cadherin), виментину (Vimentin), цитокератину 18 (CK-18), в разведении, рекомендованном производителем (Abcam, США). Дополнительно, в экспериментах с токсическим повреждением печени использовали моноклональные антитела к SNAIL+SLUG в разведении, рекомендованном производителем (Abcam, США). Окраску проводили реагентами системы детекции HRP-DAB Detection System (Thermo Fischer Scientific, США). Экспрессию антител в клетках и внеклеточном матриксе оценивали вне зависимости от выраженности экспрессии, подсчитывали численную плотность клеток. В экспериментальном исследовании спаек брюшной полости и токсического повреждения печени использовали антитело к P53, в разведении 1:100, рекомендованном производителем (Abcam, США).

2.6 Трансмиссионная электронная микроскопия

Для трансмиссионной электронной микроскопии образцы спаек фиксировали в 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, последующей дофиксации в течение 1 ч в 1 %-ном растворе тетраоксида осмия (OsO₄) на фосфатном буфере pH 7,4. Дегидратацию образцов проводили в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. На ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия) изготавливали полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали толуидиновым (49 микропрепаратов). С помощью светового микроскопа Axio Lab (Carl Zeiss, Германия) выбирали образцы для исследования в электронном микроскопе, после чего на ультратоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия) из отобранного материала изготавливали ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм и контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата, цитратом

свинца (отобрано 25 фрагментов). Цифровые фотографии получали с помощью электронного микроскопа JEM 1400 (JEOL, Япония) в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН. Использовали комбинированное увеличение. Всего проанализировано 714 фотоснимков (электронограмм).

Измерение размеров макрофагов, фибробластов и их ядер, толщины коллагеновых волокон производили на цифровых фотографиях, полученных при увеличении $\times 10\,000$ с помощью компьютерной программы ImageJ (Wayne Rasband, США), вычисляли объём ядер и цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение.

2.7 Статистическая обработка данных

Вероятность достоверности различий между сравниваемыми средними величинами ($M \pm m$) определяли с помощью критерия Стьюдента при условии нормального распределения величин в вариационном ряду. Нормальность распределения данных вычисляли с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. Достоверность отличий средних величин исследованных показателей между группами экспериментальных животных с малой выборкой (Me (Q_1 ; Q_3)) вычисляли с использованием U-критерия Манна – Уитни. Для определения достоверности при сравнении количества спаек, их вида и распространенности в брюшной полости у крыс, проводили однофакторный дисперсионный анализ сумм баллов в сравниваемых группах, используя критерий Фишера. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). Различия считали статистически достоверными при ($p \leq 0,05$).

Кроме того, при сопоставлении и анализе данных использовали метод Пирсона для поиска корреляционных взаимосвязей, который оценивали по шкале Чеддока.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Процесс заживления ожоговой травмы и образование рубца после ожога кожи 3Б степени (эксперимент № 1)

Крысам нагретой до 180 °С медной пластиной с площадью 490,87 мм в области спины наносили ожог 3Б степени. На 3-и сутки после нанесения ожога по периферии области травмы наблюдали гиперемию и отёк на границе с неизменной кожей. На 3-и сутки формировался струп. Гиперемия и отёк на границе с неизменной кожей, поддерживались до 14 суток включительно.

В контрольной группе со спонтанным заживлением ожога (1-я группа) струп начинал отторгаться по краям области ожоговой травмы к 14-м суткам. У крыс, получавших ОД, отторжение струпа с краев дефекта обнаруживали на 7-е сутки (у двух животных – на 5-е сутки). На 10-е сутки у крыс 1-й группы отторжение струпа обнаруживали по краям области ожога, у животных 2-й группы неравномерно по всей плоскости области послеожогового дефекта (Рисунки 1 и 2).

К 21-м суткам у большей части крыс обеих групп, струп отсутствовал (у 70 % крыс 1-й группы и 90 % крыс 2-й группы), в области ранее нанесенного ожога обнаруживали рубец. У крыс 1-й группы (ожог). Рубец был неправильной округлой и овальной формы, «звездчатой» формы, был более плотной консистенции в сравнении с рубцом кожи у животных 2-й группы (ожог + ОД), который имел линейную или овальную форму был более эластичным на ощупь (Рисунки 3 и 4).



Рисунок 1 – Отторжение струпа по краям области ожоговой травмы у крысы 1-й группы (ожог) через 10 суток после нанесения ожога 3Б степени

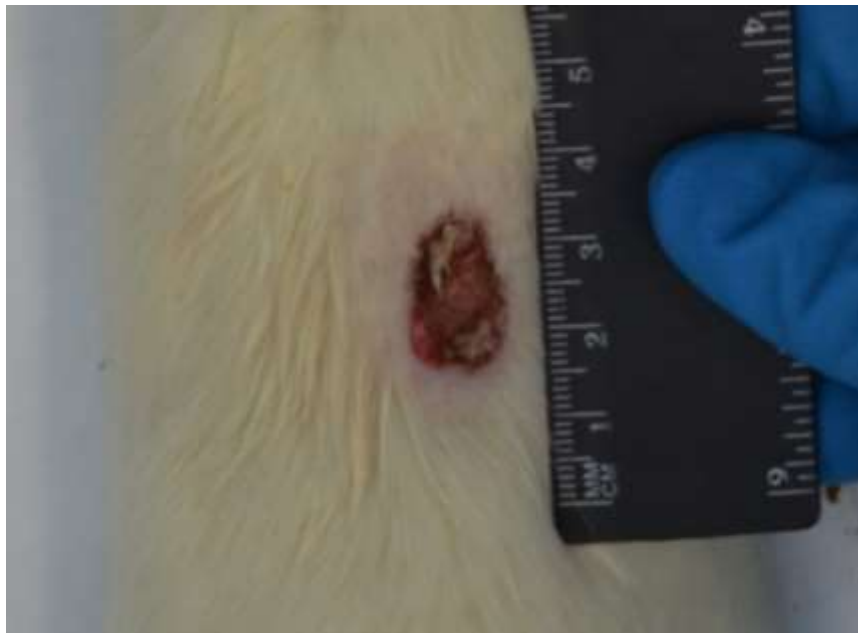


Рисунок 2 – Отторжение струпа с поверхности области сократившейся ожоговой травмы на 10-е сутки после нанесения ожога 3Б степени у крысы 2-й группы (ожог + ОД)



Рисунок 3 – Рубцующийся послеожоговый дефект у крысы 1-й группы (ожог) на 21-е сутки после ожоговой травмы. Ожог неправильной овальной формы



Рисунок 4 – Внешний вид формирующегося рубца кожи после ожога 3Б степени у крысы 2-й группы (ожог + ОД), 21-е сутки

При гистологическом исследовании, начиная с 5-х суток (у двух животных 2-й группы) и с 7-х суток (у остальных животных 2-й группы), с 10-х суток у крыс

1-й группы в краях ожоговой раны обнаруживали гиперплазию эпидермиса, при этом эпителий смещался по направлению от периферии к центру дефекта кожи в виде тонкого пласта, создавая эффект «наползания» эпителия с краев дефекта к центральной части области ожога, совпадая с началом отторжения струпа у крыс во всех группах (Рисунок 5).

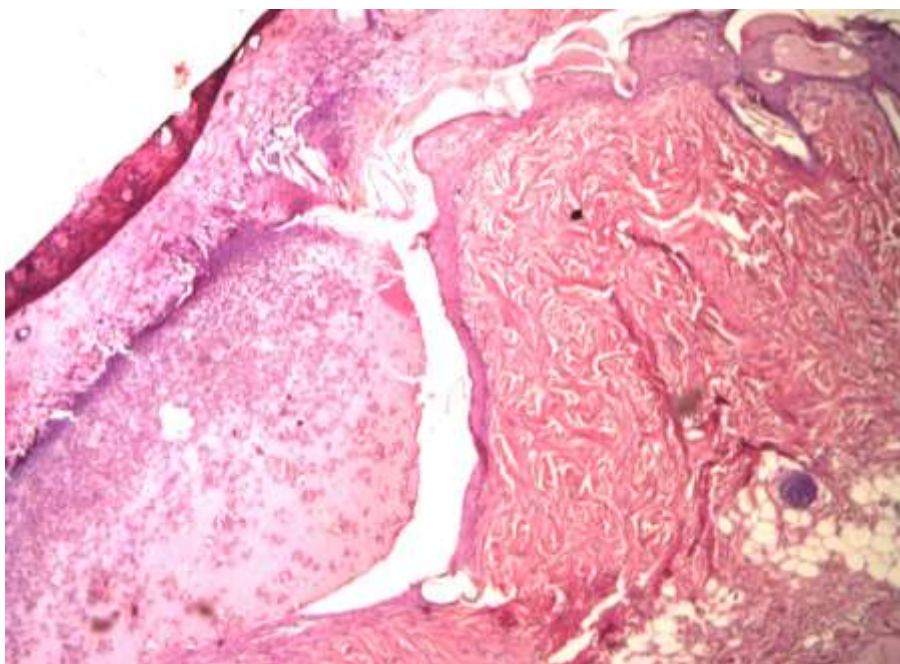
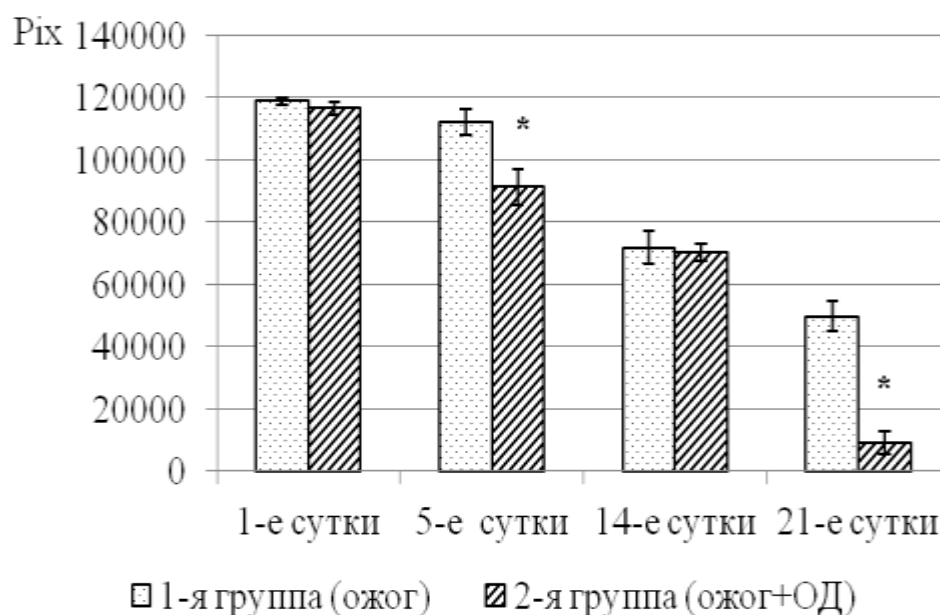


Рисунок 5 – Кожа крысы 2-й группы на 10-е сутки. «Наползание» эпителия по поверхности ожоговой раны под отторгающимся струпом. Увеличение $\times 50$.

Окрашивание гематоксилином и эозином

Площадь области ожога и формирующегося послеожогового рубца кожи уменьшалась к 21-м суткам эксперимента у крыс обеих групп. В период с 1-х по 14-е сутки у крыс обеих групп площадь области ожоговой травмы уменьшилась на 39 % (Рисунок 6). В период с 14 по 21 сутки площадь области ожоговой травмы уменьшилась у крыс 1-й группы (ожог) еще на 30,7 % и составляла 41 % исходной площади травмы (Рисунок 6). У животных 2-й группы (ожог + ОД) с 14-х по 21-е сутки площадь ожоговой травмы сократилась на 87 %, таким

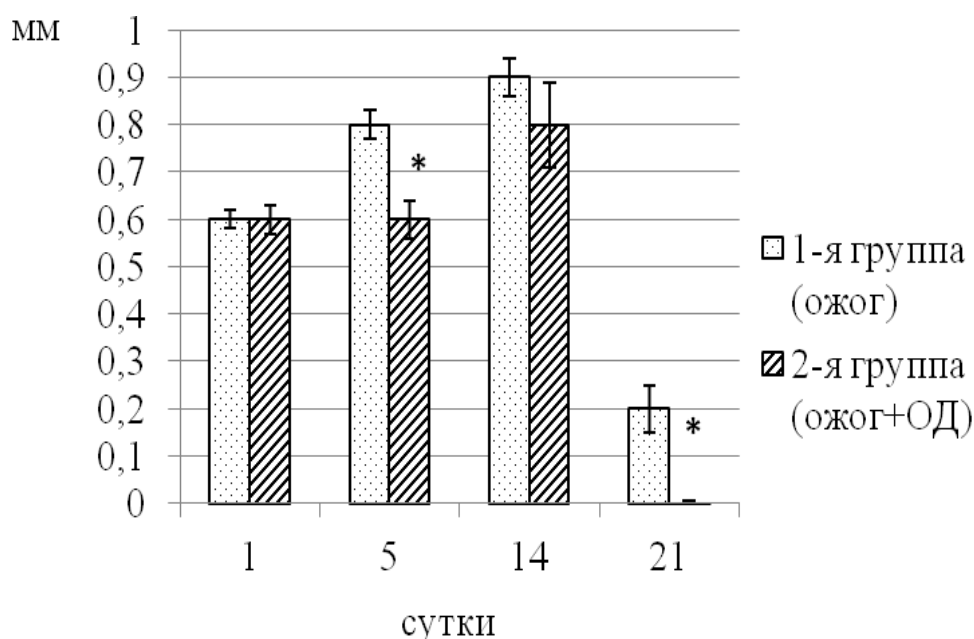
образом, на 21-е сутки представляла собой дефект размером 7,8 % от исходной (на 1-е сутки) площади ожога (Рисунок 6).



Примечание – * показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 1-й групп, ($p < 0,05$).

Рисунок 6 – Результаты измерения площади поверхности ожоговой раны (Pix) 3Б степени у крыс породы Wistar, ($M \pm m$)

По мере уменьшения площади ожогового дефекта, уменьшалась глубина зоны некроза (Рисунок 7).



Примечание – * показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 1-й групп, ($p < 0,05$).

Рисунок 7 – Результаты измерения глубины зоны некроза (мм) в коже крыс породы Wistar после нанесения ожога 3Б степени ($M \pm m$)

В период с 1-х по 14-е сутки эксперимента глубина зоны некроза возросла у крыс в обеих группах – на 33 % у крыс 1-й группы и на 25 % у крыс 2-й группы (ожог + ОД). Однако глубина некроза сократилась у крыс 1-й группы (ожог) в 4,5 раза в период с 14-х по 21-е сутки. У крыс 2-й группы (ожог + ОД), некроз отсутствовал на 21-е сутки (см. Рисунок 7).

Учитывая лизосомотропные свойства ОД, способность стимулировать фагоцитоз исследовали клеточный состав воспалительных инфильтратов в области ожога кожи. В коже крыс после нанесения ожога на протяжении эксперимента в составе воспалительных инфильтратов присутствовали разнообразные формы клеток: нейтрофилы; макрофаги; фибробласты; лимфоциты; тучные клетки. Наиболее выраженным колебаниям в составе воспалительных клеточных инфильтратов на протяжении эксперимента были подвержены макрофаги, нейтрофилы и фибробласты. Содержание лимфоцитов и

тучных клеток существенным образом не изменилось в период от начала (1-е сутки) к концу эксперимента (21-е сутки) у крыс в обеих группах (Таблица 1).

Таблица 1 – Клеточный состав инфильтратов в коже крыс популяции Wistar при нанесении ожога 3Б степени ($M \pm m$)

Период после нанесения ожога (сутки)	Иссле- дуемые группы	Типы клеток (%)				
		Нейтрофилы	Лимфоциты	Макрофаги	Тучные клетки	Фибробласты
1	1	$58,0 \pm 4,14$	$2,3 \pm 1,07$	$10,0 \pm 1,23$	$7,1 \pm 1,37$	$22,6 \pm 3,54$
	2	$63,9 \pm 3,33$	$4,9 \pm 1,85$	$18,5 \pm 2,20^*$	$5,9 \pm 1,75$	$6,7 \pm 1,07^*$
5	1	$16,0 \pm 2,06$	$2,3 \pm 0,81$	$35,1 \pm 2,35$	$14,9 \pm 3,65$	$31,8 \pm 2,23$
	2	$60,9 \pm 2,77$	$0,9 \pm 0,45$	$27,8 \pm 2,96$	$1,6 \pm 0,69^*$	$8,9 \pm 1,55^*$
14	1	$22,7 \pm 2,71$	$3,6 \pm 0,75$	$33,7 \pm 2,82$	$17,1 \pm 1,88$	$22,9 \pm 2,11$
	2	$12,6 \pm 2,33^*$	$4,0 \pm 0,92$	$40,6 \pm 1,92$	$15,2 \pm 2,54$	$27,6 \pm 3,71$
21	1	$18,1 \pm 2,2$	$1,3 \pm 0,43$	$38,7 \pm 2,72$	$9,3 \pm 1,52$	$32,6 \pm 2,83$
	2	$2,6 \pm 0,83^*$	$3,3 \pm 0,72^*$	$43,3 \pm 2,30$	$12,0 \pm 1,58$	$38,8 \pm 2,87$
Примечание – 1 – первая группа животных (ожог); 2 – вторая группа животных (ожог + ОД); * – показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 1-й групп, ($p < 0,05$).						

В клеточных воспалительных инфильтратах области ожога на 1-е сутки эксперимента у крыс в обеих группах преобладали нейтрофилы, содержание которых уменьшалось на протяжении эксперимента, и к 21-м суткам у крыс 1-й группы (ожог) в 3,2 раза, у животных 2-й группы (ожог + ОД) в 24,5 раза. На 21-е сутки в воспалительных инфильтратах кожи области ожога нейтрофилов

присутствовало в 6,9 раз меньше у крыс 2-й группы (ожог + ОД) в сравнении с таковым у животных 1-й группы (ожог).

Содержание макрофагов и фибробластов – напротив, увеличивалось к 21-м суткам. Так, содержание макрофагов в воспалительных инфильтратах области ожога кожи крыс 1-й группы в период с 1-х по 21-е сутки увеличилось в 3,9 раз, у животных 2-й группы в 2,3 раза. Содержание фибробластов у крыс в 1-й группе в области ожога кожи на 1-е сутки эксперимента было в 3,3 раза большим в сравнении с таковым у животных, 2-й группы, получавших ОД. К 21-м суткам содержание фибробластов в области ожога кожи возрастало у крыс обеих групп – на 30,7 % в 1-й группе животных, в 5,8 раз у крыс 2-й группы (ожог + ОД). К 21-м суткам содержание фибробластов у крыс 1-й (ожог) и 2-й (ожог + ОД) группы не отличалось.

Следует заметить, что содержание нейтрофилов, указывающих на активность экссудативных проявлений воспалительной реакции, у крыс 2-й группы (ожог + ОД) уменьшилось в 4,8 раз в период с 5-х по 14-е сутки, а к 21-м суткам уменьшилось еще в 4,8 раз в сравнении с таковым у животных 1-й группы. Содержание макрофагов в воспалительных инфильтратах кожи крыс 2-й группы в период с 5-х по 14-е сутки возросло на 31,5 % и далее не изменялось. Содержание фибробластов в инфильтратах области ожоговой травмы к 14-м суткам возросло в 3 раза в сравнении с таковым в предыдущий период наблюдения. Полученные данные указывают не только на более раннее снижение экссудативных проявлений воспаления у крыс 2-й группы (ожог + ОД), но и более активное стимулирование макрофагов и фибробластов (см. Таблицу 1). Однако проявление «очищения» ожоговой раны, а также фиброзирование области ожога, формирование рубца в коже крыс обеих исследуемых групп происходило в период между 14-ми и 21-ми сутками, поскольку объёмная плотность некрозов при воздействии ОД уменьшилась после 14-х суток, к 21-м суткам у животных во 2-й группе на 99 %, а у крыс 1-й группы – на 74,4 % (см. Рисунок 7).

Таким образом, основные клеточные реакции и фиброз разворачиваются на 21-е сутки эксперимента. Для более углубленного изучения формирования рубца

после нанесения термического ожога 3Б степени далее исследовали формирование рубца на 21-е и 32-е сутки.

3.1.1 Исследование формирования рубца кожи после ожога 3Б степени (эксперимент № 2)

Исходя из вышеизложенного в предыдущем разделе результата исследования, демонстрирующего формирование в более короткие сроки и более эластичного рубца у крыс, получавших ОД (2-я группа), преобладание макрофагов и фибробластов в воспалительных инфильтратах, исследовали формирование рубца кожи после ожога кожи 3Б степени в период с 21-х по 32-е сутки. Исходя из предположения об универсальном характере процесса фиброза как защитно-приспособительной реакции организма, исследовали образование послеожогового рубца, несколько изменив условия эксперимента – в водный раствор окисленного декстрана добавили лидокаин и метронидазол, что позволило бы оценить влияние нервно-трофического фактора и влияние профилактики наложения бактериальной флоры на область ожога в процессе развития фиброза при рубцевании области ожога. В качестве контроля использовали пантенол.

Струп начинал отторгаться с края дефекта у животных 2-й группы (ОД) на 7-е сутки и на 10-е сутки полностью отторгся, таким образом, полученный результат использования смеси лекарственных средств на основе ОД не отличался от результата воздействия простого раствора ОД в эксперименте с ожогом кожи № 1. Отторжение струпа у животных 3 группы (пантенол) и группы контроля (спонтанное заживление ожога) наблюдали позже – на 14-е сутки. После спонтанного отторжения струпа с поверхности дефекта во всех исследуемых группах наблюдали эпителизированный с краёв дефект, дно которого было красного цвета.

На 21-е и 32-е сутки после нанесения ожоговой травмы, в области ожога при внешнем осмотре обнаруживали рубец, у крыс 1-й (контроль) и 3-й группы

(пантенол) он был плотным, с плотными и валикообразно приподнятыми краями. У крыс 1-й группы (контроль), на 21-е сутки эксперимента, рубец имел неправильную, «звёздчатую» форму, у крыс 3-й группы – округлую или овальную форму и соответствовал форме пластины, которой осуществляли нанесение ожога, при этом дно и края дефекта были плотными (Рисунки 8 и 9). У животных во 2-й группе рубец соответствовал по своей консистенции нетравмированной коже, имел форму линии или округлую форму, края не выступали над поверхностью кожи (Рисунок 10). Внешние признаки нагноения ожоговой раны (покраснение краев, отек и вязкое отделяемое с поверхности раны желтоватого цвета) обнаруживали у одного животного в 1-й (контроль) и одного животного в 3-й (пантенол) группе.

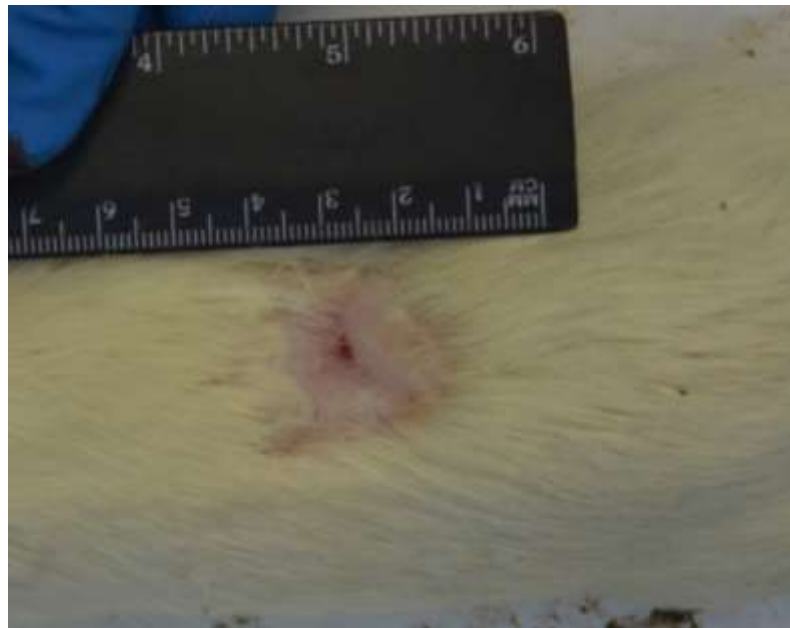


Рисунок 8 – Кожа крысы 1-й группы (ожог) на 32-е сутки эксперимента. Рубец неправильной «звездчатой» формы

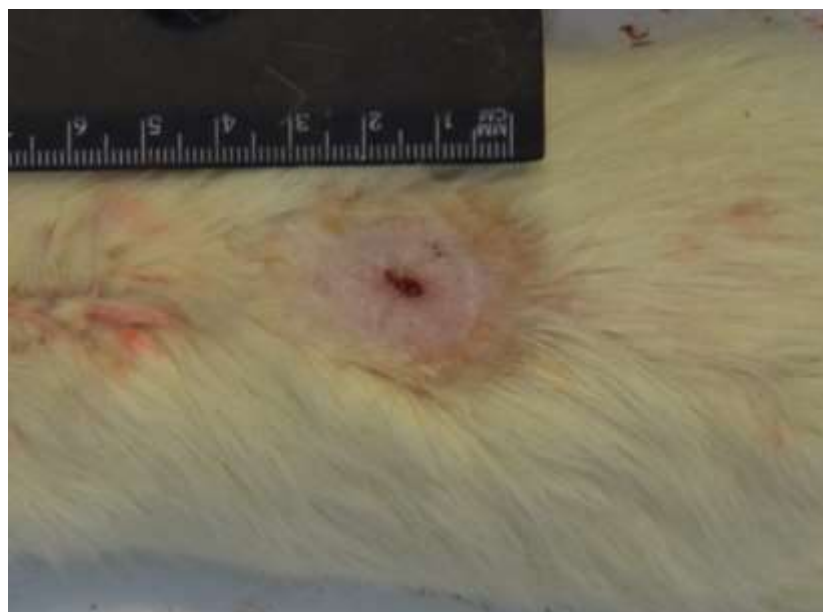


Рисунок 9 – Кожа крысы 3-й группы (ожог + пантенол) на 32-е сутки эксперимента. Плотный рубец округлой формы, по центру рубца сохраняется струп



Рисунок 10 – Кожа крысы 2-й группы (ожог + ОД) на 32-е сутки эксперимента.
Тонкий рубец линейной формы

Площадь ожоговой раны у животных, не получавших лечения (1-я группа), к 32-м суткам, уменьшилась в 3,1 раза, у крыс 3-й группы, получавших лечение пантенолом, площадь рубца после нанесенного ожога уменьшилась на 50 % от исходной площади раны. У животных 2-й группы площадь дефекта уменьшилась в 5 раз (79,5 %) к 32-м суткам эксперимента. У животных из не леченой группы на 32-е сутки по-прежнему на поверхности раны оставался струп, а следовательно, репаративный процесс не завершился в полной мере, тогда как у животных 2-й и 3-й группы струп на поверхности кожи отсутствовал. Поскольку площадь дефекта у крыс 2-й группы (ОД) на 32-е сутки не отличались от таковых на 21-е сутки после нанесения травмы как, и у крыс двух других групп, эти данные можно рассматривать как свидетельство завершения процессов регенерации ожоговой травмы 3Б степени в период между 21-ми и 32-ми сутками, но с существенно различными результатами – у крыс 2-й группы (ОД) на 21-е сутки площадь рубца была в 1,9 раз меньше в сравнении с таковой у животных 3-й (пантенол) группы, и на 26 % меньше в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 1-й группы (контроль) (Таблица 2).

Таблица 2 – Площадь дефекта в коже крыс при формировании рубца после термического ожога 3Б степени (мм²) ($M \pm m$)

Срок после нанесения ожога (сутки)	Исследуемая группа		
	1-я группа (ожог)	2-я группа (ожог + ОД)	3-я группа (ожог+пантенол)
3	340,10 ± 18,69	345,94 ± 12,33	329,94 ± 8,12
14	200,87 ± 24,91	189,94 ± 13,52	228,05 ± 13,44**
21	101,31 ± 5,97	85,50 ± 5,80*	162,44 ± 13,32***
28	104,0 ± 17,37	72,44 ± 4,14*	154,33 ± 8,59***
32	108,76 ± 7,20	71,22 ± 4,37*	168,33 ± 4,86***
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).			

У животных 2-й (ОД) и 3-й (пантенол) группы к 21-м суткам область ожоговой раны была покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием, а струп в поверхности раны отсутствовал, тогда как у крыс в 1-й группе (контроль) эпителиальный дефект в центре ожоговой раны сохранялся, дно раны было покрыто экссудатом и закрывалось струпом. Таким образом, у животных в 1-й группе сохранялись неблагоприятные условия для регенерации поврежденных тканей под струпом.

Толщина эпидермиса в краях ожоговой раны с 21-х по 32-е сутки у крыс во всех исследуемых группах уменьшалась. Так, у животных 1-й группы (контроль) толщина эпидермиса с 21-хх по 32-е сутки эксперимента уменьшилась на 39,8 %, у животных 2-й группы (ОД) – на 29,5 %, у крыс 3-й группы – на 28,7 %. На 21-е, 28-е и 32-е сутки эксперимента в краях рубцующегося ожогового дефекта у крыс 2-й группы (ОД) и 1-й группы (контроль) не отличалась. У крыс 3-й группы (пантенол) толщина эпидермиса не отличалась от таковой у животных 1-й группы (контроль), но была на 21 % большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 2-й группы (ОД). На 28-е сутки эксперимента толщина пласта эпидермиса в краях ожогового дефекта у крыс 3-й группы была большей на 26,2 % и 34,7 % в сравнении с таковой у животных 1-й (контроль) и 2-й (ОД) группы соответственно. На 32-е сутки толщина пласта эпидермиса у крыс в краях ожогового дефекта была на 29,1 % и 22,2 % большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й (контроль) и 2-й (ОД) группы соответственно (Таблица 3).

Таблица 3 – Толщина эпителиального пласта (мкм) эпидермиса у крыс при термическом ожоге 3Б степени в краях ожоговой раны ($M \pm m$)

Время с момента нанесения ожога (сутки)	Исследуемая группа		
	1 группа (ожог)	2 группа (ожог + ОД)	3 группа (ожог+пантенол)
21	$73,2 \pm 5,16$	$68,7 \pm 5,95$	$87,2 \pm 9,53^{**}$
28	$66,2 \pm 3,48$	$58,7 \pm 5,0$	$89,7 \pm 9,64^{***}$
32	$44,1 \pm 4,31$	$48,4 \pm 3,41$	$62,2 \pm 6,48^{***}$
Примечание – *отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).			

Толщина эпидермиса в дне ожоговой раны у крыс 1-й группы (контроль) увеличивалась с 21-х по 32-е сутки увеличилась на 36,5 (см. Таблицу 3, Рисунок 11). У крыс 2-й группы (ОД) толщина эпидермиса в дне заживающей ожоговой раны была в 2 раза большей в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (контроль) на 21-е сутки эксперимента (Таблица 4). На 28-е сутки эксперимента толщина эпидермиса в дне ожоговой раны у животных 2-й группы уменьшилась в 1,7 раз в сравнении с предыдущим периодом исследования, однако к 32-м суткам увеличилась на 32 % и не отличалась от величины аналогичного показателя у животных 1-й (контроль) и 3-й (пантенол) группы (Таблица 4, Рисунок 12). У крыс 3-й группы (пантенол) толщина эпидермиса была в 3,7 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы и в 1,8 раз большей в сравнении с таковой у крыс 2-й группы (ОД) (Таблица 4, Рисунок 13). На 28-е сутки эксперимента толщина эпидермиса у крыс 3-й группы (пантенол) была в 2,7 и 1,8 раз большей в сравнении с величинами аналогичного показателя у животных 1-й (контроль) и 2-й (ОД) групп (Таблица 4).

Таблица 4 – Толщина эпителиального пласта (мкм) эпидермиса у крыс при термическом ожоге 3Б степени в дне ожоговой раны ($M \pm m$)

Время с момента нанесения ожога (сутки)	Исследуемая группа			
	интактные	1 группа (ожог)	2 группа (ожог + средство на основе ОД)	3 группа (ожог + пантенол)
21	$12,7 \pm 0,55$	$31,9 \pm 2,95$	$64,9 \pm 4,5^*$	$119,1 \pm 6,51^{***}$
28	—	$24,6 \pm 1,48$	$37,4 \pm 4,19^*$	$68,0 \pm 6,18^{***}$
32	—	$50,2 \pm 2,32$	$55,0 \pm 3,76$	$57,5 \pm 2,86^*$
Примечание – *отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).				

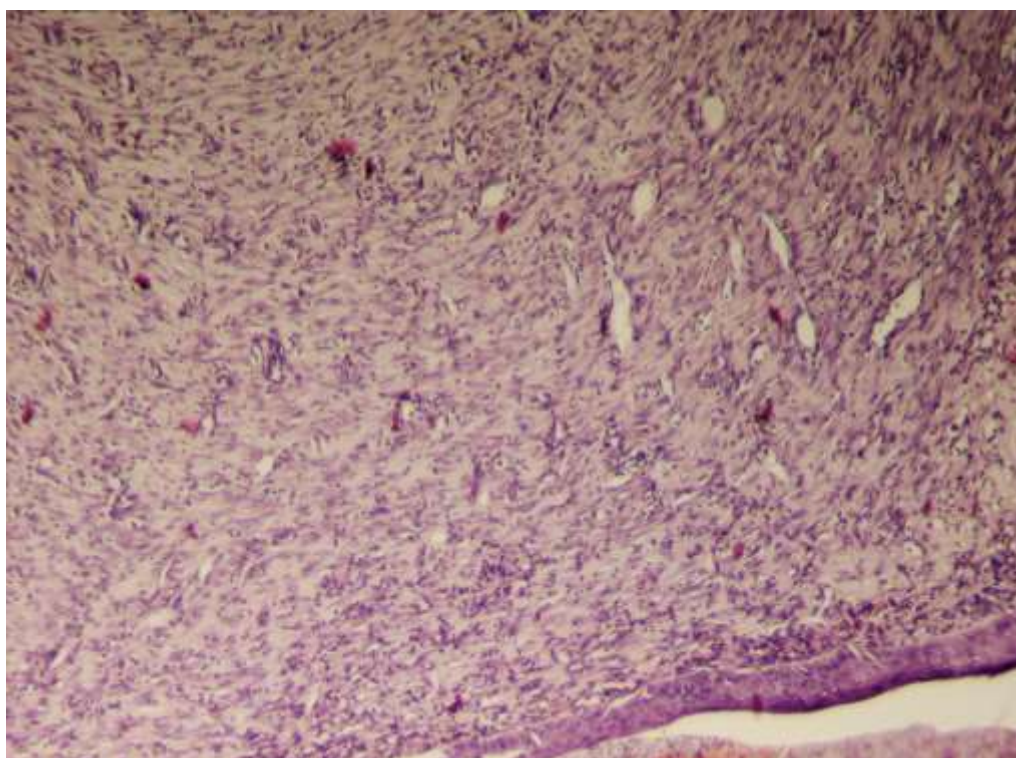


Рисунок 11 – Кожа крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Правая часть слайда край дефекта, левая часть слайда дно дефекта. К тонкому слою эпидермиса прилежит струп. В дерме плотная воспалительная инфильтрация.

Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином

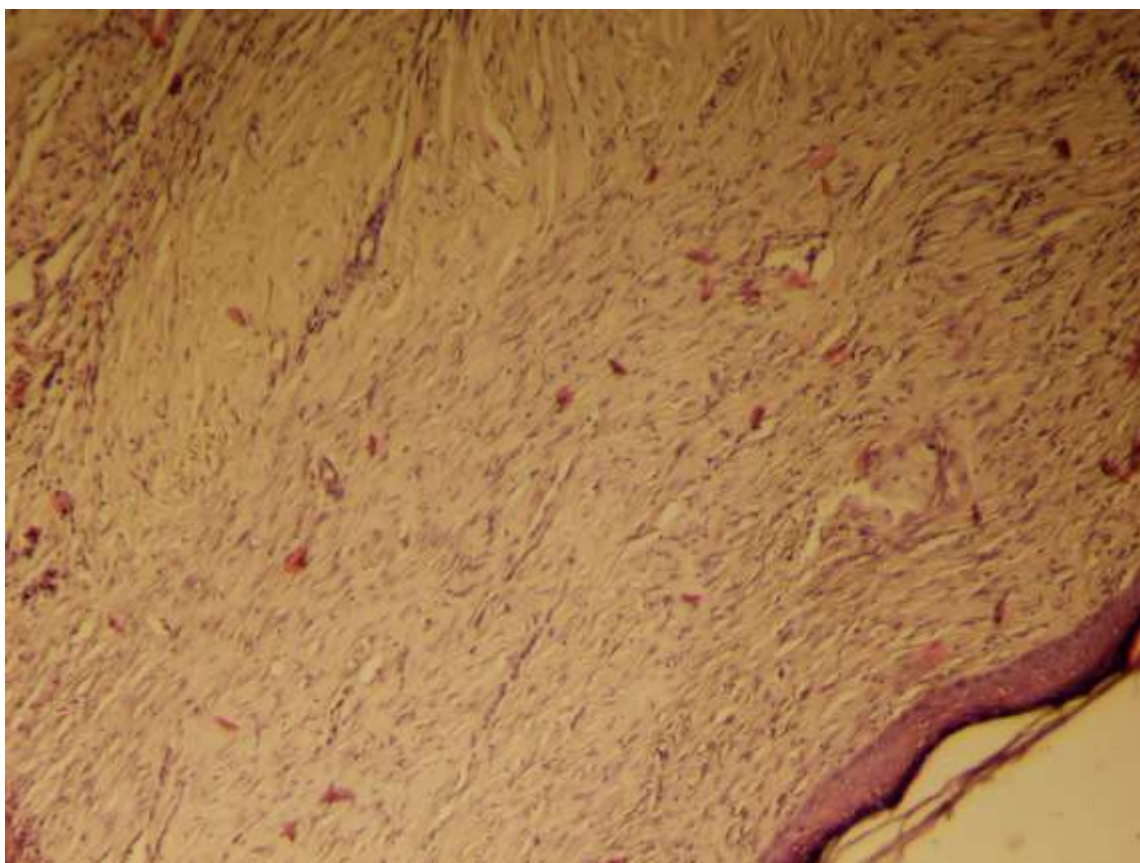


Рисунок 12 – Кожа крысы 2-й группы на 32-е сутки. Воспалительная инфильтрация менее выражена, слой эпидермиса покрывает область ожога. Одиночная сальная железа в области формирующегося рубца. Увеличение $\times 100$.
Окрашивание гематоксилином и эозином

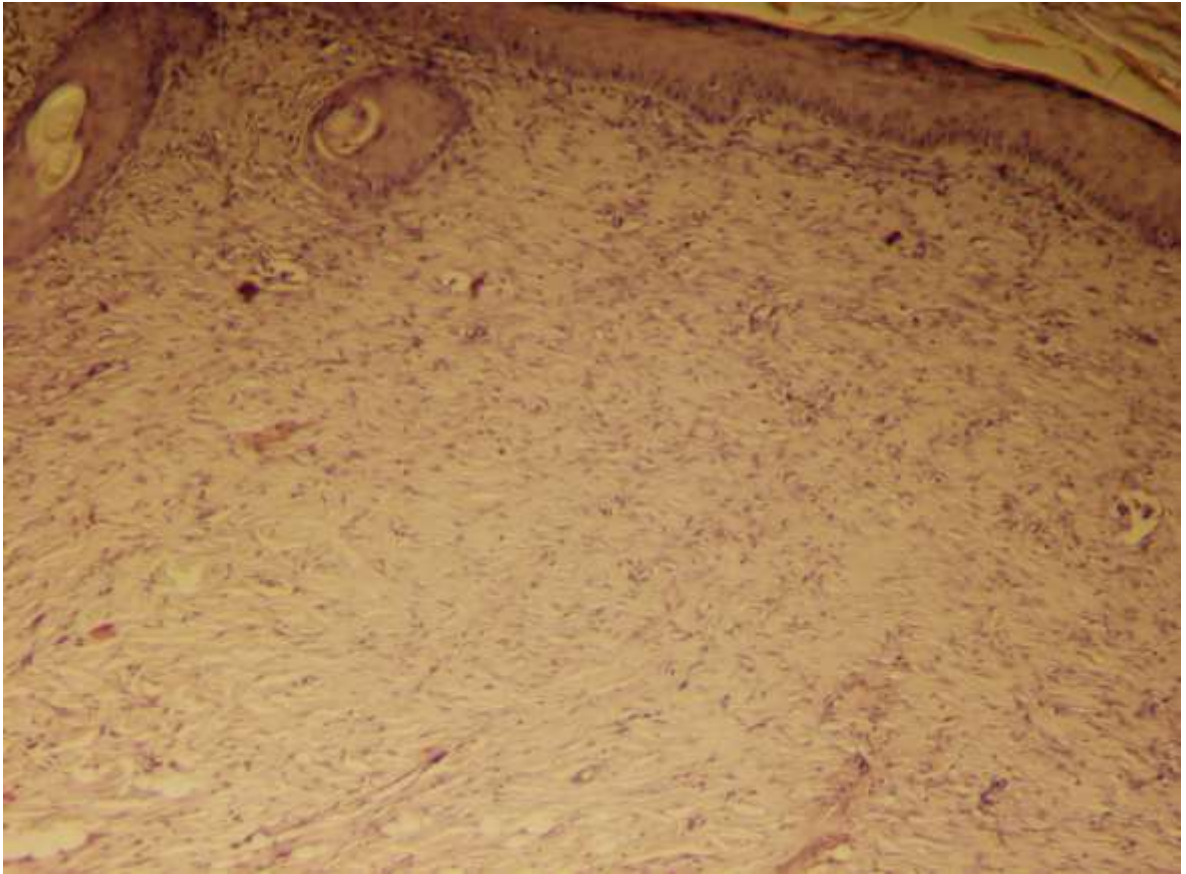


Рисунок 13 – Кожа крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента. Слой эпидермиса в крае и дне дефекта широкий, присутствуют по краю регенерирующие волосяные фолликулы. Сохраняется воспалительная инфильтрация. Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином

Полученные данные указывают на более благоприятные условия регенерации эпителия у крыс 2-й и 3-й группы. Однако при сравнении с толщиной эпидермиса у интактных животных, процесс эпителизации ожогового дефекта носит избыточный характер во всех исследуемых группах, а наиболее выраженные изменения обнаруживаются на 21-е и 32-е сутки эксперимента.

Для понимания состояния сосудистой трофики области рубцующегося ожогового дефекта исследовали численную (Nai) и объёмную (Vv) плотность сосудов в указанной области. В период с 21-х по 32-е сутки эксперимента величины исследуемых показателей увеличивались у животных в 1-й и 2-й группе, тогда как у крыс в 3-й группе численная (Nai) и объёмная (Vv) плотность

сосудов не изменялась (Таблица 5). У животных, получавших ОД (2-я группа), на 32-е сутки после начала лечения величины численной (Nai) и объёмной (Vv) плотностей сосудов были на 35 и 54 % большими, чем у не леченых крыс, и в 3,1 и 3,2 раза большими, чем у крыс, леченных декспантенолом (3-я группа) соответственно. Следовательно, у животных 2-й группы ОД стимулирует более выраженный ангиогенез, чем декспантенол. Это, существенно улучшает трофику раневого региона и способствует реализации регенераторного процесса у животных 2-й группы (ОД) в сравнении с таковым у животных 1-й и 3-й группы, к концу лечения (32-е сутки)

Таблица 5 – Численная (Nai) и объёмная (Vv) плотность сосудов в коже крыс из области ожога 3Б степени, ($M \pm m$)

Период после нанесения ожога (сутки)	Исследуемый показатель	Исследуемая группа		
		Ожог без лечения	Ожог + композиция	Ожог + пантенол
21с	Nai	$0,72 \pm 0,11$	$1,45 \pm 0,16^*$	$0,75 \pm 0,13^{**}$
	Vv	$2,5 \pm 0,48$	$7,6 \pm 1,65^*$	$3,2 \pm 0,86^{**}$
32с	Nai	$1,36 \pm 0,20$	$2,1 \pm 0,37$	$0,66 \pm 0,16^{***}$
	Vv	$5,46 \pm 0,82$	$8,4 \pm 1,52$	$2,66 \pm 0,64^{***}$
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).				

Воспаление в очаге повреждения кожи проявлялось экссудацией у животных 1-й и 3-й групп, а на дне ожоговой раны присутствовали нейтрофилы и макрофаги. Следует заметить, что у животных 2-й группы экссудативный компонент, содержание нейтрофилов и макрофагов среди клеток воспалительных инфильтратов было значительно меньшим в сравнении с аналогичным показателем у животных двух других групп как на 21-е, так и на 32-е сутки

(Таблица 6). Это свидетельствует о более быстром уменьшении экссудативной фазы воспаления и более усиленной репарации в зоне ожоговой травмы у крыс, леченных композицией с окисленным декстраном, чем у крыс двух других групп сравнения.

Таблица 6 – Клеточный состав воспалительных инфильтратов (%) в ожоговой ране 3Б степени кожи крыс, ($M \pm m$)

Срок после нанесения ожога (сутки)	Группа	Тип клеток (%)			
		Фибробласты	Макрофаги	Нейтрофилы	Лимфоциты
21	1группа	$57,1 \pm 2,09$	$16,4 \pm 1,43$	$26,3 \pm 2,12$	$0,1 \pm 0,09$
	2группа	$67,3 \pm 2,30^*$	$21,4 \pm 1,33^*$	$11,1 \pm 1,62^*$	$0,2 \pm 0,09$
	3группа	$61,5 \pm 2,14^{**}$	$18,9 \pm 1,42$	$19,5 \pm 1,93^{**}$	—
32	1группа	$58,1 \pm 3,09$	$34,6 \pm 2,81$	$6,6 \pm 1,38$	$0,6 \pm 0,21$
	2группа	$74,1 \pm 1,87^*$	$24,4 \pm 1,74^*$	$1,6 \pm 1,44^*$	—
	3группа	$70,4 \pm 2,44$	$25,5 \pm 1,88$	$4,1 \pm 1,00^{**}$	—
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).					

Численная плотность фибробластов в воспалительных инфильтратах не отличалась у животных 1-й и 2-й группы, но была меньшей в сравнении с таковой у животных получавших пантенол (3-я группа) на 27,7 % и 32 % соответственно, на 21-е сутки, а на 32 сутки – на 33,8 % и 30 % соответственно.

При этом численная плотность макрофагов у животных 1-й и 2-й группы не отличалась у крыс 1-й и 2-й группы на 21-е сутки, но была меньшей в сравнении с таковой у животных 3-й группы на 31 % и 24 % соответственно (Таблица 7, Рисунки 14 и 15). А на 32-е сутки отличий численной плотности макрофагов в воспалительных инфильтратах кожи в области послеожогового рубца у крыс 1-й и 3-й группы не обнаруживали, но величина исследуемого показателя была

меньшей у животных 2-й группы на 45,5% и 36% соответственно. Численная плотность нейтрофилов была на 21-е и 32-е сутки эксперимента меньшей у крыс 2-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й и 3-й группы в 2 и более раз (Таблица 7).

Таблица 7 – Численная плотность (Nai) клеток в ожоговой ране при ожоге кожи 3Б степени, ($M \pm m$)

Срок после нанесения ожога (сутки)	Группа	Тип клеток (Nai)			
		Фибро-бласты	Макро-фаги	Нейтро-филы	Лимфо-циты
21	1группа	$30,4 \pm 1,20$	$8,6 \pm 0,75$	$15,07 \pm 1,60$	$0,07 \pm 0,05$
	2группа	$28,25 \pm 1,10$	$9,42 \pm 0,71$	$5,20 \pm 0,88$	$0,10 \pm 0,04$
	3группа	$42,05 \pm 2,71^{**}$	$12,45 \pm 1,03^{**}$	$12,80 \pm 1,50^{**}$	—
32	1группа	$23,36 \pm 1,11$	$14,86 \pm 1,52$	$3,20 \pm 0,82$	$0,26 \pm 0,09$
	2группа	$24,20 \pm 0,99$	$8,10 \pm 0,67^*$	$0,53 \pm 0,14^*$	—
	3группа	$35,30 \pm 1,65^{**}$	$12,70 \pm 0,97^{**}$	$2,10 \pm 0,52^{**}$	—
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).					

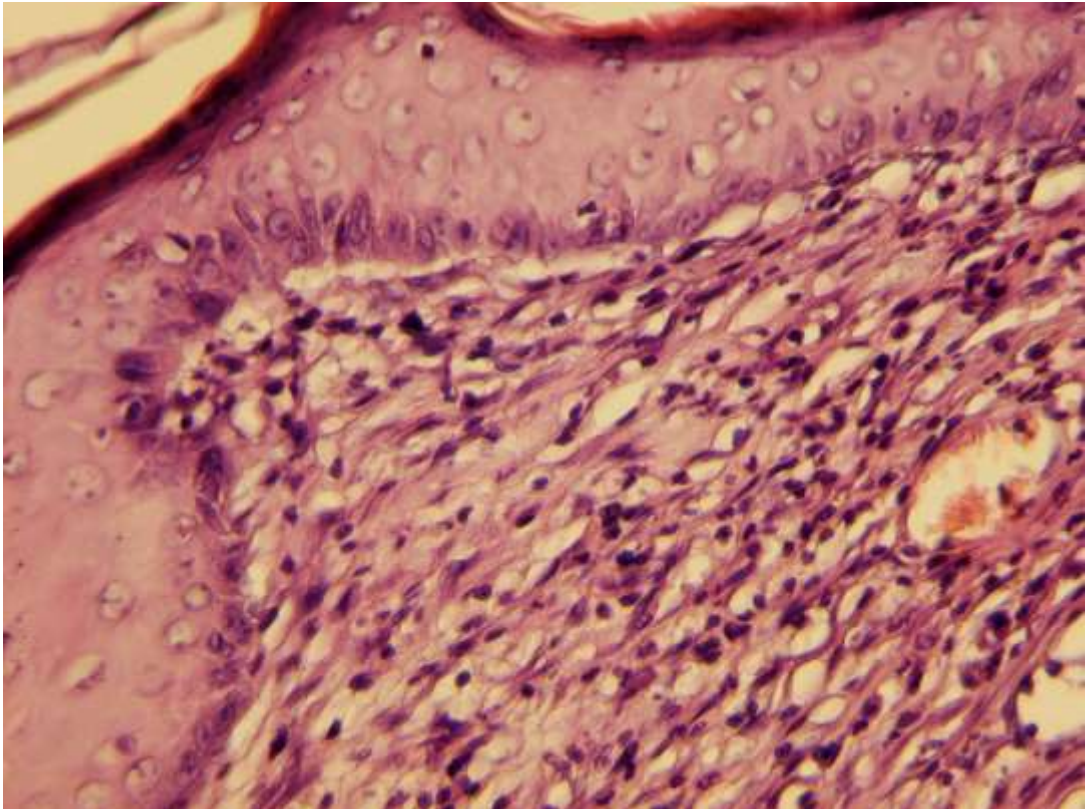


Рисунок 14 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 1-й группы на 21-е сутки эксперимента, среди инфильтрата присутствуют нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты, фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином

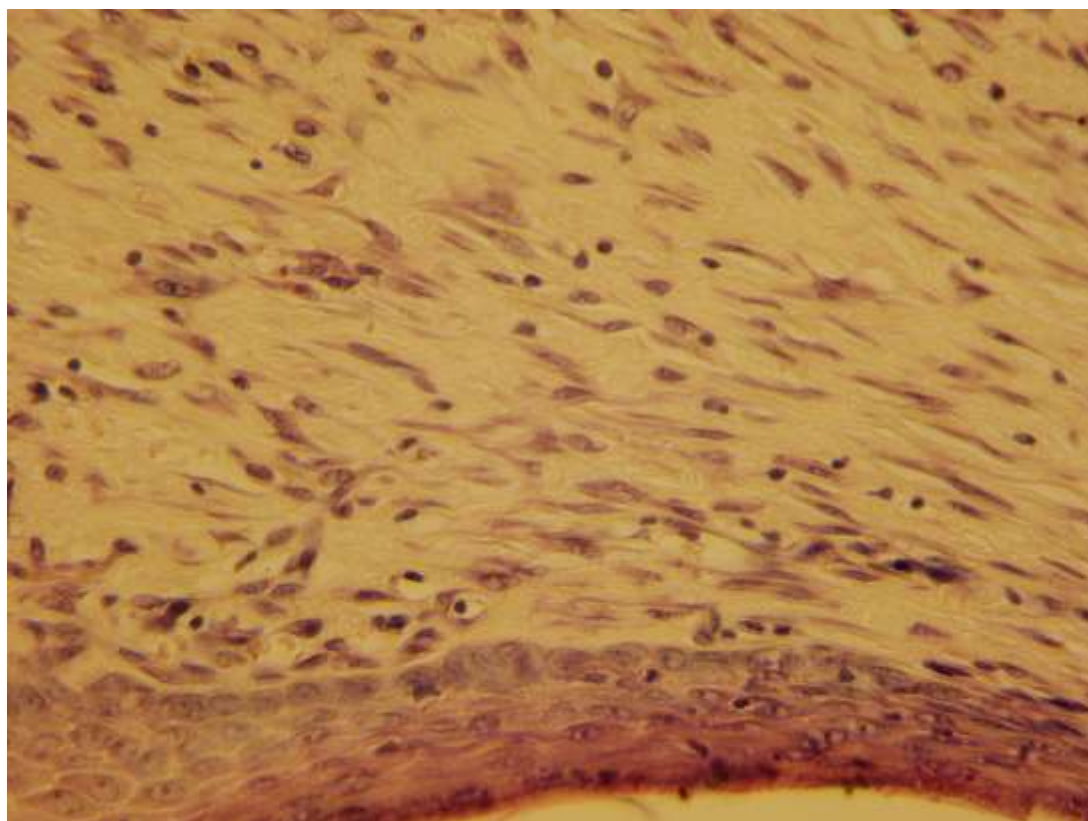


Рисунок 15 – Кожа крысы 2-й группы на 21-е сутки эксперимента. Воспалительная инфильтрация выражена слабо, видны одиночно расположенные макрофаги, лимфоциты, фибробласты. Увеличение $\times 400$.
Окрашивание гематоксилином и эозином

Таким образом, меньшее количество макрофагов реализовало фагоцитоз более эффективно у крыс 2-й группы в сравнении с фагоцитами у животных 1-й и 3-й группы, что указывает на отличия в функциональном статусе макрофагов у крыс в исследуемых группах.

При гистологическом исследовании области ожога у крыс всех групп обнаруживали отложение коллагена в дне раны с 7-х суток эксперимента, однако у животных 1-й (контроль) и 3-й (пантенол) группы встречались и очаги гиалиноза с 21-х суток, что свидетельствует о явных трофических нарушениях в коже у животных указанных групп. Фибробласты были крупными, расположенными хаотично у крыс во всех исследуемых группах (Рисунки 16, 17

и 18). Ядра фибробластов были крупными, «раздутыми» и бледно окрашенными у крыс 2-й группы.

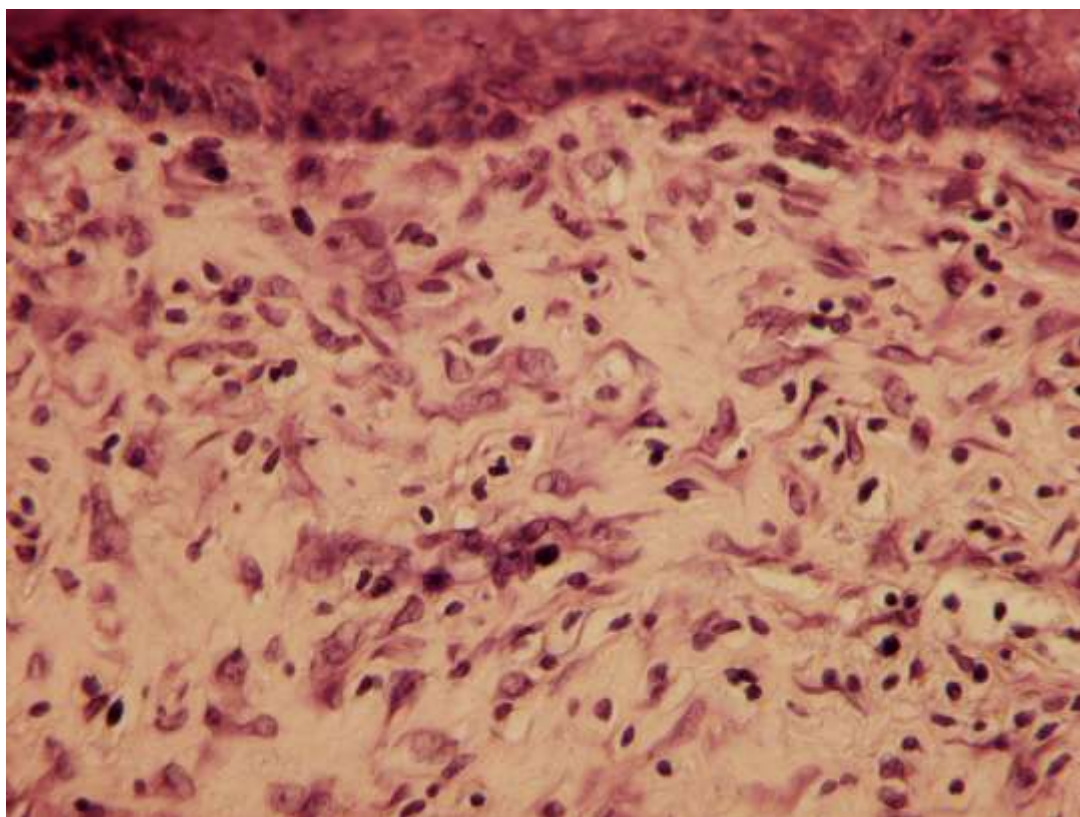


Рисунок 16 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента, среди инфильтрата сохраняется присутствие нейтрофилов, макрофаги, лимфоциты, крупные фибробласты с набухшими ядрами. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином

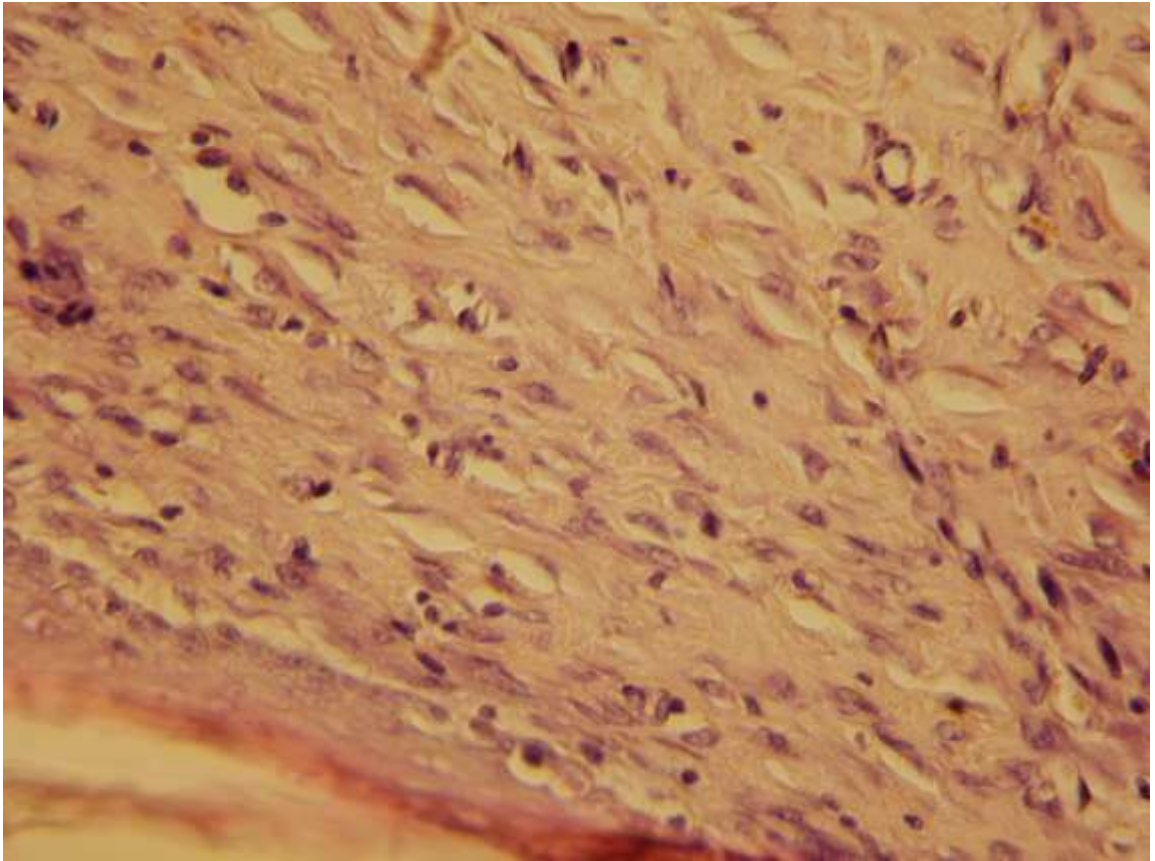


Рисунок 17 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента, в дерме рассеянные макрофаги, лимфоциты, фибробласты крупные с набухшими тусклыми ядрами. Увеличение $\times 400$.

Окрашивание гематоксилином и эозином

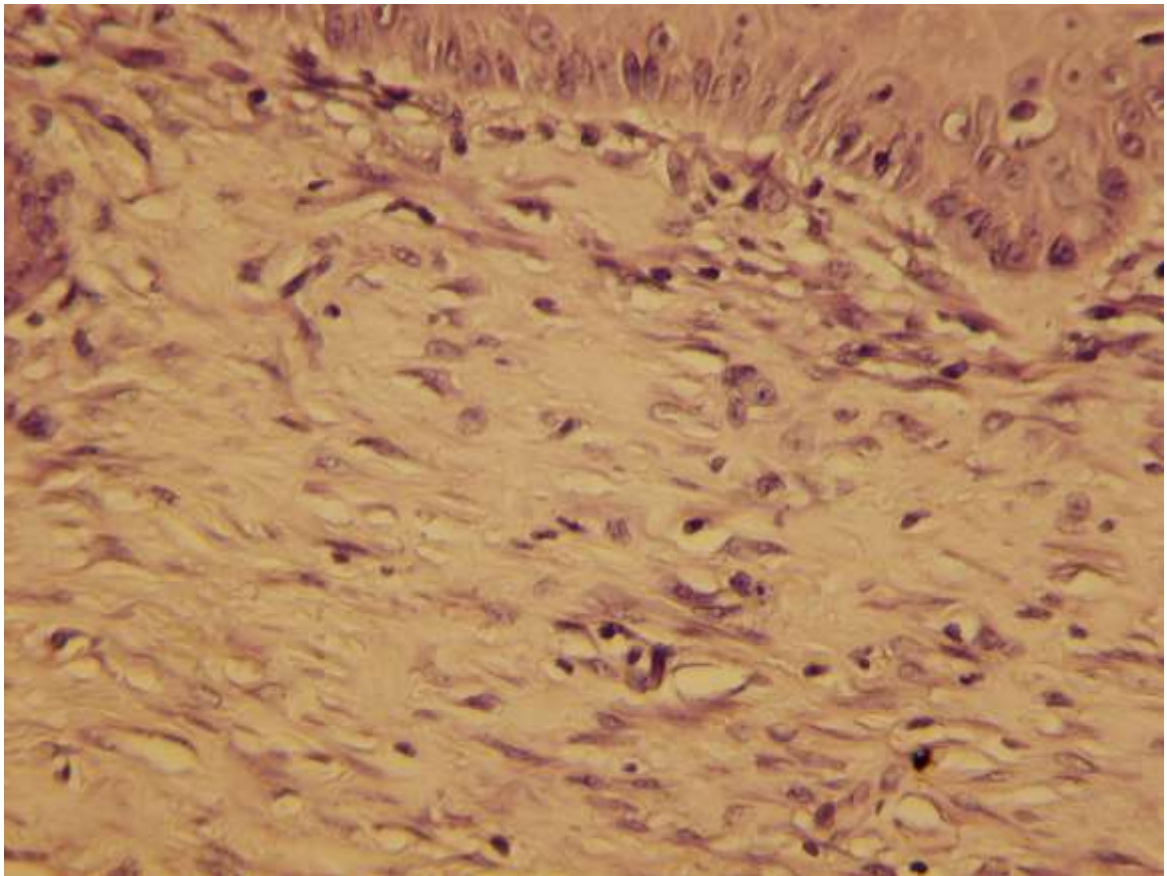


Рисунок 18 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента, в дерме рассеянные макрофаги, лимфоциты, крупные фибробласты, встречаются нейтрофилы. Увеличение $\times 400$.

Окрашивание гематоксилином и эозином

У крыс, получавших композицию на основе ОД, обнаружили, что «коллагенизация» происходила в большей степени за счёт созревания ретикулярных волокон в «зрелый» коллаген, а продукция нового коллагена, видимо, замедлялась, поскольку объём ретикулярных волокон уменьшался с 21-х к 32-м суткам, тогда как объём «зрелого» коллагена возрастал, но был меньшим в сравнении с аналогичным показателем у животных 1-й и 3-й групп (Рисунки 19, 20, 21 и 22). В коже у животных 1-й и 3-й групп наблюдали сходную тенденцию к созреванию коллагена, но продукция фуксинофильных коллагеновых волокон на 32-е сутки в указанных группах была большей на 21 % и 30 % соответственно в сравнении с аналогичным показателем у крыс 2-й группы

(Таблица 8, Рисунки 23, 24 и 25). Количество фибробластов у крыс во 2-й и 3-й группах не отличалось, у животных не получавших лечения (1-я группа) количество фибробластов было на 25 % меньшим, чем у животных во 2-й и 3-й группах. Таким образом, предположили, что фибробласты у крыс в 1-й и 3-й группе находятся в более активном состоянии и продуцируют больше коллагена.

Таблица 8 – Объёмная плотность (V_v) коллагеновых и ретикулярных волокон в дне ожоговой раны 3Б степени в коже крыс, ($M \pm m$)

Срок после нанесения ожога (сутки)	Тип волокон	Исследуемая группа		
		Ожог без лечения	Ожог + композиция	Ожог + пантенол
21	Коллагеновые	$7,92 \pm 0,59$	$6,85 \pm 0,35$	$11,37 \pm 0,54^{**}$
	Ретикулярные	$14,4 \pm 1,72$	$23,88 \pm 1,98^*$	$10,3 \pm 1,07^{**}$
32	Коллагеновые	$74,90 \pm 1,12$	$59,27 \pm 1,57^*$	$84,53 \pm 1,36^{**}$
	Ретикулярные	$5,86 \pm 0,89$	$9,60 \pm 0,97^*$	$3,33 \pm 0,74^{**}$
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$).				

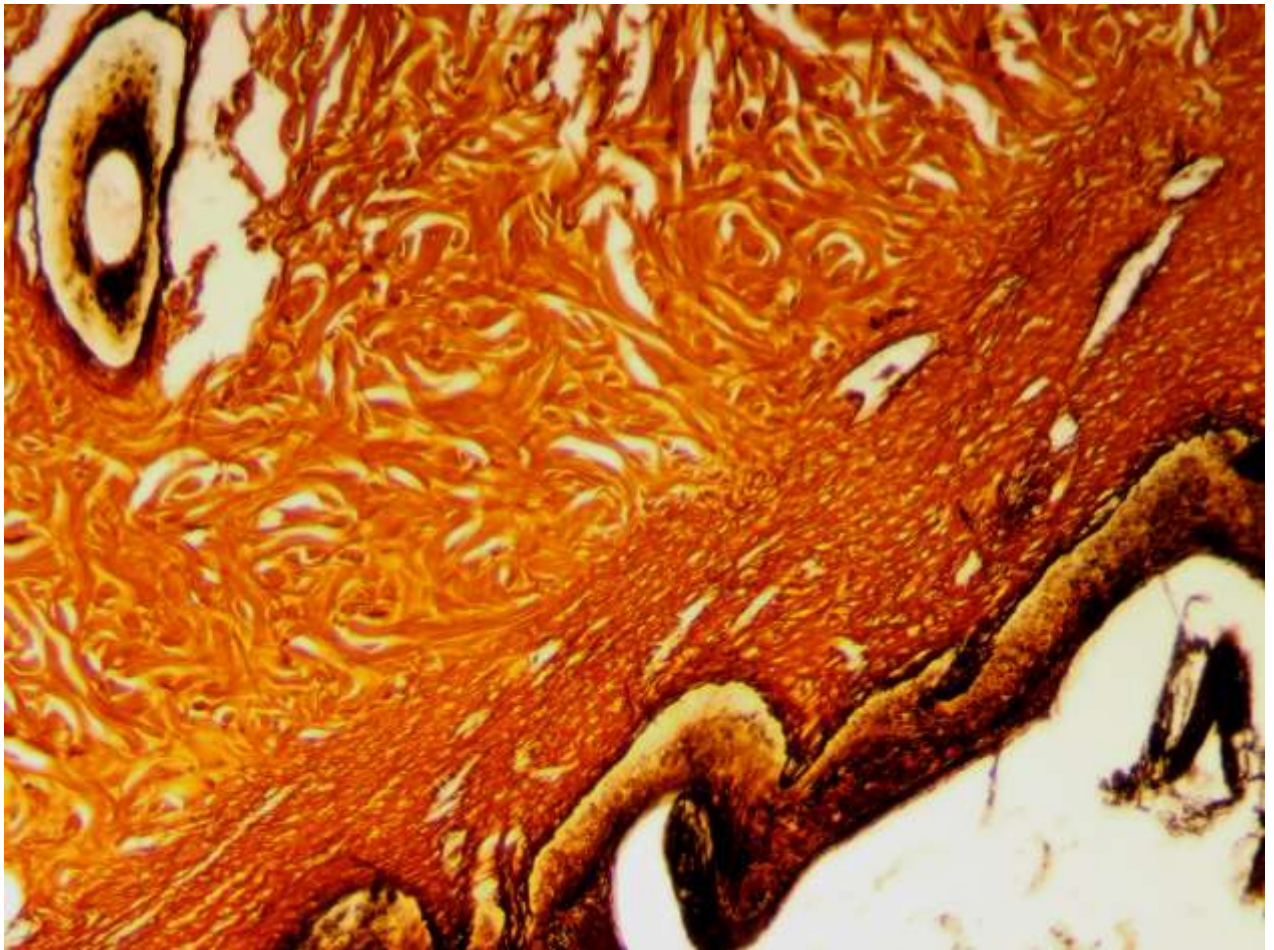


Рисунок 19 – Кожа крысы 1-й группы на 21-е сутки эксперимента. Тонкий слой ретикулярных волокон в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом.

Увеличение $\times 100$. Окрашивание методом импрегнации серебром

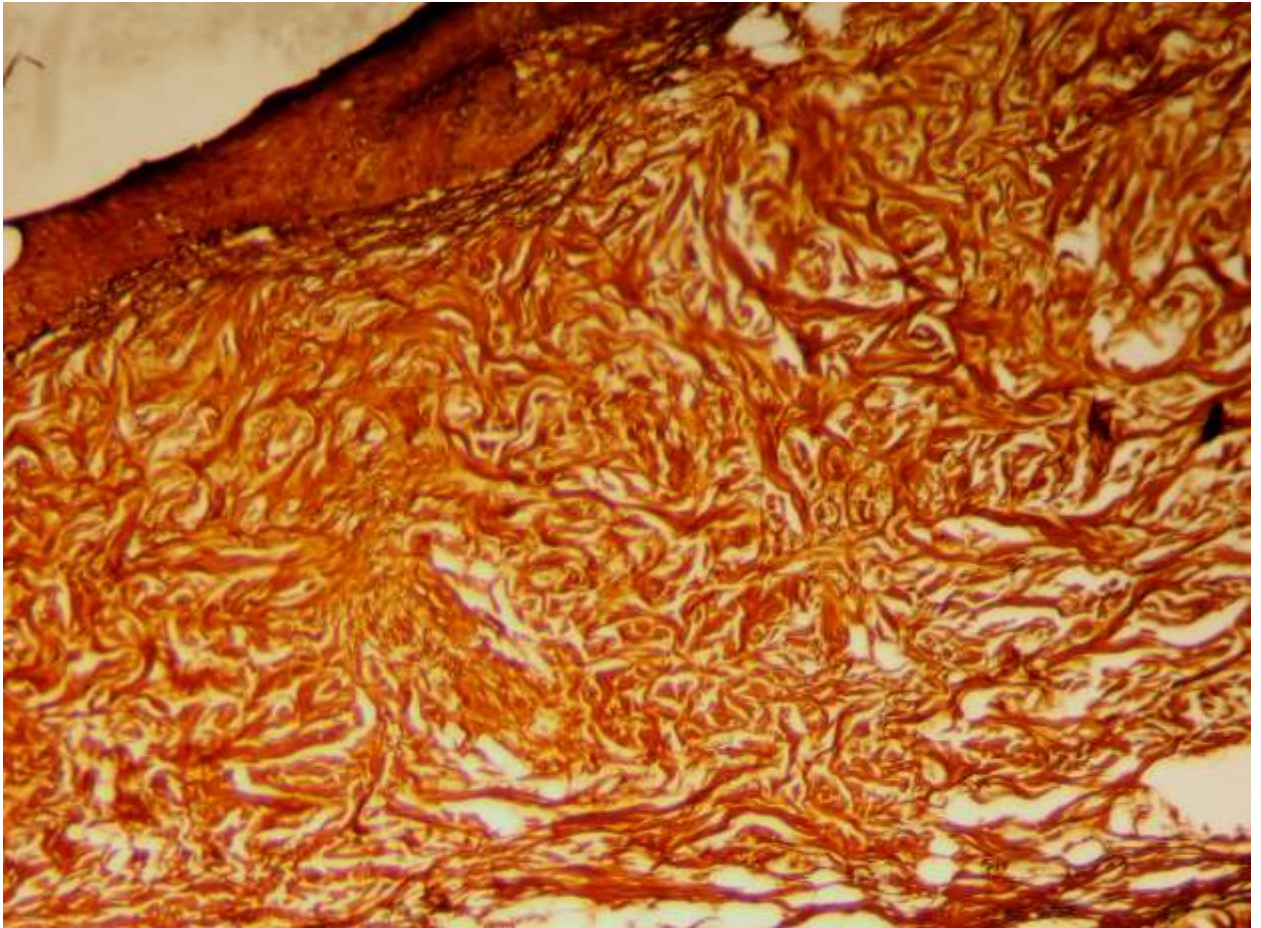


Рисунок 20 – Кожа крысы 2-й группы на 21-е сутки эксперимента. Слой ретикулярных волокон в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом.

Увеличение $\times 100$. Окрашивание методом импрегнации серебром

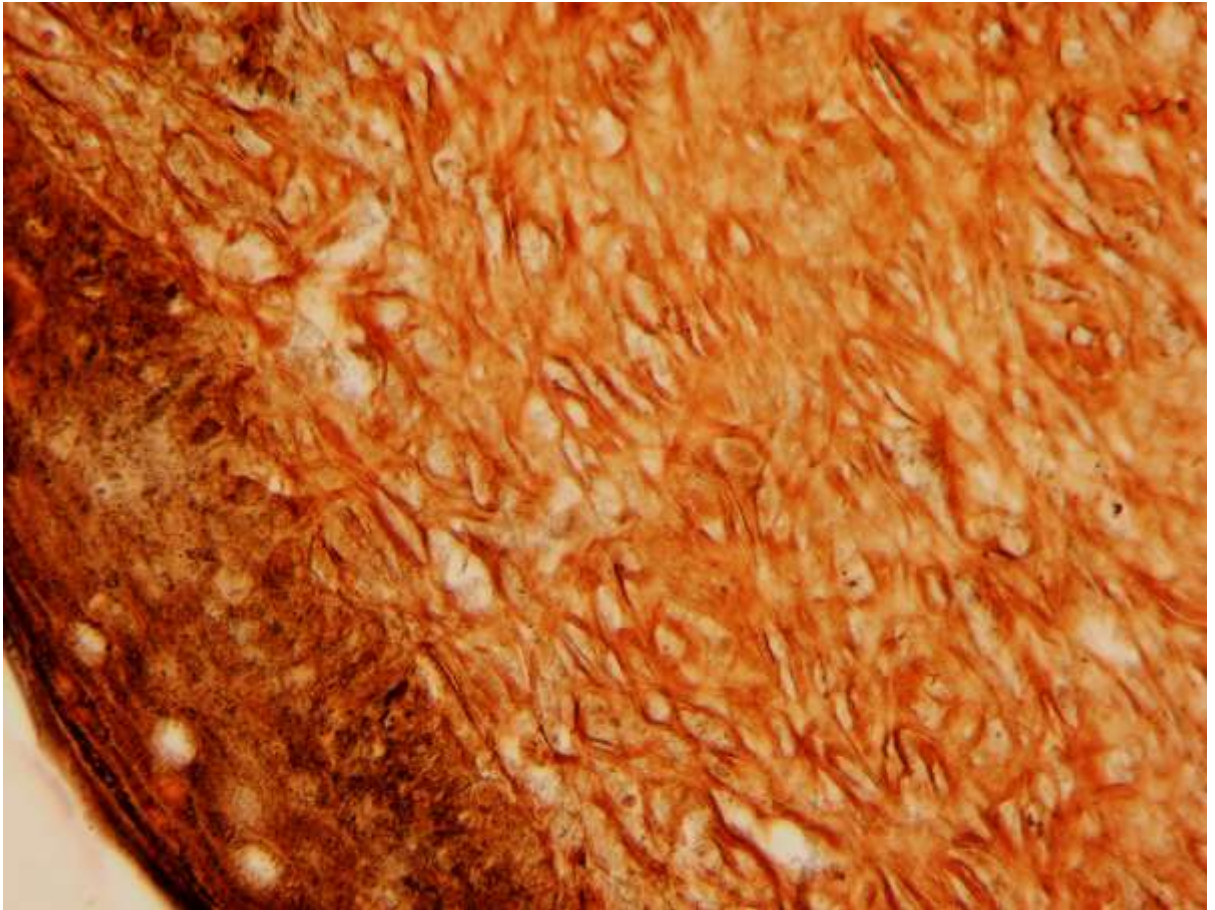


Рисунок 21 – Кожа крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Ретикулярные волокна в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом отсутствуют.

Увеличение $\times 400$. Окрашивание методом импрегнации серебром

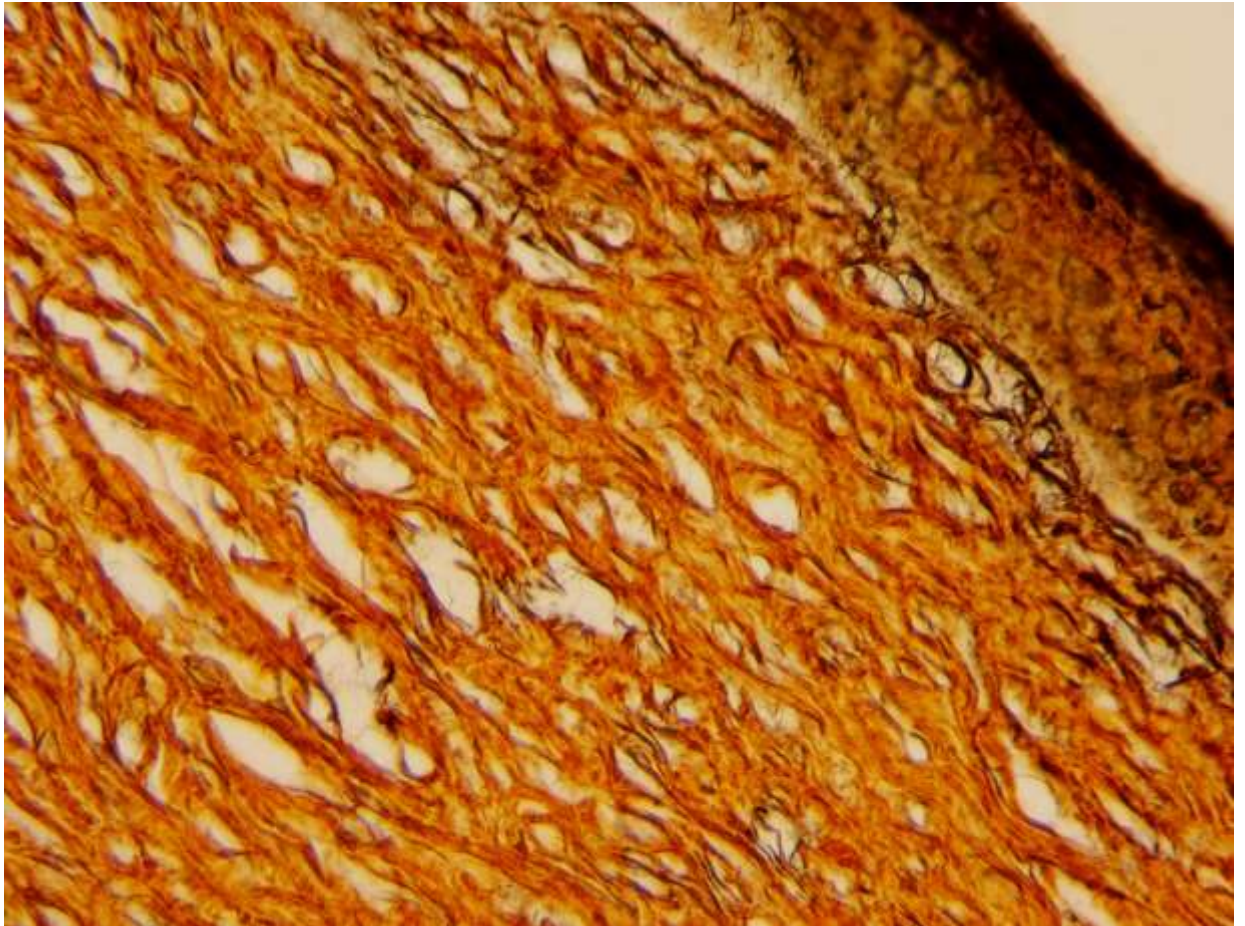


Рисунок 22 – Кожа крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента.
Сохраняются нерегулярные ретикулярные волокна в сосочковом слое дермы на
границе с эпидермисом. Увеличение $\times 400$.
Окрашивание методом импрегнации серебром

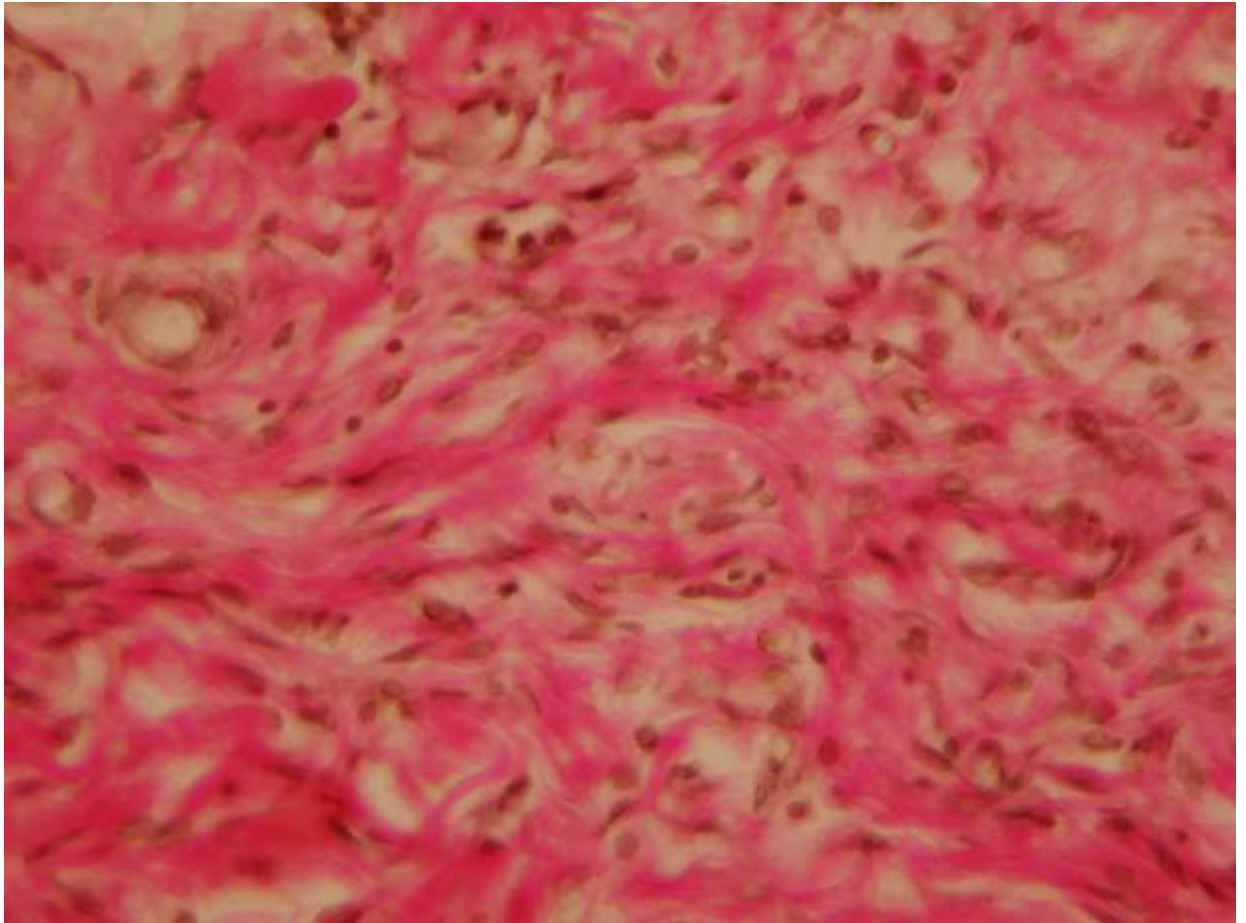


Рисунок 23 – Выражено отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена расположены хаотично. Увеличение $\times 400$. Окраска по Ван Гизону

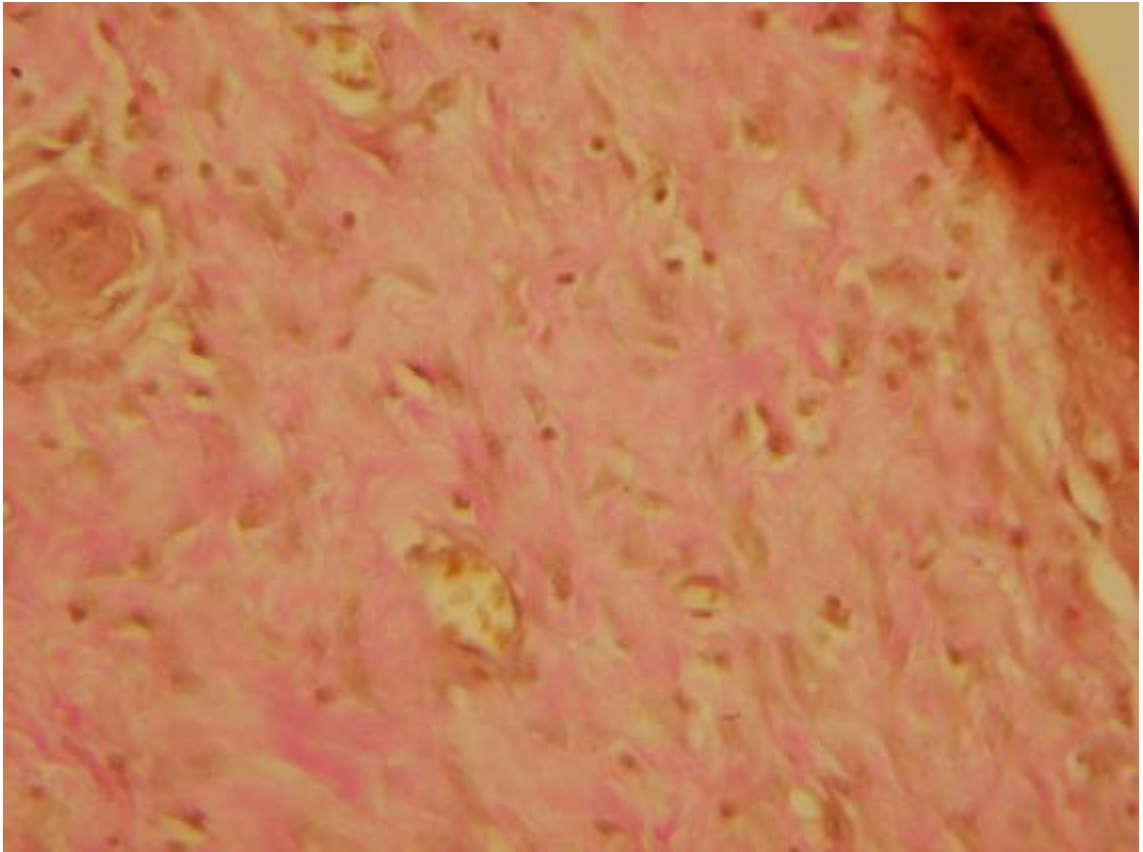


Рисунок 24 – Отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена тонкие, расположены хаотично. Увеличение $\times 400$. Окраска по Ван Гизону

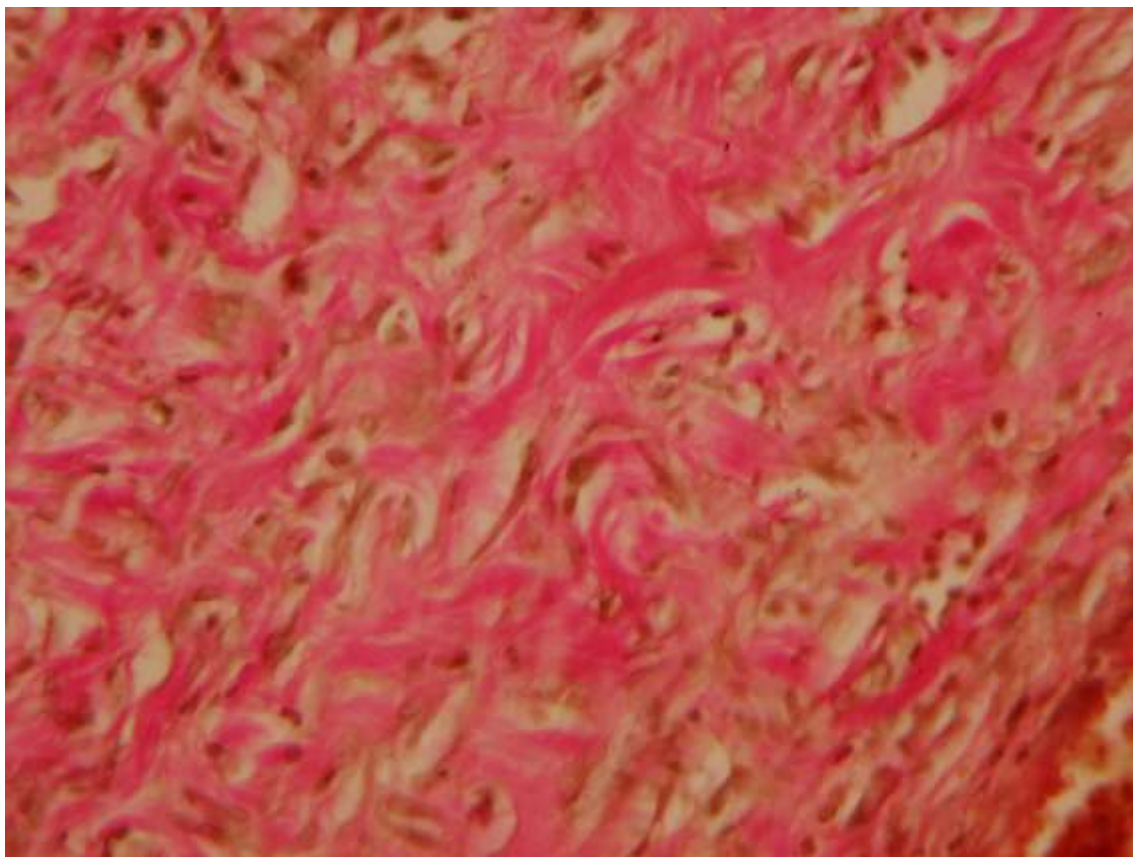


Рисунок 25 – Выражено отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена расположены хаотично. Увеличение $\times 400$. Окраска по Ван Гизону

Исследовав корреляционную взаимосвязь между численной плотностью макрофагов и объёмной плотностью коллагена на 21-е сутки эксперимента, обнаружили прямую умеренную связь величин указанных показателей в дне ожоговой раны в коже у крыс 1-й (ожог) и 2-й группы (композиция), которая составила 0,399318708 и 0,419629112 соответственно. У крыс 3-й группы (ожог + пантенол) корреляционная связь была слабой положительной (0,104386).

Для определения функционального состояния и активности синтеза коллагена фибробластами, соотносили суммарный объём коллагенов различных типов с количеством фибробластов, и обнаружили, что «фибропластическая активность» фибробластов значительно меньшая у животных, получавших лечение композицией с окисленным декстраном по сравнению с животными в 1-й и 3-й группах (Таблица 9). Эти данные позволяют предположить о влиянии

окисленного декстрана, как основного компонента лекарственной композиции, на функционирование фибробластов и меньшей их «фибропластическая активность» на 32 сутки эксперимента.

Таблица 9 – «Фибропластическая активность» фибробластов в дне ожоговой раны 3Б степени в коже крыс (УЕ) ($M \pm m$)

Срок после нанесения ожога (сутки)	Исследуемая группа		
	Ожог без лечения	Ожог+ композиция	Ожог+ пантенол
21	$0,13 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,006$	$0,18 \pm 0,01^{**}$
32	$1,28 \pm 0,07$	$0,80 \pm 0,02^*$	$1,20 \pm 0,04^{**}$
Примечание – * отмечены достоверные отличия исследуемого показателя 3 группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** отмечены достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й группы (ОД), ($p < 0,05$.)			

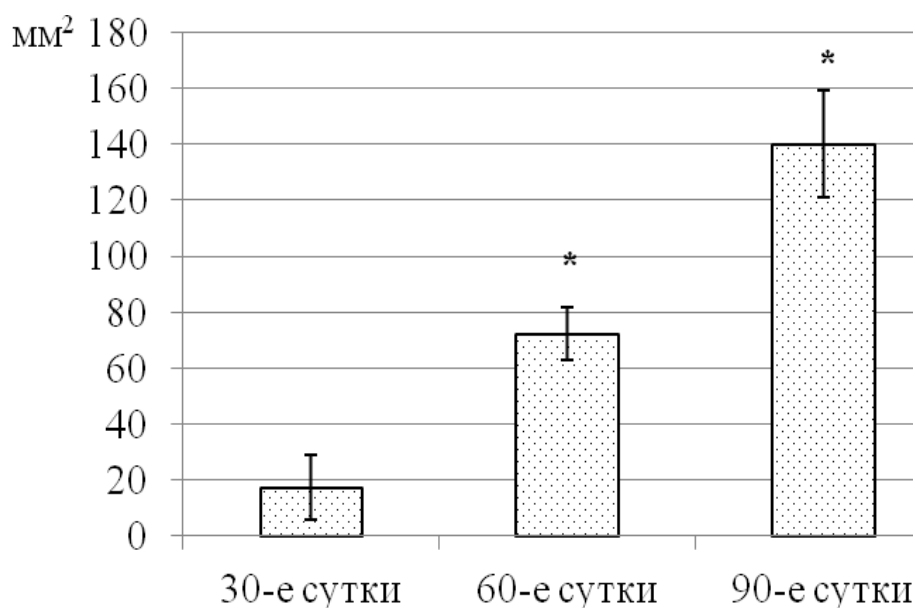
3.2 Исследование механизмов фиброза и цирроза печени при продолжительном токсическом воздействии смешанной этиологии (этаноловой и CCl_4) у крыс и воздействии на процесс фиброзирования окисленным декстраном

Согласно условиям эксперимента, описанным в предыдущей главе, гепатоз у крыс был индуцирован многократным поочередным введением тетрахлорметана и этилового спирта, у крыс во всех исследуемых группах.

В условиях использованной экспериментальной модели токсического повреждения печени у крыс 1-й группы со спонтанным циррозом печени наблюдали проявления последовательного фиброирования печени прогрессирующего на протяжении исследования, на 30-е сутки эксперимента обнаруживали фиброзные септы, расширение портальных трактов за счет разрастания соединительной ткани, однако встречались и одиночные структуры в виде ложных долек, количество которых увеличивалось на протяжении эксперимента.

В ходе постановки экспериментальной модели обнаружили, что цирроз печени с характерным уплотнением и бугристостью поверхности, узловой структурой на разрезе печени формировался уже к 58-м суткам. Печень для исследования забирали на 61-е сутки, при этом у крыс наблюдали характерные для цирроза печени проявления водянки полостей (асцита и гидроторакса), геморрагического синдрома в виде мелкопятнистых кровоизлияний в коже, серозных оболочках, мелены. При гистологическом исследовании печени животных 1-й группы обнаруживали разрастание соединительной ткани, сопровождавшееся расширением перипортальных и междольковых пространств, в соединительной ткани обнаруживали крупные фибробласты.

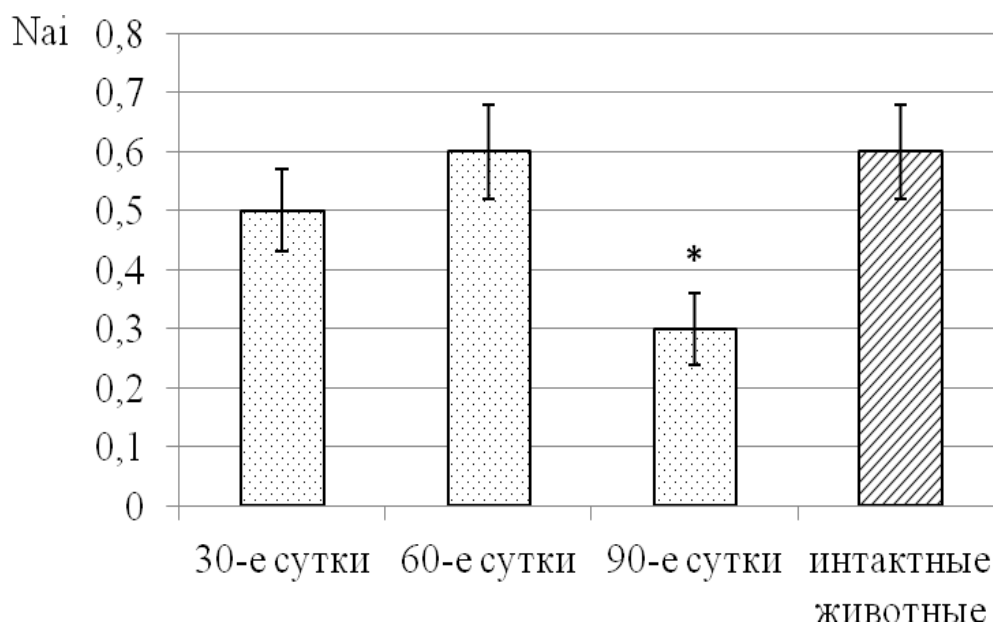
На 30-е сутки эксперимента в печени крыс 1-й группы встречались ложные дольки, размеры которых увеличивались к 60-м суткам эксперимента в 4 раза, а в период с 60-х по 90-е сутки еще в 1,9 раз (Рисунок 26).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемого показателя на 60-е и 90-е сутки при сравнении с таковым на 30-е сутки, ($p < 0,05$.)

Рисунок 26 – Площадь ложных долек (мм²) в печени крыс 1-й группы при остром гепатозе с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

При этом численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов не изменялась с 30-х по 60-е сутки и не отличалась от таковой у интактных животных. Однако не смотря на отмену введения токсических факторов животным с 60-х суток, на 90-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов у крыс 1-й группы уменьшилась в 2 раза (Рисунки 27 и 28).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемого показателя на 60-е и 90-е сутки при сравнении с таковым на 30-е сутки, ($p < 0,05$).

Рисунок 27 – Численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов в печени крыс 1-й группы при остром гепатозе с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

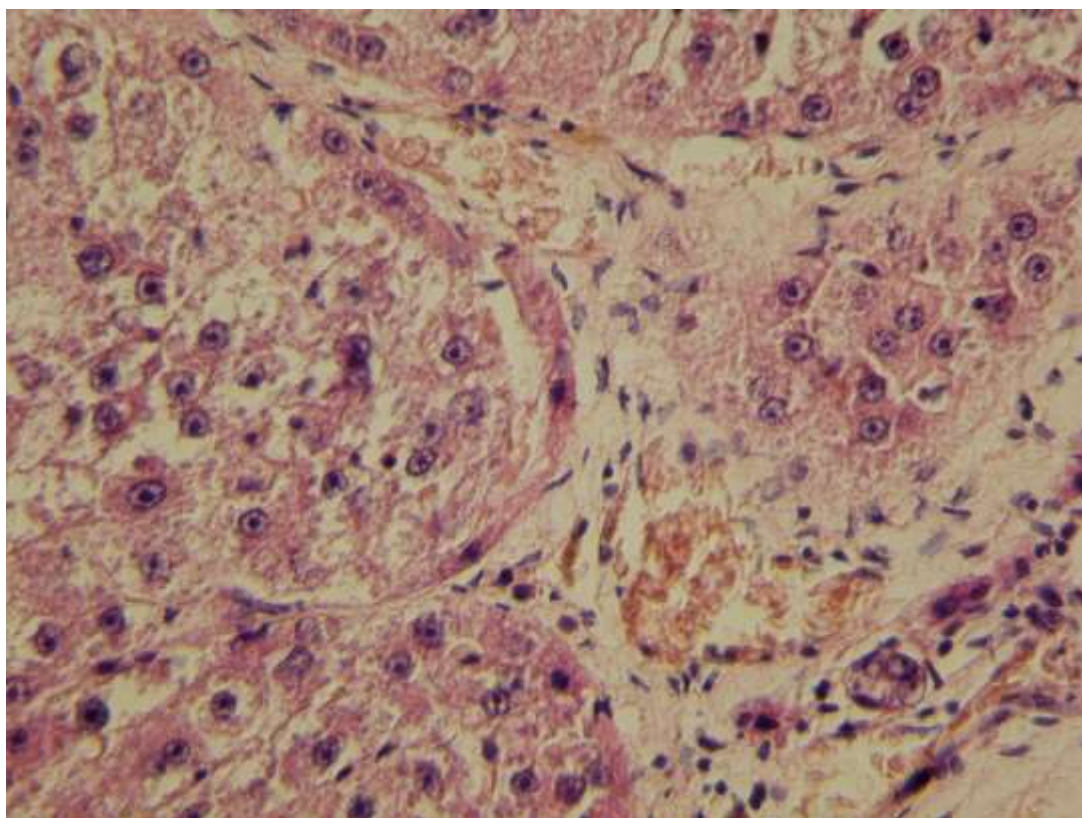


Рисунок 28 – Печень крысы при формировании цирроза печени в исходе гепатоза сочетанной токсической этиологии на 90-е сутки эксперимента. Выражены дистрофические изменения гепатоцитов, некрозы групп гепатоцитов, встречаются редкие двоядерные гепатоциты. Увеличение $\times 400$.

Окрашивание гематоксилином и эозином

Исследовали содержание коллагена в различных топографических участках печеночной дольки. Обнаружили, что объёмная плотность коллагена (Vv) в печени крыс 1-й группы (гепатоз) увеличивалась в период с 30-х по 60-е сутки в 2,1 раз в перипортальных пространствах и в 1,6 раза в междольковых пространствах (Таблица 10, Рисунок 29). Увеличение объёмной плотности коллагена (Vv) сочеталось с увеличением численной плотности (Nai) фибробластов в аналогичный период эксперимента в 1,6 раза в перипортальной области и в 1,5 раза в фиброзирующихся междольковых пространствах.

На 90-е сутки эксперимента объёмная плотность коллагена (Vv) и численная плотность (Nai) фибробластов в перипортальной области не

изменялись. В междольковой области на 90-е сутки эксперимента возросла на 16 % объёмная плотность (Vv) коллагена, но на 30 % уменьшилась численная плотность (Nai) фибробластов в сравнении с предыдущим периодом исследования, что может указывать на рост активности синтеза коллагена фибробластами печени крыс 1-й группы на 90-е сутки эксперимента.

Таблица 10 – Объёмная плотность (Vv) коллагена и численная плотность (Nai) фибробластов при гепатозе смешанной токсической этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Область исследования	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Коллаген (%)	Фибробласты (Nai)
Перипортальная область	30	$26,3 \pm 1,25$	$18,8 \pm 0,60$
	60	$56,7 \pm 1,74^*$	$29,7 \pm 0,58^*$
	90	$54,4 \pm 1,58$	$28,4 \pm 0,77$
Междольковые пространства	30	$14,1 \pm 0,64$	$16,0 \pm 0,55$
	60	$22,2 \pm 0,76^*$	$23,6 \pm 0,52^*$
	90	$26,5 \pm 0,86$	$16,5 \pm 0,51$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин показателей на 60-е и 30-е сутки, ($p < 0,025$).			

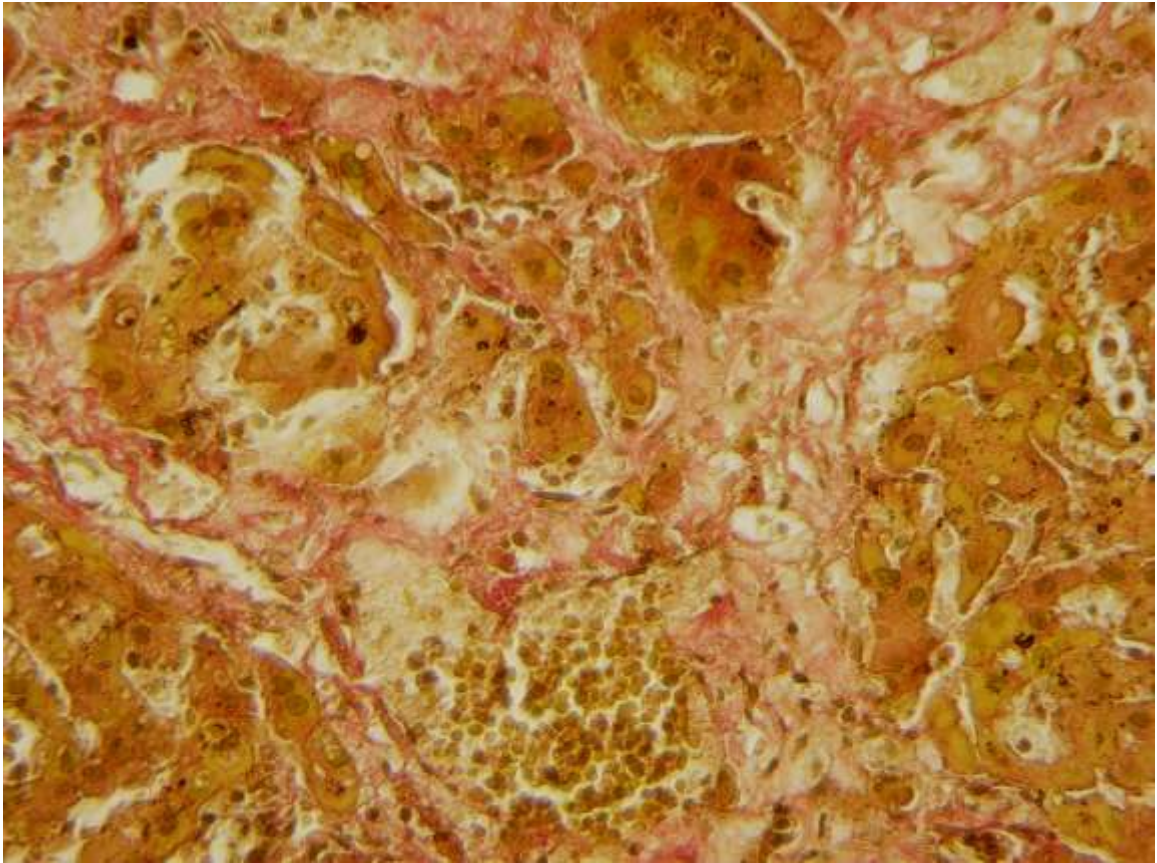
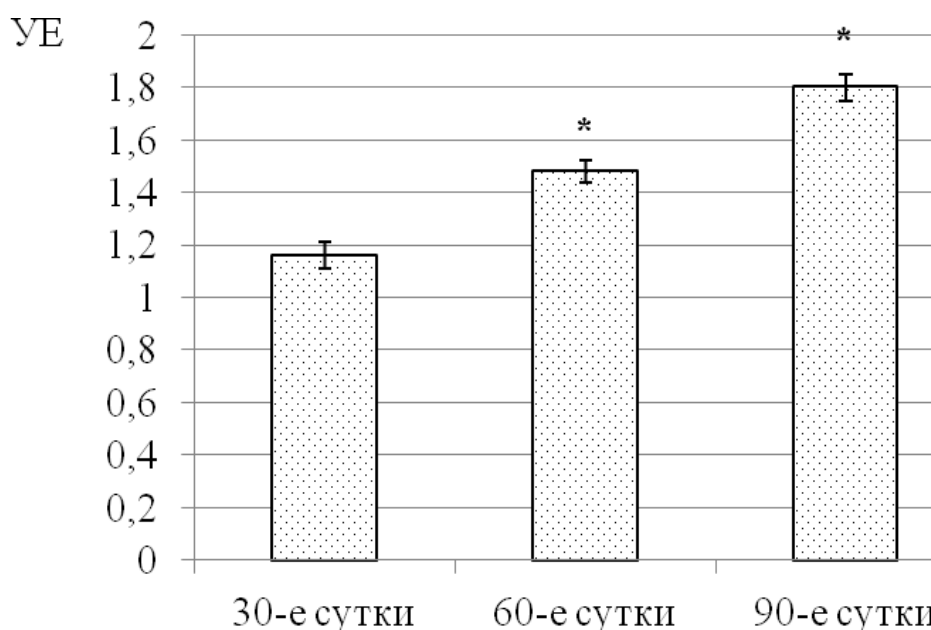


Рисунок 29 – Хаотичное отложение коллагена между ложными дольками на 60-е сутки посттоксического фиброза печени с исходом в цирроз.

Увеличение $\times 400$. Окрашивание по Ван Гизону

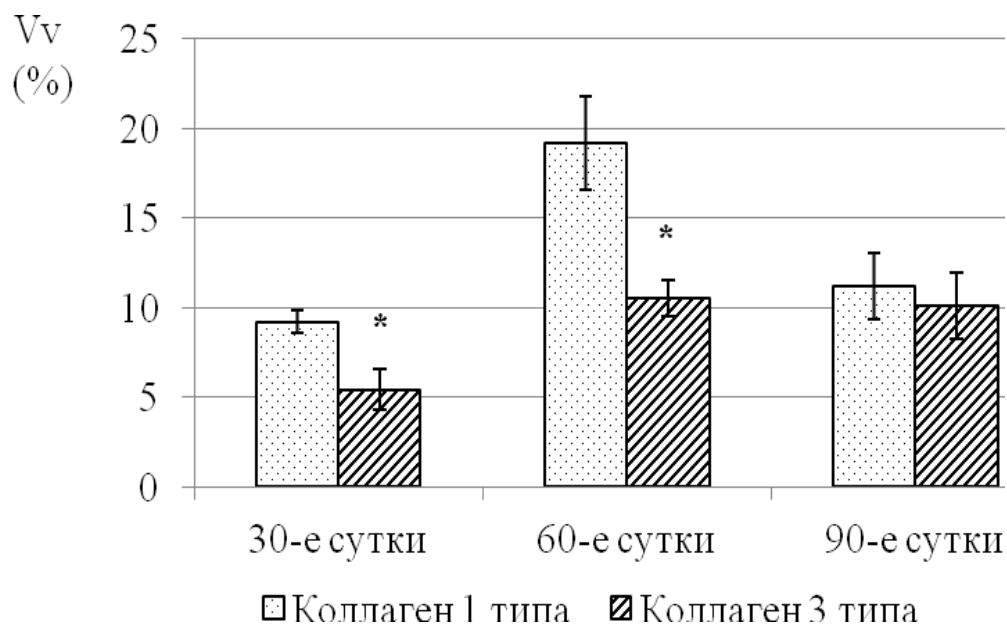


Примечание – * отмечены достоверные отличия величин показателей на 60-е и 30-е сутки ($p < 0,025$).

Рисунок 30 – «Фибропластическая активность» фибробластов (UE) в печени крыс 1-й группы ($M \pm m$)

«Фибропластическая активность» фибробластов печени у крыс 1-й группы возрастала на протяжении эксперимента, увеличившись с 30-х по 90-е сутки исследования на 35,6 %.

Происходило отложение и накопление коллагена 1-го и 3-го типа, в течение эксперимента их объёмные плотности возрастали. На 30-е и 60-е сутки в печени крыс 1-й группы преобладал коллаген 1-го типа, поскольку его объёмная плотность (V_v) была на 59 % и 55 % большей, чем коллагена 3-го типа соответственно. С 30-х по 60-е сутки в 2 раза возросла объёмная плотность коллагена 1-го и 3-го типа. На 90-е сутки эксперимента объёмная плотность коллагена 3-го типа не изменилась, однако коллагена 1-го типа откладывалось на 42 % меньше в сравнении с предыдущим периодом исследования. В конце эксперимента (на 90-е сутки) объёмные плотности (V_v) коллагена 1-го и 3-го типа не отличались (Рисунок 31).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин показателей на 60-е и 30-е сутки ($p < 0,025$).

Рисунок 31 – Объёмные плотности (Vv) коллагена 1-го и 3-го типа в печени крыс при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Накопление коллагена в печени крыс 1-й группы сопровождалось изменениями экспрессии MMP9 и TIMP1 различными типами клеток. При этом экспрессия указанных факторов преобладала в фибробластах и клетках Купфера, кроме того экспрессию обнаруживали в гепатоцитах и эндотелии сосудов. Экспрессия MMP9 была представлена в большем количестве клеток, чем TIMP1 до 60-х суток включительно. Однако на 90-е сутки эксперимента преобладала экспрессия TIMP1 (Таблица 11).

Таблица 11 – Экспрессия MMP9 и TIMP1 клетками печени у крыс 1-й группы при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Экспрессия MMP9	экспрессия TIMP1
Nai фибробластов	30	$2,6 \pm 0,45$	$2,0 \pm 0,19$
	60	$10,3 \pm 0,82^*$	$2,7 \pm 0,35^*$
	90	$6,8 \pm 0,73^{**}$	$7,4 \pm 0,65^{**}$
Nai гепатоцитов	30	$0,3 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,07$
	60	$1,0 \pm 0,17^*$	$0,2 \pm 0,08$
	90	$0,4 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,12^{**}$
Nai клеток Купфера	30	$1,9 \pm 0,18$	$0,7 \pm 0,16$
	60	$3,7 \pm 0,33^*$	$1,1 \pm 0,15^*$
	90	$2,2 \pm 0,21$	$3,0 \pm 0,11^{**}$
Nai эндотелиоцитов	30	$0,6 \pm 0,11$	$0,2 \pm 0,06$
	60	$0,8 \pm 0,11$	$0,2 \pm 0,06$
	90	$0,7 \pm 0,13$	$0,9 \pm 0,12^{**}$
Примечание – * отмечены отличия величин исследуемых показателей на 60-е сутки в отличие от таковых на 30-е сутки; ** отмечены отличия величин исследуемых показателей на 30-е и 90-е сутки, ($p < 0,05$).			

В печени крыс 1-й группы численная плотность клеток (Nai), экспрессирующих MMP9 возрастала в 2 и более раза в период с 30-х по 60-е сутки в фибробластах, клетках Купфера и гепатоцитах, а на 90-е сутки – уменьшалась на 34 % и более в тех же типах клеток (см. Таблицу 11, Рисунок 32). Численная плотность (Nai) фибробластов, клеток Купфера и гепатоцитов,

экспрессировавших TIMP1 не изменялась с 30-х по 60-е сутки, а на 90-е сутки возрастала в этих же типах клеток (см. Таблицу 11, Рисунок 33).

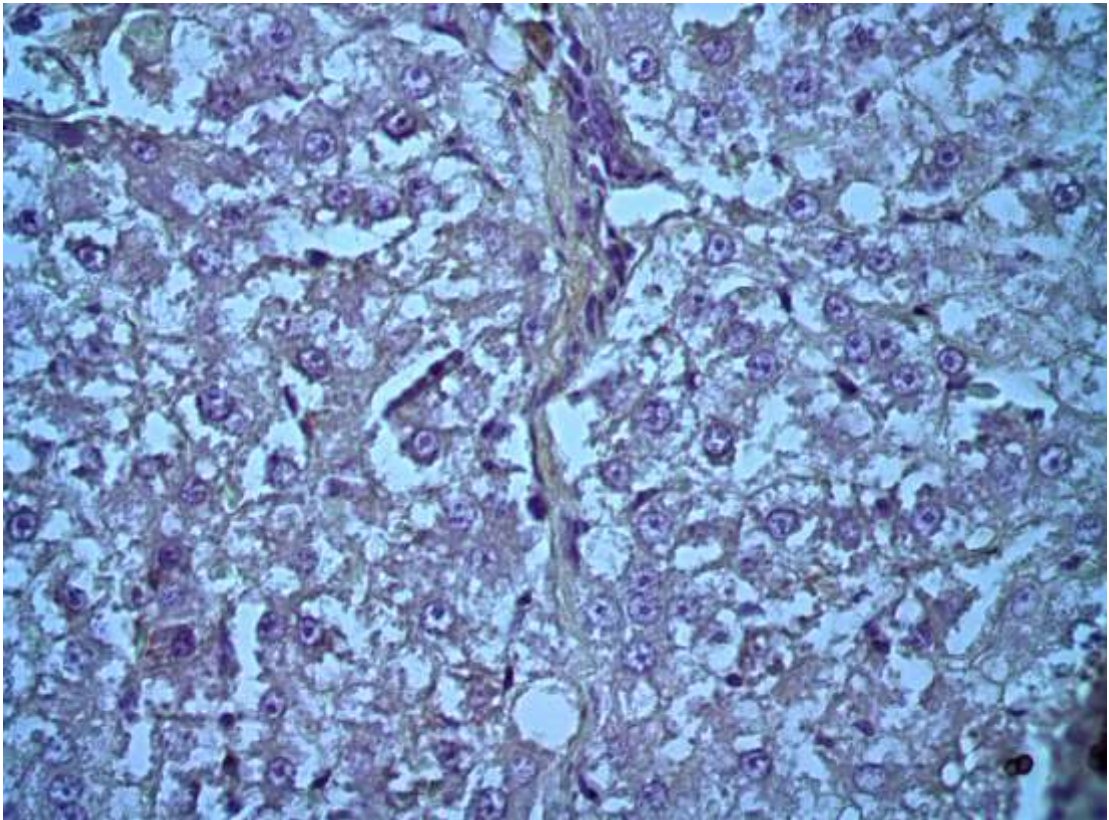


Рисунок 32 – Экспрессия MMR9 в клетках стромы, эндотелиальных клетках, клетках Купфера и внеклеточном матриксе в печени крыс с посттоксическим фиброзом печени и исходом в цирроз на 60-е сутки эксперимента.

Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

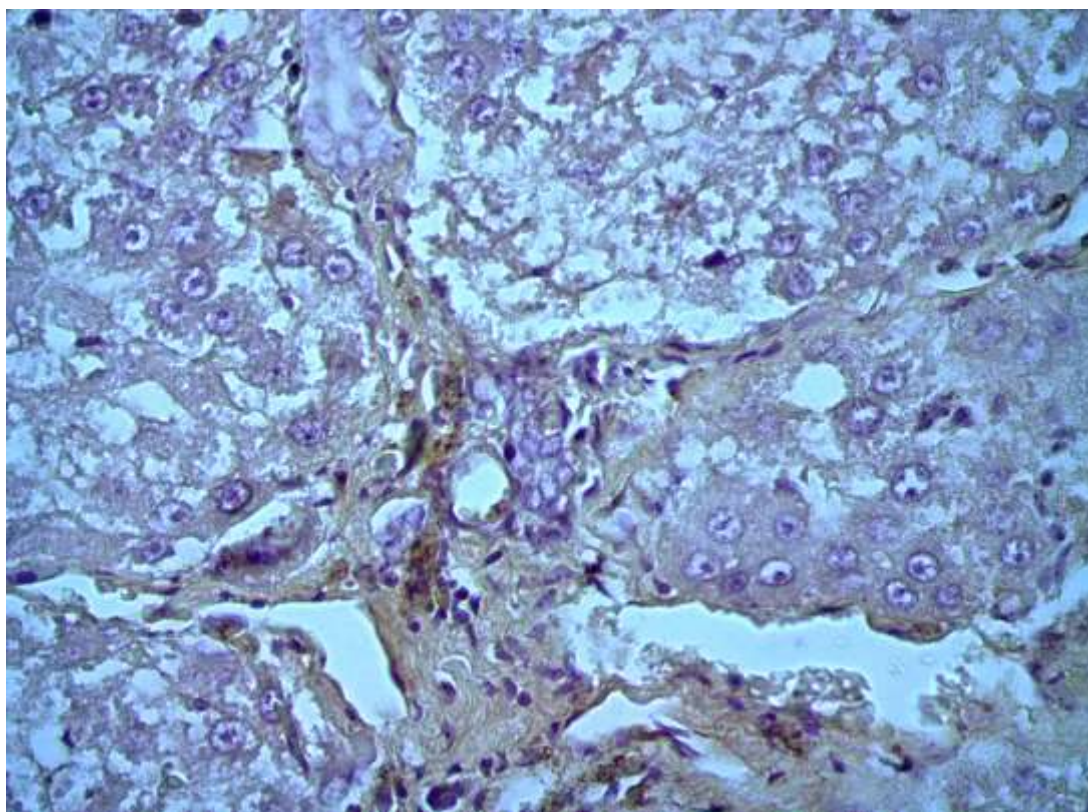
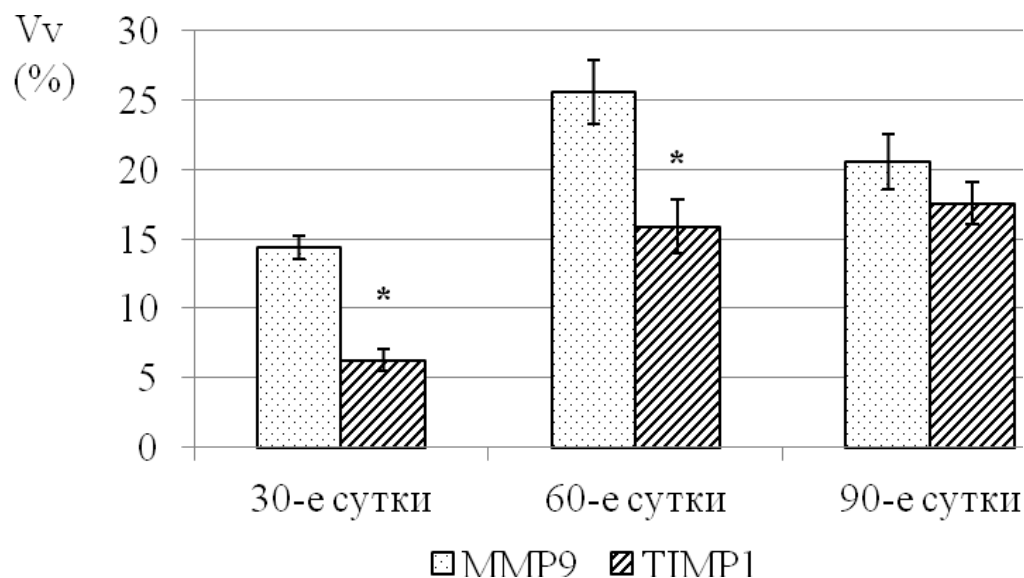


Рисунок 33 – Экспрессия TIMP1 в клетках стромы, эндотелиальных клетках и внеклеточном матриксе в печени крыс с посттоксическим фиброзом печени и исходом в цирроз на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Экспрессия TIMP1 и MMP9 эндотелиоцитами не изменялась в период с 30-х по 60-е сутки, и численная плотность (Nai) эндотелиальных клеток, экспрессировавших MMP9 была в 3 и 4 раза соответственно большей, чем экспрессирующих TIMP1. На 90-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) эндотелиоцитов, экспрессировавших TIMP1 возросла в 4,5 раза в сравнении с предыдущим периодом эксперимента и не отличалась от численной плотности эндотелия (Nai), экспрессировавшего MMP9 (см. Таблицу 11).

Исследовав экспрессию MMP9 и TIMP1 во внеклеточном матриксе, обнаружили, на 30-е и 60-е сутки преобладает экспрессия MMP9, поскольку объёмная плотность внеклеточного матрикса, экспрессировавшего MMP9 была на 56% и на 38% большей в соответствующие периоды наблюдения. На 90-е сутки

объёмные плотности экспрессии указанных ферментов во внеклеточном матриксе не отличались (Рисунок 34).



Примечание – * отмечены достоверные отличия между экспрессией MMP9 и TIMP1, ($p < 0,05$).

Рисунок 34 – Объёмная плотность внеклеточного матрикса, экспрессирующего кспрессия MMP9 и TIMP1 в печени крыс 1-й группы при длительном тоскическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Состояние кровоснабжения органа способно оказывать влияние на процессы повреждения, воспаления и фиброза, стимулируя их развитие. Исследовали проявления изменений сосудистой трофики печени крыс в 1-й группе, вычисляя численную плотность (N_{ai}) и объёмную плотность (V_v) сосудов. Обнаружили, что численная плотность (N_{ai}) сосудов в 2 и более раз, а объёмная плотность (V_v) на 50 % и более, превосходила величины аналогичных показателей у интактных животных (Таблица 12).

Таблица 12 – Численная плотность (N_{ai}) и объёмная плотность (V_v) сосудов в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени ($M \pm m$)

Период после начала токсического воздействия (сутки)	N_{ai}	V_v (%)
30	$3,1 \pm 0,13^*$	$23,6 \pm 1,68^*$
60	$4,5 \pm 0,16^*$	$16,0 \pm 1,28^*$
90	$4,2 \pm 0,17^*$	$19,6 \pm 1,26^*$
Интактные животные	$1,5 \pm 0,09$	$10,0 \pm 1,0$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей в печени крыс с формирующимся циррозом печени при сравнении с таковыми у животных группы интактного контроля.		

При этом численная плотность (N_{ai}) сосудов у крыс 1-й группы возрастала на 60-е сутки на 31 %, и не изменялась до 90-х суток эксперимента, была в 3 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных интактного контроля.

Объёмная плотность сосудов уменьшилась к 60-м суткам эксперимента на 32%, и не изменялась до 90-х суток, но была на 37,5% и 49% большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных интактного контроля на 60-е и 90-е сутки соответственно (см. Таблицу 12).

Вероятно, увеличивалось количество крупных и склерозированных сосудов в печени крыс 1-й группы в сравнении с таковыми в печени интактных животных (Рисунок 35).

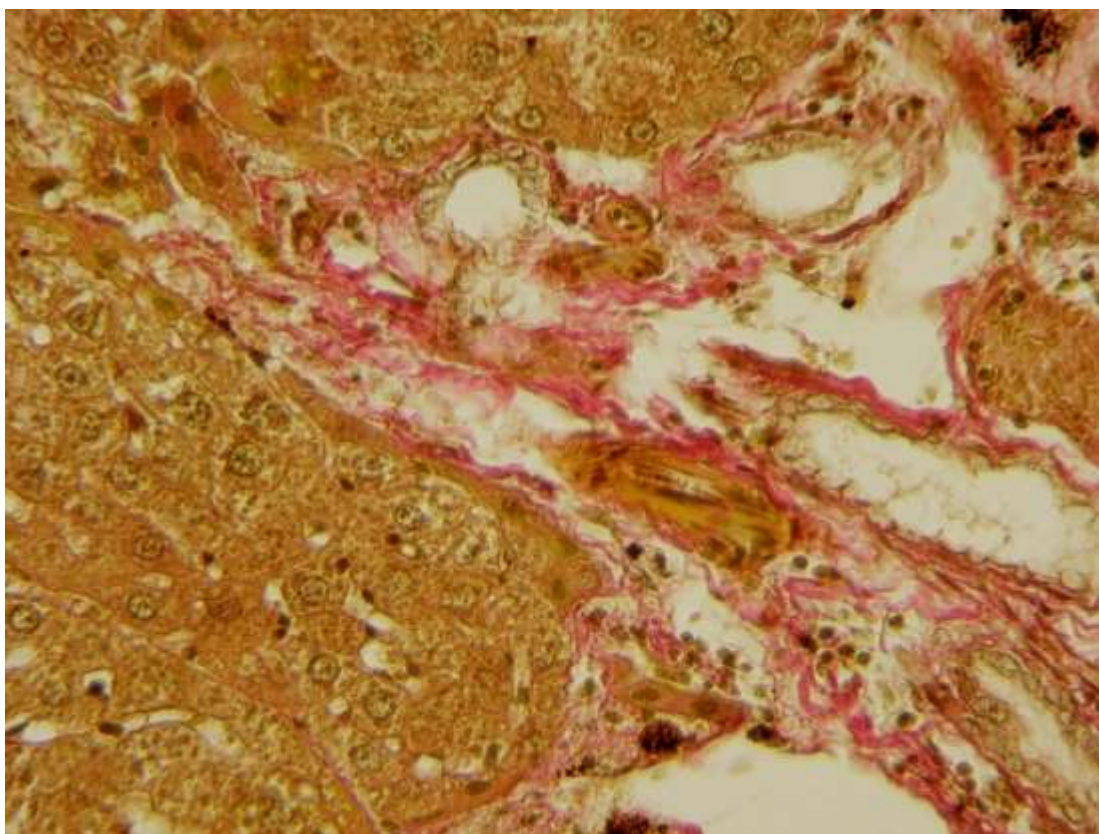
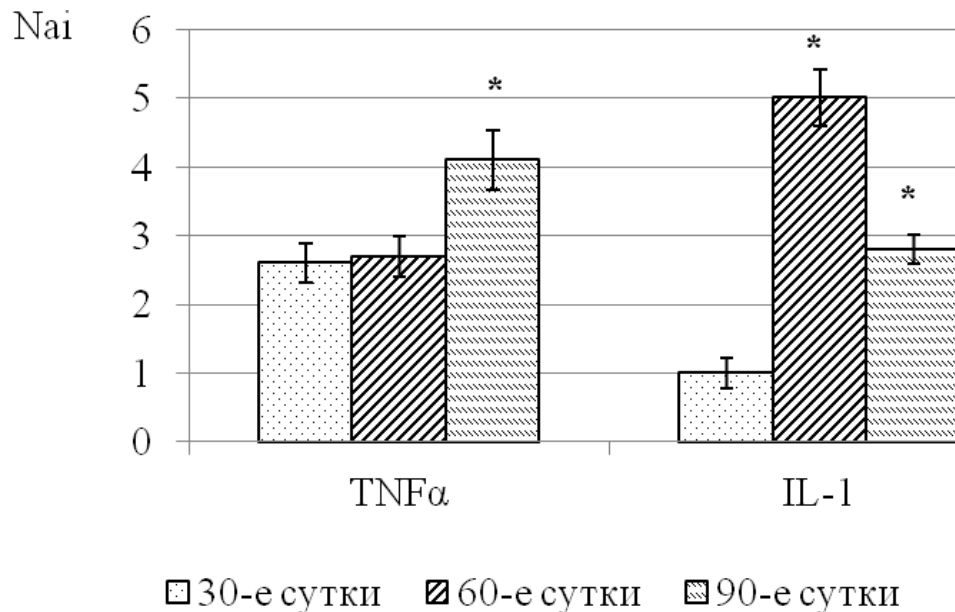


Рисунок 35 – Склерозированные сосуды портальных трактов печени крыс с посттоксическим фиброзом печени в исходе в цирроз на 90-е сутки эксперимента.

Увеличение $\times 400$. Окрашивание методом Ван Гизон

Одними из важных факторов, способных стимулировать активность клеток, участвующих в фиброгенезе, являются $\text{TNF}\alpha$ и IL-1 , продукция которых осуществляется различного типа клетками, в частности в печени к таковым могут относиться фибробласты, «блуждающие» и резидентные (клетки Купфера) макрофаги, клетки Ито, эндотелиоциты, гепатоциты. Учитывая полученные данные о преобладании экспрессии MMP9 и TIMP в резидентных макрофагах и фибробластах, вычислили численную плотность (N_{ai}) указанного типа клеток, но экспрессирующих $\text{TNF}\alpha$ и IL-1 . Обнаружили, что в использованной нами экспериментальной модели численная плотность (N_{ai}) клеток, экспрессировавших $\text{TNF}\alpha$ на протяжении первых 60 суток не изменялась, однако на 90-е сутки возросла на 34 %. Возрастала в 2,5 раза численная плотность (N_{ai}) клеток, демонстрирующих экспрессию IL1 в период с 30-х по 90-е сутки эксперимента,

наиболее выраженным (в 5 раз в сравнении с 30-ми сутками) был рост величины исследуемого показателя на 60-е сутки (Рисунок 36).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемого показателя на 60-е и 90-е сутки при сравнении с таковым на 30-е сутки, ($p < 0,05$).

Рисунок 36 – Экспрессия TNFα и IL-1 клетками Купфера и фибробластами при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени
($M \pm m$)

Учитывая, что клетки Ито участвуют в разнообразных процессах, в частности гомеостазирования обменных процессов в печени в норме и патологии, принимают участие в развитии фиброза органа и цирроза, подсчитывали их количество (Рисунок 37).

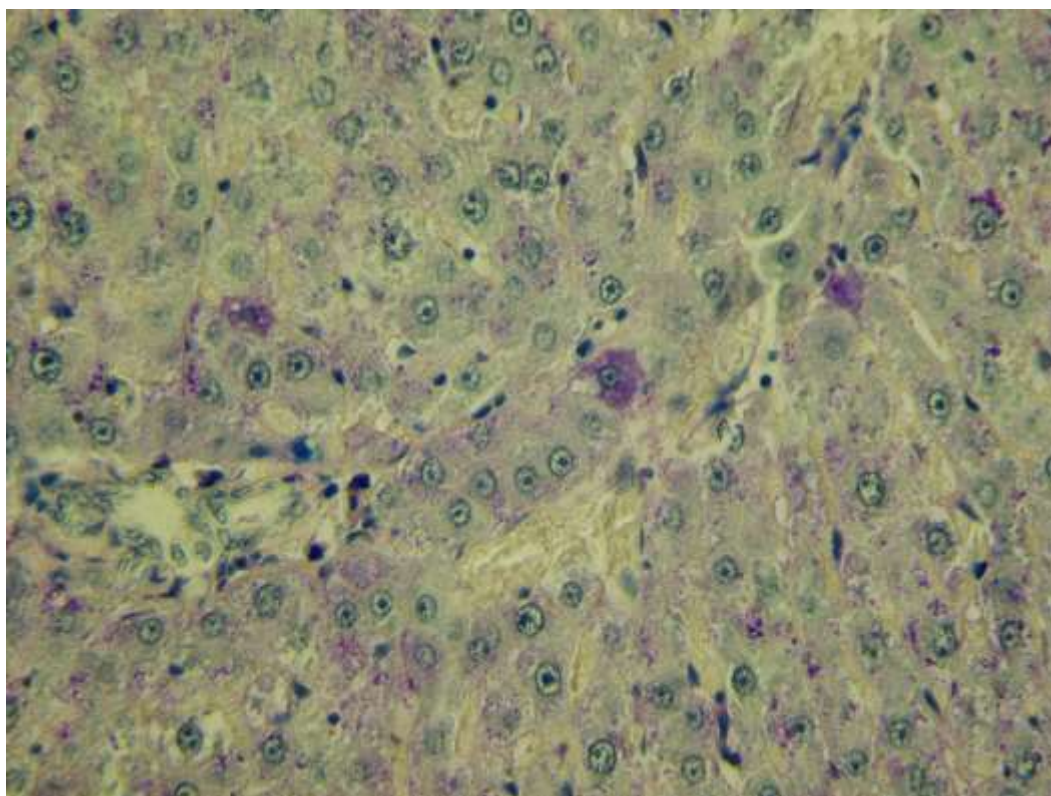
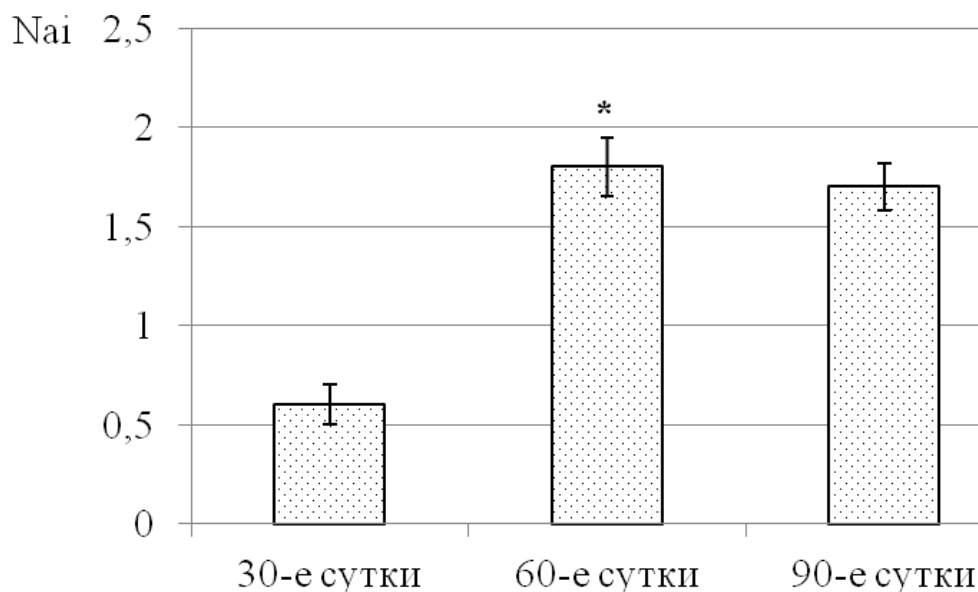


Рисунок 37 – Клетки Ито в печени крысы при посттоксическом гепатозе с исходом в цирроз на 90-е сутки эксперимента. Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2

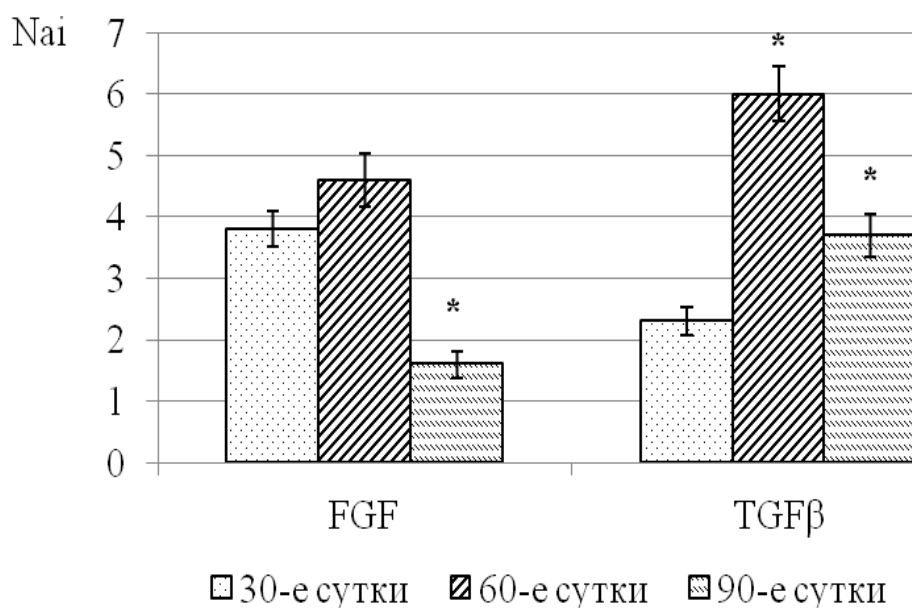
Вычислив численную плотность (N_{ai}) клеток Ито, обнаружили рост величины исследуемого показателя в 3 раза в период с 30-х по 60-е сутки, после чего до 90-х суток величина показателя не изменялась (Рисунок 38).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемого показателя на 60-е и 90-е сутки при сравнении с таковым на 30-е сутки, ($p < 0,05$).

Рисунок 38 – Численная плотность (Nai) клеток Ито в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Кроме того, известно, что клетки Ито способны менять фенотип путем эпителиально-мезенхимального перехода, в пользу клеток, способных синтезировать коллаген, участвуя, таким образом, в процессе фиброза. При этом роль в активации и регуляции процесса трансформации клеток отводят FGF β и TGF. Численная плотность клеток (фибробластов и макрофагов стромы печени), экспрессировавших FGF возрастала в период с 30-х по 60-е сутки эксперимента на 17 %, а к 90-м суткам уменьшилась в 2,9 раз после отмены воздействия токсических факторов согласно условиям эксперимента. Численная плотность клеток (фибробластов и макрофагов стромы печени), экспрессировавших TGF β возрастала от начала к концу эксперимента на 38 %, увеличиваясь в 2,6 раз к 60-м суткам, и далее уменьшаясь на 38 % в период с 60-х по 90-е сутки (Рисунок 39).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемого показателя на 60-е и 90-е сутки при сравнении с таковым на 30-е сутки, ($p < 0,05$.)

Рисунок 39 – Численная плотность (Nai) клеток стромы печени (фибробластов и макрофагов) крыс 1-й группы, экспрессирующих FGF и TGFβ при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Исследовали экспрессию маркеров ЭМП (E-cadherin, Vimentin, SNAIL+SLUG) клеток, способных к реализации ЭМП, гепатоцитов и фибробластов. Обнаружили, что численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессировавших E-cadherin увеличилась к 60-м суткам эксперимента на 57 %, а экспрессирующих Vimentin на 40 %, уменьшившись к 90-м суткам эксперимента до исходного значения для 30-х суток (Таблица 13, Рисунок 40).

Таблица 13 – Численная плотность (Nai) гепатоцитов и фибробластов, экспрессирующих маркеры эпителиально-мезенхимального перехода в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Экспрессируемый маркер	Период исследования (сутки)	Тип клеток	
		Гепатоциты	Фибробласты
Экспрессия E-cadherin	30	$0,3 \pm 0,09$	$0,1 \pm 0,05$
	60	$0,7 \pm 0,13^*$	$0,3 \pm 0,11$
	90	$0,3 \pm 0,09$	$0,7 \pm 0,17^{**}$
Экспрессия Vimentin	30	$0,9 \pm 0,19$	$1,2 \pm 0,16$
	60	$1,5 \pm 0,26^*$	$1,6 \pm 0,19$
	90	$0,7 \pm 0,17$	$1,2 \pm 0,18$
Экспрессия SNAIL + SLUG	30	$3,7 \pm 0,26$	$0,6 \pm 0,16$
	60	$5,9 \pm 0,45^*$	$0,7 \pm 0,19$
	90	$7,4 \pm 0,57^{**}$	$1,0 \pm 0,18^{**}$
Примечание – * отмечены отличия величин исследуемых показателей на 60-е сутки в отличие от таковых на 30-е сутки; ** отмечены отличия величин исследуемых показателей на 30-е и 90-е сутки, ($p < 0,05$).			

Экспрессия SNAIL+SLUG проявлялась как в ядрах, так и в цитоплазме гепатоцитов, а численная плотность (Nai) таких гепатоцитов возрастала с 30-х по 90-е сутки эксперимента в 2 раза (Таблица 13, Рисунок 41).

Экспрессия E-cadherin в фибробластах проявлялась с 60-х суток, а численная плотность (Nai) таких клеток возрастала к 90-м суткам эксперимента на 57% (Таблица 13, Рисунок 42). Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессировавших Vimentin, SNAIL + SLUG не изменялась на протяжении эксперимента.

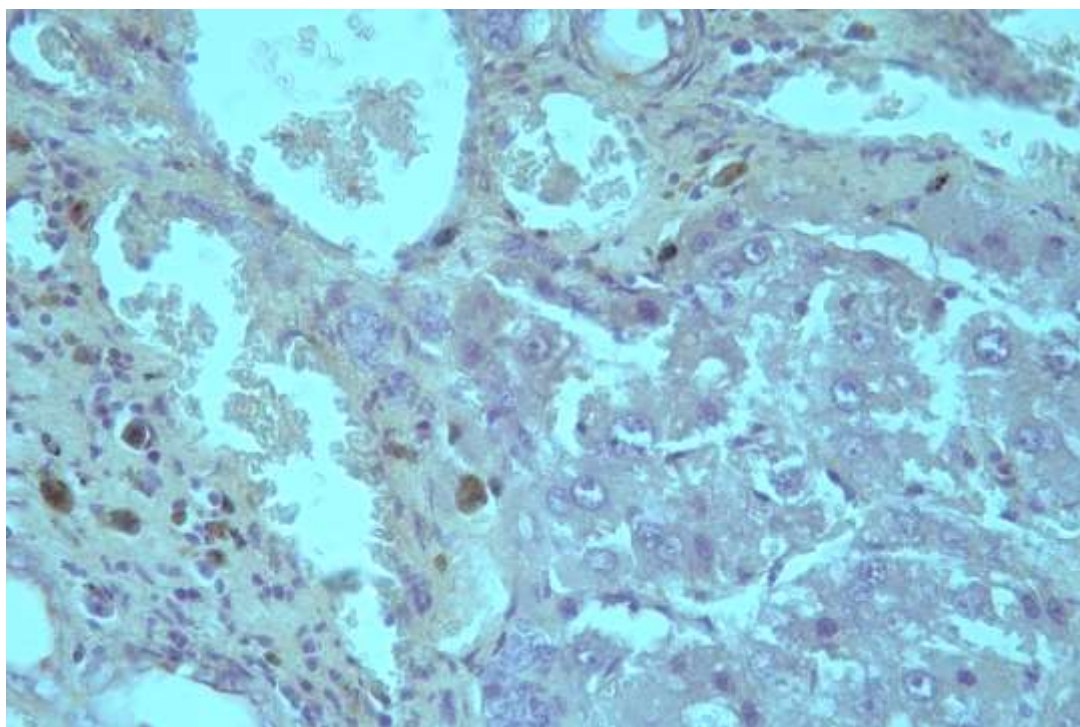


Рисунок 40 – Экспрессия Vimentin в фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 60-е сутки эксперимента.

Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Очевидно, что при фиброзе и циррозе печени гепатоциты регенерируют, формируя ложные дольки, с целью уточнения значимости процессов деления гепатоцитов и мезенхимально-эпителиального перехода, который могут реализовывать такие клетки как гепатоциты, фибробласты, клетки Ито, преобразуясь в клетки, способные к синтезу коллагена, исследовали корреляционную связь между клетками, реализующими эпителиально-мезенхимальный переход и размерами ложных долек, Обнаружили отсутствие корреляционной взаимосвязи, поскольку коэффициент корреляции составлял между двудерными гепатоцитами и площадью ложных долек $-0,016947213$, между фибробластами и площадью ложных долек $-0,171358459$, между клетками Ито и площадью ложных долек $0,186474687$.

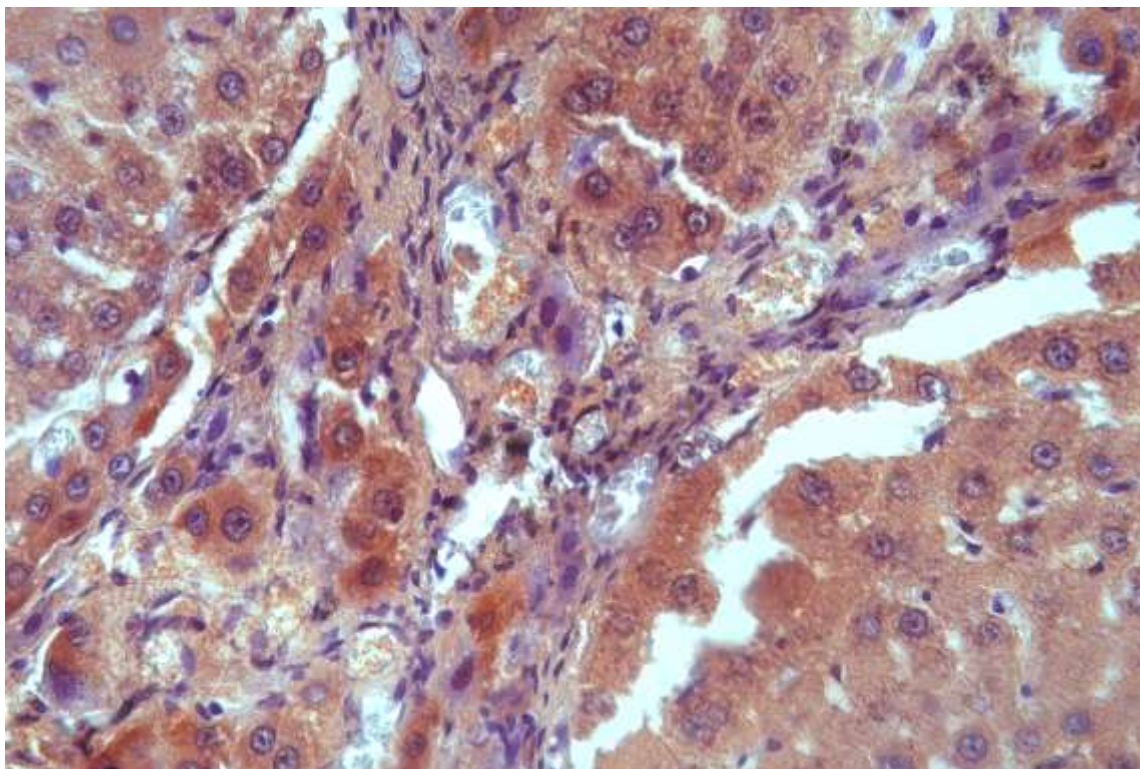


Рисунок 41 – Экспрессия SNAIL+SLUG в гепатоцитах, эпителии желчных протоков, фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$.

Фоновое окрашивание гематоксилином

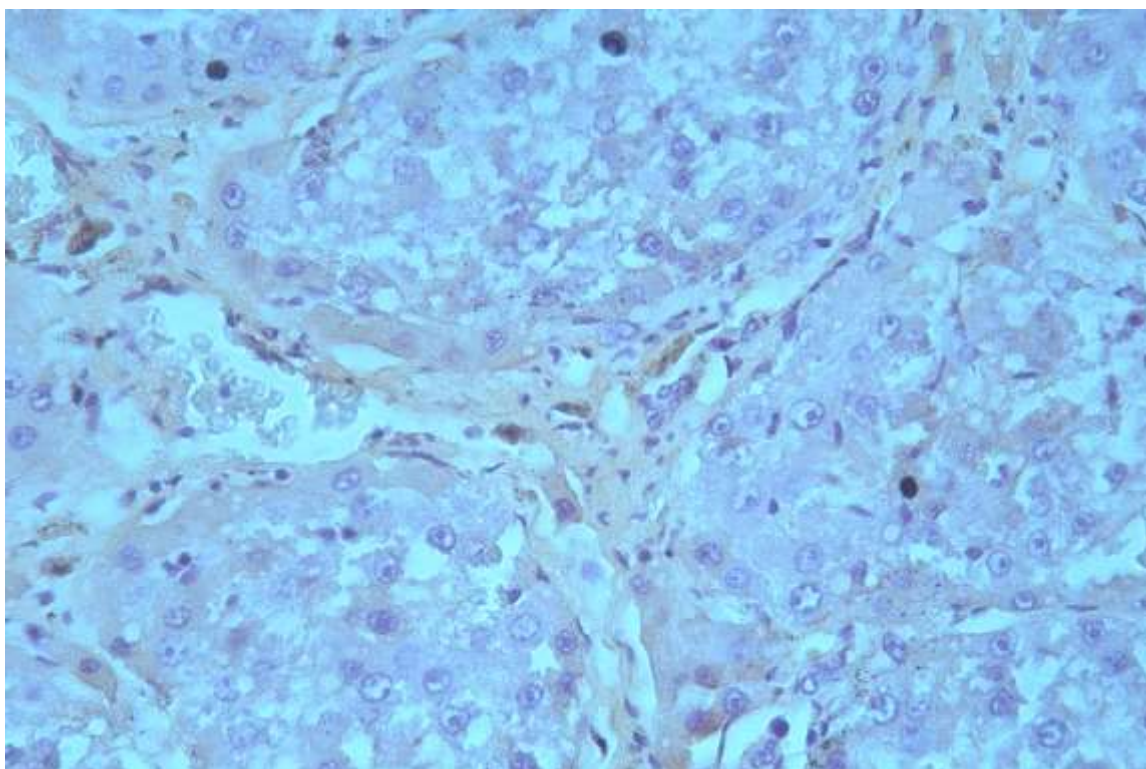


Рисунок 42 – Экспрессия E-cadherin в гепатоцитах, фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

3.2.1 Механизмы формирования фиброза печени в условиях острого токсического гепатоза при воздействии окисленным декстраном

У животных 2-й группы, получавших в условиях острого гепатоза ОД с 1-х суток эксперимента, вышеописанных внешних проявлений водянки полостей, геморрагического синдрома и цирротической трансформации печени не наблюдали.

Так же, как и у крыс 1-й группы, в печени крыс 2-й группы (гепатоз + ОД) при гистологическом исследовании этого органа обнаруживали разрастание соединительной ткани, сопровождавшееся расширением перипортальных и междольковых пространств, а в соединительной ткани обнаруживали крупные фибробласты.

Ложных долек не обнаруживали в печени у всех животных 2-й группы (острый гепатоз + ОД с 1-х суток эксперимента) как на 30-е, так и на 60-е сутки (Рисунок 43). При этом макроскопически печень животных интактной группы не отличалась от неизменной печени и характеризовалась гладкой поверхностью, плотно-эластической консистенцией.

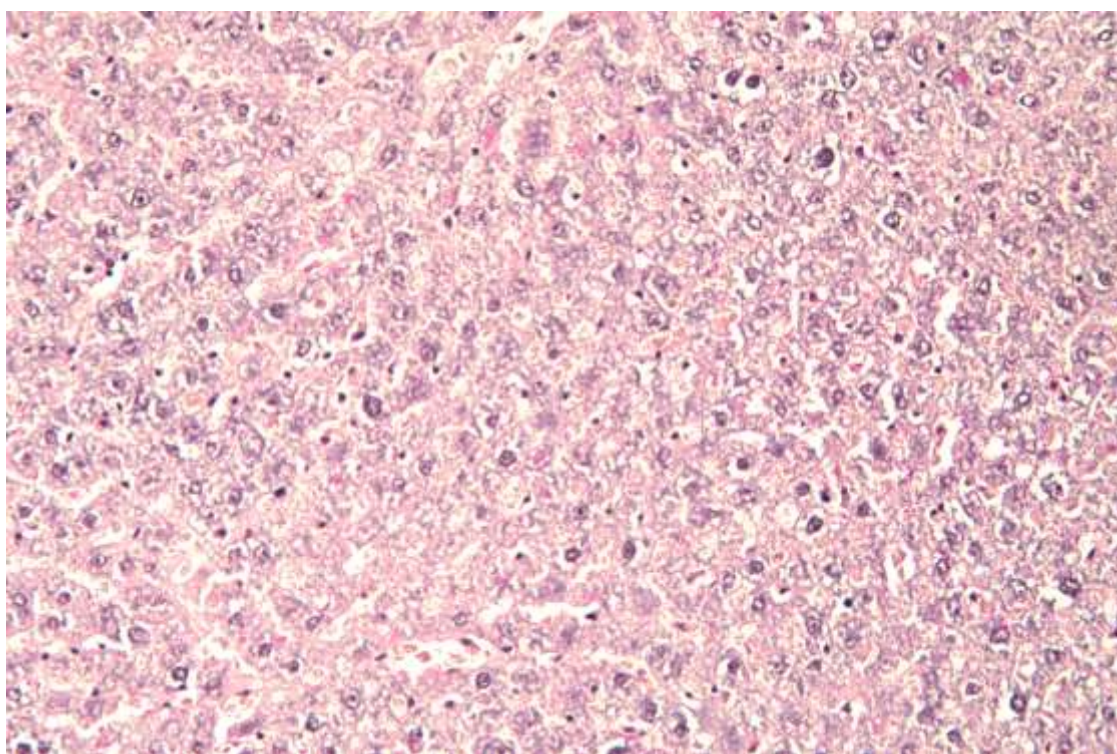
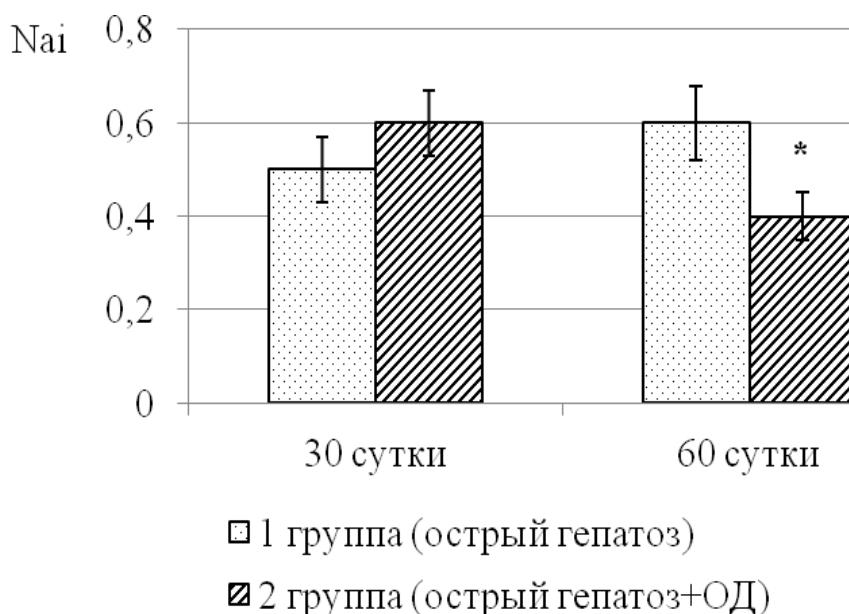


Рисунок 43 — Печень крысы 2-й группы при остром гепатозе сочетанной токсической этиологии на 60-е сутки. Ложные дольки отсутствуют. Архитектоника печеночных долек сохранена. Преобладают дистрофические изменения гепатоцитов, некрозы отдельных гепатоцитов. Увеличение $\times 100$.

Окрашивание гематоксилином и эозином

Численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов не изменялась с 30-х по 60-е сутки, и не отличалась от таковой у животных 1-й группы в исследуемые периоды эксперимента (Рисунок 44).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$.)

Рисунок 44 – N_{ai} двуядерных гепатоцитов в печени крыс при формировании фиброза печени в условиях острого гепатоза ($M \pm m$)

Таким образом, при токсическом остром гепатозе у крыс 1-й группы происходило формирование цирроза печени к 60-м суткам эксперимента, тогда как у животных 2-й группы проявлений цирроза печени не обнаруживали, что может указывать на регенерацию гепатоцитов после воздействия ОД, однако механизм регенерации не ясен, учитывая отсутствие отличий и изменений динамики численной плотности двуядерных гепатоцитов. Вероятно, в регенераторном процессе и формировании цирроза задействованы механизмы мезенхимально-эпителиального перехода.

У животных 2-й группы (острый гепатоз + ОД) объёмная плотность коллагена (V_v) увеличивалась в аналогичный период эксперимента в 1,5 раза в перипортальных пространствах, однако в междольковых пространствах объёмная плотность коллагена (V_v) не изменилась в период с 30-х по 60-е сутки эксперимента. Численная плотность (N_{ai}) фибробластов уменьшалась в период с

30-х по 60-е сутки эксперимента на 37,8 % в перипортальных пространствах, и на 33 % в междольковых пространствах (Таблица 14).

Таблица 14 – Объёмная плотность коллагена (Vv) и численная плотность (Nai) фибробластов при формировании фиброза печени в условиях острого токсического гепатоза ($M \pm m$)

Область исследования	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Vv коллагена (%)		Фибробласты (Nai)	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)	1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Перипортальная область	30	26,3 $\pm$ 1,25	19,1 $\pm$ 0,85*	18,8 $\pm$ 0,60	19,6 $\pm$ 0,56
	60	56,7 $\pm$ 1,74	29,2 $\pm$ 1,20*	29,7 $\pm$ 0,58	12,2 $\pm$ 0,37*
Междольковые пространства	30	14,1 $\pm$ 0,64	5,9 $\pm$ 0,54*	16,0 $\pm$ 0,55	10,3 $\pm$ 0,37*
	60	22,2 $\pm$ 0,76	7,5 $\pm$ 0,47*	23,6 $\pm$ 0,52	6,9 $\pm$ 0,27*
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).					

При этом объёмная плотность коллагена (Vv) в печени крыс 2-й группы во все периоды эксперимента была меньшей в междольковых и перипортальных пространствах – в перипортальных пространствах на 30-е сутки в 1,4 раза, на 60-е сутки – в 1,9 раз; в междольковых пространствах на 30-е сутки в 2,4 раза, на 60-е сутки – в 2,9 раз. Численная плотность (Nai) фибробластов в перипортальных пространствах на 30-е сутки не отличалась при сравнении между группами. На 60-е сутки величина исследуемого показателя была в 2,4 раза меньшей в печени крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД) в перипортальных пространствах. В междольковых пространствах на 30-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) фибробластов была на 35 % меньшей, а на 60-е сутки в 3,4 раза меньшей, в печени крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД), при

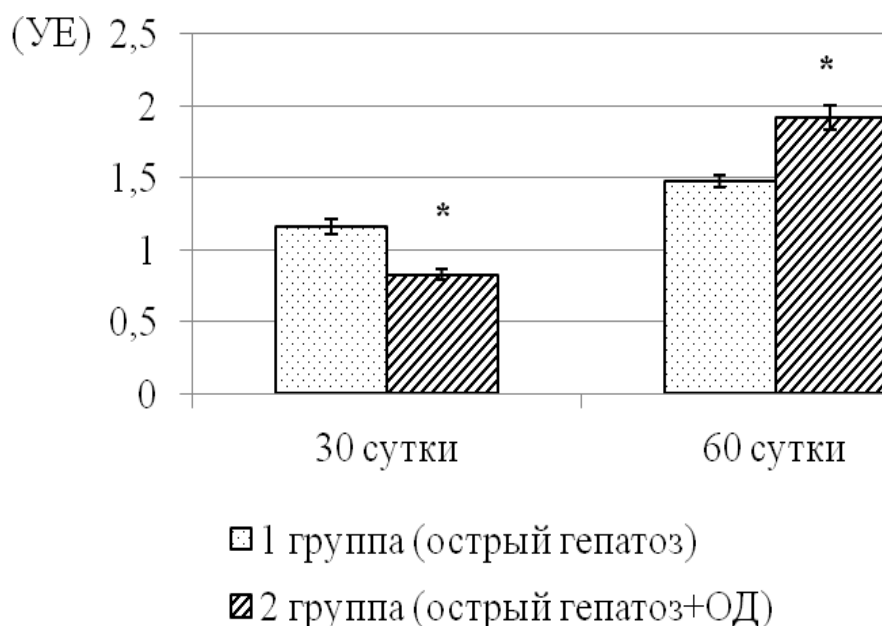
сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (острый гепатоз) (см. Таблицу 14, Рисунок 45).



Рисунок 45 – Печень крысы 2-й группы (острый гепатоз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Ложные дольки отсутствуют коллаген откладывается в виде тонких пучков вокруг некоторых сосудов и реже между печеночными дольками.

Увеличение $\times 100$. Окраска методом Ван Гизон

Вычисляли «фибропластическую активность» фибробластов путем соотнесения объёмной плотности коллагена с численной плотностью фибробластов, получая, таким образом, объём коллагена на один фибробласт. Обнаружили, что «фибропластическая активность» фибробластов в печени крыс 2-й группы была на 28 % меньшей в сравнении с таковой у животных в 1-й группе на 30-е сутки эксперимента. На 60-е сутки эксперимента величина исследуемого показателя у крыс 1-й и 2-й группы не отличалась, однако в динамике, в период с 30-х по 60-е сутки увеличилась у крыс в обеих группах (Рисунок 46).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 46 – «Фибропластическая активность» фибробластов (UE) при фиброзировании печени крыс в условиях острого токсического гепатоза ($M \pm m$)

Очевидно, повреждение паренхимы печени сопровождалось продукцией медиаторов, в том числе, направленной на поддержание и стимулирование функциональной активности фибробластов у крыс в обеих группах.

Учитывая уменьшение численной плотности фибробластов в печени крыс 2-й группы в ходе эксперимента, представляется возможной трансформация указанного типа клеток в клетки печени путем мезенхимально-эпителиального перехода. Однако убыль фибробластов может быть связана с апоптозом фибробластов, поскольку в них встречали экспрессию P53 (Рисунок 47).

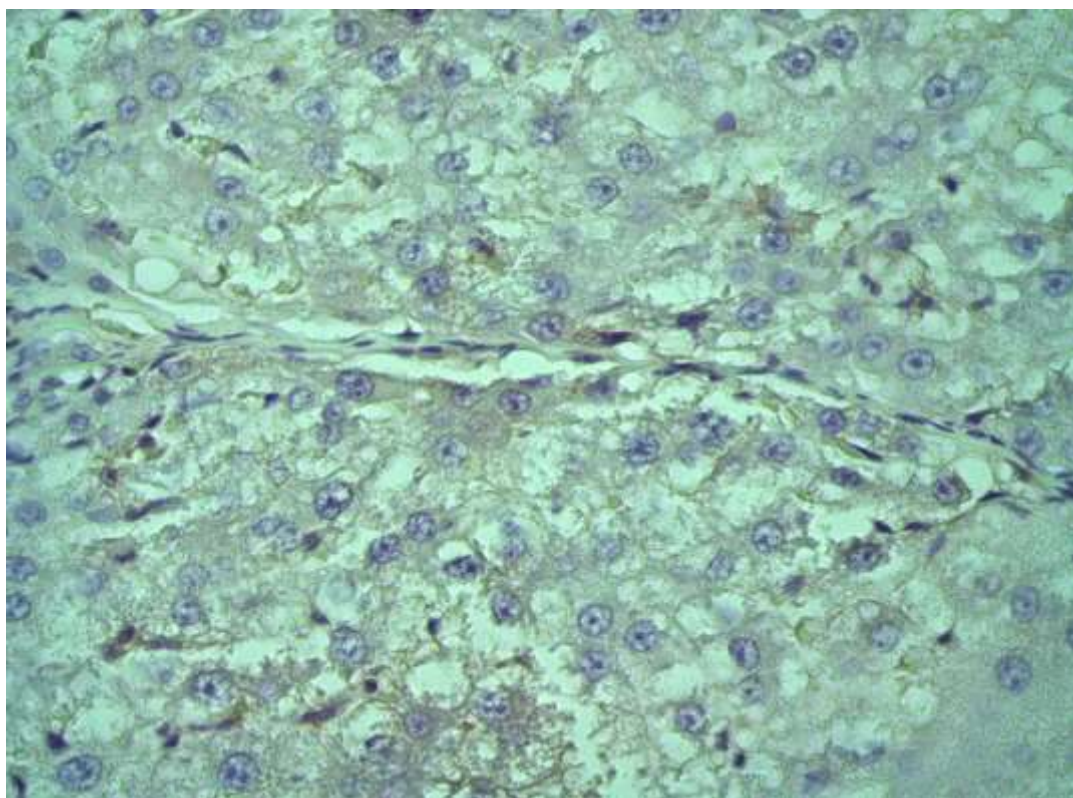


Рисунок 47 – Экспрессия P53 фибробластами в печени крыс 2-й группы при фиброзировании органа в условиях острого токсического гепатоза на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Известно, что нарушенная сосудистая трофика влияет на процессы фиброзирования органов, а пролиферация сосудов при фиброзе завершается формированием склерозированных сосудов.

Исследовали численную (Nai) и объёмную (Vv) плотность сосудов в печени крыс при фиброзировании органа в условиях острого токсического гепатоза. Обнаружили, что величина обоих исследуемых показателей в печени животных экспериментальных групп была большей в сравнении с таковыми у интактных животных во все периоды наблюдения.

Численная плотность (Nai) сосудов у крыс 1-й группы (гепатоз) на 30-е сутки эксперимента была на 24 % большей в сравнении с таковой у животных 2-й группы, получавших ОД. К 60-м суткам исследования численная плотность (Nai) сосудов в печени крыс 1-й группы увеличилась на 31 и оказалась

в 2,1 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (гепатоз + ОД). Численная плотность (N_{ai}) сосудов в печени крыс 2-й группы в период с 30-х по 60-е сутки уменьшилась в 2 раза и оказалась на 28 % большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у интактных животных (Таблица 15).

Таблица 15 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при фиброзировании печени в условиях острого токсического гепатоза и воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа		
		1-я группа (гепатоз)	2-я группа (гепатоз+ОД)	Интактные
Nai Сосудов	30	3,1 ± 0,13	4,1 ± 0,14*	1,5 ± 0,09
	60	4,5 ± 0,16	2,1 ± 0,13*	
Vv Сосудов	30	23,6 ± 1,68	25,7 ± 1,69	10,0 ± 1,0
	60	16,0 ± 1,28	34,1 ± 2,15*	
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, (p < 0,05).				

Объёмная плотность (V_v) сосудов у животных 1-й и 2-й группы на 30-е сутки не отличалась, но на 60-е сутки величина исследуемого показателя была в 2 раза большей у крыс 2-й группы (гепатоз + ОД. При этом объёмная плотность (V_v) сосудов в печени у крыс 1-й группе к 60-м суткам эксперимента уменьшилась на 32 % в сравнении с предыдущим периодом наблюдения в этой же группе. У животных 2-й группы величина исследуемого показателя к 60-м суткам возросла на 24 % в сравнении с таковой на 30-е сутки.

Известно, что клетки Ито принимают участие в процессе фиброза печени, а также способны к трансформации в различные типы клеток, реализуя механизмы эпителиально-мезенхимального перехода.

Исследовали численную плотность (N_{ai}) клеток Ито (Рисунок 48). На 30-е сутки величина исследуемого показателя не отличалась у крыс

в 1-й (гепатоз) и 2-й группах (гепатоз + ОД) (Рисунок 49). У животных 1-й группы численная плотность (N_{ai}) клеток Ито к 60-м суткам увеличивалась в 3 раза в сравнении с предыдущим периодом исследования, а у животных во 2-й группе (гепатоз + ОД) величина указанного показателя не изменялась к 60-м суткам эксперимента. На 60-е сутки исследования величина исследуемого показателя была на 44,4 % большей у крыс 1-й группы (гепатоз), в отличие от таковой у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) (Рисунок 49).

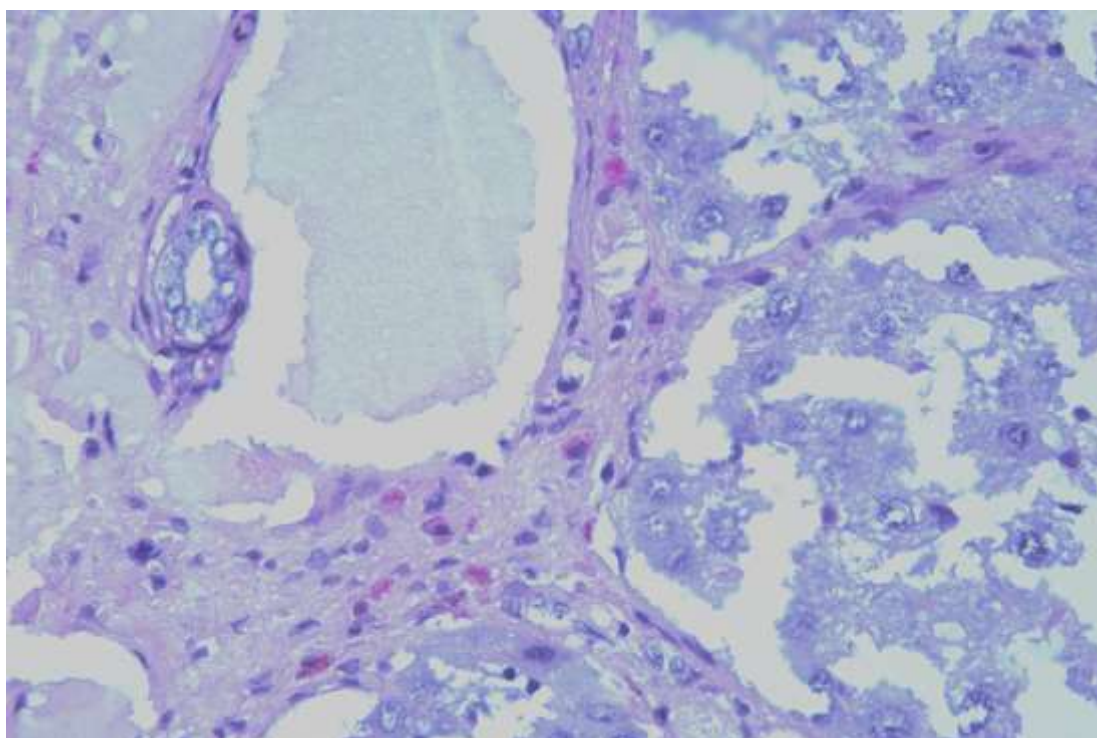
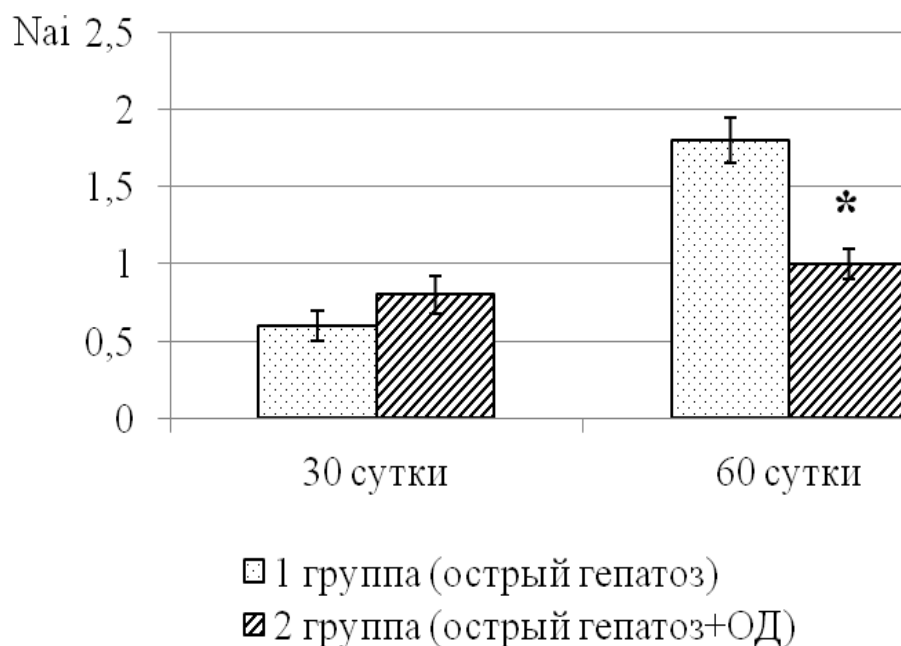


Рисунок 48 – Клетки Ито окрашены ярко-розовым цветом в печени крысы 2-й группы (острый гепатоз + ОД) на 30-е сутки. Увеличение $\times 100$. Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 49 – Численная плотность (Nai) клеток Ито при фиброзировании печени в исходе острого гепатоза ($M \pm m$)

3.2.1.1 Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и процесса фиброзирования печени в условиях острого токсического гепатоза и воздействии окисленным декстраном

Исследовали объёмную плотность коллагена 1 и 3 типа. Обнаружили, что во все периоды исследования объёмная плотность (Vv) коллагена 1 типа была большей в печени крыс 1-й группы (острый гепатоз), на 32 % и в 6,6 раз на 30-е и 60-е сутки соответственно в сравнении с таковой у животных, получавших ОД (острый гепатоз + ОД). При этом у крыс 1-й группы (острый гепатоз) величина исследуемого показателя с 30-х по 60-е сутки увеличилась в 2 раза, тогда как в печени крыс 2-й группы объёмная плотность (Vv) коллагена 1 типа уменьшалась в 2,1 раза в аналогичный период времени.

Объёмная плотность (Vv) коллагена 3 типа в печени крыс при сравнении между группами не отличалась на 30-е сутки эксперимента, но на 60-е сутки у крыс 1-й группы (острый гепатоз) величина исследуемого показателя увеличилась в 1,9 раз, но в печени животных 2-й группы (острый гепатоз + ОД) уменьшалась в 2,7 раз (Таблица 16). Полученные данные могут указывать на прогрессирование процесса фиброзирования печени у крыс 1-й группы (острый гепатоз) к 60-м суткам, продукцию меньшего объёма коллагена и нарушение процесса его сборки у крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД).

Таблица 16 – Объёмная плотность (Vv) экспрессируемого коллагена 1 и 3 типа в печени крыс при токсическом гепатозе ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Коллаген 1 типа Vv (%)	30	$9,2 \pm 0,64$	$6,2 \pm 1,27^*$
	60	$19,2 \pm 2,59$	$2,9 \pm 0,68^*$
Коллаген 3 типа Vv (%)	30	$5,4 \pm 1,13$	$6,8 \pm 1,41$
	60	$10,5 \pm 1,02$	$2,5 \pm 0,73^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных ($p < 0,05$).			

Исследовали экспрессию матриксных металлопротеиназ 9 типа (ММР9) и их ингибитора (ТИМР1). Обнаружили, что указанные медиаторы экспрессируют различные типы клеток. Существенных отличий при сравнении между группами, изменений численной плотности (Nai) гепатоцитов и эндотелиоцитов на протяжении эксперимента, экспрессирующих экспрессии ММР9 и ТИМР1 не обнаруживали (Таблица 17).

Таблица 17 – Численные плотности (Nai) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при гепатозе и воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Экспрессия MMP9		Экспрессия TIMP1	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)	1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Nai фибробластов	30	$2,6 \pm 0,45$	$1,2 \pm 0,29^*$	$2,0 \pm 0,19$	$4,1 \pm 0,38^*$
	60	$10,3 \pm 0,82$	$2,9 \pm 0,54^*$	$2,7 \pm 0,35$	$5,3 \pm 0,45^*$
Nai гепатоцитов	30	$0,3 \pm 0,07$	$0,5 \pm 0,09$	$0,2 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,06$
	60	$1,0 \pm 0,17$	$0,5 \pm 0,11$	$0,2 \pm 0,08$	$0,3 \pm 0,07$
Nai клеток Купфера	30	$1,9 \pm 0,18$	$1,2 \pm 0,14$	$0,7 \pm 0,16$	$2,1 \pm 0,18^*$
	60	$3,7 \pm 0,33$	$1,7 \pm 0,12^*$	$1,1 \pm 0,15$	$2,8 \pm 0,15^*$
Nai эндотелиоцитов	30	$0,6 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,11$	$0,2 \pm 0,06$	$0,6 \pm 0,12$
	60	$0,8 \pm 0,11$	$0,5 \pm 0,08$	$0,2 \pm 0,06$	$0,9 \pm 0,10^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных ($p < 0,05$).					

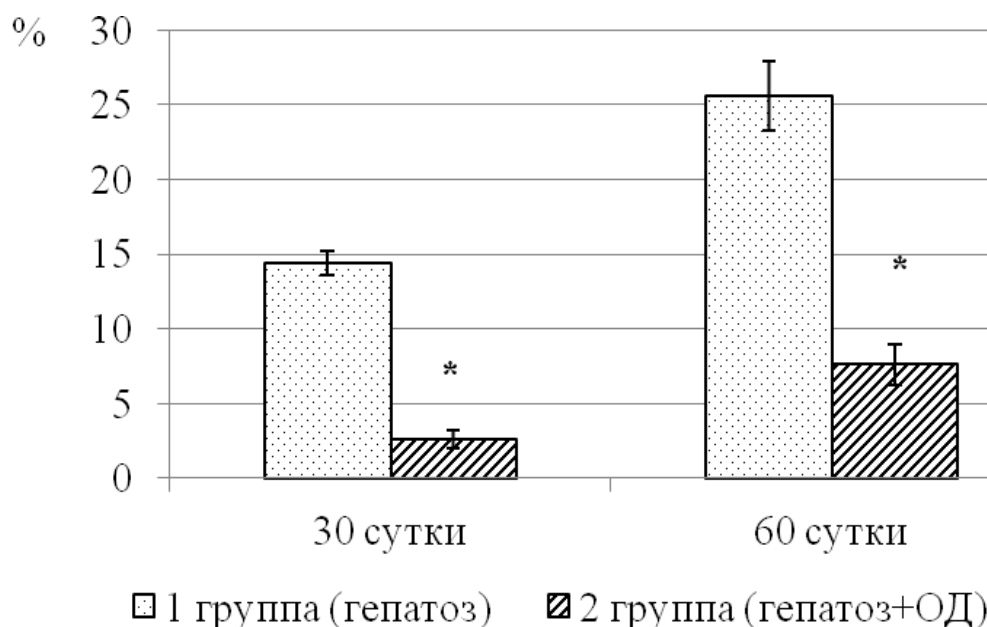
Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих MMP9 была меньшей у крыс, получавших ОД (2-я группа) в 2,1 и 3,5 раз на 30-е и 60-е сутки соответственно в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (острый гепатоз). При этом экспрессия TIMP1 фибробластами была в 2 раза большей у крыс 2-й группы (гепатоз + ОД) в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (острый гепатоз) как на 30-е, так и на 60-е сутки эксперимента. При этом численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих TIMP1 на протяжении эксперимента не изменялась, но экспрессирующих MMP9 – возрастала в период с 30-х по 60-е сутки у крыс в обеих группах – в 3,9 раз у крыс 1-й группы (острый гепатоз) и в 2,4 раза у животных 2-й группы (острый гепато + ОД). На 60-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих MMP9

была в 3,5 раза большей у крыс 1-й группы (острый гепатоз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД).

Схожие тенденции экспрессии TIMP1 и MMP9 были обнаружены в клетках Купфера. Численная плотность клеток Купфера, экспрессирующих MMP9 увеличилась в 1,9 раз в период с 30-х до 60-х суток эксперимента в печени у крыс в 1-й группе (острый гепатоз). У животных 2-й группы численная плотность клеток Купфера, экспрессирующих MMP9 не изменялась с 30-х по 60-е сутки. На 60-е сутки эксперимента численная плотность клеток Купфера, экспрессирующих MMP9 у крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД) была в 2,1 раз меньшей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (острый гепатоз).

Экспрессия TIMP1 на 30-е и 60-е сутки клетками Купфера у крыс 2-й группы (острый гепатоз+ОД) была более выражена, поскольку численная плотность (Nai) клеток Купфера экспрессирующих TIMP1 была в 3 раза и 2,5 раза большей на 30-е и 60-е сутки соответственно в сравнении с таковой у животных 1-й группы (острый гепатоз) (см. Таблицу 17).

Во внеклеточном матриксе обнаруживали увеличение объёмной плотности экспрессии MMP9 во внеклеточном матриксе печени на 60-е сутки в 1,7 и 2,9 раза у крыс 1-й (острый гепатоз) и 2-й (острый гепатоз + ОД) группы соответственно (см. Рисунок 49). При этом объёмная плотность (Vv) экспрессирующего MMP9 внеклеточного матрикса была большей у крыс 1-й группы (острый гепатоз) была в 5,5 и 3,3 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (острый гепатоз + ОД) (Рисунок 50).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных ($p < 0,05$).

Рисунок 50 – Объёмная плотность (Vv) экспрессии MMP9 во внеклеточном матриксе печени при посттоксическом остром гепатозе ($M \pm m$)

При этом объёмная плотность (Vv) внеклеточного матрикса печени, экспрессирующего TIMP1 возрастала более чем в 2,4 раза с 30-х по 60-е сутки у крыс обеих исследуемых групп, но не отличалась при сравнении величин исследуемого показателя между группами (Рисунок 51).

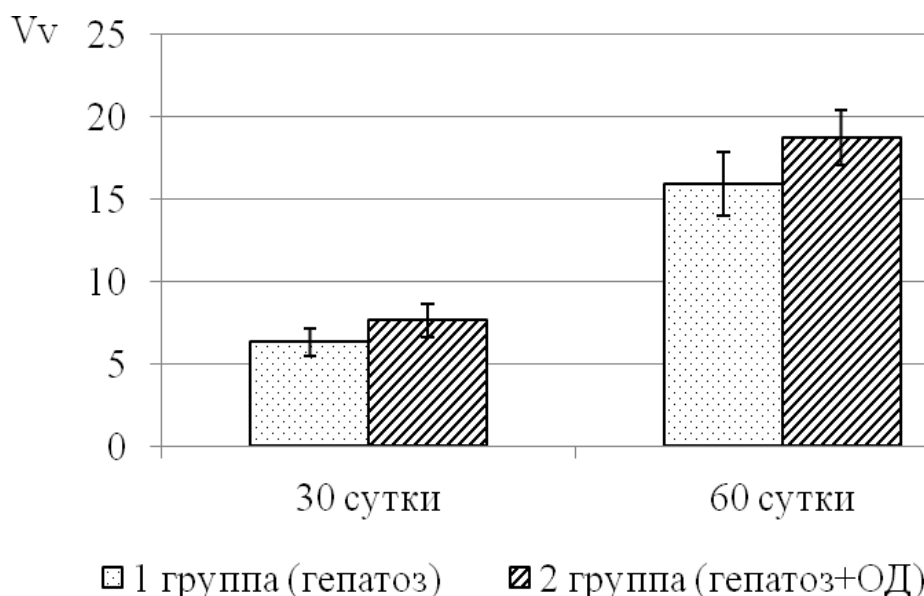


Рисунок 51 – Объёмная плотность (Vv) экспрессии TIMP1 во внеклеточном матриксе при посттоксическом остром гепатозе

Учитывая высокую «коллаген-синтетическую активность» фибробластов у крыс в обеих группах, различия продукции коллагенов различных типов и преобладании экспрессии TIMP1, исследовали экспрессию провоспалительных медиаторов, способствующих активации фибробластов. Известно, что функциональное состояние фибробластов способны регулировать не только гепатоциты, но и клетки, расположенные в строме, интерстиции, такие как макрофаги, клетки Ито, эндотелиоциты.

Подсчитав численную плотность клеток стромы (Nai), экспрессировавших провоспалительные медиаторы, обнаружили, что экспрессия TNF α клетками стромы у крыс 1-й группы (острый гепатоз) была в 2 раза большей и в 6,7 раз большей на 30-е и 60-е сутки соответственно в сравнении с таковой у животных, получавших ОД (2-я группа). В период с 30-х по 60-е сутки величина исследуемого показателя у крыс 1-й группы (острый гепатоз) не изменялась. У животных во 2-й группе (острый гепатоз + ОД) обнаруживали уменьшение численной плотности (Nai) клеток экспрессировавших TNF α в 2,1 раз

на 60-е сутки в сравнении с величиной аналогичного показателя на 30-е сутки эксперимента в этой же группе (Таблица 18).

Таблица 18 – Численные плотности (Nai) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих TNF α и IL-1 в процессе фиброзирования печени крыс с острым гепатозом ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Экспрессия TNF α	30	$2,6 \pm 0,29$	$1,1 \pm 0,24^*$
	60	$2,7 \pm 0,29$	$0,4 \pm 0,13^*$
Экспрессия IL-1	30	$1,0 \pm 0,22$	$1,5 \pm 0,29$
	60	$5,0 \pm 0,41$	$1,5 \pm 0,16^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).			

Экспрессия ИЛ-1 не отличалась у крыс 1-й (острый гепатоз) и 2-й группы (острый гепатоз + ОД) на 30-е сутки эксперимента. При этом, в печени крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД) численная плотность клеток стромы (Nai), экспрессировавших ИЛ-1 не изменилась на 60-е сутки в сравнении с предыдущим периодом исследования, тогда как у животных в 1-й группе (острый гепатоз) величина исследуемого показателя увеличилась на 60-е сутки в 5 раз в сравнении с величиной аналогичного показателя на 30-е сутки эксперимента и была в 3,3 раза большей в сравнении с таковой у крыс 2-й группы с острым гепатозом, получавших ОД.

Таким образом, клетки стромы у крыс 1-й группы (острый гепатоз) на 30-е и 60-е сутки проявляют большую провоспалительную, а, следовательно, и профибротическую активность в сравнении с таковыми у животных 2-й группы (острый гепатоз + ОД).

3.2.1.2 Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода в процессе фиброзирования печени при остром токсическом гепатозе и воздействии окисленным декстраном

Явление ЭМП сопровождается изменением фенотипа клеток эпителиального происхождения на мезенхимальный, клетки трансформируются в миофибробласты и фибробласты, способные к синтезу коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса.

Исследовали экспрессию гепатоцитами E-cadherin, обнаружили, что у крыс в обеих группах в период с 30-х по 60-е сутки не изменялась численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих исследуемый антиген, однако величина исследуемого показателя была большей в 6 и 2,1 раз соответственно у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (гепатоз) (Таблица 19).

Экспрессия гепатоцитами Vimentin, SNAIL+SLUG гепатоцитами преобладала у крыс 1-й группы. Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих Vimentin была в 3 раза большей у животных 1-й группы (гепатоз) на 30-е и 60-е сутки в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 2-й группы (гепатоз+ОД).

Таблица 19 – Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Экспрессия E-cadherin	30	$0,3 \pm 0,09$	$1,8 \pm 0,28^*$
	60	$0,7 \pm 0,13$	$1,5 \pm 0,22^*$

Продолжение Таблицы 19

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Экспрессия Vimentin	30	$0,9 \pm 0,19$	$0,3 \pm 0,11^*$
	60	$1,5 \pm 0,26$	$0,5 \pm 0,11^*$
Экспрессия SNAIL+SLUG	30	$3,7 \pm 0,26$	$1,9 \pm 0,28^*$
	60	$5,9 \pm 0,45$	$0,1 \pm 0,05^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).			

При иммуногистохимическом исследовании печени крыс с токсическим гепатозом смешанной этиологии, обнаруживали экспрессию E-cadherin фибробластами, при этом численная плотность (Nai) таких фибробластов не отличалась у крыс 1-й (гепатоз) и 2-й группы (гепатоз+ОД) на 30-е сутки, но на 60-е сутки численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессировавших E-cadherin была в 2,7 раз большей у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) в сравнении с таковой у животных 1-й группы (гепатоз) (Таблица 20).

Таблица 20 – Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Экспрессия E-cadherin	30	$0,1 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,09$
	60	$0,3 \pm 0,11$	$0,8 \pm 0,13^*$
Экспрессия Vimentin	30	$1,2 \pm 0,16$	$0,4 \pm 0,08^*$
	60	$1,6 \pm 0,19$	$0,2 \pm 0,07^*$

Продолжение Таблицы 20

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (острый гепатоз)	2-я группа (острый гепатоз + ОД)
Экспрессия SNAIL+SLUG	30	$0,6 \pm 0,16$	$0,1 \pm 0,08^*$
	60	$0,7 \pm 0,19$	$0,1 \pm 0,07^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, $p < 0,05$.			

Экспрессия Vimentin фибробластами была более выражена в печени животных 1-й группы (острый гепатоз), поскольку численная плотность (Nai) этих клеток на 30-е сутки была в 3 раза, а на 60-е сутки в 8 раз большей в сравнении с таковой у крыс 2-й группы (острый гепатоз + ОД). Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих SNAIL+SLUG была в 6 и 7 раз большей у крыс 1-й группы (острый гепатоз) в сравнении с таковой у животных 2-й группы (острый гепатоз+ОД) на 30-е и 60-е сутки соответственно (см. Таблицу 20, Рисунок 52).

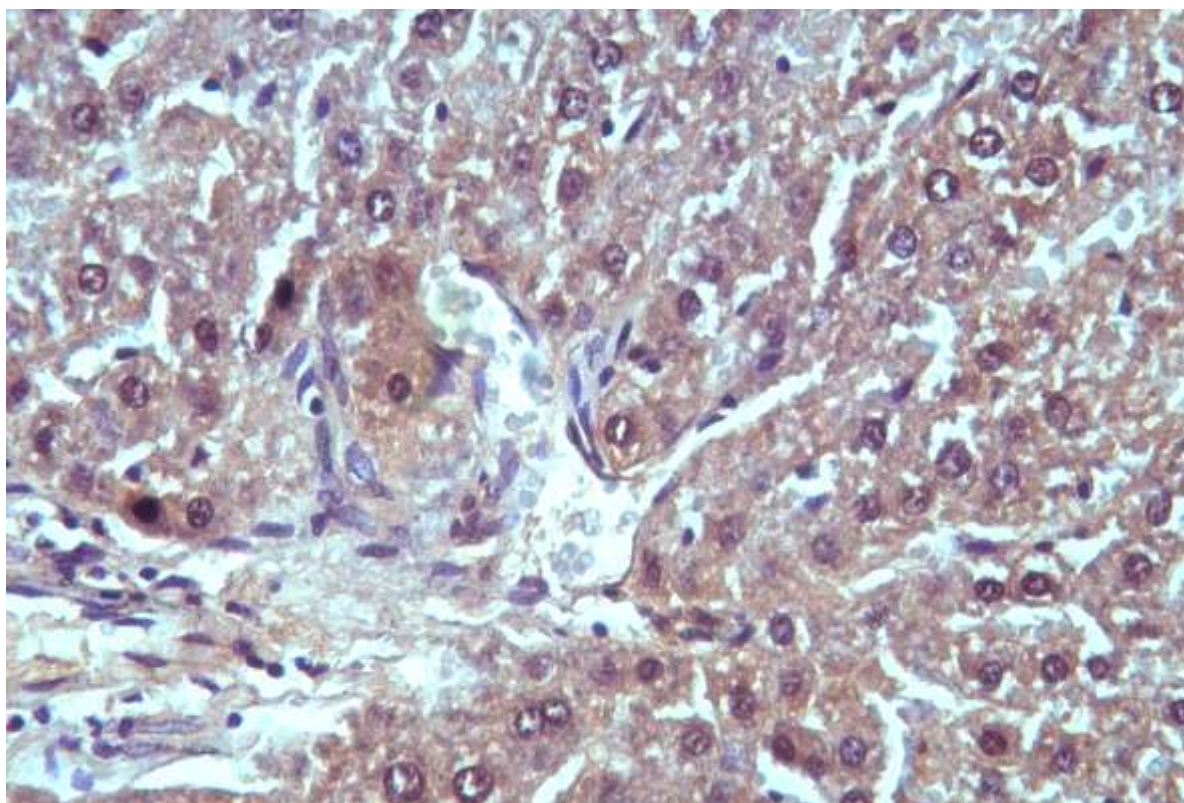


Рисунок 52 – Экспрессия SNAIL+SLUG ядер и цитоплазмы гепатоцитов, фибробластов фиброзированных портальных трактов печени крысы при остром гепатозе после повторных введений ОД (2-я группа) на 30-е сутки эксперимента.

Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Исследовали экспрессию медиаторов, регулирующих процесс ЭМП и фиброза. Экспрессия FGF и TGF β клетками стромы (фибробластами и макрофагами) печени была более выражена у животных 1-й группы (гепатоз). На 30-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) клеток, экспрессировавших FGF была в 1,9 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (гепатоз + ОД). К 90-м суткам численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих FGF у крыс в 1-й группе (гепатоз) возросла на 17 % и была в 11 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (гепатоз + ОД). У животных 2-й группы с острым гепатозом, получавших ОД, численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих FGF в период с 30-х по 90-е сутки уменьшилась в 5 раз (Таблица 21).

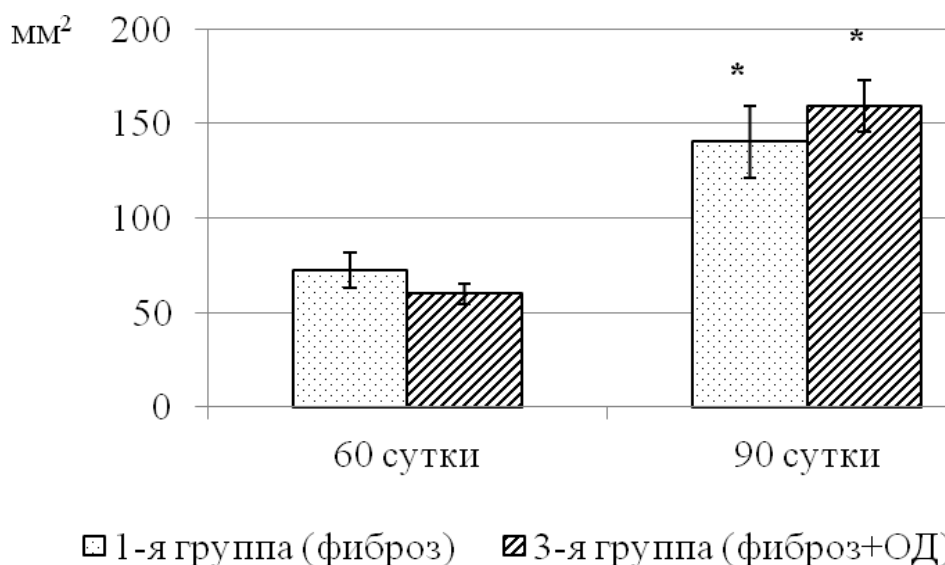
Таблица 21 – Численная плотность (N_{ai}) клеток стромы (фибробластов и макрофагов), экспрессирующих TGF β и FGF в процессе фиброзирования печени при остром токсическом гепатозе, ($M \pm m$)

Экспрессируемый медиатор	Период эксперимента (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (гепатоз)	2-я группа (гепатоз+ОД)
FGF	30	$3,8 \pm 0,29$	$2,0 \pm 0,18^*$
	60	$4,6 \pm 0,43$	$0,4 \pm 0,11^*$
TGF β	30	$2,3 \pm 0,22$	$1,4 \pm 0,14^*$
	60	$6,0 \pm 0,45$	$0,3 \pm 0,11^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).			

3.2.2 Посттоксический фиброз печени при воздействия окисленным декстраном в условиях хронического гепатоза смешанной этиологии

Исследовали фиброз печени в период формирования цирроза и при воздействии ОД с 30-х суток эксперимента на процесс фиброзирования печени. У крыс в обеих группах на 60-е сутки эксперимента обнаруживали ложные дольки. Однако у животных 3-й группы (фиброз + ОД) печень была менее бугристой, более эластичной по сравнению с печенью крыс 1-й группы (фиброз).

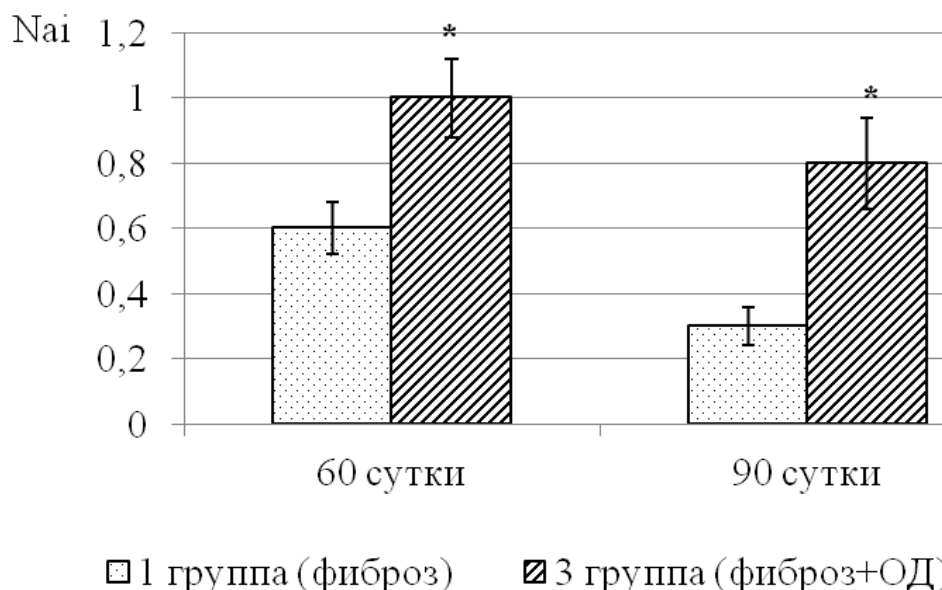
Площадь ложных долек возрастала в период с 60-х по 90-е сутки у животных обеих исследуемых групп – в 1,9 раз у крыс 1-й группы (фиброз), и 2,7 раз у животных 3-й группы (фиброз + ОД), однако отличий величины исследуемого показателя при сравнении между группами не обнаруживали в эти же периоды наблюдения (Рисунок 53).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей 1-й и 3-й группы на 60-е и 90-е сутки соответственно, ($p < 0,005$).

Рисунок 53 – Площадь ложных долек (мм²) в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Увеличение размеров ложных долек в группах связывали с регенераторным процессом. Исследовали численную плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов. На 60-е сутки эксперимента величина исследуемого показателя у крыс 1-й группы (фиброз) была на 40 %, а на 90-е сутки на 62,5 % меньшей, в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В период с 60-х по 90-е сутки численная плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов уменьшилась в 2 раза у крыс 1-й группы, а у животных 3-й группы (фиброз + ОД) величина исследуемого показателя не изменялась в аналогичный период исследования (Рисунок 54).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей 1-й и 3-й группы на 60-е и 90-е сутки соответственно, ($p < 0,005$).

Рисунок 54 – Численная плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Объёмная плотность (V_v) коллагена у крыс 1-й группы (фиброз) в различных топографических участках печеночных долек и формирующихся ложных долек отличалась, в соединительной ткани окружающей портальные триады (V_v) коллагена была в 2 раза большей в сравнении с таковой между дольками. При этом, величина указанного показателя не изменялась с 60-х по 90-е сутки в печени у животных 1-й группы (фиброз) (Таблица 22). В печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) объёмная плотность (V_v) коллагена была в 1,8 раз меньшей в перипортальной и междольковой области в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (фиброз) на 60-е сутки эксперимента. При этом, величина исследуемого показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) уменьшилась на 22,5 % в перипортальной области и на 49 % в междольковых пространствах на 90-е сутки эксперимента, в сравнении с величиной аналогичного показателя на 60-е сутки эксперимента. При сравнении объёмной плотности

коллагена между группами на 90-е сутки эксперимента обнаружили, что величина указанного показателя была в перипортальной области в 2,3 раз меньшей в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД), и в 4,1 раз меньшей в междольковых пространствах (Таблица 22).

Таблица 22 – Объёмная плотность коллагена (Vv) и численная плотность (Nai) фибробластов при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$)

Область исследования	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Коллаген (Vv, %)		Фибробласты (Nai)	
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз + ОД)	1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз + ОД)
Перипортальная область	60	56,7 $\pm$ 1,74	30,6 $\pm$ 1,21*	29,7 $\pm$ 0,58	28,8 $\pm$ 0,67
	90	54,4 $\pm$ 1,58	23,7 $\pm$ 0,95*	28,4 $\pm$ 0,77	15,4 $\pm$ 0,49*
Междольковые пространства	60	22,2 $\pm$ 0,76	12,6 $\pm$ 0,69*	23,6 $\pm$ 0,52	12,5 $\pm$ 0,39*
	90	26,5 $\pm$ 0,86	6,4 $\pm$ 0,45*	16,5 $\pm$ 0,51	6,5 $\pm$ 0,24*
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).					

Численная плотность (Nai) фибробластов в перипортальной соединительной ткани на 60-е сутки у животных 1-й группы (фиброз) не отличалась от таковой в печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) в той же топографической области печеночных долек. На 90-е сутки исследования численная плотность (Nai) фибробластов перипортальной области в печени у крыс 1-й группы (фиброз) не изменилась в сравнении с величиной аналогичного показателя на 60-е сутки исследования. В печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) к 90-м суткам эксперимента численная плотность (Nai) фибробластов перипортальных пространств уменьшилась на 46,5 % в сравнении с величиной аналогичного показателя предыдущего периода наблюдения и была на 46 % меньшей в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (фиброз).

На 60-е сутки эксперимента в междольковых пространствах печени крыс 1-й группы численная плотность (Nai) фибробластов была на 47 % большей в сравнении с таковой у животных 3-й группы (фиброз + ОД) (Рисунок 55). К 90-м суткам в печени крыс 1-й группы (фиброз) численная плотность (Nai) фибробластов уменьшилась на 30% в сравнении с предыдущим периодом наблюдения в аналогичной топографической области печени крыс той же группы (см. Таблицу 22).

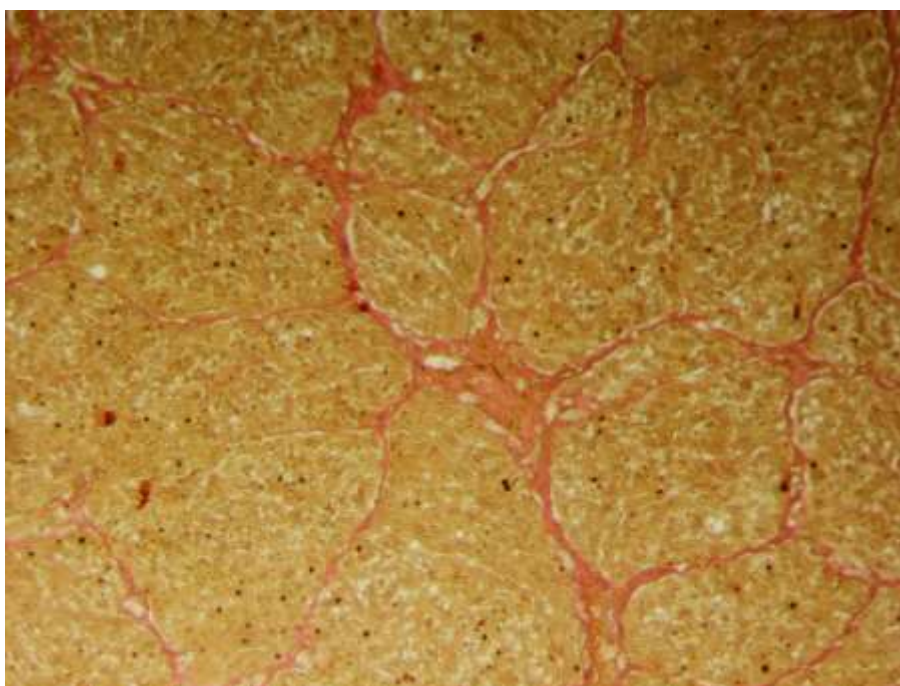


Рисунок 55 – Печень крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Ложные долики разделены тонкими коллагеновыми септами.

Увеличение $\times 100$. Окраска по Ван Гизону

У крыс 3-й группы (фиброз+ОД) на 90-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) фибробластов междольковых пространств печени уменьшилась в 1,9 раза в сравнении с величиной аналогичного показателя в аналогичной топографической области печени животных в этой же (3-й) группе на 60-е сутки (см. Таблицу 22). При этом численная плотность (Nai) фибробластов междольковых пространств печени крыс 3-й группы (фиброз+ОД) на 90-е сутки

эксперимента была в 2,5 раза меньше в сравнении с таковой у животных в 1-й группе (фиброз) (Рисунок 56).

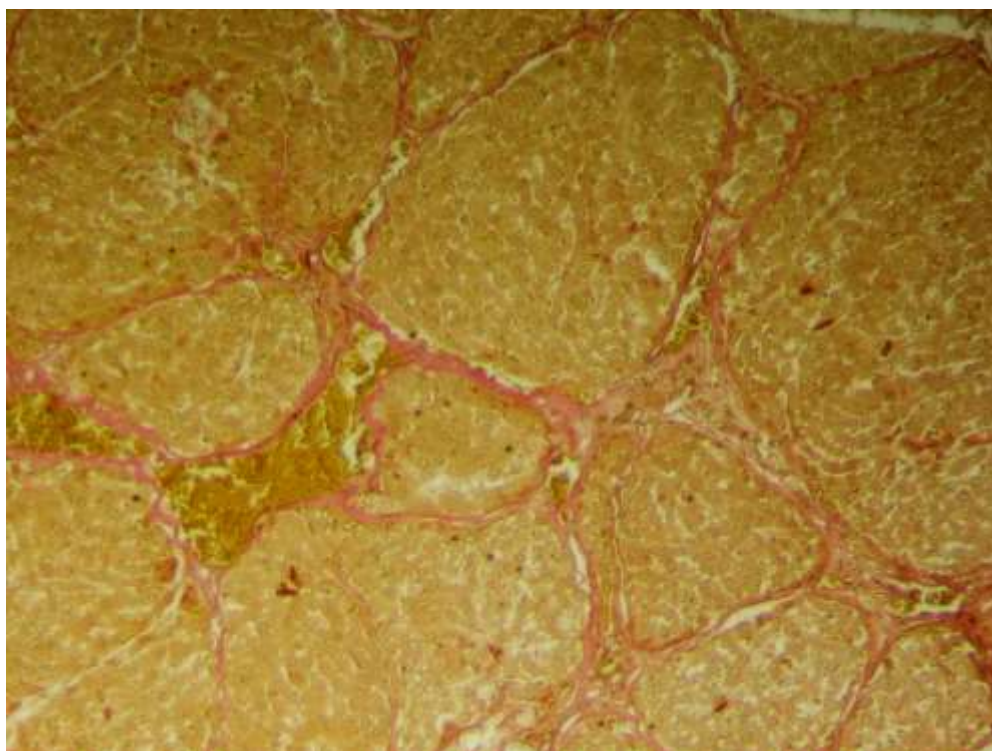


Рисунок 56 – Печень крысы 1-й группы (фиброз) на 90-е сутки эксперимента.

Коллаген откладывается в виде септ, формируя ложные дольки.

Увеличение $\times 100$. Окраска по Ван Гизону

По-видимому, убыль некоторого количества фибробластов была обусловлена процессом апоптоза, поскольку фибробласты экспрессировали p53 (Рисунок 57).

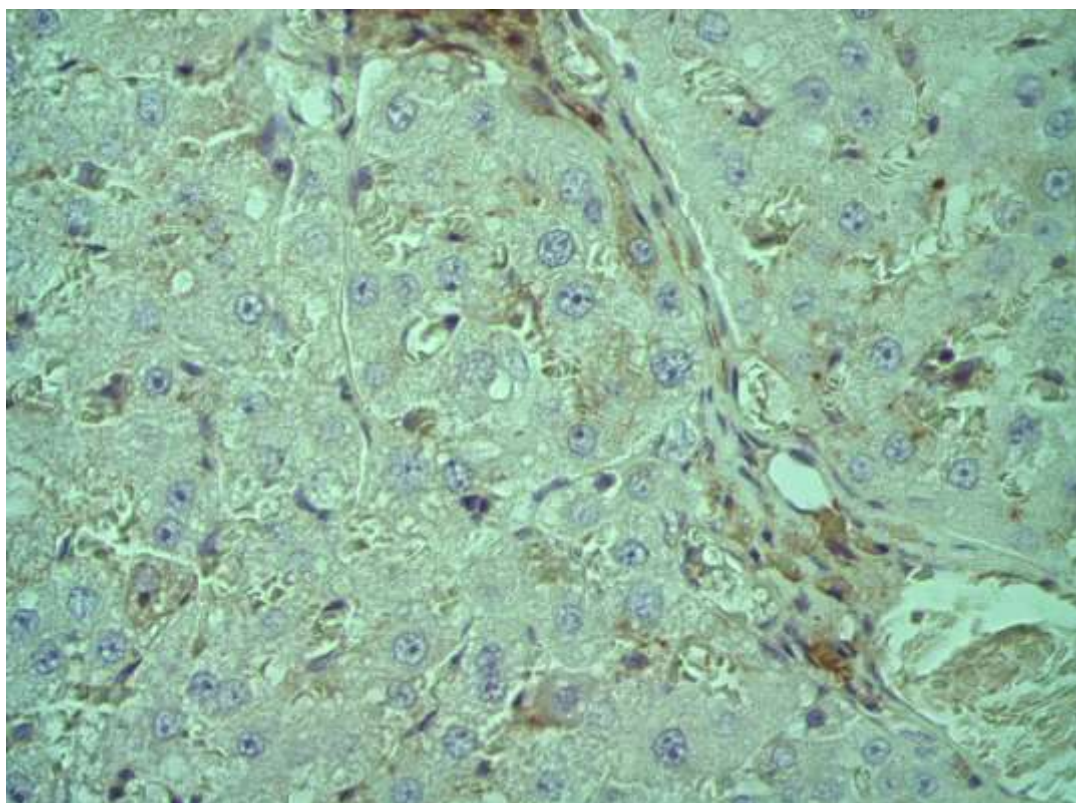
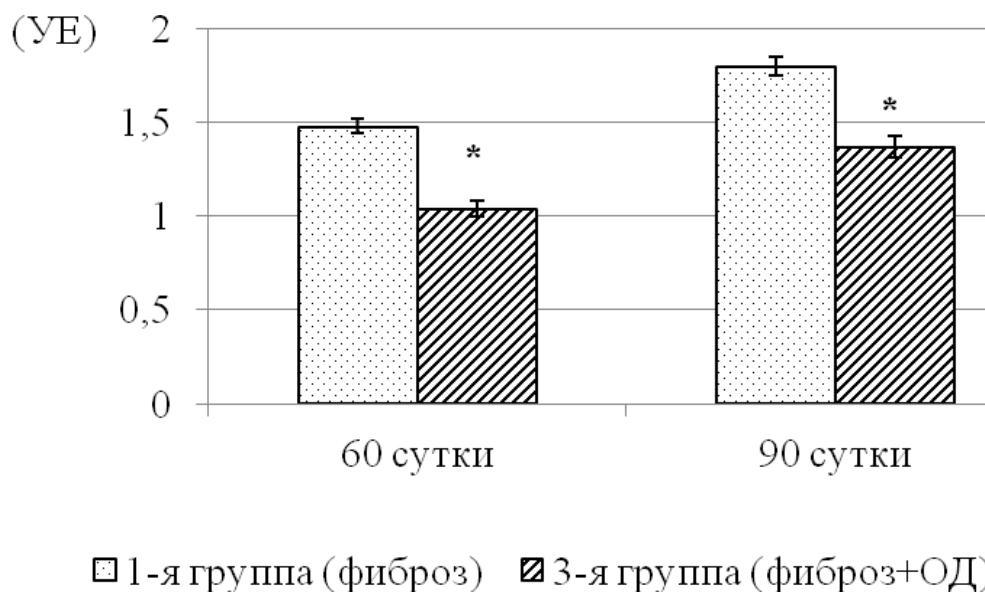


Рисунок 57 – Экспрессия p53 в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Вычислив «коллагенсинтетическую активность» фибробластов обнаружили, что на 60-е сутки величина указанного показателя у животных 1-й группы (фиброз) была на 30 % большей в сравнении с таковой у крыс 3-й группы (фиброз + ОД), а в период с 60-х по 90-е сутки величина исследуемого показателя увеличивалась у животных обеих групп и не имела отличий при сравнении «коллагенсинтетической активности» фибробластов между группами (Рисунок 58).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 58 – «Фибропластическая активность» фибробластов (YE) в печени крыс при фиброзе печени ($M \pm m$)

Подсчитывали численную плотность (N_{ai}) сосудов и их объёмную плотность (V_v). Величины исследуемых показателей в обеих экспериментальных группах были большими, как на 60-е, так и на 90-е сутки эксперимента в сравнении с таковыми у интактных животных (Таблица 23). У крыс 1-й группы (фиброз) в период с 30-х по 90-е сутки эксперимента численная плотность (N_{ai}) и объёмная плотность (V_v) сосудов не изменялась. У животных 3-й группы (фиброз + ОД) численная плотность (N_{ai}) сосудов была на 19,6 % большей на 60-е сутки в сравнении с таковой у животных 1-й группы (фиброз). К 90-м суткам эксперимента численная плотность (N_{ai}) сосудов уменьшилась на 39 % в печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) в сравнении с предыдущим периодом наблюдения и оказалась на 19 % меньшей в сравнении с таковой у животных 1-й группы (фиброз).

Объёмная плотность (V_v) сосудов в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента была на 39 % большей в сравнении с величиной

аналогичного показателя у животных 1-й группы (фиброз). К 90-м суткам эксперимента объёмная плотность (V_v) сосудов в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД) не изменилась в сравнении с предыдущим периодом исследования и была на 38 % большей в сравнении с таковой у животных 1-й группы (фиброз) (Таблица 23).

Таблица 23 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при посттоксическом фиброзе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа		
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз+ОД)	интактные
Nai Сосудов	60	4,5 ± 0,16	5,6 ± 0,22*	1,5 ± 0,09
	90	4,2 ± 0,17	3,4 ± 0,14*	
Vv Сосудов	60	16,0 ± 1,28	26,6 ± 2,08*	10,0 ± 1,0
	90	19,6 ± 1,26	31,8 ± 2,26*	
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, (p < 0,05).				

3.2.2.1 Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и процесса фиброобразования печени при посттоксическом фиброзе печени и воздействии окисленным декстраном

При иммуногистохимическом исследовании печени крыс с формирующимся посттоксическим фиброзом печени обнаружили, что объёмная плотность (V_v) коллагена 1-го типа у крыс 1-й группы (фиброз) на 60-е сутки была в 4,5 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). К 90-м суткам эксперимента величина исследуемого показателя уменьшилась у крыс 1-й группы (фиброз) на 42 % и оказалась в 2,3 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В печени крыс 3й группы (фиброз + ОД)

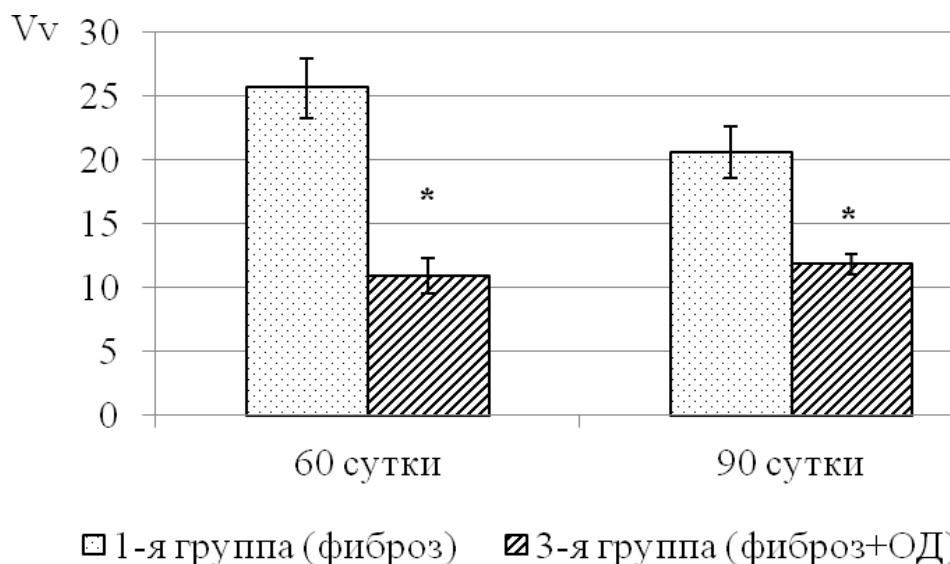
объёмная плотность (Vv) коллагена 1-го типа не изменялась в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента (Таблица 24).

Таблица 24 – Экспрессия коллагена 1-го и 3-го типа в печени крыс с фиброзом печени и при воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз + ОД)
Коллаген 1 типа Vv (%)	60	$19,2 \pm 2,59$	$4,2 \pm 0,85^*$
	90	$11,2 \pm 1,87$	$4,9 \pm 1,16^*$
Коллаген 3 типа Vv (%)	60	$10,5 \pm 1,02$	$1,6 \pm 0,62^*$
	90	$10,1 \pm 1,88$	$2,8 \pm 0,67^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).			

Объёмная плотность коллагена (Vv) 3-го типа у крыс 1-й группы (фиброз) не изменялась с 60-х по 90-е сутки и была больше величины аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз+ОД) в 6,5 раз на 60-е сутки и в 3,6 раз на 90-е сутки (Таблица 24). В печени крыс 2-й группы объёмная плотность коллагена (Vv) 3-го типа увеличилась 43% за период от 60-х до 90-х суток эксперимента (Таблица 24).

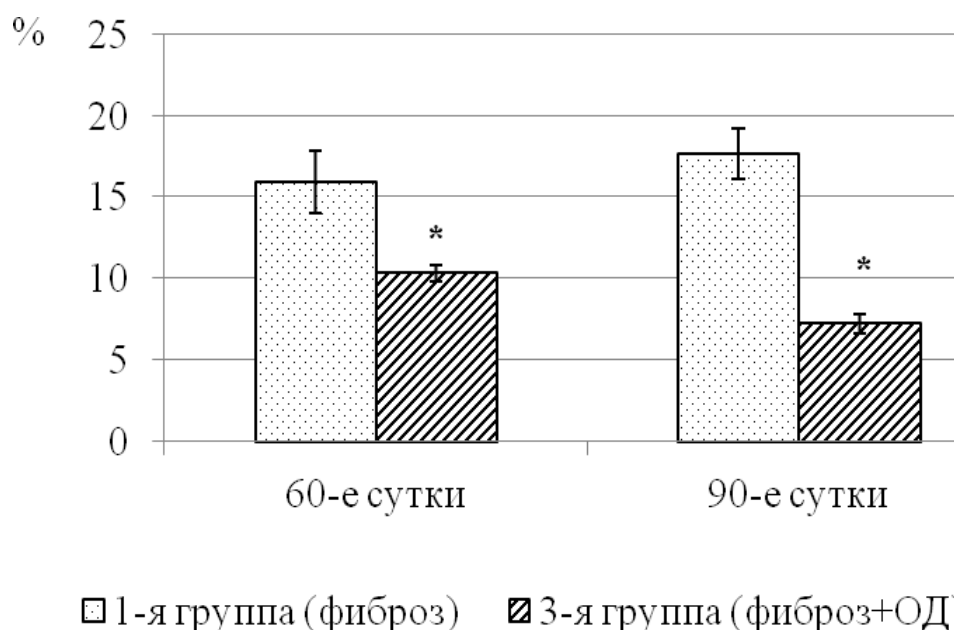
Экспрессия матриксной металлопротеиназы 9 типа (ММР9) во внеклеточном матриксе печени у крыс в обеих группах не изменялась в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента, но у животных 1-й группы (фиброз) была в 2,3 раза большей на 60-е сутки, и в 1,7 раз большей 90-е сутки в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) (Рисунок 59).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 59 – Объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса, экспрессирующего MMP9 при посттоксическом фиброзе печени ($M \pm m$)

Наблюдали экспрессию во внеклеточном матриксе печени ингибитора матриксных металлопротеиназ – TIMP1. У животных 1-й группы (фиброз) объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса печени, экспрессирующего указанный медиатор на 60-е сутки эксперимента была на 35 % большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД), и не изменялась к 90-м суткам эксперимента. Но на 90-е сутки наблюдения объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса, экспрессирующего TIMP1 была в 2,4 раза большей у крыс 1-й группы (фиброз). В сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В период с 60-х по 90-е сутки наблюдения величина исследуемого показателя в печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) уменьшилась на 30 % (Рисунок 60).



Примечание— * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 60 – Объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса, экспрессирующего TIMP1 при посттоксическом фиброзе печени ($M \pm m$)

Исследовали экспрессию MMP9 и TIMP1, регулирующих процессы обмена внеклеточного матрикса, в частности коллагена. Обнаружили, что основными источниками экспрессии указанных медиаторов являются фибробласты и клетки Купфера, поскольку численные плотности (N_{ai}) этих клеток, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 преобладают над численными плотностями (N_{ai}) гепатоцитов и эндотелиоцитов, экспрессирующих указанные медиаторы. Численная плотность (N_{ai}) гепатоцитов, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 в печени крыс 1-й группы (фиброз) не отличалась от таковой у животных в 3-й группе (фиброз + ОД) и не изменялась на протяжении эксперимента в обеих группах.

Численная плотность (N_{ai}) эндотелиоцитов, экспрессирующих MMP9 при сравнении между группами не имела отличий на 60-е сутки и не изменялась на 90-е сутки наблюдения. Однако численная плотность (N_{ai}) эндотелиоцитов, проявлявших экспрессию TIMP1 в печени крыс 1-й группы (фиброз) была меньшей в 5 раз в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных

3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки. На 90-е сутки численная плотность (Nai) эндотелиоцитов, экспрессирующих TIMP1 в печени крыс 1-й группы (фиброз) увеличилась на 77,8 % и не отличалась от таковой у животных 3-й группы (фиброз + ОД), где величина исследуемого показателя уменьшилась к 90-м суткам в 2 раза.

Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих MMP9 в печени крыс 1-й группы (фиброз) была в 2,5 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Численная плотность (Nai) фибробластов, проявлявших экспрессию MMP9 на 90-е сутки уменьшилась на 34 % у крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с величиной аналогичного показателя в печени животных этой же группы в предыдущем периоде наблюдения, и оказалась большей на 45 % в сравнении с таковой у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) численная плотность (Nai) фибробластов, проявлявших экспрессию MMP9 с 60-х по 90-е сутки не изменялась (Таблица 25).

Таблица 25 – Численная плотность (Nai) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Экспрессия MMP9		Экспрессия TIMP1	
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз+ ОД)	1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз+ ОД)
Nai фибробластов	60	10,3 ± 0,82	4,1 ± 0,58*	2,7 ± 0,35	6,8 ± 0,35*
	90	6,8 ± 0,73	3,7 ± 0,26*	7,4 ± 0,65	4,1 ± 0,23*
Nai гепатоцитов	60	1,0 ± 0,17	0,5 ± 0,10	0,2 ± 0,08	0,4 ± 0,05
	90	0,4 ± 0,11	0,4 ± 0,10	0,7 ± 0,12	0,2 ± 0,07*
Nai клеток Купфера	60	3,7 ± 0,33	2,2 ± 0,18*	1,1 ± 0,15	3,4 ± 0,15*
	90	2,2 ± 0,21	1,1 ± 0,14*	3,0 ± 0,11	1,3 ± 0,16*

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Экспрессия MMP9		Экспрессия TIMP1	
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз+ ОД)	1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз+ ОД)
Nai эндотелиоцит ов	60	0,8 ± 0,11	0,7 ± 0,11	0,2 ± 0,06	1,1 ± 0,11*
	90	0,7 ± 0,13	0,4 ± 0,09	0,9 ± 0,12	0,5 ± 0,10
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, (p < 0,05).					

Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессировавших MMP9 в печени крыс 1-й группы (фиброз) была в 2,5 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Численная плотность (Nai) фибробластов, проявлявших экспрессию MMP9 на 90-е сутки уменьшилась на 34 % у крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с величиной аналогичного показателя в печени животных этой же группы в предыдущем периоде наблюдения, и оказалась большей на 45 % в сравнении с таковой у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В печени животных 3-й группы (фиброз + ОД) численная плотность (Nai) фибробластов, проявлявших экспрессию MMP9 с 60-х по 90-е сутки не изменялась.

Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих TIMP1 в печени крыс 1-й группы (фиброз) была в 2,5 раза меньшей в сравнении с таковой у крыс 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. На 90-е сутки исследования численная плотность (Nai) фибробластов, проявлявших экспрессию TIMP1 была большей в печени крыс 1-й группы (фиброз) на 44 % в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В период с 60-х по 90-е сутки численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессировавших TIMP1 в печени крыс 1-й группы (фиброз) возросла в 2,7 раз, а у животных 3-й группы (фиброз + ОД) – уменьшилась на 39,7 %.

Численная плотность (Nai) клеток Купфера, экспрессировавших MMP9 уменьшалась в печени крыс обеих групп в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента, на 40,5 % у крыс 1-й группы (фиброз) и в 2 раза у животных 3-й группы (фиброз + ОД). При этом численная плотность (Nai) клеток Купфера, экспрессировавших MMP9 была на 40 % большей в печени животных 1-й группы (фиброз) на 60-е сутки эксперимента, а на 90-е сутки – в 2 раза превышала величину аналогичного показателя у крыс 3-й группы (фиброз + ОД).

Численная плотность (Nai) клеток Купфера, экспрессировавших TIMP1 с 60-х по 90-е сутки эксперимента увеличивалась в 2,7 раз у крыс 1-й группы (фиброз), а у животных 2-й группы (фиброз + ОД) уменьшалась 2,6 раз. При этом численная плотность (Nai) клеток Купфера, экспрессировавших TIMP1 была в 3,1 раз меньшей в печени крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки. На 90-е сутки численная плотность (Nai) клеток Купфера, экспрессирующих TIMP1 оказалась большей в 2,3 раза в печени животных 1-й группы (фиброз) в сравнении с таковой у крыс 3-й группы (фиброз + ОД) (см. Таблицу 25).

Исследовали экспрессию провоспалительных цитокинов, обладающих профиброгенной активностью. Обнаружили, что экспрессия TNF α и IL-1 была более выражена у крыс 1-й группы (фиброз) как на 60-е, так и на 90-е сутки эксперимента, поскольку численная плотность (Nai) клеток в строме печени, экспрессировавших TNF α в печени была на 33 % большей на 60-е сутки и в 8,2 раз большей на 90-е сутки эксперимента в сравнении с величинами аналогичного показателя у животных, получавших ОД соответственно.

Численная плотность (Nai) клеток в строме печени, экспрессировавших IL-1 у крыс в 1-й группе была на 60-е сутки в 3,5 раза большей, а на 90-е сутки – в 5,6 раза большей в сравнении с величинами аналогичного показателя в печени у крыс 3-й группы (фиброз + ОД), получавших ОД.

При этом в период с 60-х по 90-е сутки численная плотность (Nai) клеток в строме печени у крыс в 1-й группе, экспрессировавших TNF α возрасла на 34 %, а клеток экспрессировавших IL-1 – уменьшилась на 44 %. Тогда как у животных

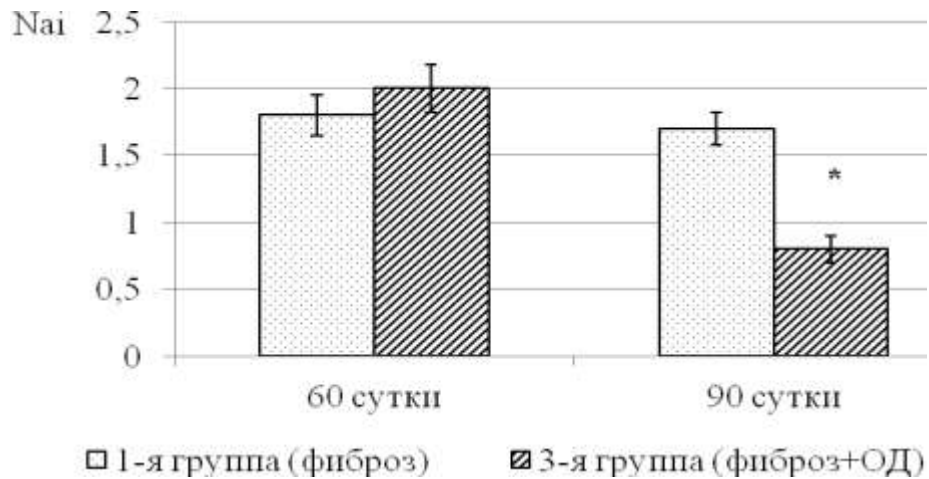
3-й группы (фиброз + ОД), получавших ОД, численная плотность (Nai) клеток в строме печени, экспрессировавших TNF α и IL-1 уменьшалась в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента в 3,6 и 2,8 раз соответственно (Таблица 26).

Таблица 26 – Численные плотности (Nai) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих TNF α и IL-1 в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (гепатоз)	3-я группа (фиброз + ОД)
Экспрессия TNF α	60	$2,7 \pm 0,29$	$1,8 \pm 0,42^*$
	90	$4,1 \pm 0,43$	$0,5 \pm 0,15^*$
Экспрессия ИЛ-1	60	$5,0 \pm 0,41$	$1,4 \pm 0,25^*$
	90	$2,8 \pm 0,22$	$0,5 \pm 0,12^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).			

3.2.2.2 Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода в при посттоксическом фиброзе печени и воздействии окисленным декстраном

Клетки Ито участвуют в развитии фиброза печени, в том числе участвуя в механизмах ЭМП. Исследовали численную плотность (Nai) клеток Ито в печени крыс при посттоксическом фиброзе. Обнаружили, что у животных 1-й группы (фиброз) величина исследуемого показателя на 60-е сутки не отличалась от такового у крыс 3-й группы (фиброз + ОД) и не изменялась на 90-е сутки (Рисунок 61 и 62). Однако у животных 3-й группы численная плотность (Nai) клеток Ито на 90-е сутки уменьшилась в 2,5 раза и была в 2,1 раз меньшей в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 1-й группы в этот же период исследования (Рисунки 61, 62 и 63).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).

Рисунок 61 – Численная плотность (N_{ai}) клеток Ито в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени (1-я группа) ($M \pm m$)

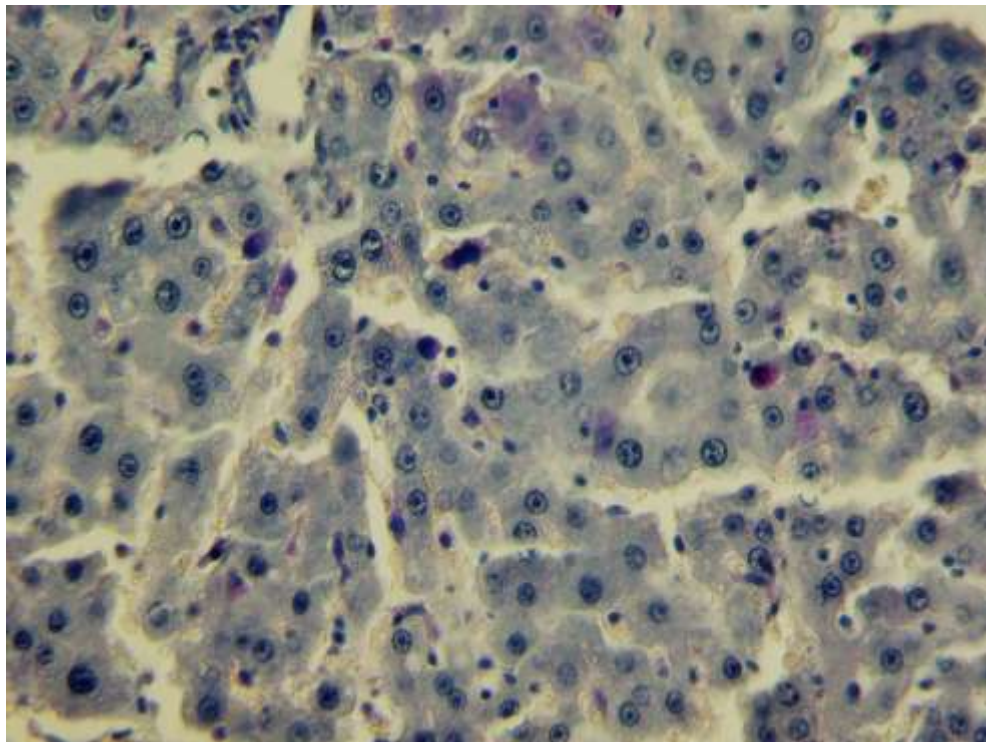


Рисунок 62 – Клетки Ито окрашенные в розово-фиолетовый цвет в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$.

Окрашивание реактивом Шиффа с докрасшиванием Азуром 2

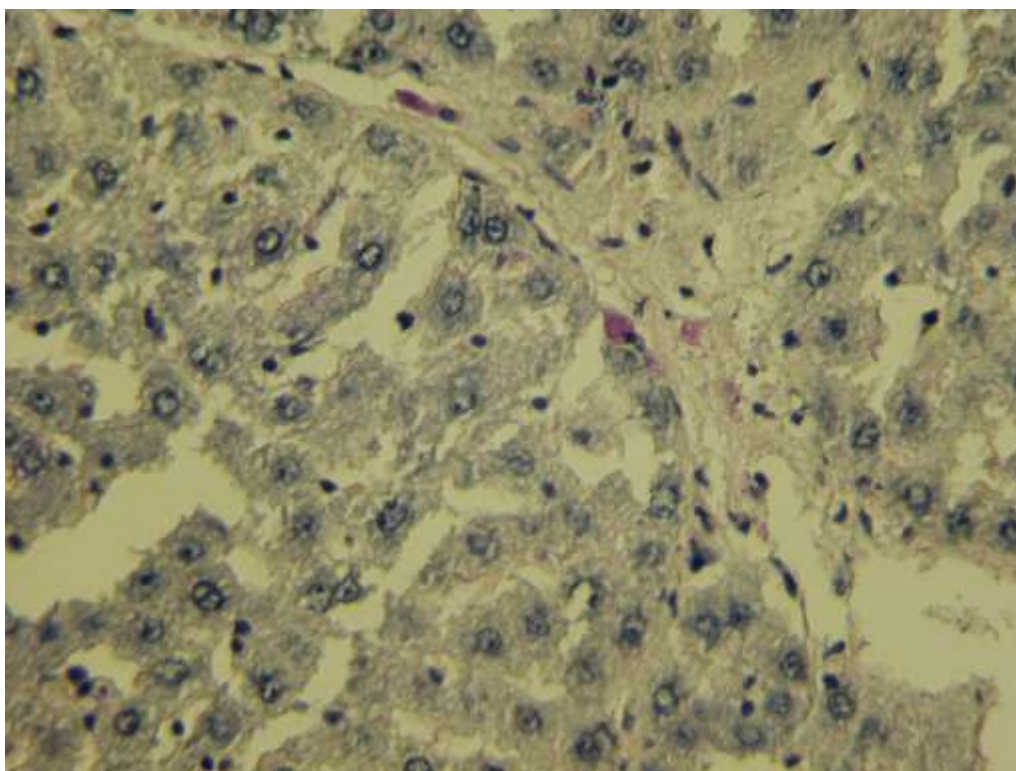


Рисунок 63 – Клетки Ито окрашенные в розово-фиолетовый цвет в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$.
Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2

Исследовали экспрессию маркеров ЭМП в печени крыс при посттоксическом фиброзе гепатоцитами и фибробластами. Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессировавших E-cadherin была в 2,3 раза меньше у крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с таковой у животных, получавших ОД (3-я группа) на 60-е сутки эксперимента. Однако, на 90-е сутки исследования численная плотность (Nai) гепатоцитов, уменьшилась у животных 3-й группы (фиброз + ОД) в 4 раза в сравнении с величиной аналогичного показателя в предыдущий период наблюдения. При этом численные плотности (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих E-cadherin не отличались при сравнении между группами на 90-е сутки эксперимента (Таблица 27).

Таблица 27 – Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом фиброзе смешанной этиологии и воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (фиброз)	3-я группа (фиброз + ОД)
Экспрессия E-cadherin	60	$0,7 \pm 0,13$	$1,6 \pm 0,26^*$
	90	$0,3 \pm 0,09$	$0,4 \pm 0,13$
Экспрессия Vimentin	60	$1,5 \pm 0,26$	$1,6 \pm 0,26$
	90	$0,7 \pm 0,17$	$0,4 \pm 0,13$
Экспрессия SNAIL+SLUG	60	$5,9 \pm 0,45$	$3,3 \pm 0,59^*$
	90	$7,4 \pm 0,57$	$1,3 \pm 0,25^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).			

Экспрессия Vimentin гепатоцитами на 60-е и 90-е сутки не имела отличий при сравнении численных плотностей (Nai) таких гепатоцитов между группами. Однако, численные плотности (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих Vimentin уменьшались в обеих группах к 90-ым суткам исследования в 2,1 и в 4 раза у крыс 1-й (фиброз) и 3-й группы (фиброз + ОД) соответственно (Рисунок 64).

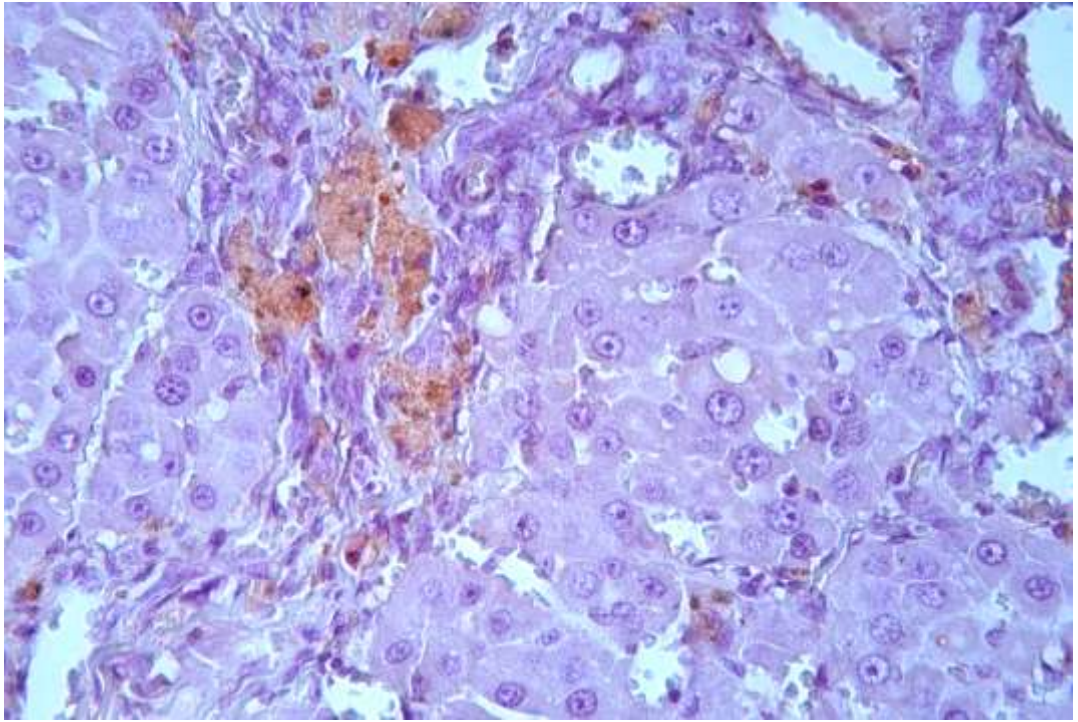


Рисунок 64 – Экспрессия Vimentin гепатоцитами и фибробластами в печени крыс 3-й группы (фиброз+ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих SNAIL+SLUG была большей у крыс 1-й группы (фиброз) на 60-е сутки эксперимента в 1,8 раз, на 90-е сутки – в 5,7 раз, при сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД) (см. Таблицу 27, Рисунок 65).

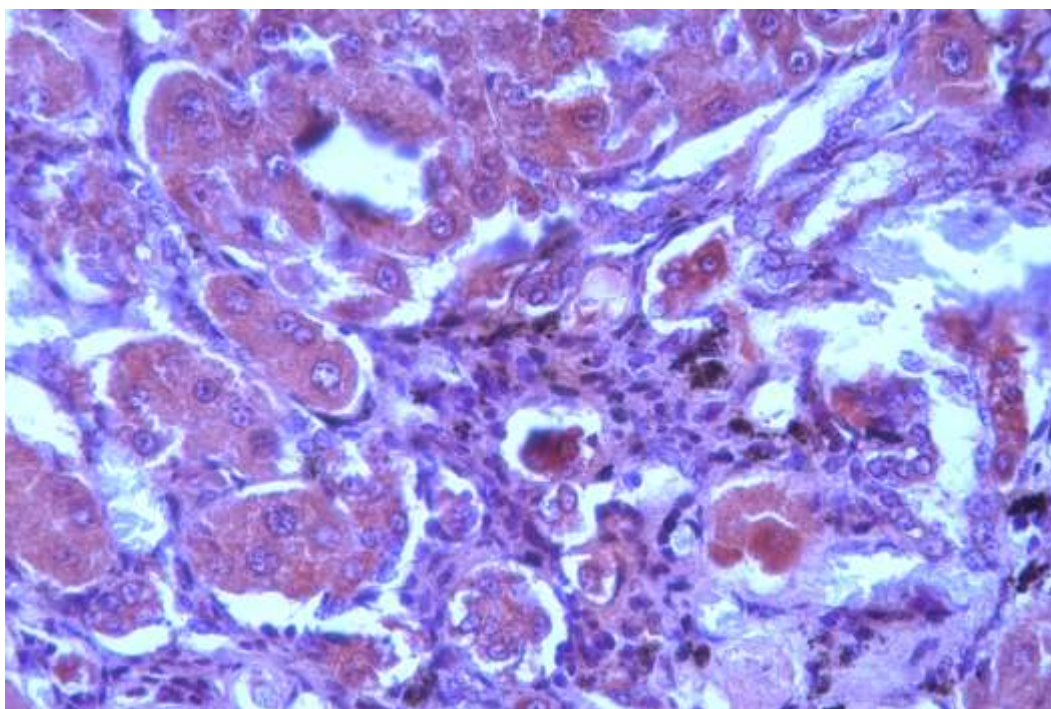


Рисунок 65 – Экспрессия SNAIL+SLUG в цитоплазме гепатоцитов, эпителием желчных протоков, ядерное и цитоплазматическое окрашивание фибробластов в печени крыс 3-й группы (фиброз+ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Обнаруживали экспрессию E-cadherin фибробластами печени крыс 1-й (фиброз) и 3-й группы (фиброз + ОД), но численные плотности (N_{ai}) таких фибробластов не отличались при сравнении между группами и не изменялись с 60-х по 90-е сутки эксперимента (Таблица 28, Рисунок 66).

Таблица 28 – Численная плотность фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом фиброзе смешанной этиологии и воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (гепатоз)	3-я группа (гепатоз+ОД)
Экспрессия E-cadherin	60	$0,3 \pm 0,11$	$0,5 \pm 0,13$
	90	$0,7 \pm 0,17$	$0,3 \pm 0,09$

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (гепатоз)	3-я группа (гепатоз+ОД)
Экспрессия Vimentin	60	$1,6 \pm 0,19$	$0,5 \pm 0,13^*$
	90	$1,2 \pm 0,18$	$0,3 \pm 0,09^*$
Экспрессия SNAIL+SLUG	60	$0,7 \pm 0,19$	$0,2 \pm 0,09$
	90	$1,0 \pm 0,18$	$0,1 \pm 0,06^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).			

Экспрессия Vimentin фибробластами печени была более выражена у крыс 1-й группы (фиброз), поскольку численная плотность (Nai) таких клеток была в 3,2 и 4 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). При этом, численные плотности (Nai) фибробластов, экспрессирующих Vimentin не изменялись с 60-х по 90-е сутки эксперимента в обеих исследуемых группах животных.

Экспрессия SNAIL+SLUG фибробластами печени у животных 1-й (фиброз) и 3-й (фиброз+ОД) группы не отличалась на 60-е сутки эксперимента. На 90-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) фибробластов печени, экспрессировавших SNAIL+SLUG оказалась в 10 раз большей у крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с таковой у животных, получавших ОД (3-я группа, фиброз + ОД).

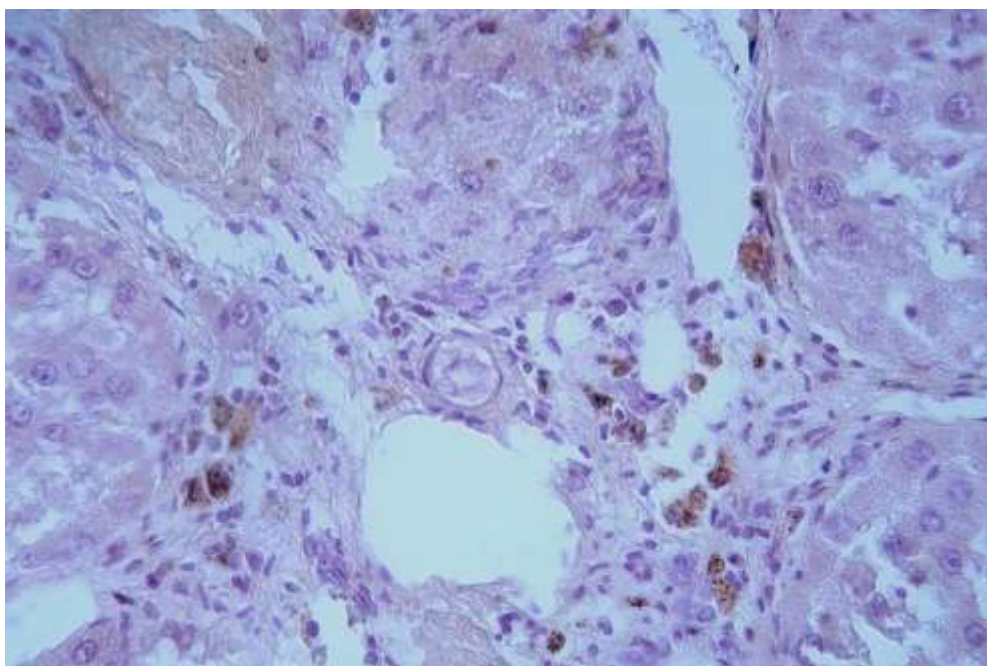


Рисунок 66 – Экспрессия E-cadherin фибробластами, слабая экспрессия в гепатоцитах, отсутствует экспрессия в эпителии желчных протоков в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Экспрессия медиаторов клетками стромы печени (фибробласты и макрофаги), регулирующих ЭМП и процесс фиброза ($TGF\beta$ и FGF) была большей во все периоды исследования у крыс в 1-й группе (фиброз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 3-й группы (фиброз + ОД).

На 60-е сутки эксперимента экспрессия FGF в клетках стромы печени крыс 1-й группы (фиброз) была в 6,6 раз, а на 90-е сутки в 5,3 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз + ОД). В период с 60-х по 90-е сутки численная плотность клеток, экспрессировавших FGF уменьшилась в 2,9 раз в печени крыс 1-й группы (фиброз) в сравнении с предыдущим периодом исследования. У крыс 3-й группы (фиброз + ОД) на протяжении эксперимента численная плотность (N_{ai}) клеток, экспрессировавших FGF не изменялась (Таблица 29).

Таблица 29 – Результаты исследования численной плотности (Nai) клеток, экспрессирующих FGF и TGFβ в строме печени (фибробласты и макрофаги) у крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД ($M \pm m$)

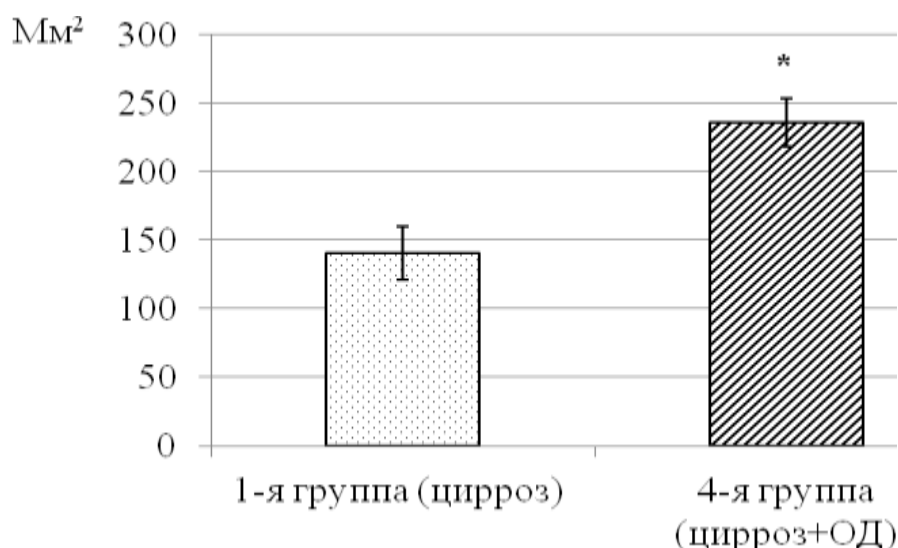
Экспрессируемый медиатор	Период эксперимента (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (гепатоз)	3-я группа (гепатоз + ОД)
FGF	60	$4,6 \pm 0,43$	$0,7 \pm 0,19^*$
	90	$1,6 \pm 0,22$	$0,3 \pm 0,21^*$
TGFβ	60	$6,0 \pm 0,45$	$1,4 \pm 0,32^*$
	90	$3,7 \pm 0,34$	$0,5 \pm 0,15^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных, ($p < 0,05$).			

Численная плотность (Nai) клеток стромы, экспрессирующих TGFβ у крыс 1-й группы (фиброз) уменьшилась на 38 % в период с 30-х по 90-е сутки эксперимента, а у животных 3-й группы (фиброз + ОД) – в 2,8 раз. При этом, величина исследуемого показателя на 60-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (фиброз) была на 39 % большей в сравнении с таковой у крыс 3-й группы (фиброз + ОД) в аналогичный период исследования. На 90-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) клеток стромы, экспрессирующих TGFβ у крыс 1-й группы (фиброз) была на 95 % большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 3-й группы (фиброз+ОД) в аналогичный период наблюдения.

Однако учитывая увеличение площади ложных долек и численной плотности двуядерных гепатоцитов, выявили отсутствие корреляционной связи между площадью ложных долек и численной плотностью двуядерных гепатоцитов (коэффициент корреляции составил $-0,121553293$), между численной плотностью фибробластов и площадью ложных долек (коэффициент корреляции составил $0,063696762$), между площадью ложных долек и численной плотностью клеток Ито (коэффициент корреляции составил $0,045341595$).

3.2.3 Воздействие окисленным декстраном при формировании цирроза печени

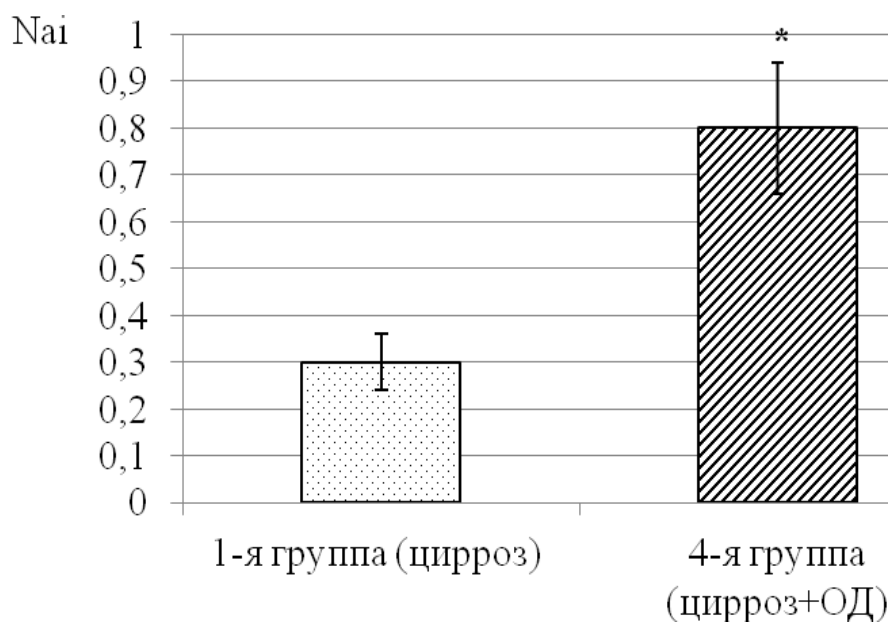
Согласно условиям эксперимента цирроз печени формировался у крыс до 60-х суток, далее, после прекращения воздействия токсическими факторами в течение 30 суток воздействовали ОД во 4-й группе крыс (цирроз + ОД), в печени 1-й группы крыс (цирроз) наблюдали за формированием цирроза печени. Обнаружили, что площадь ложных долек была на 40 % большей у животных 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунок 67).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 67 – Площадь ложных долек (мм²) при посттоксическом циррозе печени у крыс и воздействии ОД ($M \pm m$)

В паренхиме печени крыс 4-й группы при воздействии окисленным декстраном на процесс формирования посттоксического циррозе численная плотность (N_{ai}) двуйдерных гепатоцитов была в 2,6 раз большая в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (Рисунок 68).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 68 – Численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов при посттоксическом циррозе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$)

При посттоксическом циррозе печени у крыс 1-й группы объёмная плотность коллагена (Vv) в перипортальной области была в 2,1 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 4-й группы после воздействия ОД. При этом в междольковых пространствах объёмная плотность коллагена была в 5 раз меньшей у крыс 4-й группы (цирроз + ОД) в сравнении с таковой у животных 1-й группы (цирроз) (Рисунок 69).

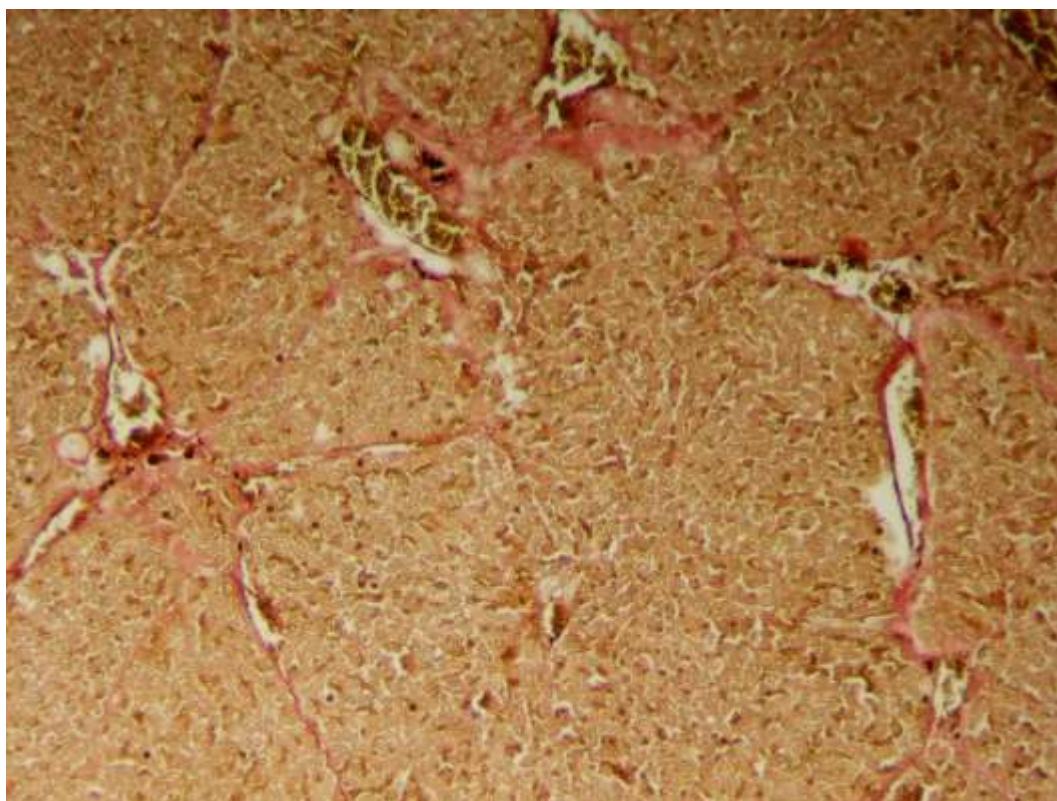


Рисунок 69 – Коллаген в виде тонких септ вокруг портальных трактов между дольками после применения ОД у крыс 2-й группы (цирроз + ОД).

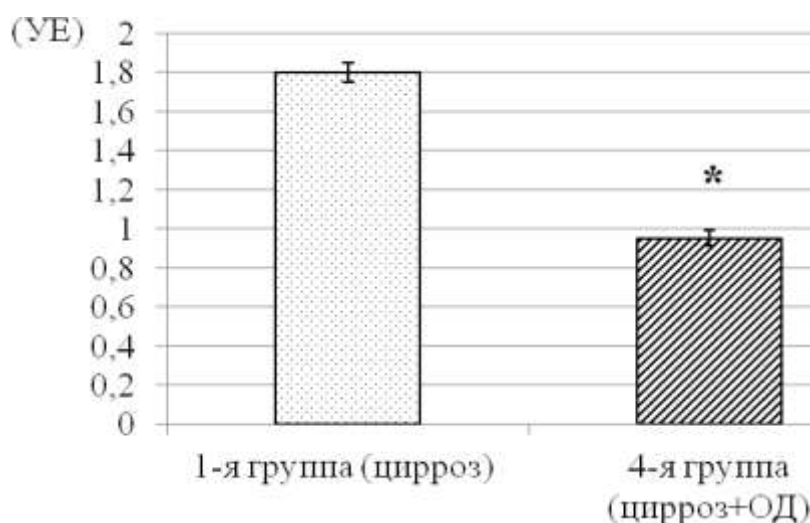
Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону

Таким образом, увеличение площади ложных долек сопровождается накоплением меньшего объёма коллагена и увеличением количества двуядерных гепатоцитов. При этом численная плотность фибробластов (Nai) была меньшей на 32 % в перипортальной области и в 2 раза – в междольковых пространствах у животных во 4-й группе (цирроз + ОД) в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 1-й группы (цирроз) (Таблица 30).

Таблица 30 – Объемная плотность (V_v) коллагена и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при посттоксическом циррозе печени у крыс и воздействии ОД на 90-е сутки эксперимента

Область исследования	Коллаген (V_v)		Фибробласты (N_{ai})	
	1-я группа (цирроз)	4-я группа (цирроз+ОД)	1-я группа (цирроз)	4-я группа (цирроз+ОД)
Перипортальная область	$54,4 \pm 1,58$	$21,0 \pm 0,80^*$	$28,4 \pm 0,77$	$19,3 \pm 0,45^*$
Междольковые пространства	$26,5 \pm 0,86$	$5,0 \pm 0,50^*$	$16,5 \pm 0,51$	$8,1 \pm 0,32^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).				

Вычислив «фибропластическую активность» фибробластов, обнаружили, что величина этого показателя была большей у животных 1-й группы (цирроз) на 47 % в сравнении с таковой у крыс 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунок 70).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 70 – «Фибропластическая активность» фибробластов в печени крыс при экспериментальном посттоксическом циррозе и воздействии ОД ($M \pm m$)

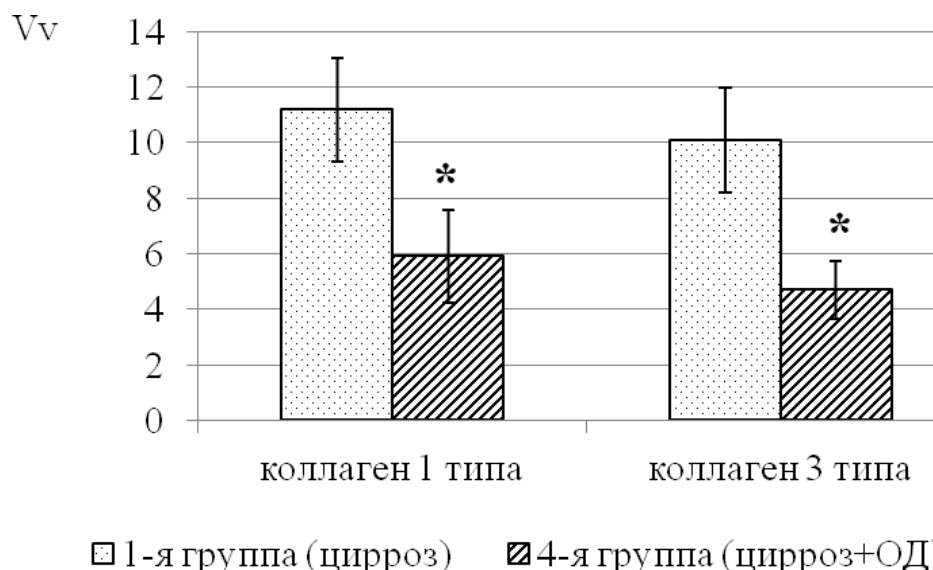
Численная плотность (N_{ai}) сосудов в печени у животных в обеих группах была больше величины аналогичного показателя у интактных животных. При этом величина исследуемого показателя у крыс 1-й группы (цирроз) на 90-е сутки эксперимента была на 23,8 % большей в сравнении с таковой у животных 2-й группы, получавших ОД. Однако, объёмная плотность (V_v) сосудов в печени была большей у крыс 4-й группы (цирроз + ОД) на 34,2 % в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 1-й группы (цирроз) (Таблица 31).

Таблица 31 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при посттоксическом циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Исследуемая группа		
	1-я группа (цирроз)	4-я группа (цирроз+ОД)	интактные
N_{ai} Сосудов	$4,2 \pm 0,17$	$3,2 \pm 0,17^*$	$1,5 \pm 0,09$
V_v Сосудов (%)	$19,6 \pm 1,26$	$29,8 \pm 1,69^*$	$10,0 \pm 1,0$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).			

3.2.3.1 Исследование регуляции функциональной активности фибробластов и фиброза печени при посттоксическом циррозе и воздействии окисленным декстраном

При посттоксическом циррозе печени у крыс 1-й группы (цирроз) объёмная плотность коллагена 1 типа была на 47 % больше, а коллагена 3 типа в 2,1 раз большей в сравнении с величинами аналогичных показателей у животных 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунок 71).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 71 – Объёмная плотность (V_v , %) коллагенов 1-го и 3-го типа при циррозе печени крыс и воздействии ОД ($M \pm m$)

Численная плотность гепатоцитов, экспрессировавших MMP9 у крыс 1-й группы (цирроз) не отличалась от таковой у крыс 4-й группы (цирроз + ОД). Отличий экспрессии TIMP1 гепатоцитами не обнаруживали при сравнении численной плотности гепатоцитов, экспрессировавших указанный медиатор между исследуемыми группами (Таблица 32).

Таблица 32 – Численная плотность (N_{ai}) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при посттоксическом циррозе печени и воздействии ОД на 90-е сутки эксперимента, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Экспрессия MMP9		экспрессия TIMP1	
	1-я группа (фиброз)	4-я группа (фиброз + ОД)	1-я группа (фиброз)	4-я группа (фиброз + ОД)
N_{ai} фибробластов	$6,8 \pm 0,73$	$4,5 \pm 0,27^*$	$7,4 \pm 0,65$	$5,2 \pm 0,24^*$
N_{ai} гепатоцитов	$0,4 \pm 0,11$	$0,5 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,12$	$0,5 \pm 0,10$

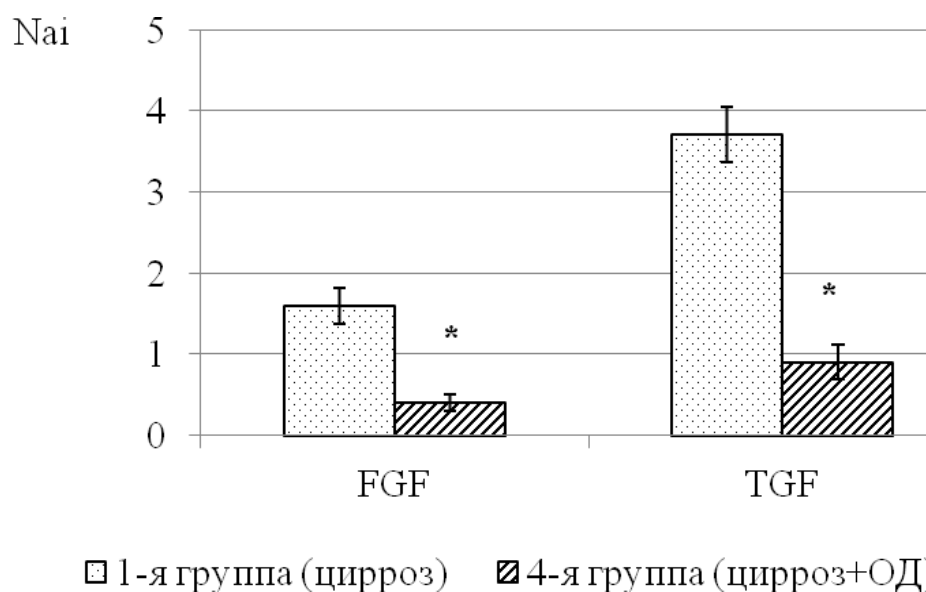
Исследуемый показатель	Экспрессия MMP9		экспрессия TIMP1	
	1-я группа (фиброз)	4-я группа (фиброз + ОД)	1-я группа (фиброз)	4-я группа (фиброз + ОД)
Naï клеток Купфера	2,2 ± 0,21	1,7 ± 0,16	3,0 ± 0,11	2,1 ± 0,20*
Naï эндотелиоцитов	0,7 ± 0,13	0,2 ± 0,11*	0,9 ± 0,12	0,7 ± 0,12
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, (p < 0,05).				

Численная плотность фибробластов, экспрессировавших MMP9 была на 33,8 %, а экспрессировавших TIMP1 на 29,7 %сбольшей у крыс 1-й группы (цирроз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 4-й группы (цирроз + ОД).

Численная плотность клеток Купфера, экспрессировавших MMP9 не отличалась при сравнении величин исследуемого показателя между группами, однако численная плотность клеток Купфера, экспрессировавших TIMP1 была на 30 % большей у крыс 1-й группы (цирроз) в сравнении с таковой у животных во 4-й группе (цирроз + ОД).

Численная плотность эндотелиоцитов, проявлявших экспрессию MMP9 у крыс 1-й группы была в 3,5 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы. У крыс 1-й (цирроз) и 4-й группы (цирроз + ОД) численная плотность эндотелиоцитов, экспрессирующих TIMP1 не отличалась (см. Таблицу 32).

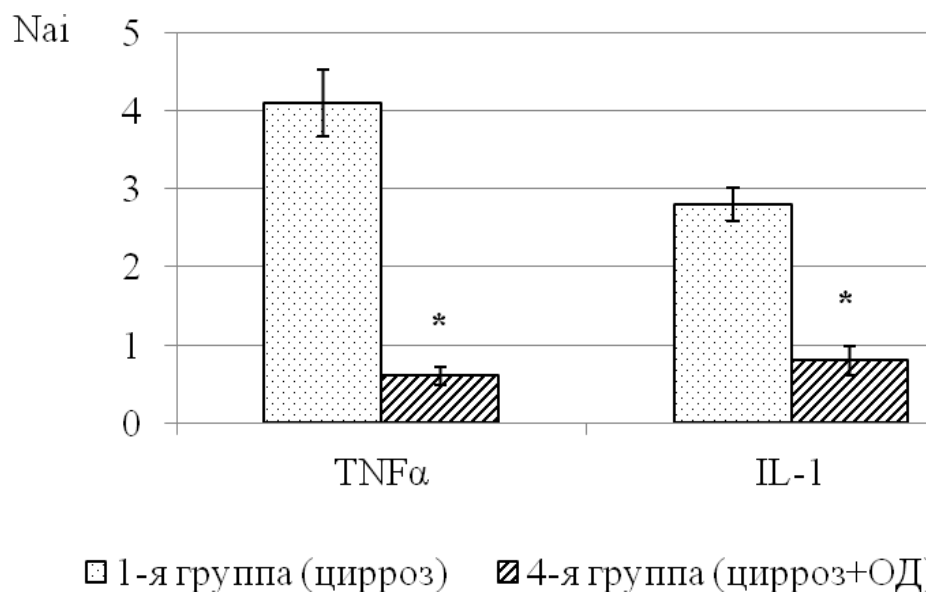
Экспрессия факторов, регулирующих коллагенообразование, была более выражена у крыс 1-й группы (цирроз), поскольку численные плотности (Naï) клеток стромы (фибробласты и макрофаги), экспрессирующих FGF и TGF были в 4 и 4,1 раз большими, в сравнении с величинами аналогичных показателей у животных 4-й группы (цирроз + ОД), соответственно (Рисунок 72).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 72 – Экспрессия FGF и TGF клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Исследовали экспрессию провоспалительных цитокинов, стимулирующих продукцию коллагена. Обнаружили, что численная плотность (Nai) клеток стромы (фибробласты и макрофаги) печени, экспрессирующих $TNF\alpha$ и IL-1 была большей в 6,8 раз и 3,5 раза соответственно, у крыс в 1-й группе (цирроз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 4-й группы, получавших ОД (Рисунок 73).

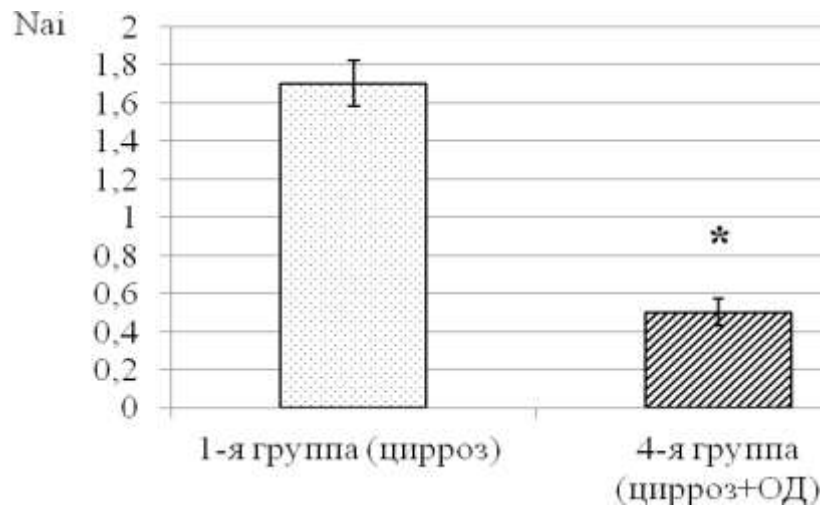


Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 73 – Экспрессия провоспалительных цитокинов клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

3.2.3.2 Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при посттоксическом циррозе и воздействии окисленным декстраном

Численная плотность клеток Ито была в 3,4 раза большей в печени крыс 1-й группы (цирроз) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунки 74 и 75).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, $p < 0,05$.

Рисунок 74 – Численная плотность клеток Ито в печени крыс при экспериментальном циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

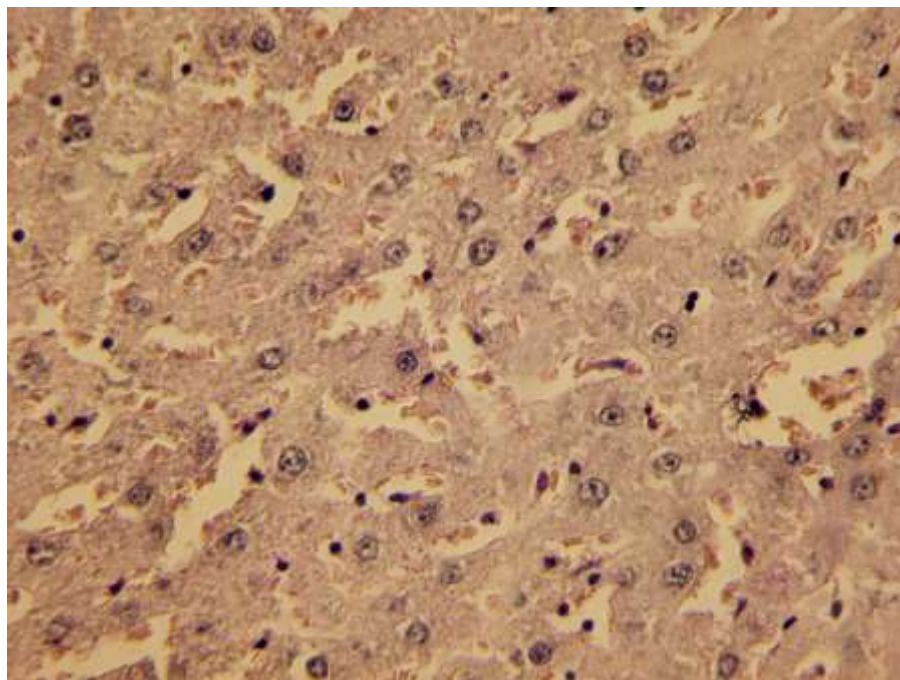


Рисунок 75 – Клетки Ито окрашены в розово-фиолетовый цвет редкие в печени крысы 4-й группы (цирроз+ОД) после применения ОД на фоне отсутствия структур ложных долек. Увеличение $\times 200$. Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2

Исследовали экспрессию маркеров ЭМП гепатоцитами и макрофагами печени у крыс с экспериментальным циррозом. Экспрессию E-cadherin гепатоцитами и фибробластами обнаруживали в печени крыс в обеих группах, но численные плотности (Nai) гепатоцитов, фибробластов, экспрессирующих E-cadherin не отличалась при сравнении аналогичных величин показателей между группами (Рисунок 76, Таблица 33).

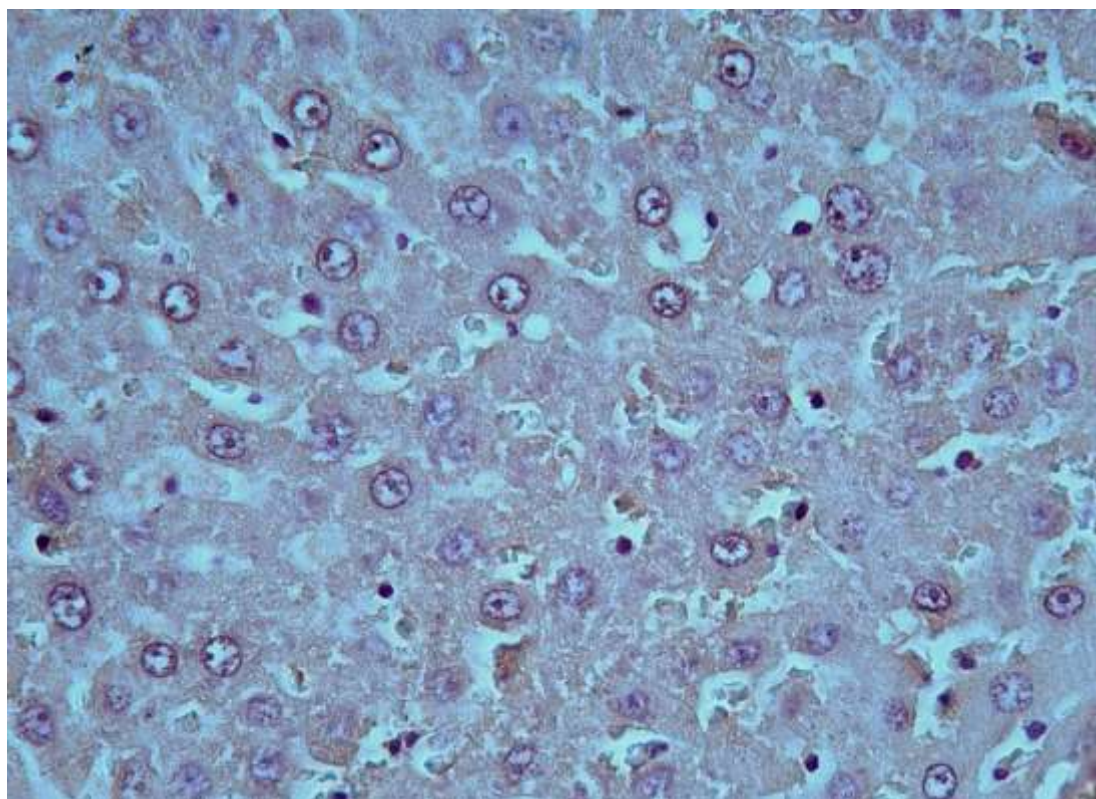


Рисунок 76 – Экспрессия E-cadherin в некоторых гепатоцитах, в эндотелиальных клетках в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД). Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Таблица 33 – Численная плотность гепатоцитов и фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом циррозе смешанной этиологии и воздействии ОД на 90-е сутки ($M \pm m$)

Тип клеток, экспрессирующих маркеры ЭМП	Экспрессируемый маркер	Исследуемая группа	
		1-я группа (цирроз)	4-я группа (цирроз + ОД)
Nai гепатоцитов	Экспрессия E-cadherin	$0,3 \pm 0,09$	$0,9 \pm 0,16$
	Экспрессия Vimentin	$0,7 \pm 0,17$	$0,2 \pm 0,08^*$
	Экспрессия SNAIL+SLUG	$7,4 \pm 0,57$	$0,9 \pm 0,25^*$
Nai фибробластов	Экспрессия E-cadherin	$0,7 \pm 0,17$	$0,3 \pm 0,09$
	Экспрессия Vimentin	$1,2 \pm 0,18$	$0,2 \pm 0,06^*$
	Экспрессия SNAIL+SLUG	$1,0 \pm 0,18$	$0,17 \pm 0,09^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных ($p < 0,05$).			

Экспрессия Vimentin гепатоцитами и фибробластами печени была более выражена у животных 1-й группы (фиброз), поскольку численные плотности (Nai) гепатоцитов и фибробластов были в 3,5 и 6 раз большими в сравнении с величинами аналогичных показателей к животным 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунок 77).

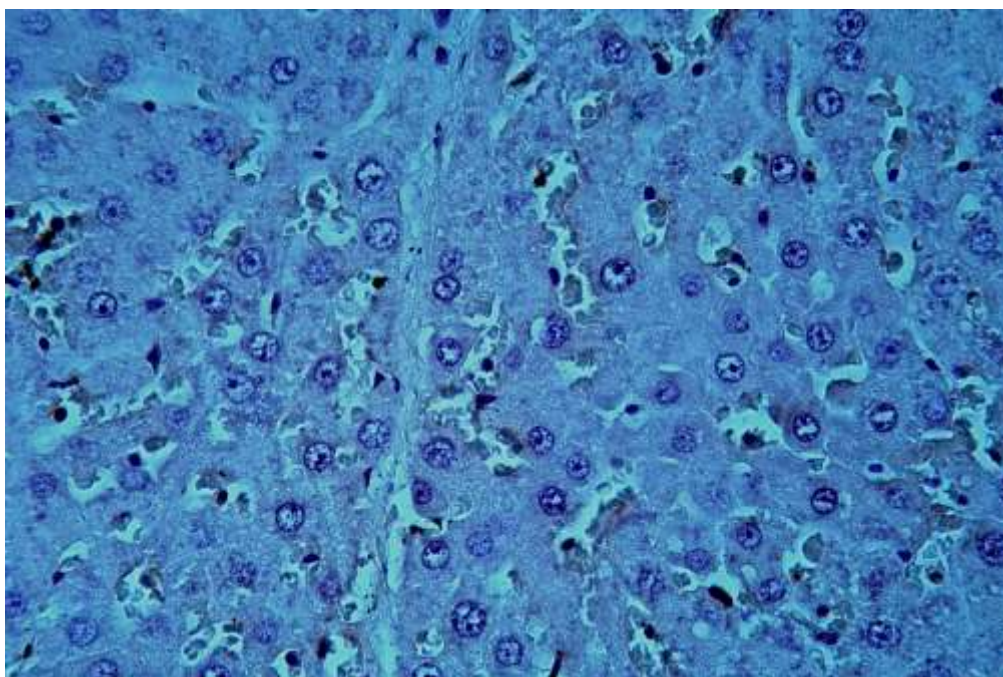


Рисунок 77 – Экспрессия Vimentin в эндотелиальных клетках и одиночных фибробластах в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД). Увеличение $\times 200$.

Фоновое окрашивание гематоксилином

Кроме того, экспрессия SNAIL+SLUG гепатоцитами и фибробластами печени была так же более выражена у крыс 1-й группы (фиброз), численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих указанный фактор была в 8,2 раза, а фибробластов на 83 % большей в сравнении с таковой у животных 4-й группы (фиброз + ОД) (см. Таблицу 33, Рисунок 78).

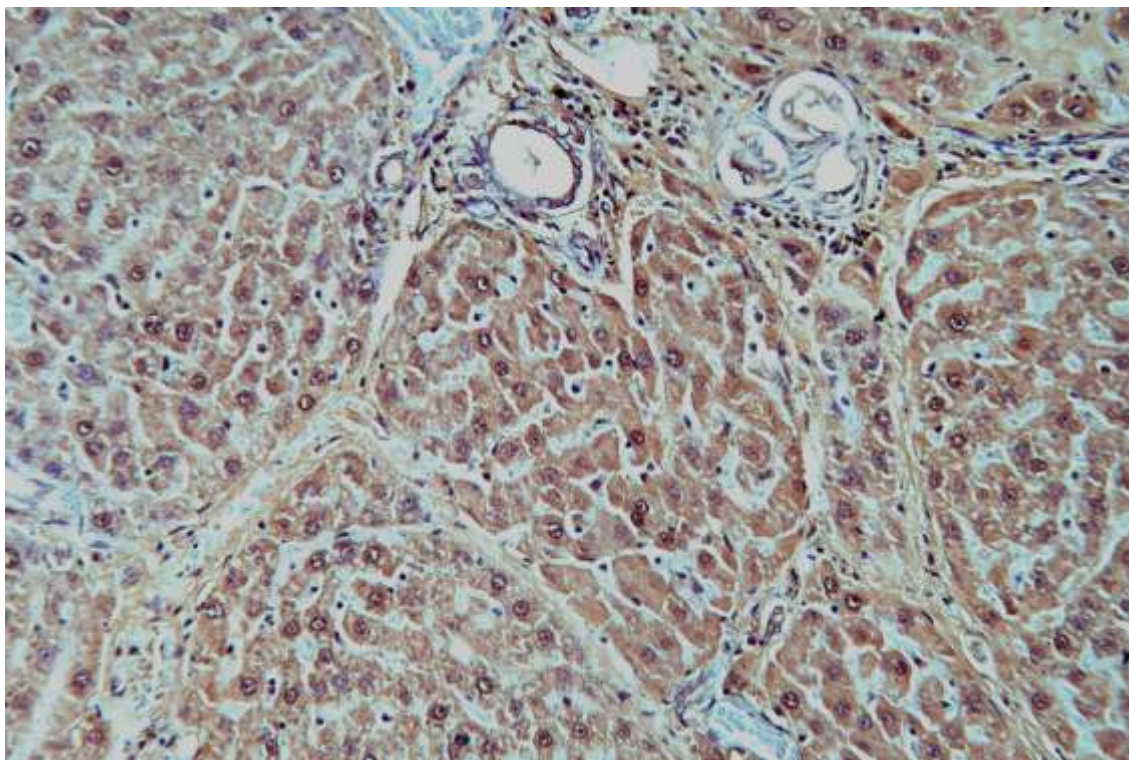
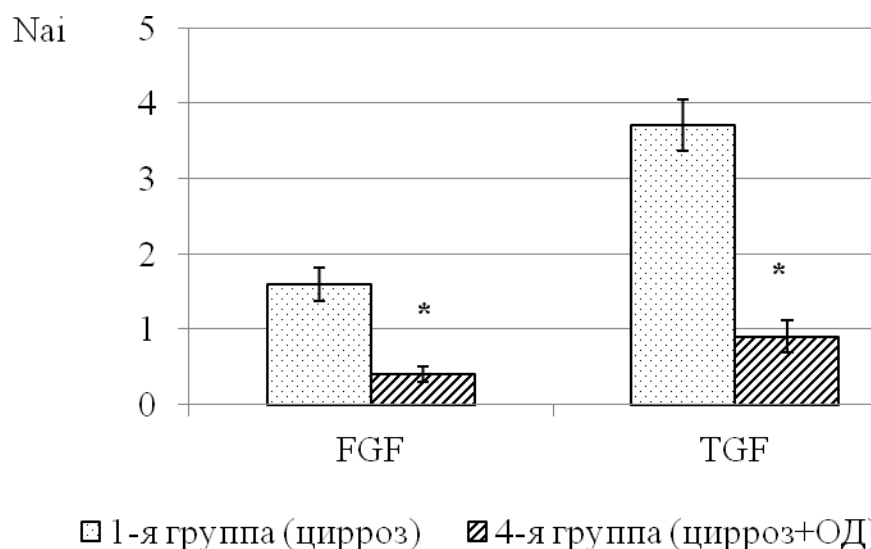


Рисунок 78 – Экспрессия SNAIL+SLUG ядер и цитоплазмы в эндотелиальных клетках, гепатоцитах, фибробластах и эпителии желчных протоков в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД). Увеличение $\times 100$. Фоновое окрашивание гематоксилином

Экспрессия FGF и TGF β была более выражена у крыс 1-й группы (цирроз), поскольку численная плотность (Nai) клеток, экспрессировавших указанные медиаторы была в 4 раза и 4,1 раз большей соответственно в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 4-й группы (цирроз + ОД) (Рисунок 79).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных, ($p < 0,05$).

Рисунок 79 – Экспрессия медиаторов, регулирующих ЭМП клетками стромы печени (Nai) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$)

Учитывая увеличение площади ложных долек при отсутствии выраженного фиброза в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД) и большую численную плотность двуюдерных гепатоцитов в сравнении с таковыми у крыс 1-й группы (цирроз), исследовали корреляционную взаимосвязь между площадью ложных долек и двуюдерными гепатоцитами, клетками Ито, фибробластами. Обнаружили отсутствие корреляционной связи, коэффициент корреляции составил: между площадью ложных долек и численной плотностью двуюдерных гепатоцитов 0,209566099, между численной плотностью фибробластов и площадью ложных долек $-0,25149377$, между площадью ложных долек и численной плотностью клеток Ито 0,094232521.

3.3 Экспериментальное исследование фиброза при формировании спаек брюшной полости

Для оценки формирующейся *de novo* соединительной ткани использовали модель спаечного процесса в брюшной полости, поскольку механизм формирования спаек предполагает образование соединительной ткани в брюшной полости, где до развития спаечного процесса таковая отсутствовала, что предположительно дает возможность исследовать процесс фиброза без привязки к гистологической структуре какого либо органа.

У крыс 1-й группы (спайки) наблюдали спонтанное образование спаек в брюшной полости, которые были представлены в большом количестве, в виде широких тяжей, тонких мембран, протягивающихся между петлями кишечника, некоторые спайки связывали петли кишечника с брыжейкой и париетальной брюшиной, кроме того, спайки носили плоскостной характер, тесно спаивая между собой петли кишечника по плоскости серозной оболочки (Рисунок 80). У крыс 2-й группы (спайки + ОД), аналогичным с 1-й группой (спайки), животных образом, индуцировали процесс образования спаек, но однократно интраперитонеально вводили ОД в момент завершения оперативного вмешательства. Спайки у животных 2-й группы (спайки + ОД), были представлены в меньшем количестве, в виде тонких коротких мембран, расположенных между петлями кишечника.



Рисунок 80 – Шнуровидные спайки в брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) между внутренним краем послеоперационного шва и серозными оболочками кишечника, желудка на 21-е сутки эксперимента

У животных 1-й группы (спайки) на 7-е сутки исследования кожа в области операционной раны была отёчна, гиперемирована. У одного животного между швами кожи, в хирургической ране, края отстояли друг от друга, в дне были видны признаки нагноения в виде скопления экссудата бело-желтого цвета. Швы во всех слоях состоятельны. У крыс во 2-й группе (спайки + ОД), в области краев хирургической раны была заметна гиперемия краёв, отёк.

Спайки в брюшной полости обнаруживали у всех животных в 1-й группе (спайки) – у двух крыс на 7-е сутки эксперимента спайки занимали 1 этаж, у трех животных распространялись на два этажа брюшной полости. У двух крыс сальник был тусклым, серо-желтого цвета, гиперемирован, подпаян к селезенке, желудку. У всех животных 1-й группы (спайки) сужения кишечника не было обнаружено. Брюшина и серозная оболочка кишечника были гладкие, блестящие. У пяти животных обнаруживали широкие рыхлые «шнуровидные» спайки

протяженностью 0,7–2,5 см, начинающиеся от внутренней поверхности операционной раны, семенников и протягивались до сальника, желудка. Кроме того, у животных первой группы обнаруживали широкие плоские полупрозрачные спайки между петлями тонкого кишечника имеющие вид тонких полупрозрачных мембран (мембранозные спайки), некоторые петли кишечника были спаяны и тесно прилежали друг к другу (плоскостные спайки). У животных в первой группе количество спаек в среднем составляло 6,0.

У животных 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента в области операционной раны гиперемия кожи была менее яркой в сравнении с внешним видом операционной раны у животных 1-й группы (спайки). Швы кожи, брюшной стенки и брюшины были состоятельные, признаков нагноения у всех особей в группе обнаружено не было. При вскрытии брюшной полости брюшина была гладкой, блестящей. У трех особей обнаружено по одной рыхлой шнуровидной спайке: у двух животных протяженность спаек составила 2,2 см, тянущихся от внутренней поверхности операционной раны, стянутой швами, к сальнику, у одной из особей шнуровидная рыхлая спайка протяженностью 0,7 см соединяла концевую часть семенника и внутреннюю поверхность операционной раны. Спайки располагались в пределах среднего этажа брюшной полости. У трех крыс встречали тонкие мембранозные одиночные спайки, у оставшихся животных спаек в брюшной полости не обнаруживали.

Выраженность спаечного процесса на основании балльной оценки, учитывающей вид спаек, распространенность в брюшной полости и количество, отличалась при сравнении между группами. Так, на 7-е сутки эксперимента выраженность спаечного процесса в брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) превосходила таковую у животных 2-й группы (спайки + ОД) в 4,3 раза, а на 21-е сутки в 2,4 раза (Таблица 34).

Таблица 34 – Результаты оценки выраженности спаечного процесса в брюшной полости у крыс в количестве баллов

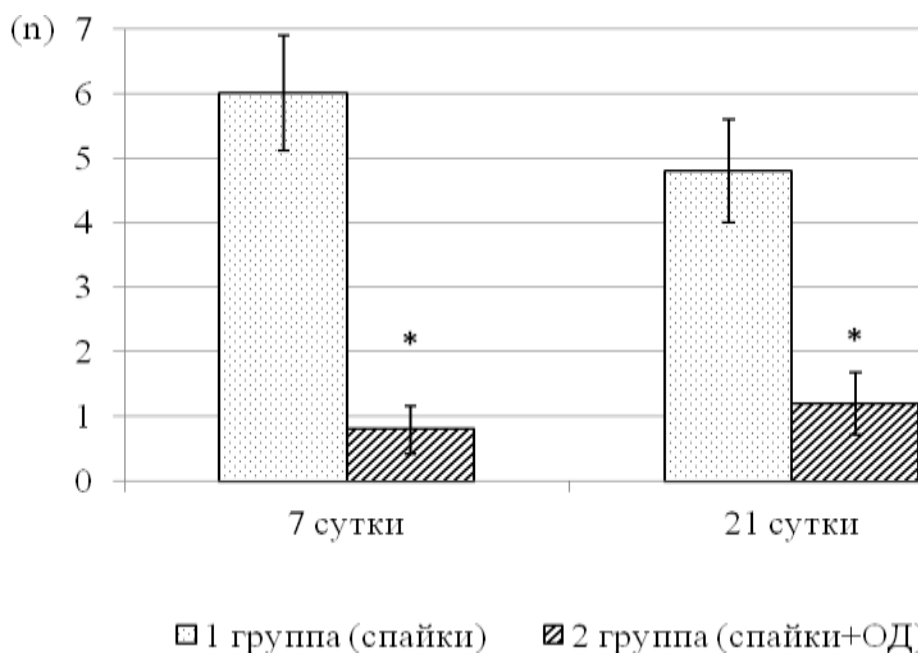
Период эксперимента (сутки)	Сумма баллов		Статистическая значимость отличий между группами (p)
	1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)	
7	68	16*	0,009
21	56	23*	0,0008
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,05$).			

На 21-е сутки эксперимента у крыс 1-й группы (спайки) послеоперационная рана имела вид рубца, у 5 животных встречали признаки нагноения операционной раны и лигатурные свищи (Рисунок 81). У крыс 2-й группы (спайки + ОД) область хирургической раны была представлена тонким рубцом. При этом выраженность спаек брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД) была в 2,4 раза меньшей в сравнении с таковой у животных 1-й группы (спайки).



Рисунок 81 – Лигатурный свищ в области рубцующейся операционной раны у крысы 1-й группы (спайки) на 21-е сутки эксперимента

Подсчитывали количество спаек в брюшной полости. Количество спаек было большим у животных 1-й группы на 7-е сутки эксперимента в 7,5 раз, а на 21-е сутки в 4 раза в сравнении с таковым у животных 2-й группы (спайки + ОД). Количество спаек не изменялось к 21-м суткам эксперимента у крыс в обеих группах (Рисунок 82).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 2-й группами животных, ($p < 0,005$).

Рисунок 82 – Количество спаек (n) в брюшной полости у крыс в эксперименте, ($M \pm m$)

3.3.1 Микроскопическое исследование спаек брюшной полости у крыс

При микроскопическом исследовании в спайках животных обнаруживали широкие разнонаправленные пучки коллагена у крыс 1-й группы (спайки), у крыс 2-й группы (спайки + ОД) пучки коллагена были более организованы, более тонкие (Рисунки 83 и 84). Кроме того, обнаруживали сосуды с узкими просветами, фибробласты и макрофаги, нейтрофилы и лимфоциты. При этом макрофаги в условиях применения световой микроскопии были несколько крупнее у крыс 2-й группы (спайки + ОД), особенно на 21-е сутки эксперимента. Спайки с поверхности были выстланы одним рядом мезотелиальных клеток.

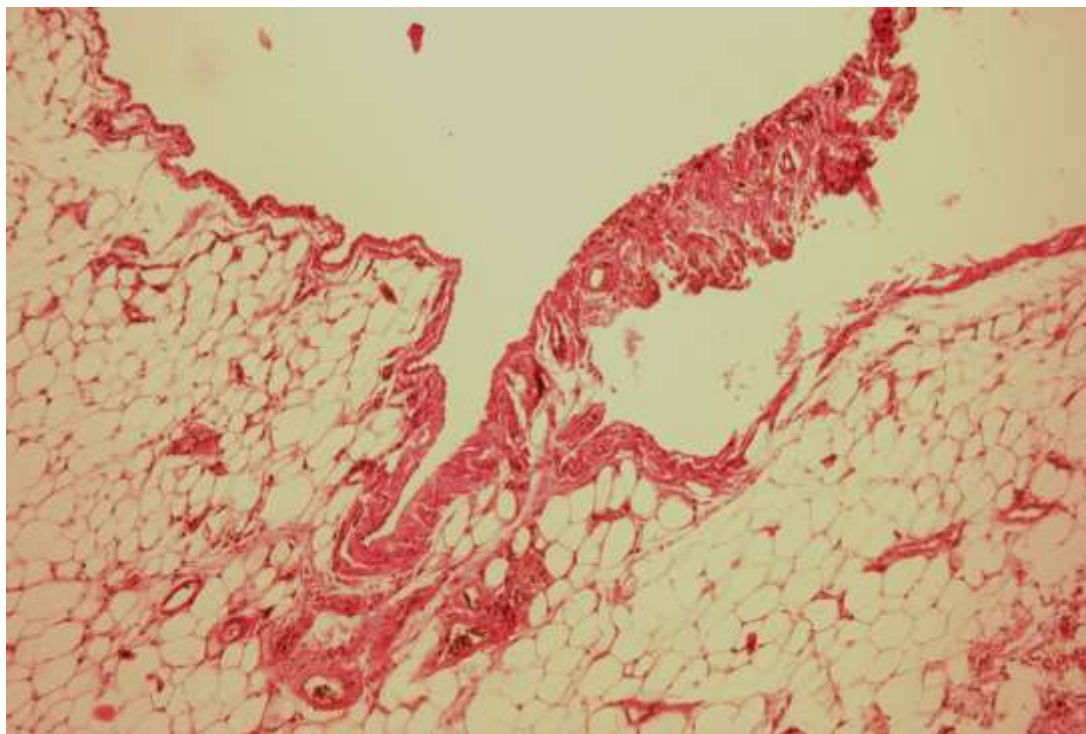


Рисунок 83 – Спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 1-й группы (спайки). Отложение плотного коллагена на 7-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону

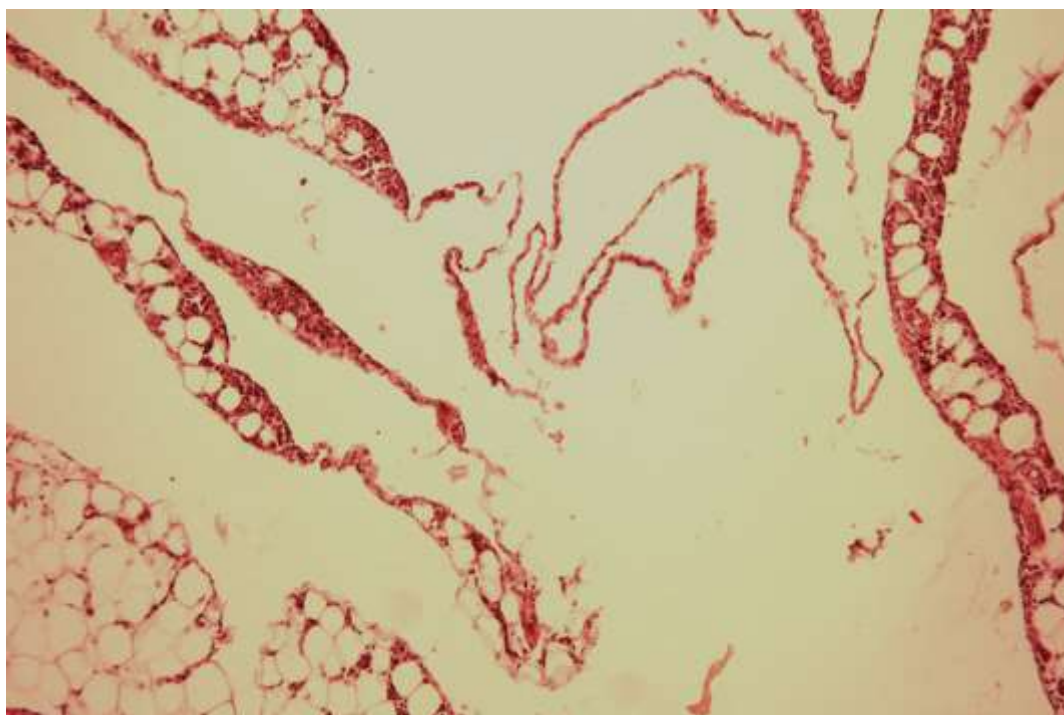


Рисунок 84 – Тонкая мембранозная спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 2-й группы (спайки+ОД). Скудное отложение рыхлого коллагена на 7-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$.

Окрашивание по Ван Гизону

При дальнейшем микроскопическом исследовании обнаружили, что численная плотность (Nai) фибробластов не изменялась с 7-е по 21-е сутки и не отличалась на 7-е и 21-е сутки при сравнении величин исследуемого показателя между группами. Однако, у животных 1-й группы (спайки) объёмная плотность коллагена (Vv) возрастала к 21-м суткам эксперимента в 3,5 раза в сравнении с предыдущим периодом исследования, а у крыс 2-й группы (спайки + ОД) с 7-х по 21-е сутки величина аналогичного показателя не изменялась. При сравнении объёмной плотности (Vv) коллагена между группами обнаружили, что у крыс 2-й группы (спайки+ОД) величина исследуемого показателя была на 7-е сутки эксперимента в 4 раза меньшей, а на 21-е сутки в 10 раз меньшей в сравнении с таковой у животных 1-й группы (спайки), но была в 2 и 2,5 раза большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у интактных животных на 7-е и 21-е сутки эксперимента соответственно (Таблица 35, Рисунки 85 и 86).

Таблица 35 – Численная плотность (Nai) фибробластов и объёмная плотность (Vv) коллагена в спайках брыжеек у крыс после введения окисленного декстрана в брюшную полость после лапаротомии ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Время после лапаротомии (сутки)	Исследуемая группа		
		Интактная группа	1-я группа - (спайки)	2-я группа - (спайки + ОД)
Объём коллагена Vv (%)	7	2,5 ± 0,53	18,0 ± 1,92*	4,5 ± 1,05
	21		63,9 ± 2,21*	6,3 ± 1,47
Фибробласты	7	4,8 ± 0,72	12,3 ± 1,29	11,7 ± 0,81
	21		13,5 ± 1,15	11,4 ± 0,91
Примечание – * отмечены статистически значимые отличия величин показателей 1-й и 2-й группы при (p < 0,005).				

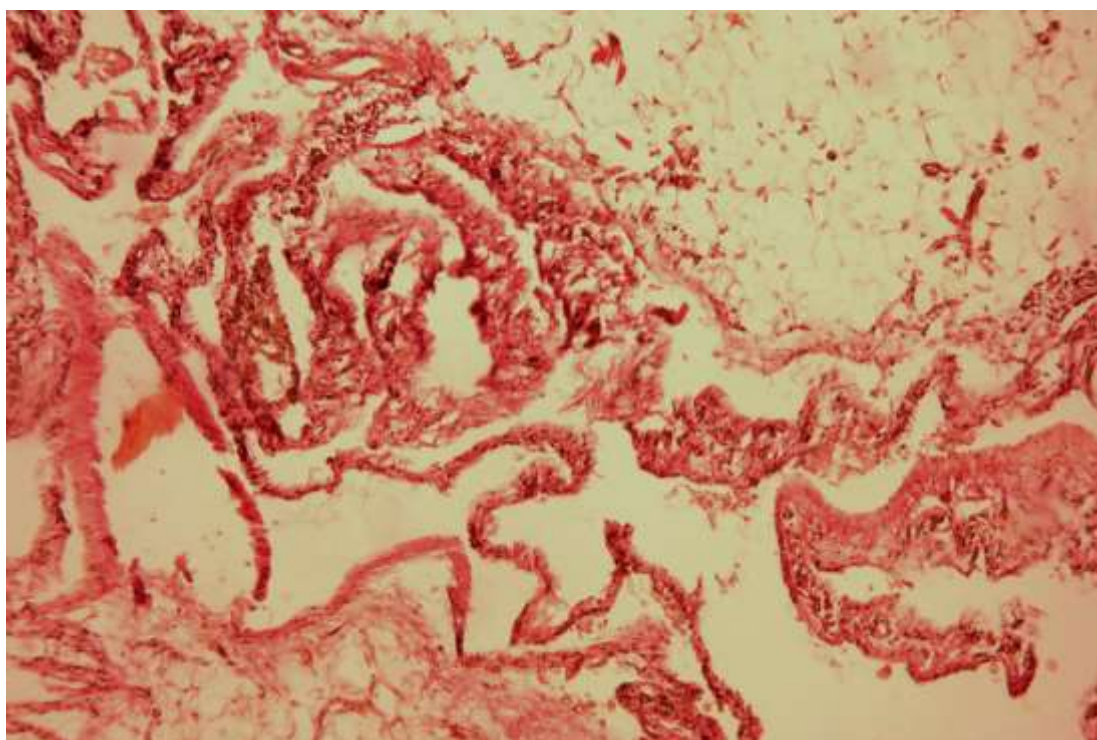


Рисунок 85 – Спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 1-й группы (спайки). Массивное отложение плотного коллагена на 21-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону

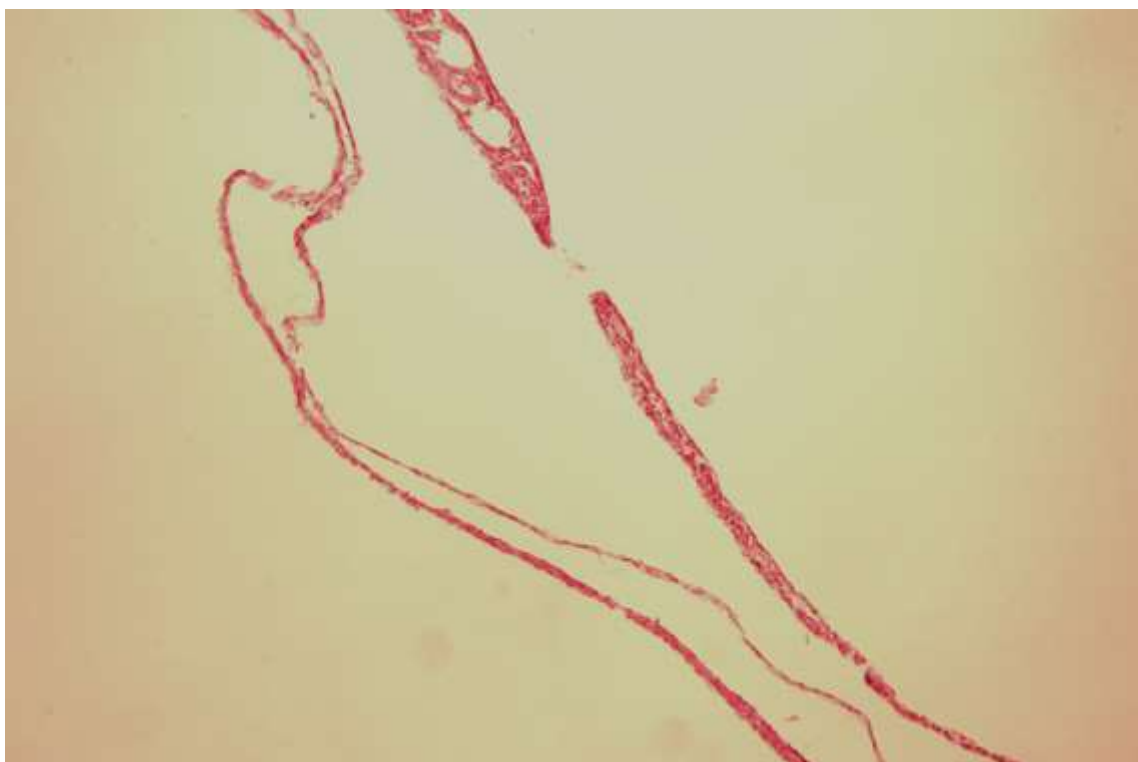


Рисунок 86 – Тонкая мембранозная спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 2-й группы (спайки + ОД). Скучное отложение рыхлого коллагена на 21-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону

Меньшая объёмная плотность коллагена у крыс 2-й группы (спайки + ОД) при отсутствии изменений количества фибробластов воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс обеих групп, указывает на увеличение функциональной активности фибробластов к 21-м суткам у животных 2-й группы (спайки + ОД), тогда как у животных 1-й группы (спайки) функциональная активность не изменялась. Кроме того, отличия выраженности спаечного процесса в брюшной полости у животных 2-й и 1-й группы могут указывать на активное поглощение фагоцитами образующегося в ходе воспалительной реакции в брюшной полости экссудата и, как следствие фиброзирование меньшего объёма экссудата, формирования меньшего количества и объёма спаек.

В процессе формирования спаек у крыс в серозной оболочке кишечника, брыжейке и спайках наблюдали воспалительный инфильтрат. В составе воспалительных инфильтратов спаяк у животных обеих исследуемых групп на 7-е, 21-е сутки преобладали макрофаги и нейтрофилы. Содержание нейтрофилов в спайках крыс обеих групп уменьшалось к 21 суткам эксперимента (Таблица 36).

Таблица 36 – Соотношение макрофагов и нейтрофилов (%) в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Периоды наблюдения (сутки)	Вид клеток	Исследуемые группы		Статистическая значимость отличий между группами (p)
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)	
7	Макрофаги	68,5 ± 0,11	76,5 ± 0,08	0,0000001
	Нейтрофилы	31,5 ± 0,05	23,5 ± 0,04	0,0000001
21	Макрофаги	74,5 ± 0,07	97,7 ± 0,20	0,0000001
	Нейтрофилы	25,5 ± 0,02	2,3 ± 0,01	0,0000001

В воспалительных инфильтратах у животных 1-я группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента доля макрофагов в инфильтратах была на 11 % меньшей в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа), а содержание нейтрофилов было на 39 % большим, чем у животных 2-й группы (Рисунки 87 и 88). На 21-е сутки содержание макрофагов в спайках было на 15 %, а нейтрофилов – в 11 раз больше у крыс 1-й группы (спайки) в сравнении с таковым у животных 2-й группы, получавших ОД.

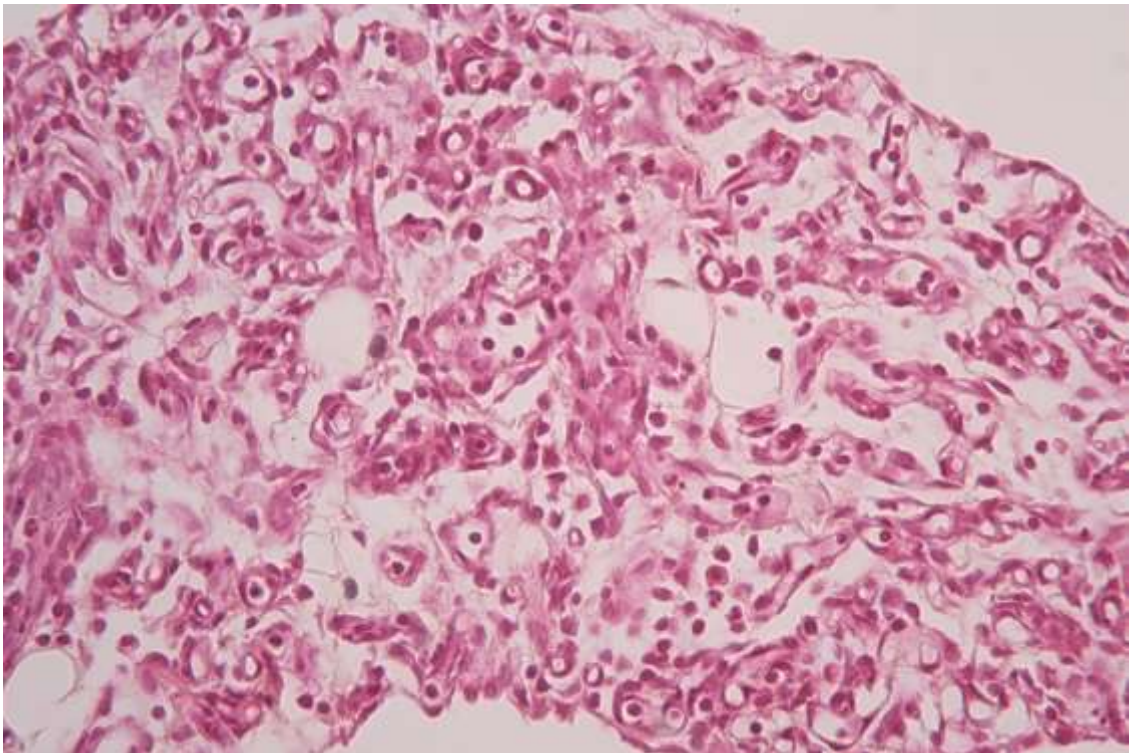


Рисунок 87 – Спайка брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки после лапаротомии. Диффузная инфильтрация соединительнотканной основы нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами. Обильно представлены фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином

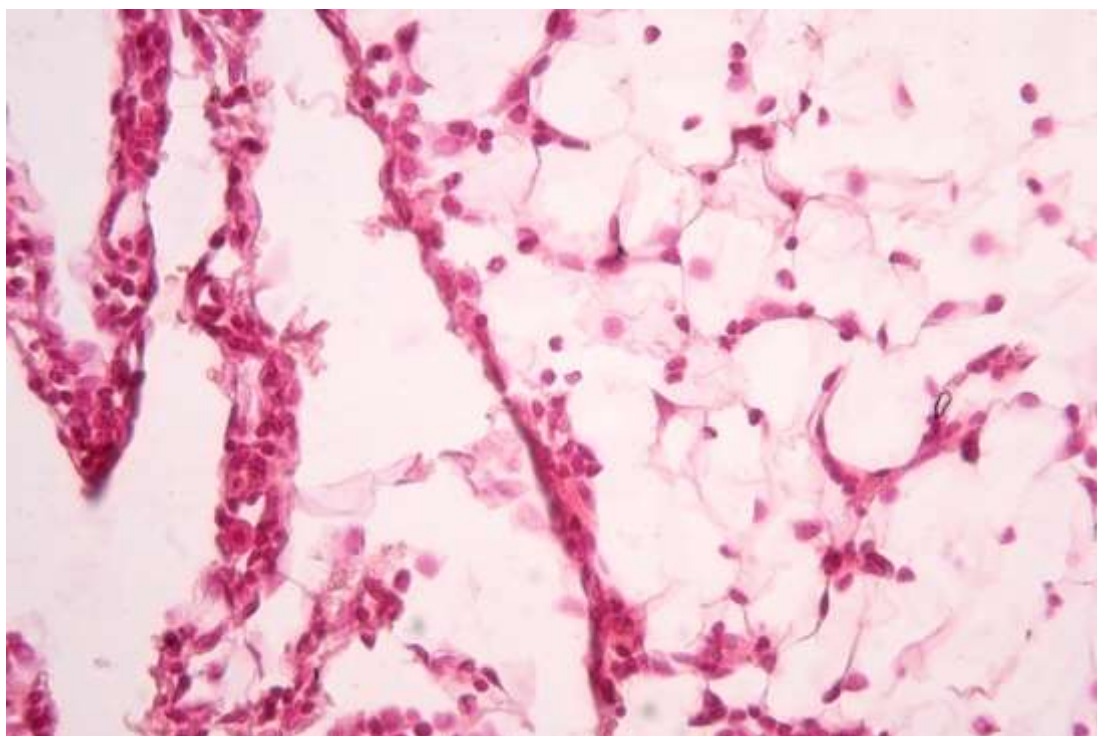


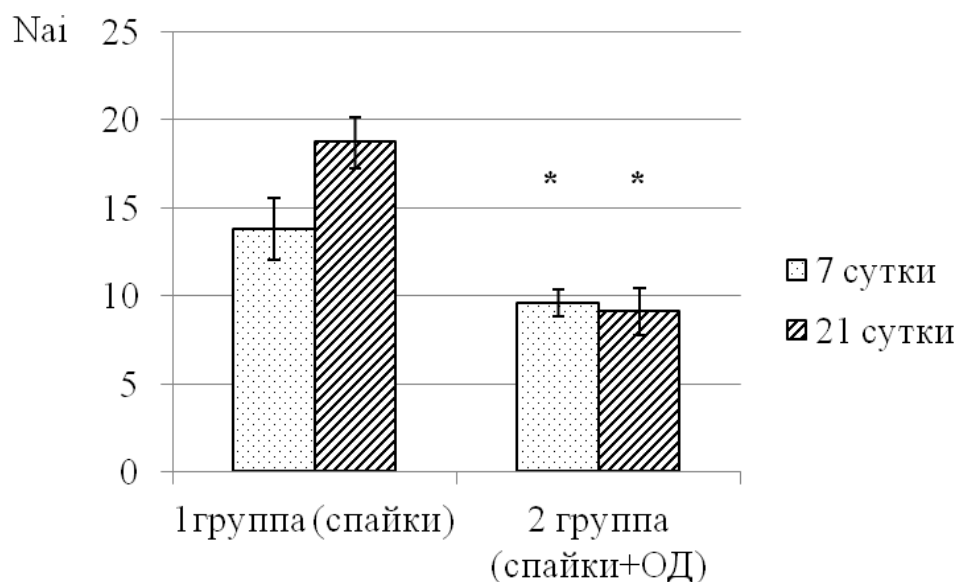
Рисунок 88 – Спайка брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки после лапаротомии. рассеянная инфильтрация соединительнотканной основы нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами, встречаются фибробласты.

Увеличение $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином

Подсчитывали численную плотность (Nai) макрофагов и нейтрофилов. Обнаружили, что количество макрофагов в тестовой площади было на 30 % большим, а нейтрофилов в 2,1 раз у крыс 1-й группы (спайки) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Численная плотность (Nai) макрофагов у крыс 1-й группы возросла к 21-м суткам эксперимента на 26 %, у животных 2-й группы (спайки + ОД) не изменилась, но была в 2 раза меньше в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (спайки) на 7-е и 21-е сутки (Рисунок 89).

Таким образом, макрофаги преобладают в инфильтратах спаек брюшной полости у крыс обеих групп, однако несмотря на меньшее количество макрофагов в спайках у крыс 2-й группе (спайки + ОД), по-видимому, фагоцитоз в них более

эффективен, поскольку образуется меньшее количество спаек в сравнении с макрофагами у крыс 1-й группы (спайки), и сопровождается отложением коллагена в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД) в меньшем объёме.



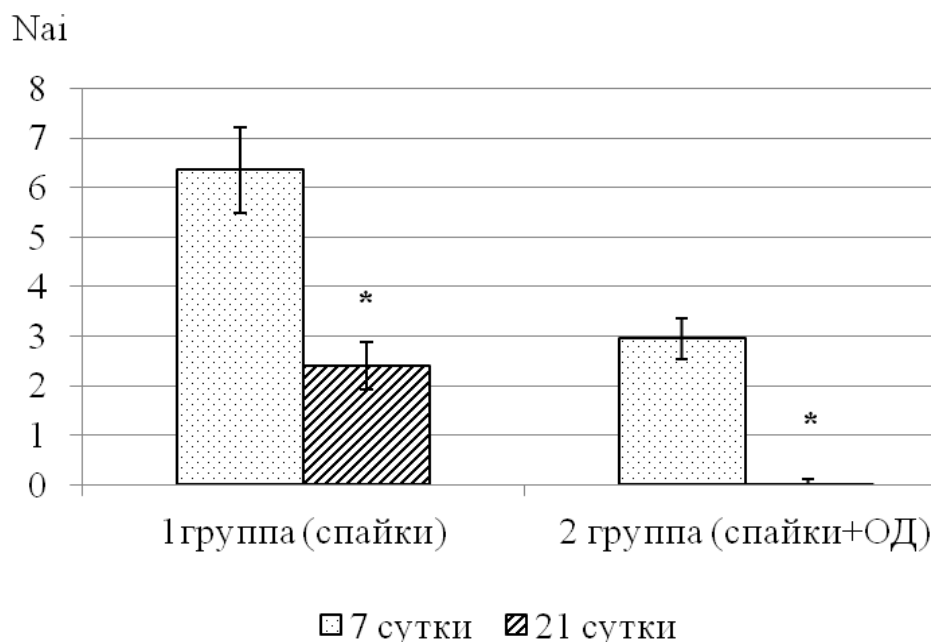
Примечание – * отмечены статистически значимые отличия величин показателей 1-й и 2-й группы при ($p < 0,005$).

Рисунок 89 – Численная плотность (Nai) макрофагов в инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Численная плотность нейтрофилов (Nai) в спайках брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) была большей в 2,1 раз большей, в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (спайки + ОД). К 21-м суткам эксперимента численная плотность нейтрофилов (Nai) уменьшилась в 2,7 раз, в сравнении с предыдущим периодом исследования. В спайках у животных 2-й группы (спайки + ОД) к 21-м суткам нейтрофилы отсутствовали ($0,05 \pm 0,05$) (Рисунок 90).

В связи с меньшим количеством нейтрофилов у животных 2-й группы (спайки + ОД), вероятно отсутствовали явления вторичной альтерации и

экссудации, способствуя регенераторному процессу в брюшине и брюшной полости, препятствуя развитию фиброза.



Примечание – * отмечены статистически значимые отличия величин показателей 1-й и 2-й группы при ($p < 0,005$).

Рисунок 90 – Численная плотность (N_{ai}) нейтрофилов в инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Одним из существенных условий развития регенераторного процесса, фиброза и воспаления являются трофические условия, в том числе сосудистая трофика. Исследовали численную плотность (N_{ai}) сосудов в спайках брюшной полости у крыс, обнаружили что у животных 1-й группы (спайки) в спайках величина исследуемого показателя увеличилась на 33% в период с 7-х по 21-е сутки. У животных 2-й группы (спайки + ОД) численная плотность (N_{ai}) сосудов в спайках брюшной полости не отличалась от таковой у крыс в 1-й группе (спайки), в период с 7-х по 21-е сутки не изменялась. Объемная плотность сосудов (V_v) была большей в спайках у крыс 1-й группы (спайки) на 39,5 % в сравнении с таковой у животных 2-й группы (спайки + ОД).

К 21-м суткам объемная плотность сосудов (V_v) в спайках у крыс 1-й группы (спайки) не изменилась. У животных 2-й группы (спайки + ОД) величина исследуемого показателя возросла на 46 % в период с 7-х по 21-м суткам эксперимента, не отличаясь от таковой у крыс 1-й группы (спайки) на 21-е сутки (Таблица 37).

Таблица 37 – Численная и объемная плотность сосудов в спайках брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Время после лапаротомии (сутки)	1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)
7 21	1,2 $\pm$ 0,17	1,26 $\pm$ 0,19	—
	1,8 $\pm$ 0,21	1,6 $\pm$ 0,23	—
V_v	7	8,1 $\pm$ 2,27	4,9 $\pm$ 1,03*
	21	7,4 $\pm$ 1,25	9,1 $\pm$ 1,93
Примечание – * отмечены статистически значимые отличия величин показателей 1-й и 2-й группы при ($p < 0,01$).			

3.3.2 Исследование молекулярных механизмов фиброза и ультраструктурных изменений внеклеточного матрикса в спайках брюшной полости

Учитывая полученные при гистологическом исследовании спаек брюшной полости результат в виде уменьшения экссудативных проявлений воспаления, отличия в функциональной активности фибробластов при сравнении между группами при отсутствии изменений в количестве фибробластов исследовали функциональное состояние макрофагов, проявления мезенхимально-эпителиального перехода и функционального состояния фибробластов, структурные изменения макрофагов и фибробластов.

3.3.2.1 Морфо-функциональное состояние макрофагов в процессе фиброзирования и формирования спаек брюшной полости

При электронно-микроскопическом исследовании макрофагов спаек брюшной полости обнаружили, что у крыс 2-й группы (спайки + ОД) в цитоплазме более выражен лизосомальный аппарат, шероховатый эндоплазматический ретикулум, который образовывал широкие цистерны, кроме того, макрофаги в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД) образовывали псевдоподии и цитоплазматические выпячивания (Рисунок 91). В макрофагах спаек брюшной полости у животных 1-й группы (спайки), указанные структуры были представлены в меньшем количестве (Рисунок 92).

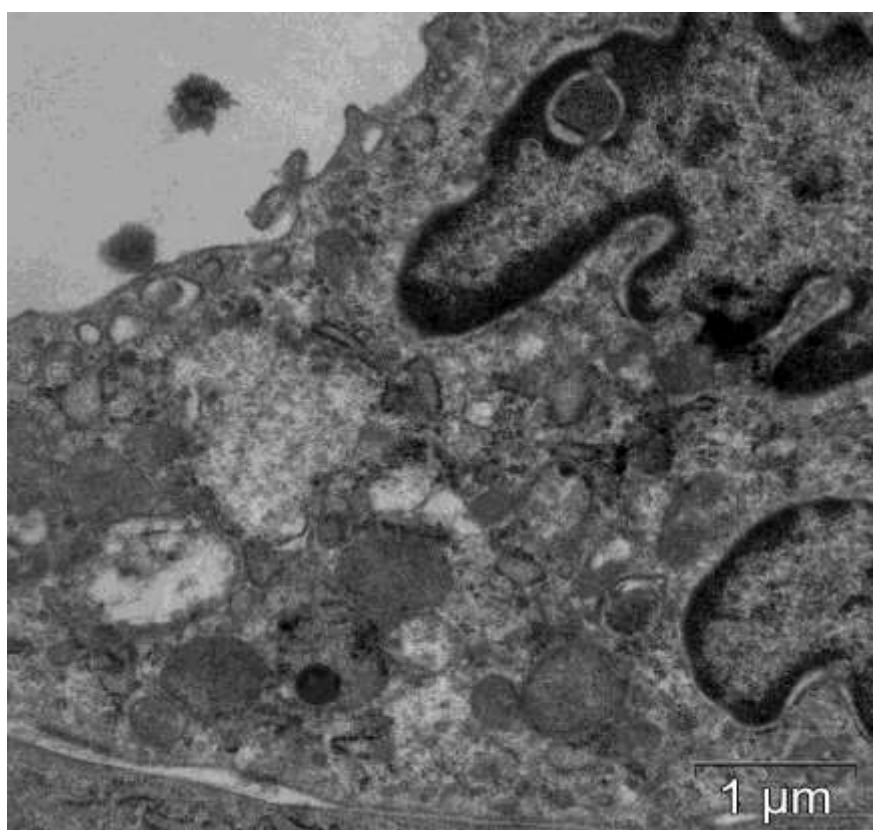


Рисунок 91 – Фрагмент макрофага в спайке крысы 2-й группы (спайки + ОД) – большое количество лизосом, фаголизосом, шероховатого эндоплазматического ретикулума, формируются псевдоподии. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 25\,000$

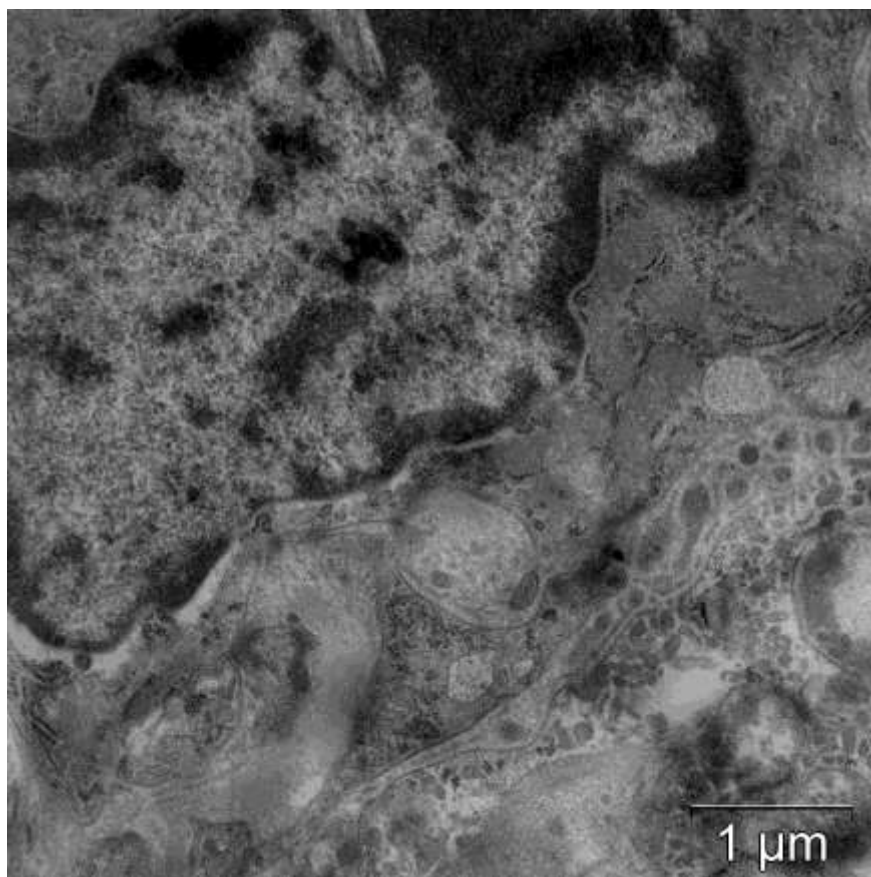


Рисунок 92 – Фрагмент макрофага в спайке крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента: малое количество лизосом и фагосом, псевдоподий.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 25\,000$

Объёмная плотность (V_v) цитоплазмы клеток в спайках у крыс 1-й, 2-й группы на 7-е сутки эксперимента была на 27 % и 41,7 % большей в сравнении с таковой в брыжейке и серозной оболочке кишечника у интактных животных, а объёмная плотность (V_v) ядер макрофагов были большими у крыс 1-й и 2-й группы на 36,2 % и 40,5 % в сравнении с таковыми у интактных животных. Ядерно-цитоплазматическое соотношение было смещено в сторону ядра у животных 1-й и 2-й группы. Полученные данные указывают на более активное состояние макрофагов 1-й (спайки) и 2-й группы (спайки + ОД) в сравнении с таковым у интактных животных (Таблица 38). Объёмная плотность (V_v) цитоплазмы макрофагов на 7-е сутки в спайках у крыс 2-й группы была на

19,7 % больше таковой в макрофагах у животных 1-й группы (спайки) (Таблица 38).

Таблица 38 – Результаты морфометрического исследования макрофагов в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, Me (Q1, Q3)

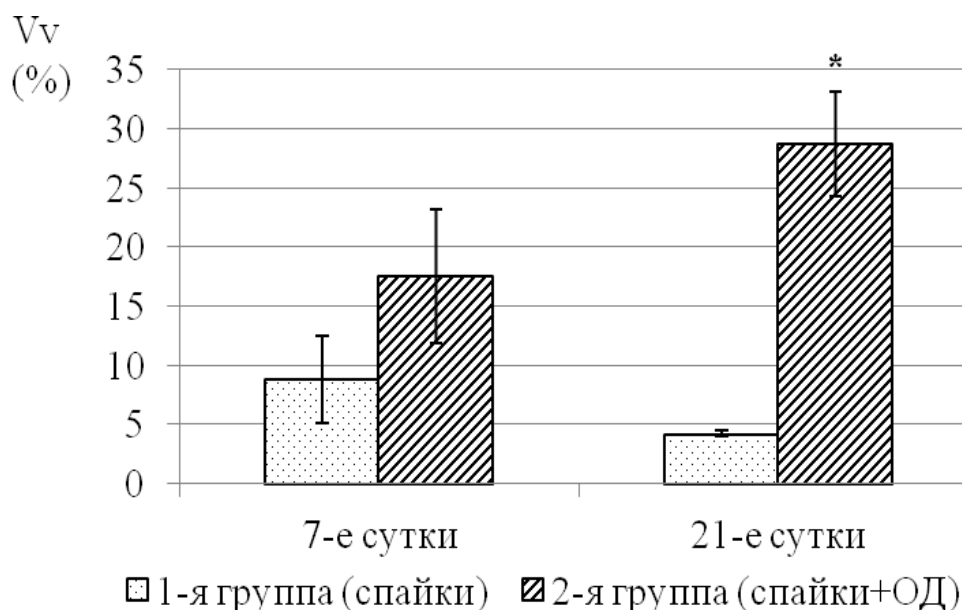
Исследуемый показатель	Период после лапаротомии (сутки)	Исследуемые группы			
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки+ОД)	P-значение	Интактные
Vv цитоплазмы (%)	7 сутки	37,8 (25,5; 45,6)	45,6 (28,4; 57)	0,035938	37,8 (33,1; 54,8)
	21 сутки	39,5 (34,17; 42,17)	71,1 (54,8; 78)	0,003267	
Vv ядер (%)	7 сутки	62,1 (54,4; 74,5)	54,4 (43; 71,6)	0,745526	62,2 (45,1; 66,9)
	21 сутки	60,5 (57,8; 65,8)	28,9 (22; 45,2)	0,0000001	
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	7 сутки	2,3 (1,3; 2,9)	1,2 (0,7; 2,6)	0,033623	1,4 (0,8; 2,3)
	21 сутки	1,5 (1,4; 1,9)	0,4 (0,3; 0,8)	0,0000001	

На 21-е сутки эксперимента макрофаги в спайках у крыс 1-й группы сохраняли активированное состояние, поскольку объёмная плотность (Vv) ядер макрофагов были на 17 % большими в сравнении с величиной аналогичного показателя у интактных животных, хотя объёмная плотность (Vv) цитоплазмы макрофагов и ядерно-цитоплазматическое соотношение в инфильтратах спаек брюшной полости у животных 1-й группы (спайки) не отличались от таковых у крыс интактной группы.

Объёмная плотность (Vv) цитоплазмы макрофагов и их ядер, ядерно-цитоплазматическое соотношение не изменялись в спайках у крыс 1-й группы (спайки) в период с 7-х по 21-е сутки. У животных 2-й группы (спайки + ОД) объёмная плотность (Vv) ядер макрофагов с 7-х по 21-е сутки не изменялись, но увеличилась объёмная плотность (Vv) цитоплазмы на 40,8 %, а ядерно-цитоплазматическое соотношение сместилось в сторону цитоплазмы.

У животных 2-й группы (спайки + ОД) на 21-е сутки эксперимента макрофаги спаяк брюшной полости были крупнее более чем в 2 раза в сравнении с таковыми у интактных животных и в спайках брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки). Ядра макрофагов спаяк брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД) на 21-е сутки были на 31,3 % и 19,7 % большими в сравнении с диаметрами ядер макрофагов у интактных животных и в спайках брюшной полости крыс 1-й группы (спайки) соответственно. Полученные данные указывают на сохраняющуюся активность макрофагов спаяк брюшной полости у крыс 1-й (спайки) и 2-й (спайки + ОД) группы на 21-е сутки эксперимента, однако, у животных 2-й группы (спайки + ОД), по-видимому, более выражена фагоцитозная активность в сравнении с макрофагами спаяк крыс 1-й группы (спайки) (см. Таблицу 38).

Объёмная плотность (V_v) структур лизосомального аппарата макрофагов в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД) была в 2 раза большей на 7-е сутки эксперимента в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (спайки). На 21-е сутки объёмная плотность (V_v) структур лизосомального аппарата в макрофагах спаяк у крыс 2-й группы (спайки + ОД) увеличилась на 39 % в сравнении с величиной аналогичного показателя на 7-е сутки эксперимента в этой же группе. У крыс 1-й группы (спайки) к 21-м суткам исследования объёмная плотность (V_v) структур лизосомального аппарата в макрофагах спаяк не изменилась в сравнении с предыдущим периодом наблюдения. На 21-е сутки проведенного исследования объёмная плотность (V_v) структур лизосомального аппарата в макрофагах спаяк у крыс 2-й группы (спайки + ОД) была в 6,8 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (спайки) (Рисунок 93).



Примечание – * отмечены статистически значимые отличия величин показателей 1-й и 2-й группы при ($p < 0,005$).

Рисунок 93 – Объёмная плотность лизосомального аппарата в цитоплазме макрофагов спаяк брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

У крыс в обеих группах шероховатый эндоплазматический ретикулум был выражен, формировал широкие цистерны, особенно у крыс 2-й группы (спайки + ОД), при этом объёмная плотность (Vv) эндоплазматического ретикулума в макрофагах спаяк брюшной полости не изменялась на протяжении эксперимента и не отличалась у животных при сравнении величины исследуемого показателя между группами (Рисунок 94).

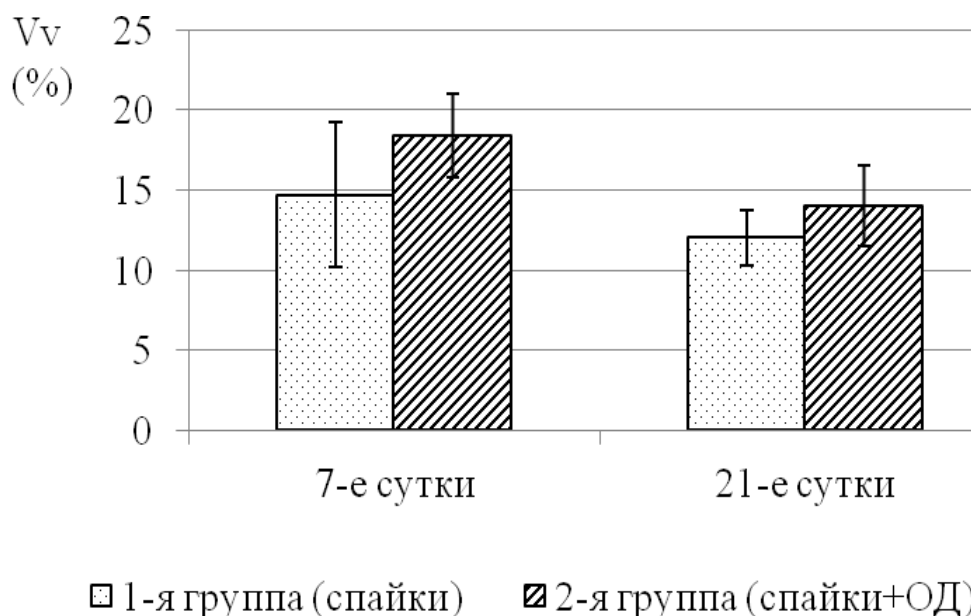


Рисунок 94 – Объёмная плотность шероховатого эндоплазматического ретикулума в цитоплазме макрофагов спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Для определения функциональной активности и функционального состояния исследовали экспрессию про- и противовоспалительных цитокинов в макрофагах спаек брюшной полости у крыс 1-й (спайки) и 2-й (спайки + ОД) группы.

3.3.2.2 Исследование активности макрофагов и их функционального статуса в спайках брюшной полости

Продукция провоспалительных медиаторов макрофагами спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) была более выраженной в сравнении с таковой у животных 2-й группы (спайки + ОД), поскольку численная плотность (N_{ai}) макрофагов, экспрессировавших $IL-1$ была в 4,7 раз, а $TNF\alpha$ в 3,2 раза большей у крыс 1-й группы (спайки) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. При этом продукция противовоспалительных цитокинов макрофагами была большей у

животных 2-й группы (спайки + ОД), поскольку численная плотность (Nai) макрофагов, экспрессировавших ИЛ-10 была в 2,7 раз, а TGFβ в 4,1 раз большей в сравнении с величиной аналогичного показателя у крыс 1-й группы (спайки) (Таблица 39).

Таблица 39 – Численная плотность (Nai) макрофагов, экспрессирующих провоспалительные и противовоспалительные цитокины при спайках в брюшной полости и в условиях воздействия ОД, Ме (Q1, Q3)

Экспрессируемые медиаторы	Период (сутки)	1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)	P-значение
ИЛ-10	7	3 (2; 3)	6,5 (5; 9)	0,000001
	21	11,5 (8; 15)	14,5 (11,25; 17,75)	0,018031
IFNγ	7	7,5 (6,25; 10)	4 (3; 6)	0,000003
	21	6 (4; 6)	13,5 (11; 16)	0,000036
ИЛ-1	7	9,5 (7,25; 11,75)	2 (1; 3)	0,000001
	21	10 (8; 13,75)	5,5 (4; 8)	0,000007
TNFα	7	8 (6; 11,75)	2,5 (1; 4)	0,000001
	21	5 (4; 6)	3 (2; 5)	0,0729995
TGFβ	7	2 (1; 2)	3 (2; 5)	0,000346
	21	2 (2; 3)	6 (4,25; 7)	0,000001

Полученные данные указывают на различия в функциональном состоянии макрофагов на 7-е сутки эксперимента. Таким образом, в спайках у крыс 2-й группы (спайки + ОД) преобладают макрофаги, проявляющие фенотипические признаки M2 статуса, тогда как в спайках брюшной полости 1-й группы (спайки) крыс преобладают макрофаги, демонстрирующие признаки M1 статуса.

Экспрессия провоспалительных цитокинов возрастала у крыс 2-й группы (спайки + ОД) к 21-м суткам эксперимента: ИЛ-1в 3,2 раза, $\text{TNF}\alpha$ на 35 %. При этом экспрессия ИЛ-1 была меньшей на 42,9 %, а численная плотность (Nai) макрофагов, экспрессировавших $\text{TNF}\alpha$ не отличалась при сравнении с величинами аналогичных показателей у животных 1-й группы (спайки) (см. Таблицу 35).

Кроме того, как у животных 1-й группы (спайки), так и 2-й группы (спайки + ОД), в макрофагах спаек брюшной полости обнаруживали аутофагосомы на 7-е сутки эксперимента (Рисунки 95 и 96). Это могло способствовать смене фенотипа макрофагов на М2 тип у крыс 1-й группы и поддержанию фенотипа М2 в макрофагах спаек у крыс 2-й группы (спайки + ОД).

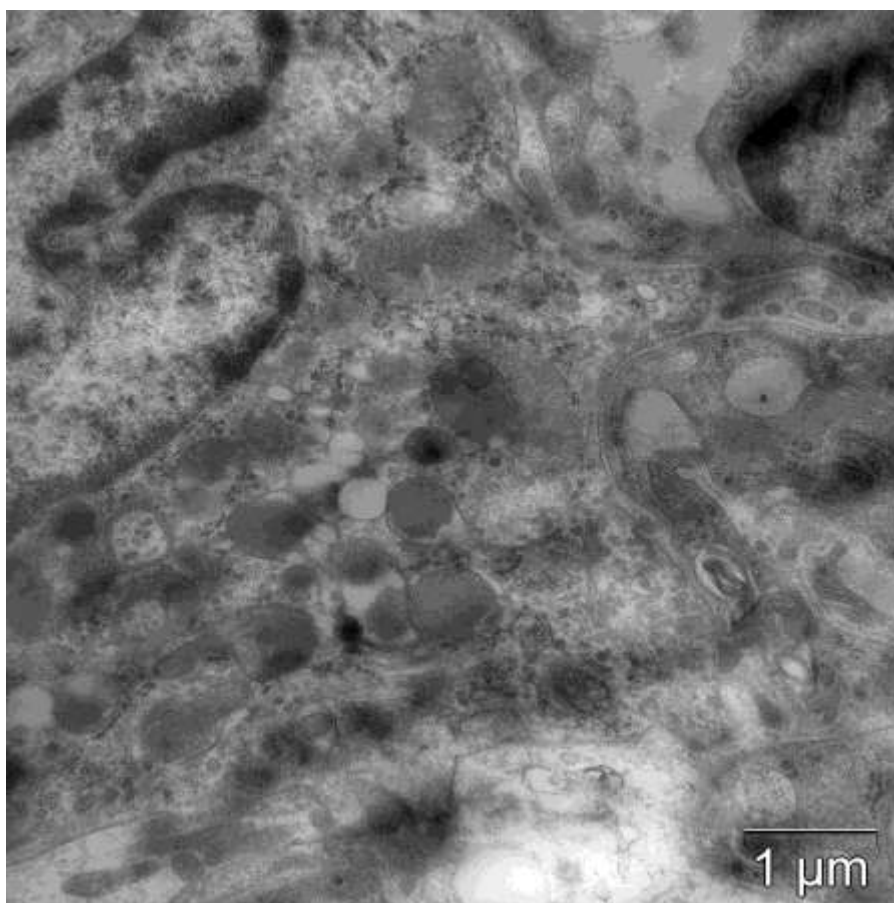


Рисунок 95 – Фрагмент макрофага в спайке брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки после лапаротомии. Трансмиссионная электронная микроскопия. Увеличение $\times 20\,000$

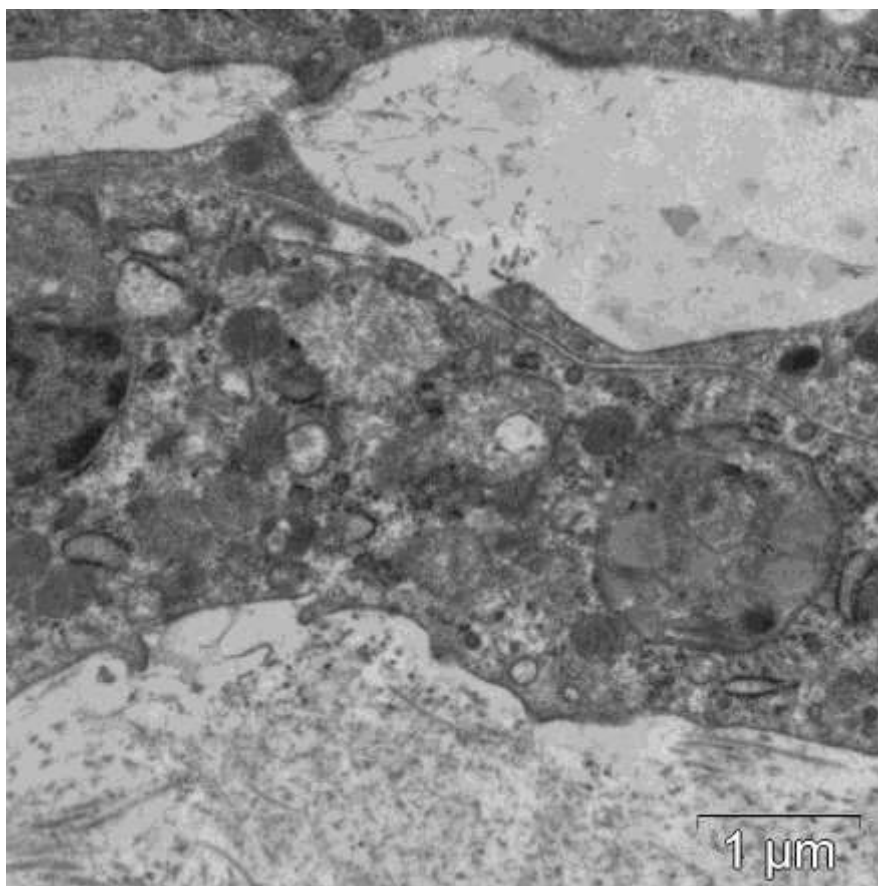


Рисунок 96 – Фрагмент макрофага в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки после лапаротомии. Трансмиссионная электронная микроскопия. Увеличение $\times 15\,000$

На 21-е сутки эксперимента возросла экспрессия Π -10 в макрофагах спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) 4,5 раза, а у животных 2-й группы (спайки + ОД) в 2,1 раза в сравнении с предыдущим периодом наблюдения. При этом величина исследуемого показателя была на 21-е сутки большей у животных 2-й группы (спайки + ОД) на 21 %.

Численная плотность (N_{ai}) макрофагов, экспрессировавших $TGF\beta$ у крыс 1-й группы (спайки) возросла к 21-м суткам эксперимента на 36 %, а у животных 2-й группы (спайки + ОД) не изменилась в сравнении с предыдущим периодом наблюдения. При этом величина исследуемого показателя была в 2 раза большей у животных 2-й группы (спайки + ОД) в сравнении с таковой у крыс 1-й группы (спайки) (см. Таблицу 39).

Таким образом у животных 1-й группы (спайки) на 21-е сутки эксперимента увеличилось количество макрофагов, экспрессирующих признаки M2 статуса, однако по-прежнему сохранялась высокая провоспалительная активность, в отличие от макрофагов 2-й группы (спайки + ОД), где провоспалительная активность возрастала, вероятно в связи с выведением к 21-м суткам ОД, но сохранялось большое количество клеток экспрессирующих фенотипически характерные для макрофагов M2 признаки.

Наличие клеток, экспрессирующих все перечисленные медиаторы в спайках у крыс 1-й (спайки) и 2-й (спайки + ОД) группы указывает на гетерогенность воспалительных инфильтратов, где присутствуют макрофаги как M1, так и M2 типа.

Исследовали экспрессию IFN γ , поскольку указанный фактор способствует поддержанию макрофагов в активированном состоянии, обладает провоспалительным эффектом и может экспрессироваться клетками инфильтратов, способствуя дифференцированию макрофагов в M1 статус, влияет на активность фагоцитоза макрофагами [Abramson S. L., Gallin J. I. *IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes [J]. Journal of Immunology, 1990, 144(2): 625-630.*]. Численная плотность (Nai) клеток, экспрессировавших IFN γ на 7-е сутки эксперимента была в 2 раза большей в макрофагах спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (спайки + ОД), но к 21-м суткам эксперимента не изменялась. Тогда как у животных 2-й группы (спайки + ОД) численная плотность клеток (Nai), экспрессировавших IFN γ к 21-м суткам эксперимента возросла в 3,2 раза в сравнении с предыдущим периодом исследования и была на 44,1 % большей, при сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (спайки).

Вероятно, более выраженная экспрессия IFN γ макрофагами спаек брюшной полости крыс 2-й группы (спайки + ОД) обуславливает высокую фагоцитозную активность. Однако, учитывая полученные нами данные о клеточном составе воспалительных инфильтратов в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы

(спайки + ОД), воздействие ОД на процесс формирования спаек ограничивает влияние IFN γ на провоспалительную активность макрофагов.

3.3.2.3 Исследование экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального и мезенхимаьно-эпителиального перехода в процессе фиброзирования спаек брюшной полости

Численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих Vimentin, у крыс 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки была в 2 раза меньше в сравнении с таковой в спайках у животных 1-й группы (спайки) (Таблица 40, Рисунок 97). Однако, численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих эпителиальные антигены E-cadherin и CK-18, у крыс 2-й группы (получавших ОД) на 7-е сутки была в 3,7 и в 9 раз меньше соответственно, чем величины аналогичных показателей у крыс 1-й группы (спайки) (Рисунки 98 и 99).

На 21-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих Vimentin и CK-18 у животных 1-й группы (спайки) уменьшилась на 34 % и 30 % соответственно в сравнении с величиной аналогичного показателя в предыдущем периоде исследования. Численная плотность (Nai) клеток, экспрессировавших E-cadherin не изменялась в спайках у крыс 1-й группы (спайки) в период с 7-х по 21-е сутки эксперимента.

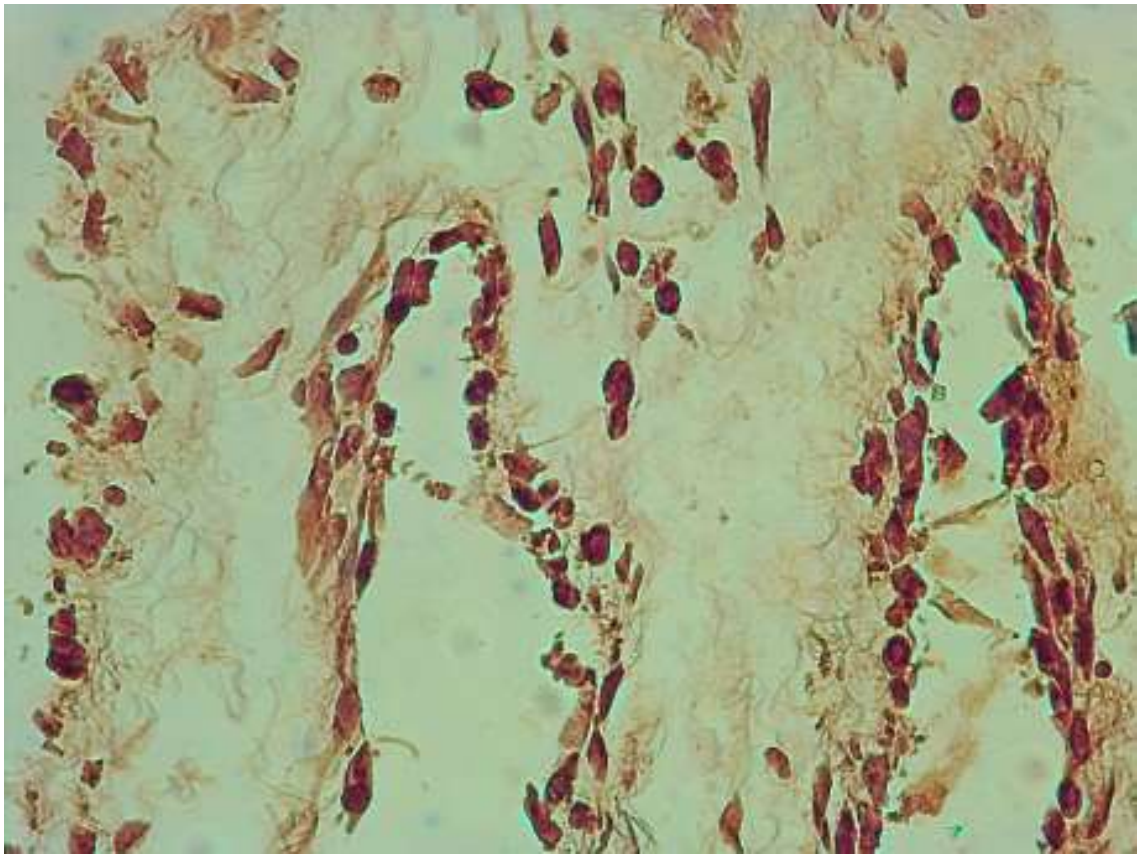


Рисунок 97 – Экспрессия Vimentin клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

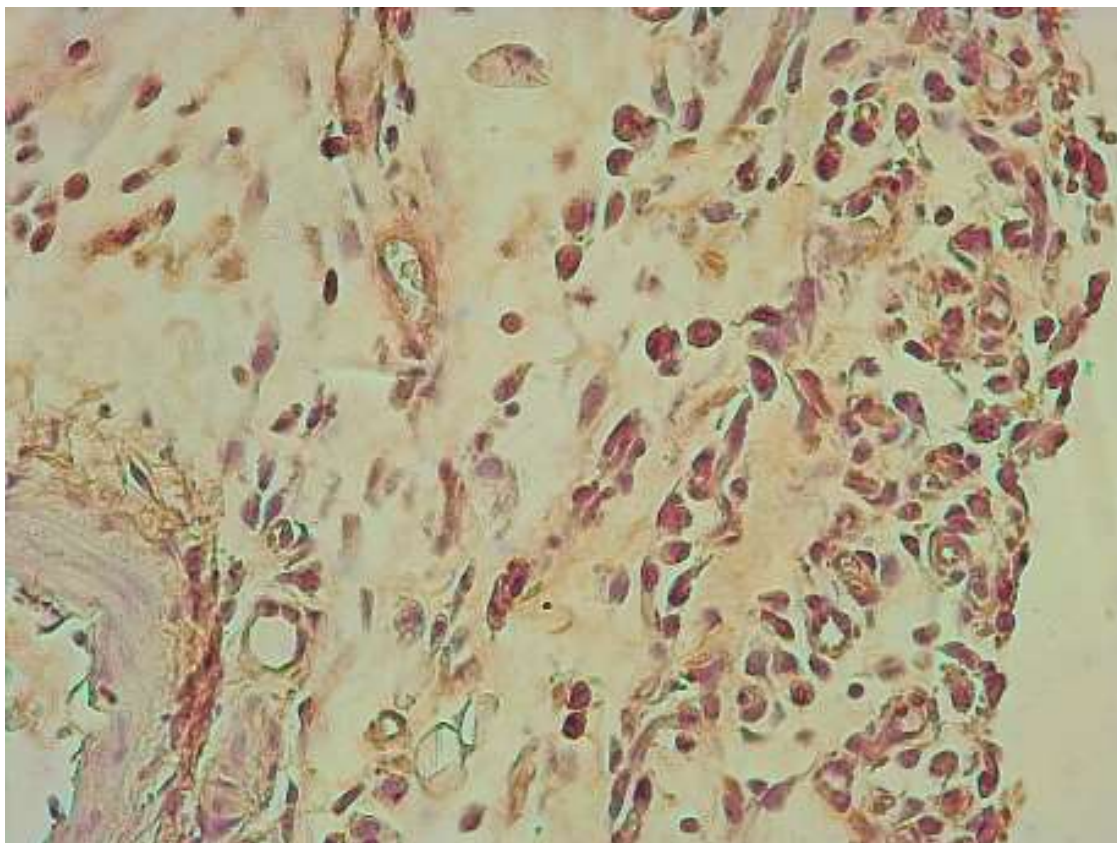


Рисунок 98 – Экспрессия E-cadherin клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

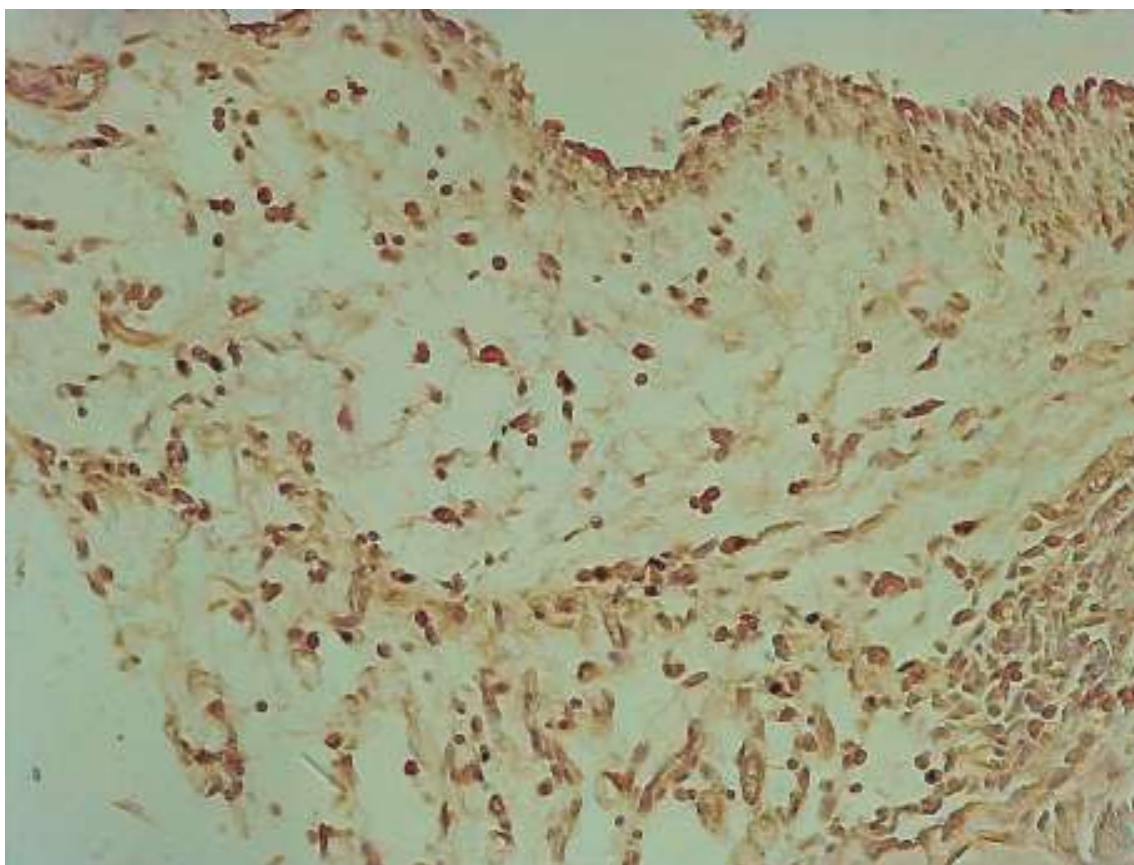


Рисунок 99 – Экспрессия СК-18 клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки).

Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином

У крыс 2-й группы (спайки + ОД) на 21-е сутки численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих Vimentin возросла на 37,8 %, а E-cadherin и СК-18 увеличилась в 3,3 и в 9,6 раз соответственно.

На 21-е сутки эксперимента численная плотность (Nai) клеток, экспрессировавших Vimentin и E-cadherin, у крыс в двух группах не отличалась, но численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих СК-18, у крыс 2-й группы (спайки + ОД) и была большей на 33 % в сравнении с таковой у животных 1-й группы (спайки) (Таблица 40).

Полученные данные указывают на проявления мезенхимально-эпителиального и эпителиально-мезенхимального перехода при формировании спаек и в ходе их фиброзирования у крыс 1-й группы (спайки) на 7-е и 21-е сутки.

У животных 2-й группы (спайки + ОД) воздействие ОД препятствует реализации мезенхимально-эпителиального и эпителиально-мезенхимального перехода на 7-е сутки, но на 21-е сутки, очевидно в связи с выведением ОД проявления мезенхимально-эпителиального перехода реализуются.

Таблица 40 – Численная плотность (N_{ai}) стромальных и мезотелиальных клеток, экспрессирующих маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, в спайках брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Исследуемый показатель.	Периоды наблюдения (сутки)	Исследуемые группы	
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)
Vimentin	7	$21,3 \pm 0,81$	$10,2 \pm 0,28^*$
	21	$14,0 \pm 0,94$	$16,4 \pm 0,58$
E-cadherin	7	$6,0 \pm 0,55$	$1,6 \pm 0,28^*$
	21	$6,9 \pm 0,42$	$5,3 \pm 0,57$
CK-18	7	$9,2 \pm 0,68$	$1,0 \pm 0,18^*$
	21	$6,4 \pm 0,46$	$9,6 \pm 0,65^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия величин показателей при сравнении между 1-й и 2-й группой животных, ($p < 0,01$).			

3.3.2.4 Исследование морфо-функционального состояния фибробластов и молекулярных механизмов преобразования внеклеточного матрикса при фиброзировании спаек в процессе их формирования в эксперименте

У крыс 1-й группы (спайки) коллагеновые волокна располагались хаотично в спайках, тогда как у животных 2-й группы (спайки + ОД) обнаруживали более упорядоченное расположение и в меньшем количестве, более тонких коллагеновых волокон на 7-е и 21-е сутки эксперимента. Эти данные подтвердились при электронно-микроскопическом исследовании, в результате которого обнаруживали меньшее количество более редко расположенных

коллагеновых волокон у крыс 2-й группы (спайки + ОД), в том числе на 21-е сутки эксперимента, в отличие от коллагеновых волокон у крыс 1-й группы (спайки), где волокна располагались плотно, формировали в некоторых участках параллельные компактные структуры (Рисунки 100 и 101). Кроме того, у крыс 2-й группы (спайки + ОД) обнаруживали на 7-е и 21-е сутки эксперимента скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе (Рисунки 102 и 103).

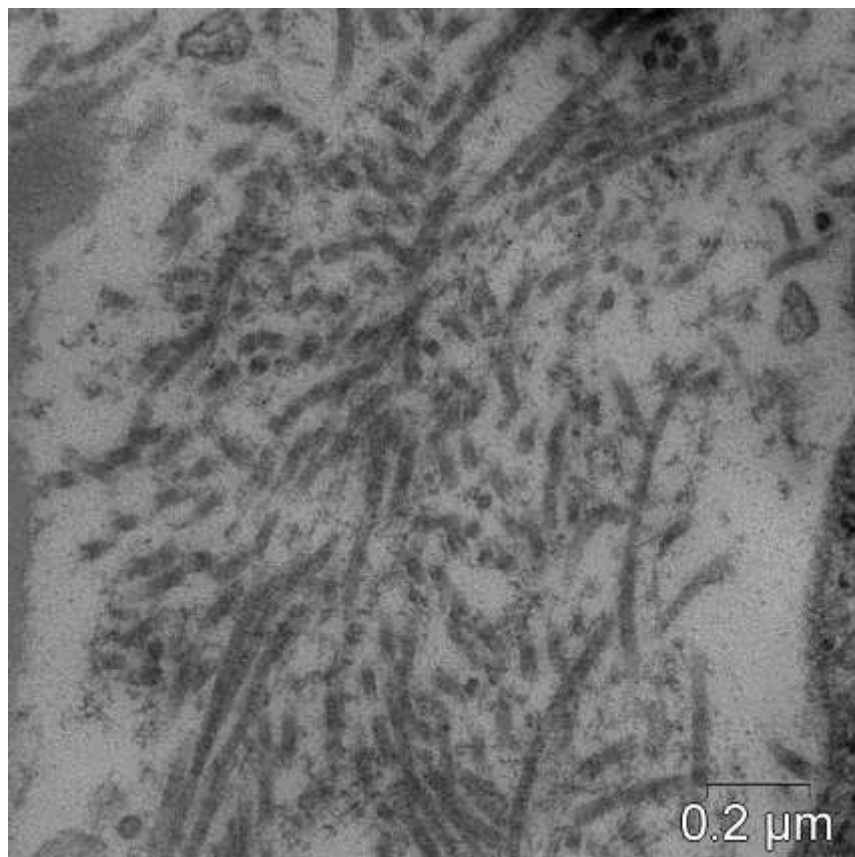


Рисунок 100 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента. Видны коллагеновые волокна, расположенные разнонаправленно во внеклеточном матриксе. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$

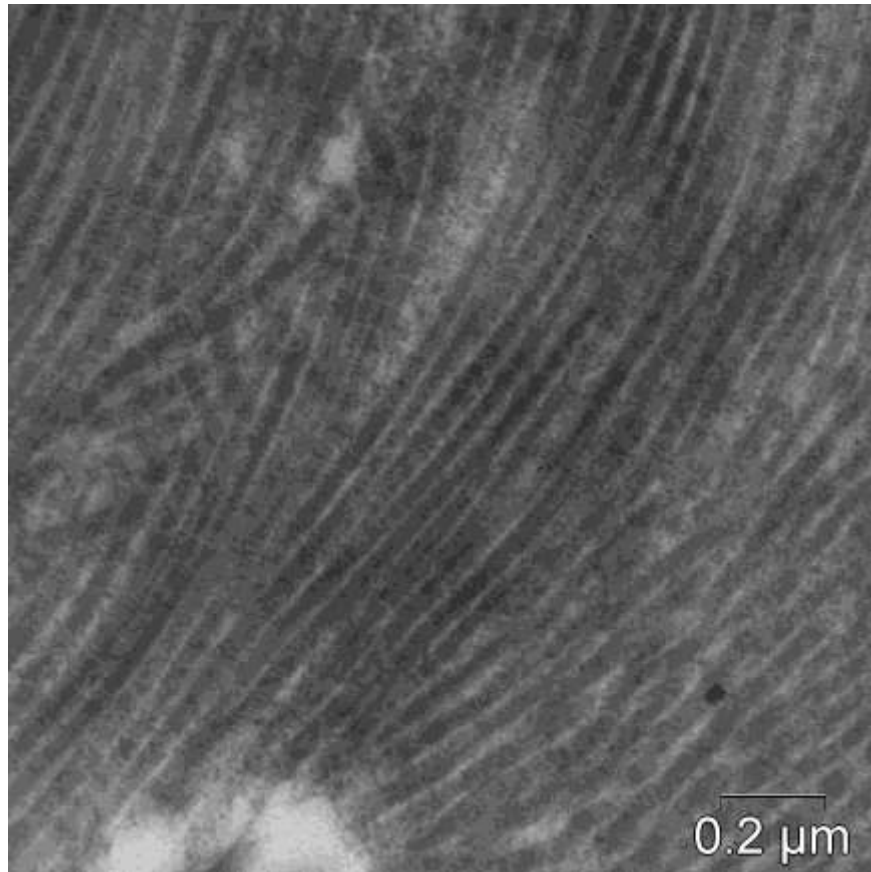


Рисунок 101 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) на 21-е сутки эксперимента. Видны компактно-расположенные переплетающиеся коллагеновые волокна.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$

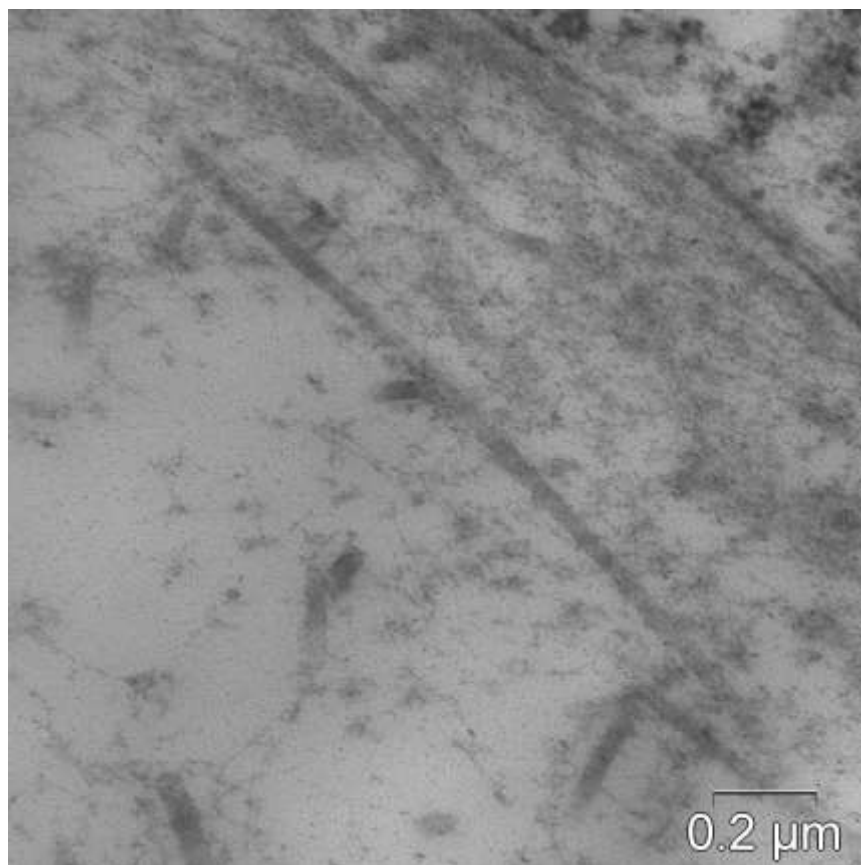


Рисунок 102 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Малое количество тонких коллагеновых волокон, скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$

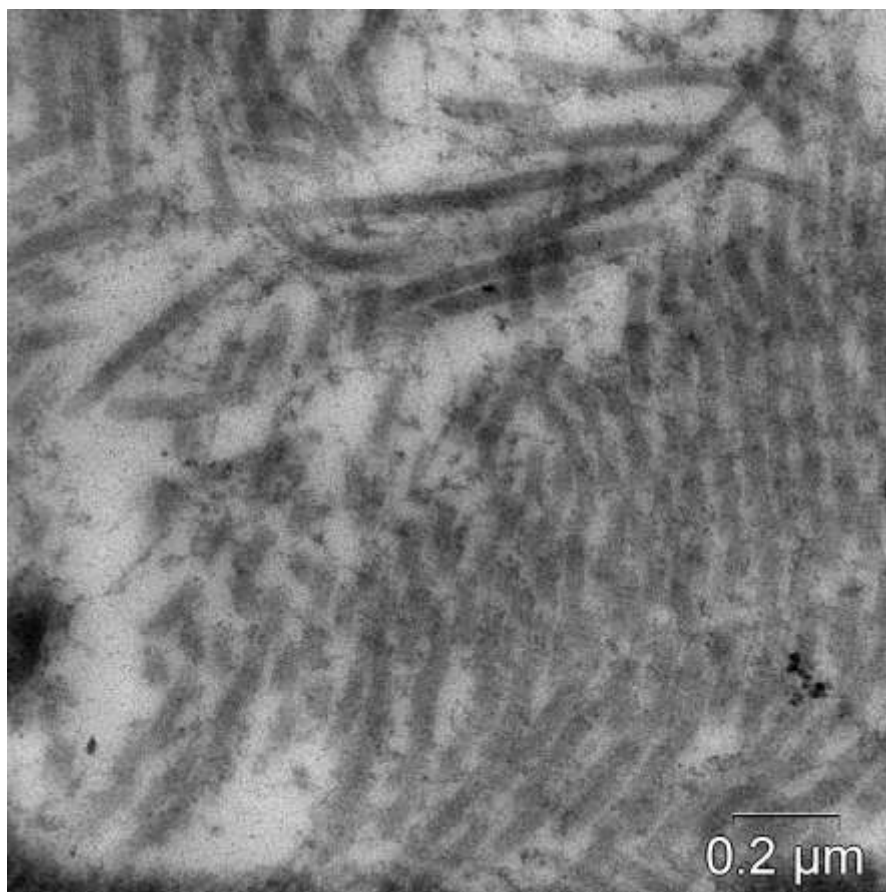
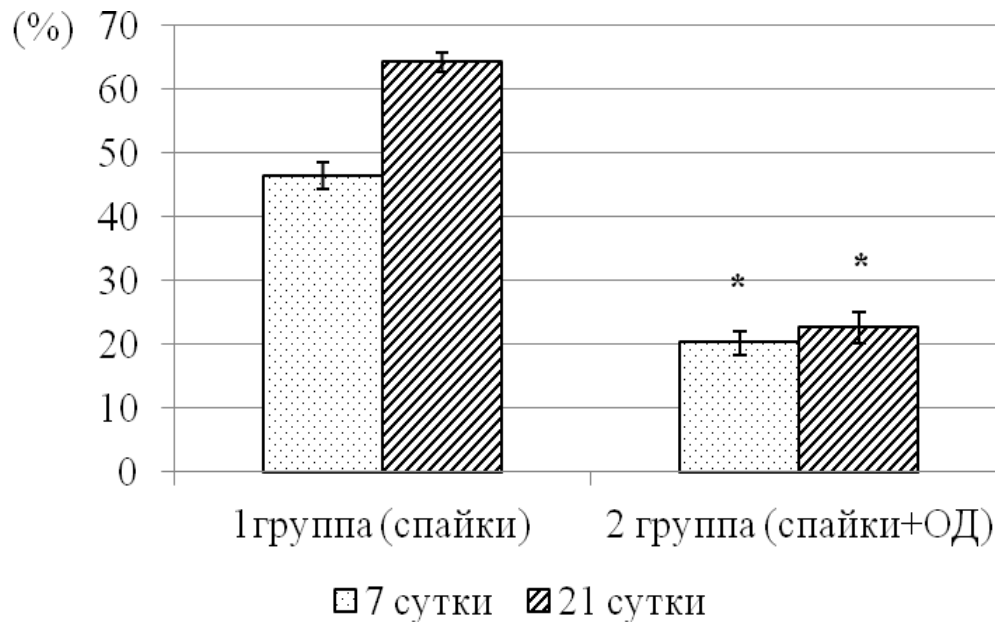


Рисунок 103 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 21-е сутки эксперимента, тонкие коллагеновые волокна, скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$

При иммуногистохимическом исследовании спаек брюшной полости крыс обнаруживали отложение коллагена 1 типа. У крыс 2-й группы (спайки + ОД) объёмная плотность (Vv) коллагена 1 типа была в 2,3 и 2,8 раз меньшей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й группы (спайки) на 7-е и 21-е сутки эксперимента соответственно. При этом объёмная плотность коллагена 1 типа в период с 7-х по 21-е сутки у крыс 2-й группы (спайки + ОД) не изменялась, а у животных в 1-й группе (спайки) увеличилась в 1,4 раза (Рисунок 104).



Примечание – * отмечены достоверные отличия величин показателей при сравнении между 1-й и 2-й группой животных, ($p < 0,005$).

Рисунок 104 – Объёмная плотность (Vv) коллагена 1 типа в спайках брюшной полости у крыс и при воздействии ОД, ($M \pm m$)

В процессе обмена коллагена в спайках брюшной полости играют роль процессы фагоцитоза коллагеновых волокон, поскольку при проведении электронно-микроскопического исследования обнаруживали в фибробластах проявления процесса погружения скоплений коллагена в цитоплазму макрофагов и формирование фагосом, содержащих коллаген (Рисунок 105).

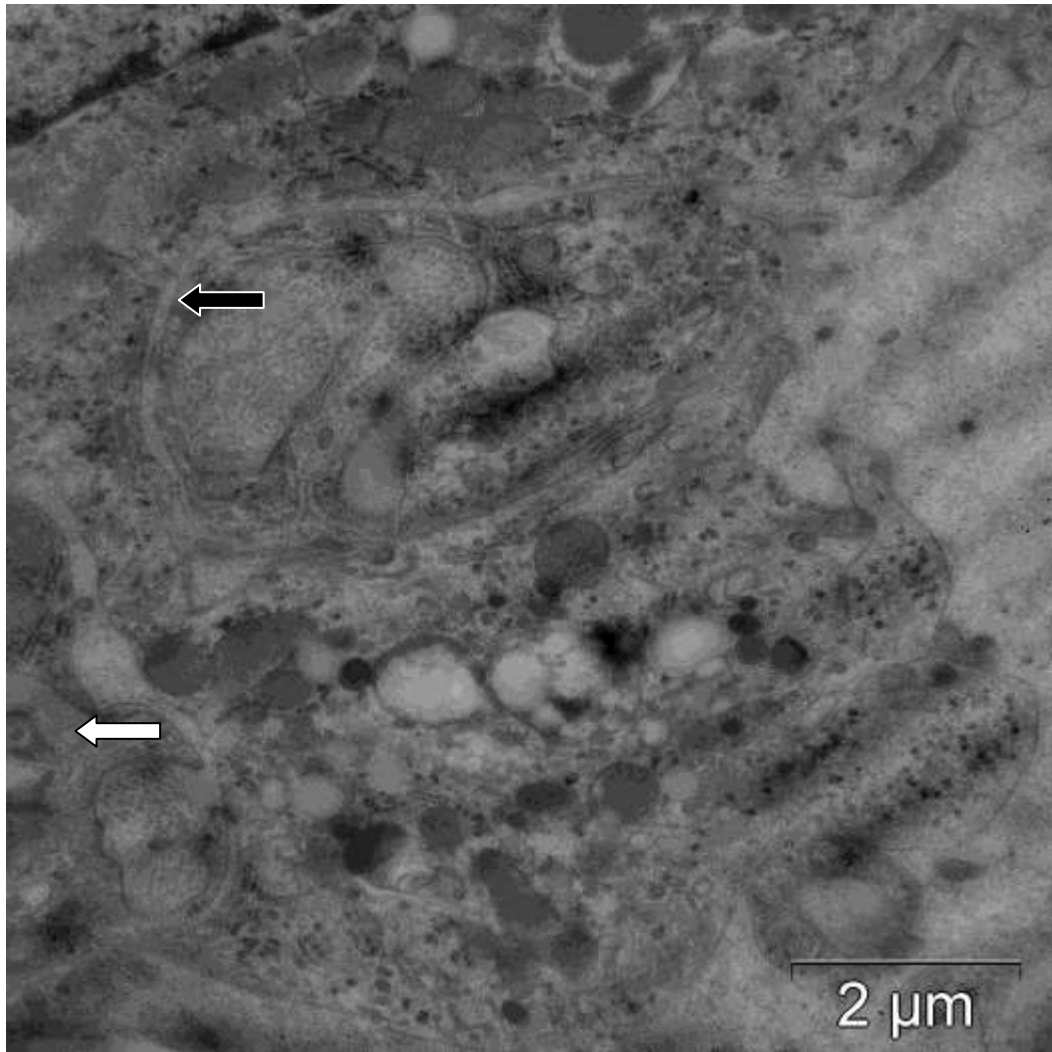


Рисунок 105 – Поглощение коллагена макрофагом (белая стрелка), сформированная фагосома в цитоплазме макрофага (черная стрелка) в спайке брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$

Численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих *Timpr1* и *Mmp9*, возрастала с 7-х по 21-е сутки в спайках у крыс в обеих исследуемых группах, различий величин показателей между группами не обнаруживали. Численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих *FGF* на 7-е сутки эксперимента у крыс в обеих группах не отличалась. К 21-м суткам эксперимента численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих *FGF* возросло в спайках у животных в 1-й группе (спайки) в 1,6 раз, а у крыс 2-й группы (спайки + ОД) уменьшилось в 1,8 раз в

сравнении с предыдущим периодом исследования. При этом численная плотность (Nai) клеток, экспрессирующих FGF у животных 1-й группы (спайки) было в 3,1 раз большим в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных во 2-й группе (спайки + ОД) (Таблица 41).

Таблица 41 – Численная плотность (Nai) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих Mmp9, Timp1, FGF при формировании спаек брюшной полости у крыс и воздействии окисленным декстраном ($M \pm m$)

Величина исследуемого показателя	Время с момента лапаротомии (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)
Timp1	7	$2,6 \pm 0,32$	$2,9 \pm 0,31$
	21	$12,2 \pm 0,56$	$12,5 \pm 0,74$
Mmp9	7	$2,9 \pm 0,34$	$2,4 \pm 0,34$
	21	$13,3 \pm 0,62$	$10,1 \pm 0,61^*$
FGF	7	$7,7 \pm 0,62$	$7,2 \pm 0,50$
	21	$12,1 \pm 0,58$	$3,9 \pm 0,31^*$
Примечание – * отмечены достоверные отличия между величинами показателей 1-й и 2-й группы, ($p < 0,01$).			

Отсутствие отличий в экспрессии регулирующих обмен коллагена факторов указывает на нарушение процесса коллагенообразования фибробластами.

Обнаружили отличия толщины коллагеновых волокон. У крыс 2-й группы (спайки + ОД) коллагеновые волокна были на 10 % к 7-м сутками и на 22,1 % к 21-м суткам тоньше в сравнении с таковыми у животных 1-й группы (спайки). При этом толщина коллагеновых волокон не изменялась на протяжении эксперимента у крыс 2-й группы, а у животных 1-й группы (спайки) толщина коллагена увеличилась на 8,4 % в период с 7-х по 21-е сутки. При электронно-микроскопическом исследовании обнаруживали скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе у крыс 2-й группы (спайки + ОД). Кроме того, тропоколлаген накапливался в вакуолях цитоплазмы фибробластов у

крыс 2-й группы (спайки + ОД), их размеры были большими во все периоды исследования в сравнении с размерами аналогичных клеток в спайках у животных 1-й группы (спайки), а ядерно-цитоплазматическое соотношение было смещено в сторону цитоплазмы у крыс 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е и 21-е сутки. Размеры ядер фибробластов во все периоды эксперимента не отличались в исследуемых группах (Таблица 42, Рисунок 106).

Таблица 42 – Результаты электронно-микроскопического исследования коллагена и фибробластов в спайках у крыс и при воздействии окисленным декстраном, (Me (Q1; Q3))

Средний размер структур	Период после лапаротомии (сутки)	Исследуемые группы			
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)	P-значение	3-я группа (интактные животные)
Толщина коллагеновых волокон (Нм)	7 сутки	32,5 (30,9; 37,4)	29,9 (26,3; 34,8)	0,000297	28 (26,2; 34,9)
	21 сутки	37,4 (34,1; 41,5)	29,3 (26,2; 32,8)	0,000001	
Диаметры фибробластов (мкм)	7 сутки	12,3 (9,7; 16,2)	18,5 (11,8; 27,5)	0,059319	6,8 (6,3; 5,7)
	21 сутки	12 (11,2; 12,6)	16 (14,4; 18,0)	0,000196	
Диаметры ядер фибробластов (мкм)	7 сутки	6,8 (6,1; 10,6)	9,3 (8,0; 11,4)	0,247752	4,8 (4,0; 5,7)
	21 сутки	7,9 (7,0; 9,3)	6,8 (5,8; 7,9)	0,370503	
Соотношение ядра и цитоплазмы в фибробластах	7 сутки	0,6 (0,5; 0,7)	0,4 (0,3; 0,7)	0,100489	0,75 (0,7; 0,8)
	21 сутки	0,7 (0,6; 0,8)	0,4 (0,3; 0,5)	0,000298	

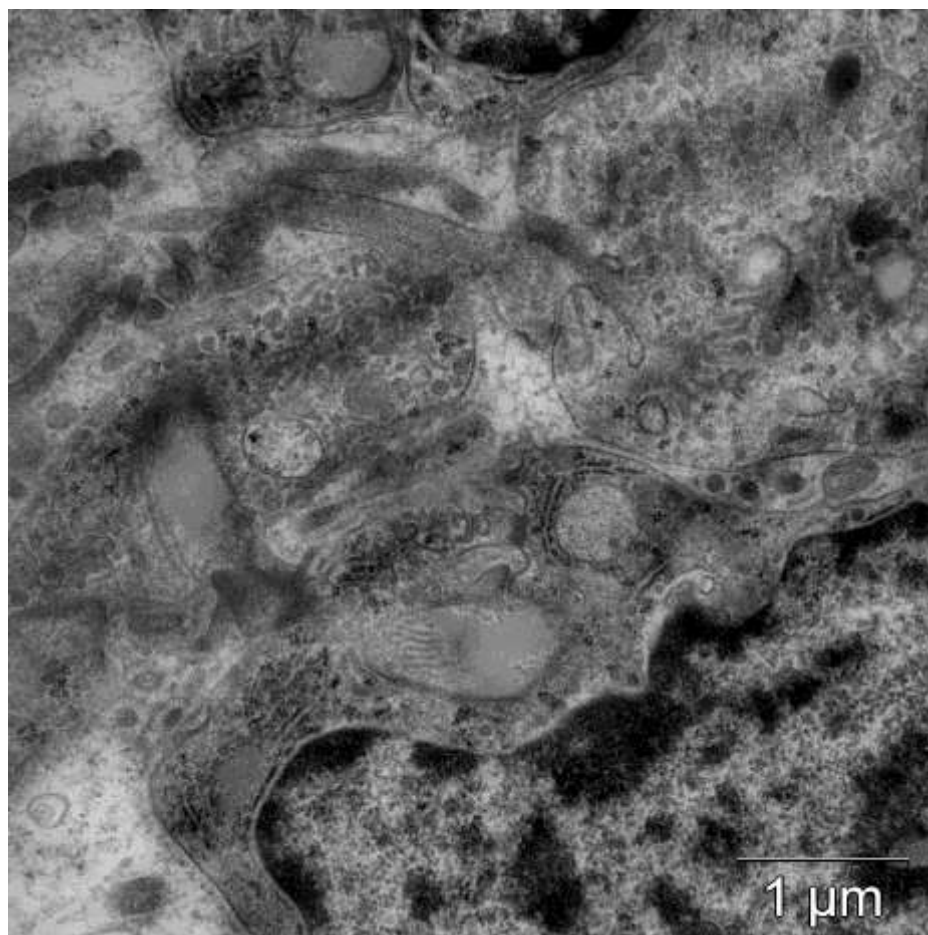
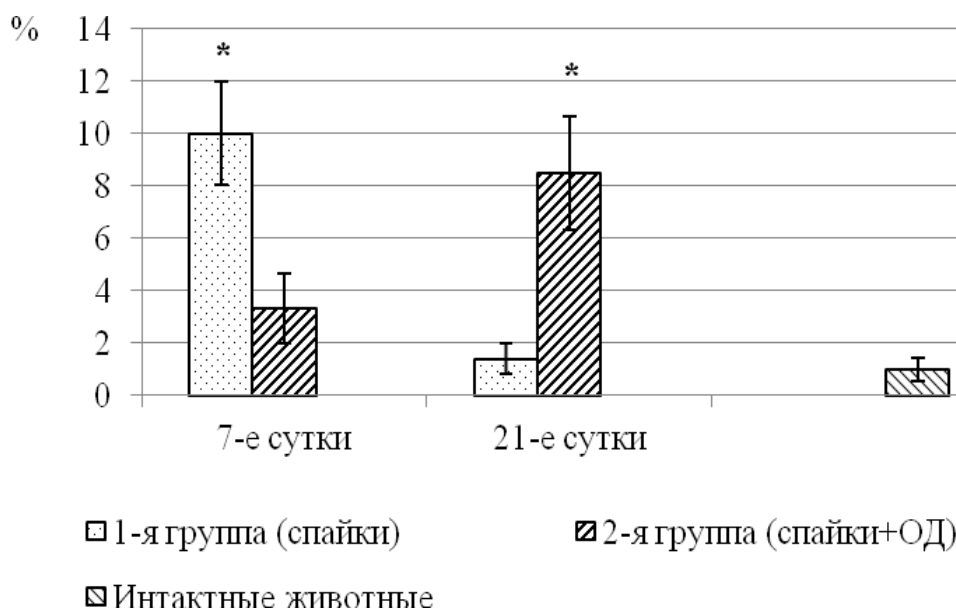


Рисунок 106 – Электронограмма фибробласта спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Цитоплазма выражена, содержит вакуоли. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 40\,000$

Учитывая данные, указывающие на увеличение размеров и численной плотности фибробластов в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД), получавших ОД, увеличение экспрессии профибротических медиаторов, сочетавшимися с отложением меньшего объёма коллагена в сравнении с таковым у животных 1-й группы (спайки), исследовали некоторые ультраструктуры фибробластов с целью уточнения функциональной активности фибробластов.

Обнаружили, что объёмная плотность (V_v) вакуолей в фибробластах спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) и 2-й группы (спайки + ОД) была

большей в сравнении с фибробластами у интактных животных. Величина исследуемого показателя у крыс 1-й группы (спайки) была в 3 раза меньшей в сравнении с таковой у животных, получавших ОД (2-я группа) на 7-е сутки эксперимента. Объёмная плотность (V_v) вакуолей, содержащих тропоколлаген, уменьшалась у крыс 1-й группы (спайки) к 21-м суткам эксперимента в 7 раз, тогда как у животных 2-й группы (спайки + ОД) величина исследуемого показателя увеличивалась у животных 2-й группы (спайки + ОД) в 2,6 раз в аналогичный период исследования. Таким образом, объёмная плотность (V_v) вакуолей, содержащих тропоколлаген у крыс 1-й группы (спайки) на 21-е сутки была в 6 раз меньшей в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД во 2-й группе (Рисунок 107). Очевидно, тропоколлаген выводился из фибробластов у крыс 1-й группы (спайки) во внеклеточный матрикс более активно, тогда как у животных 2-й группы (спайки + ОД) напротив – накапливался.



Примечание – * отмечены достоверные отличия между величинами показателей 1-й и 2-й группы, ($p < 0,005$).

Рисунок 107 – Объёмная плотность (V_v) вакуолей в цитоплазме фибробластов в спайках брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Фибробласты спаек брюшной полости сохраняли высокую активность у крыс в обеих группах во все периоды исследования, поскольку объёмная плотность (V_v) ЭПР была более чем в 2,1 раз большей в фибробластах спаек брюшной полости у крыс обеих групп в сравнении с величиной аналогичного показателя в фибробластах интактных животных. На 7-е сутки эксперимента объёмная плотность (V_v) ЭПР в фибробластах спаек брюшной полости не отличалась у крыс 1-й (спайки) и 2-й группы (спайки + ОД) (Рисунок 108).

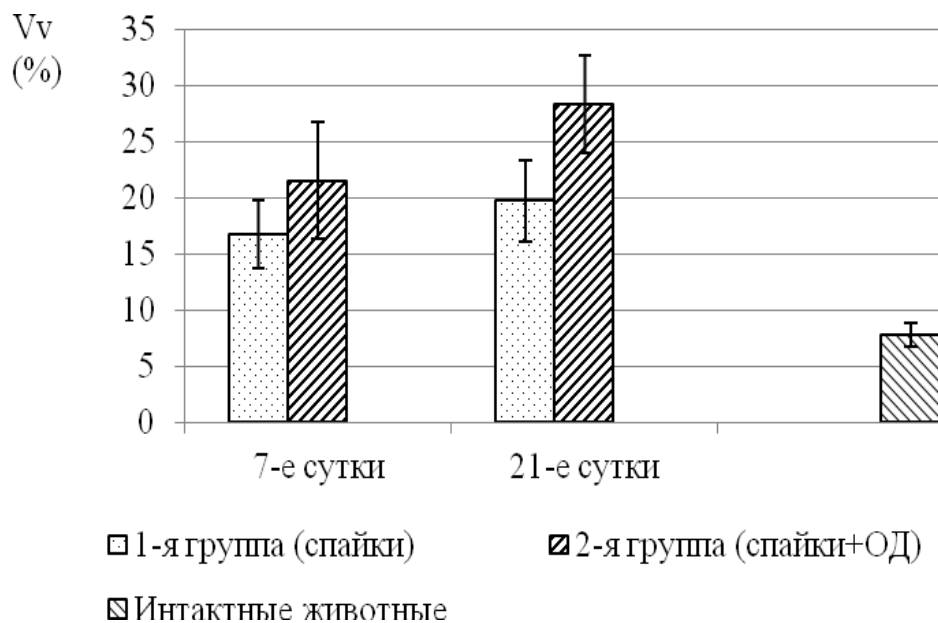


Рисунок 108 – Объёмная плотность (V_v) ЭПР в фибробластах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)

Объёмная плотность (V_v) ЭПР не изменялась к 21-м суткам у животных обеих групп, однако в фибробластах спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) объёмная плотность (V_v) ЭПР была на 21-е сутки эксперимента на 30 % меньшей в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы (спайки + ОД).

На 7-е сутки эксперимента в спайках крыс 2-й группы обнаруживали плотные контакты между фибробластами и макрофагами (Рисунок 109).

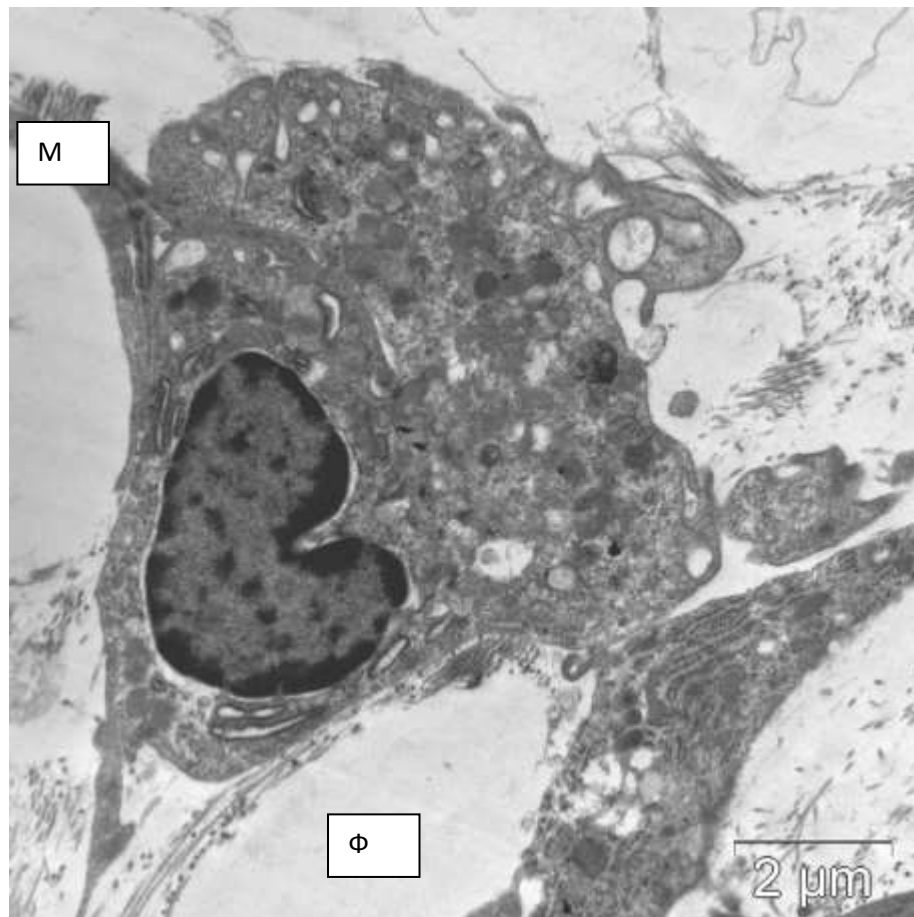


Рисунок 109 – Контакт фибробласта (Ф) и макрофага (М) в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$

При этом на 21-е сутки эксперимента ядра в части фибробластов у крыс 2-й группы (спайки + ОД) не обнаруживали, цитоплазма таких фибробластов содержала большое количество вакуолей с тропоколлагеном, выраженный эндоплазматический ретикулум, их окружали крупные макрофаги, цитоплазма которых содержала вакуоли с фрагментами цитоплазмы фибробластов (Рисунок 110).

В крупных фибробластах возникал апоптоз, поскольку в таких фибробластах обнаруживали экспрессию p53 (Рисунок 111).

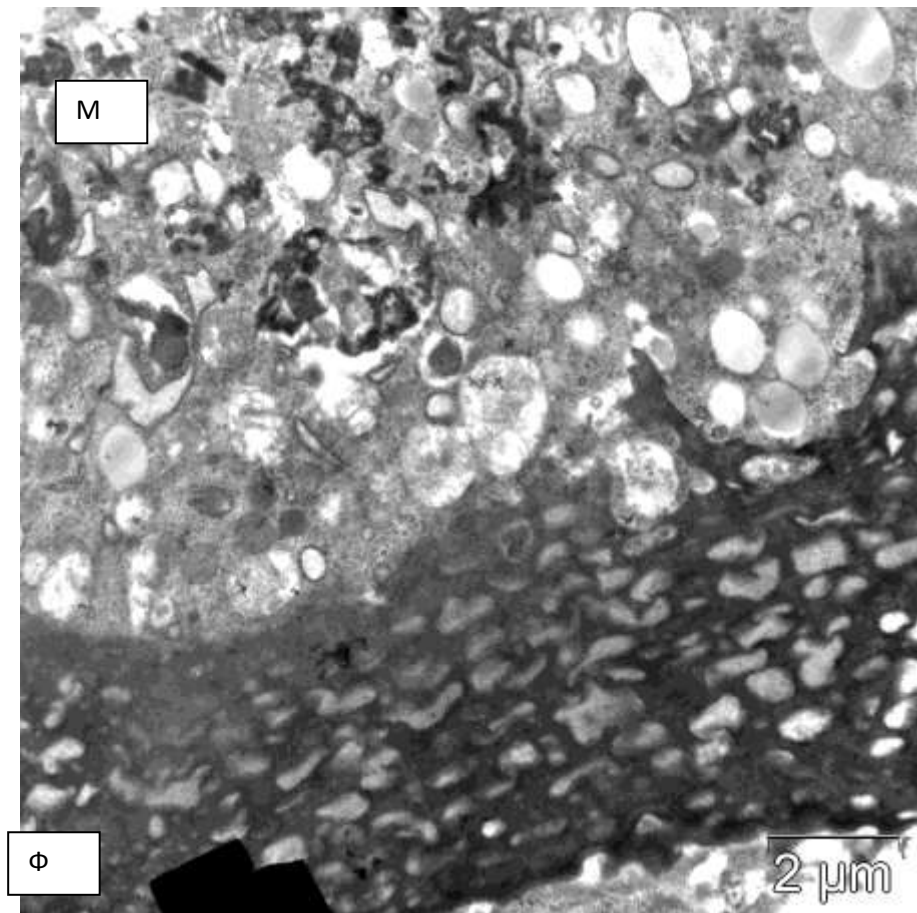


Рисунок 110 – Ультраструктура фибробластов и макрофагов в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 21 сутки эксперимента: отсутствие ядра и наличие тропоколлагена в цитоплазме фибробласта (Ф), в цитоплазме макрофага (М) выражены лизосомальный аппарат и шероховатый ретикулум, содержатся фагосомы с фрагментами фибробласта и тропоколлагеном.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$

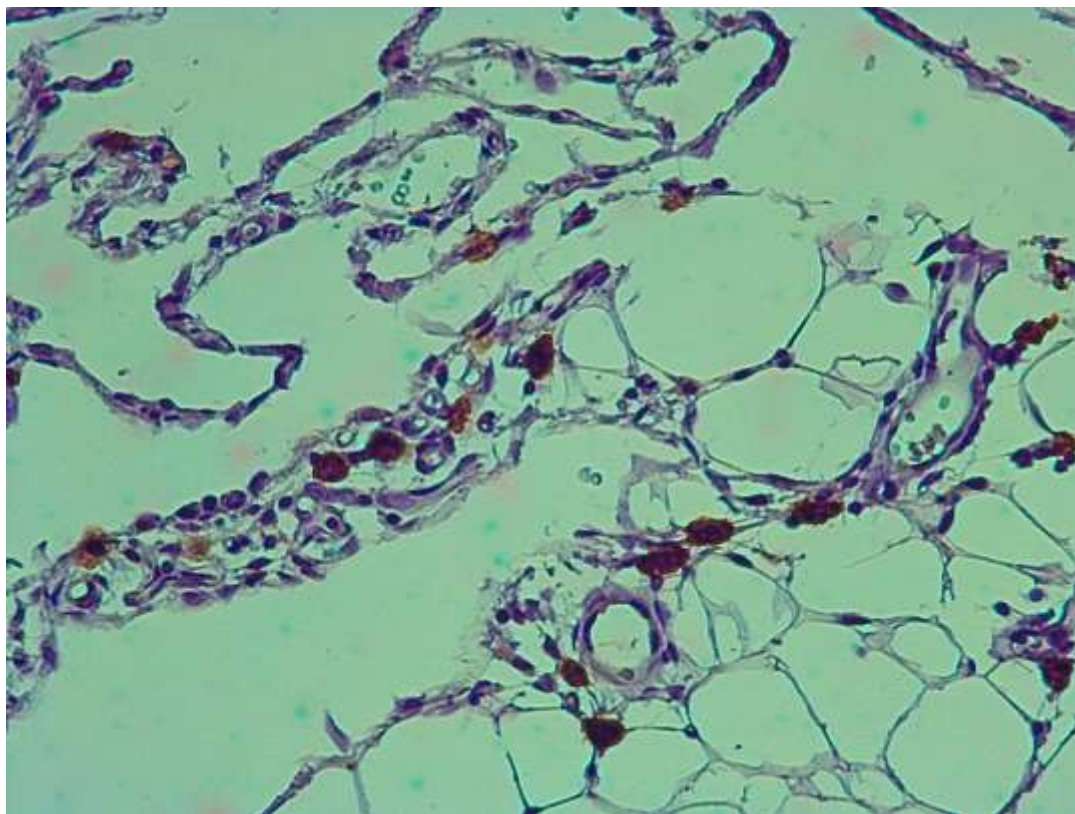


Рисунок 111 – Экспрессия p53 в фибробластах спаек брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином, стандартным методом

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Морфогенез фиброза при термическом ожоге кожи 3Б степени и воздействии на процесс образования рубца окисленным декстраном

Полученные в результате проведенного исследования данные демонстрируют уменьшение площади ожогового дефекта с 14-х суток при спонтанном заживлении дефекта кожи, однако элиминация некротических масс из области ожога отставала от темпов сокращения площади дефекта, что вероятно было связано с выраженной экссудативной воспалительной реакцией в области повреждения, поскольку при повреждении тканей, в том числе при ожоге, происходит выброс провоспалительных цитокинов, а так же ферментов лизосом прибывающих в очаг повреждения фагоцитов [49; 105; 129]. Происходит повреждение окружающих очаг некроза тканей собственными ферментами лейкоцитов, развивается вторичная альтерация [53; 105; 182]. Возникновение явления вторичной альтерации затрудняет регенерацию поврежденных структур и эпителизацию дефекта кожи [182]. Это подтверждается слабо выраженной динамикой сокращения площади ожоговой раны, глубины зоны некроза у крыс 1-й группы до 14-х суток включительно. Однако на 21-е сутки глубина зоны некроза у крыс 1-й группы уменьшилась в 4,5 раза, а площадь ожога уменьшилась на 59 % в сравнении с исходной площадью ожога на 1-е сутки, а наиболее активное сокращение площади пришлось на период с 14-х по 21-е сутки, что совпадало с динамикой уменьшения глубины некроза. Chen L. et al. (2019) обнаруживали схожие результаты заживления ожоговой травмы с формированием гипертрофического рубца обнаруживали [238].

Отторжению некротических масс, по-видимому, способствовало демаркационное воспаление, характер которого изменялся на протяжении эксперимента, уменьшалась численная плотность нейтрофилов, а макрофагов – увеличивалась, что в конечном итоге способствовало «очищению» области ожога

от некротических масс путем их фагоцитоза, несмотря на явления вторичной альтерации, сокращению площади ожога к 21-м суткам.

Известно, что макрофаги не только фагоцитируют, находясь в очаге повреждения, но и продуцируют медиаторы различной направленности (про- и противовоспалительные, прорегенераторные), участвуют в процессе замещения некроза соединительной тканью, регулируя процессы фиброза [105; 129; 154; 252]. Регуляция фиброза макрофагами осуществляется путем продукции медиаторов, таких как $\text{TNF}\alpha$, ИЛ-1, $\text{TGF}\beta$, FGF, VEGF и другие, таким образом, моноклеарные фагоциты оказывают стимулирующее воздействие на фибробласты, синтезирующие коллаген и некоторые компоненты внеклеточного матрикса [67; 144; 154; 157; 220]. В проведенном эксперименте полученные данные демонстрируют увеличение содержания макрофагов и фибробластов в инфильтратах кожи крыс в области ожога на протяжении эксперимента. Таким образом, можно предположить о M2 статусе макрофагов, обладающих прорегенераторным потенциалом и характерной продукцией и экспрессией таких медиаторов как $\text{TGF}\beta$, IL-10, способствуя пролиферации фибробластов и синтезу коллагена [67; 252].

Однако к 21-м суткам, конечного формирования рубца и эпителизации область дефекта не достигала у крыс 1-й группы, а была частично эпителизирована, замещена соединительной тканью, образующей плотный по консистенции рубец, струп частично сохранялся, а в клеточном воспалительном инфильтрате сохранялось присутствие нейтрофилов, а следовательно и макрофаги должны сохранять статус M1, но вопрос о функциональном статусе макрофагов при ожогах противоречив [241]. С одной стороны присутствие в очаге повреждения нейтрофилов характеризует M1 статус, а постепенная элиминация клеток после апоптоза, в частности макрофагов, нейтрофилов и фибробластов способствует проявлению прорегенераторного и противовоспалительного (M2) субтипа макрофагов. Существует точка зрения, что макрофаги, находящиеся в очаге повреждения могут проявлять статус M1 и при необходимости его сменять на M2 статус, в равной степени и реверсировать в статус M1 [122; 192; 241; 252].

Учитывая полученные в ходе эксперимента данные, не исключено присутствие в очаге воспаления одновременно нескольких субтипов макрофагов, что в свою очередь предполагает гетерогенность популяции макрофагов в области рубцующегося ожога.

У животных 2-й группы область ожога, в отличие от таковой у крыс 1-й группы, была меньшей более чем в 3 раза. За время эксперимента обращало на себя внимание более раннее отторжение струпа по краям дефекта, которое начиналось с 7-х суток и становилось более выраженным на 10-е сутки, эксперимента, позже струп полностью отторгался. Очевидно, воздействие ОД на процесс «заживления» ожоговой травмы приводило к более раннему (на 10-е сутки) отторжению некротических масс, поскольку численная плотность нейтрофилов в первые 5 суток после нанесения ожога, была большей в сравнении с таковой у животных 1-й группы. Однако присутствие в воспалительном инфильтрате большего числа нейтрофилов не сопровождалось формированием большей глубины некроза, при сравнении с таковой у крыс 1-й группы. Вероятно, более выраженная экссудация, первые 5 суток после нанесения ожога кожи у животных 2-й группы, способствовала началу отторжения струпа в связи с выбросом лейкоцитарных протеаз, дренированию области ожога из-под отторгающегося струпа, таким образом, концентрация и объём ферментов нейтрофилов оказывали в меньшей степени влияние на окружающие ткани.

К свойствам ОД относится способность стимулировать процессы фагоцитоза клетками системы мононуклеарных фагоцитов, кроме того ОД способствует увеличению количества лизосом, что приводит к более эффективному фагоцитозу начиная с первых суток эксперимента в сравнении с контрольными животными 1-й группы [23; 30]. Однако динамика смены клеточного состава воспалительного инфильтрата была схожа с таковой у животных 1-й группы: численная плотность нейтрофилов на протяжении эксперимента уменьшалась, а макрофагов и фибробластов – увеличивалась. Более очевидные проявления способности ОД стимулировать фагоциты реализовались в проведенном эксперименте на 14-е и 21-е сутки, так как количество макрофагов и

фибробластов в воспалительных инфильтратах у крыс 2-й группы было большим в сравнении с таковым у животных 1-й группы.

Более быстрое «очищение» области повреждения кожи завершалось сокращением площади дефекта и его эпителизацией, образованием меньшего по площади и более эластичного на ощупь рубца в сравнении с таковым у животных 1-й группы. Оставалось не ясным, каким образом у животных 2-й группы увеличение количества фибробластов связано с более ранним (в сравнении с ожоговой раной у крыс 1-й группы) отторжением струпа, учитывая, что глубина некроза не отличалась от таковой у животных 1-й группы, сопровождалось формированием меньшего по своей площади и более эластичного рубца.

Вероятно, отторжению струпа способствовала пролиферация эпителия в краях ожогового дефекта, которая сопровождалась формированием очагов гиперплазии эпителия по краям дефекта, а так же «наползанием» тонкого пласта эпителия от периферии ожога к центральной части дефекта. У животных 2-й группы обнаруживали подобные проявления уже на 5-е и 7-е сутки, более выраженные проявления эффекта «наползания» эпителия на область дефекта под струпом проявлялись на 10-е сутки, что совпадало с явлением отторжения струпа [64; 221]. Таким образом, у животных 2-й группы, по видимому, трофические условия в большей степени соответствовали пролиферации эпидермиса, способствовали эпителизации дефекта, в отличие от трофики области ожога у крыс 1-й группы [173; 221].

Исходя из данных литературы, активированные макрофаги могут находиться в разном функциональном статусе, поддерживающим воспаление (M1 статус) или обеспечивающим регенерацию, процесс фиброзирования органов и тканей (M2 статус) [43; 144; 252]. Полученные в ходе эксперимента результаты могут указывать на изменение функционального статуса макрофагов при воздействии ОД в пользу M2 фенотипа, который характеризуется усилением экспрессии таких факторов как ИЛ-10, TGF β , IFN γ [96; 153]. В свою очередь, гиперэкспрессия TGF β связана с еще одним механизмом, возможно участвующим в формировании меньшей площади рубца при воздействии ОД –

эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП), реализующимся с участием фагоцитов, демонстрирующих М2 статус [43; 137; 232].

Для уточнения морфогенеза фиброзирования рубца кожи в исходе повреждения термического характера был проведен дополнительный эксперимент, результаты которого изложены в следующем подразделе.

4.1.1 Применение композиции на основе окисленного декстрана при формировании рубца после термического ожога кожи 3Б степени

При повторном эксперименте с ожогом кожи 3Б степени, область ожога путем орошения, обрабатывали композицией лекарственных средств, основой был раствор окисленного декстрана, к которому добавили антибактериальное средство и анестетик. В результате, на протяжении эксперимента темпы сокращения дефекта кожи и заживления дефекта имели сходство с таковыми в предшествующем эксперименте, обсуждавшемся в предыдущем подразделе. Наиболее выраженное сокращение площади дефекта у крыс во всех исследуемых группах было обнаружено на 21-е сутки эксперимента, процесс характеризовался образованием рубца. При этом у животных 1-й и 3-й группы до 32 суток включительно площадь дефекта не изменялась. Наличие участков сохраняющегося струпа у части животных свидетельствует о незавершенности процесса формирования рубца и заживления дефекта. У крыс 2-й группы при воздействии ОД на регенерирующий ожог 3Б степени, процесс сопровождался уменьшением площади послеожогового дефекта и после 21-х суток, в отличие от области ожогов у животных двух других групп, что указывает на явный противорубцовый эффект ОД, а наличие в составе композиции антибактериального средства и анестетика существенно не повлияло на динамику процесса регенерации кожи и формирования рубца, поскольку темпы заживления ожогового дефекта, включая сроки отторжения струпа, и образования рубца не отличались от таковых в эксперименте с ожогом кожи № 1, где был использован простой водный раствор ОД без дополнительных компонентов. Таким образом,

нервная трофика в использованной экспериментальной модели не влияла на процесс формирования рубца и регенераторный процесс в области ожога. Кроме того, наличие антибактериального средства в составе композиции демонстрирует отсутствие влияния микрофлоры в области ожоговой травмы на регенераторный процесс и формирование рубца у крыс в использованной модели эксперимента, поскольку динамика закрытия дефекта не отличалась от таковой в предыдущем эксперименте. Следовательно, наиболее выраженный вклад в процесс заживления послеожогового дефекта и образования рубца после ожога приносят фагоциты, функциональное состояние которых, очевидно имеет отличия у крыс в представленных группах, особенно в условиях влияния ОД.

Активированные макрофаги способны секретировать разнообразные медиаторы, в том числе EGF (эпидермальный фактор роста) [215]. Вероятно, в связи с продукцией EGF активированными макрофагами, обнаруживали гиперплазию эпидермиса в краях ожогового дефекта у крыс во всех исследованных группах. При этом процесс гиперплазии эпителия в краях ожогового дефекта сопровождался «наползанием» эпителия с краев ожогового дефекта кожи по направлению к центру в виде тонкого пласта эпителия, что в свою очередь способствовало отторжению струпа по краям дефекта начиная с 5-х суток у крыс 2-й группы, 7-х суток у животных 1-й и 3-й группы.

Одним из эффектов EGF является торможение пролиферации сосудов, что может влиять на трофику области повреждения кожи, таким образом препятствовать регенерации и способствовать развитию фиброза [143]. Кроме того, EGF способствует торможению апоптоза, активирует MAPK-сигнальный путь и способствует повышению экспрессии VEGF [95], что в свою очередь влияет на развитие эпителиально-мезенхимального перехода, способствуя развитию фиброза в органах, в частности в коже. По-видимому, в коже крыс 1-й и 3-й группы процесс эпителизации и образования послеожогового рубца был ассоциирован с гиперсекрецией EGF и MAPK-сигнальным путем, поскольку наряду с гиперплазией эпителия в краях ожога, в дне и краях дефекта количество и объём сосудов были меньшими в сравнении с таковыми у животных 2-й группы.

Вероятно, ОД оказывает влияние на механизмы МАРК-сигнального пути и реализации ЭМП, как следствие, менее выраженного развития фиброза. При этом не происходит торможения пролиферации сосудов у крыс 2-й группы, поскольку количество и объём сосудов возрастали на 21-е и 32-е сутки эксперимента в сравнении с таковыми при ожоге кожи у животных 1-й и 3-й группы. Как следствие, пролиферация эпителия и эпителизация дефекта, очевидно, связана с более благоприятными сосудисто-трофическими условиями, складывающимися в очаге повреждения у крыс 2-й группы.

Известно, что нейтрофильная инфильтрация, способствует развитию фиброза легких и печени [83; 177; 217]. В результате проведенного эксперимента обнаружили, что экссудативные проявления воспалительной реакции у крыс 1-й группы более выражены и сочетаются с формированием более крупного и плотного рубца кожи, чем у крыс во 2-й группе, где менее выраженные проявления экссудации, поскольку в инфильтратах кожи области ожога обнаруживали меньшее количество нейтрофилов в сравнении с таковыми у животных 1-й и 3-й группы, что способствует меньшей выраженности вторичной альтерации, как следствие уменьшению очага повреждения [53; 129; 182].

Некротические массы у крыс 2-й группы, получавших ОД, по видимому, более эффективно фагоцитируют макрофаги, количество которых на 21-е сутки больше в сравнении с таковым у животных 1-й и 3-й группы, что связано со способностью ОД стимулировать фагоцитозную активность макрофагов, в том числе способствуя гиперплазии их лизосомального аппарата [30]. Однако отсутствие отличий количества макрофагов в инфильтратах кожи у крыс 2-й и 3-й группы может указывать на различия функционального состояния макрофагов у животных этих двух групп. Поскольку у крыс 1-й группы количество макрофагов было большим в сравнении с таковым у животных 2-й и 3-й групп, в большем количестве в инфильтратах содержались нейтрофилы, можно предположить о M1 статусе макрофагов у животных в 1-й группе, для которых характерна экспрессия TNF, IL1, способствующих поддержанию воспаления, и напротив – M2 статусе макрофагов у животных 2-й и 3-й группы, способствующих регенерации и

фиброзу, благодаря продукции TGF β , участвующего в реализации ЭМП, способствующего трансформации клеток в фибробластоподобные, способные к синтезу коллагена [11; 54; 96]. Однако у животных 2-й группы не последовало формирования крупного плотного рубца, в отличие от такового у животных в 3-й группе.

Таким образом, у крыс 1-й группы формирование рубца неправильной формы, плотной консистенции происходило при условиях более выраженной экссудации в сравнении с таковой у крыс 2-й и 3-й группы, макрофаги находились в провоспалительном, по-видимому, M1 статусе, а процесс пролиферации соединительной ткани в рубце поддерживался гиперпродукцией IL-1, фиброзирование и уплотнение рубца видимо было связано с дефицитом сосудистой трофики, поскольку обнаруживали малое количество сосудов в области дефекта [40; 158]. Усиление эпителизации и рубцевания у животных 3-й группы происходило в связи с изменением функционального статуса макрофагов, вероятно, в пользу M2 типа, что привело к пролиферации фибробластов, в том числе, вероятно, путем ЭМП в условиях дефицита сосудистой трофики. Воздействие ОД, сопровождалось, вероятно изменением статуса макрофагов в пользу M2 типа, однако, очевидно, ОД препятствует активации MAPK сигнального пути и реализации ЭМП, как следствие усиливалась пролиферация сосудов, способствуя созданию благоприятных условий сосудистой трофики области послеожогового дефекта и его эпителизации [51; 126].

Очевидно, и фагоцитозная активность макрофагов в исследуемых группах имела отличия, поскольку как в предыдущем эксперименте (эксперимент № 1), так и повторном эксперименте с ожогами увеличивающееся количество макрофагов сопровождалось уменьшением послеожогового дефекта и, как следствие, рубца кожи. Учитывая отличия численной плотности макрофагов в области ожогового дефекта, в частности, большая численная плотность макрофагов у крыс 1-й группы (ожог) в сравнении с таковой у животных 2-й (ожог + композиция), была сопряжена с большей объёмной плотностью коллагена, наличие умеренной корреляционной связи численной плотности

макрофагов и объёмной плотности коллагена у крыс этих групп, указывает на различия функциональной активности, и функционального состояния макрофагов, влияющих на масштаб отложения коллагена в рубцующемся ожоге. Но, по всей видимости, не только фагоцитозная активность макрофагов, но и их функциональное состояние, способны влиять на темпы, объёмы фиброза.

Определенную роль в развитии фиброза могут оказывать и внешние воздействия. Так, применение ОД в составе композиции у крыс 2-й группы привело к отложению меньшего объёма коллагена в уменьшающемся рубце в сравнении с более крупным рубцом и большим объёмом коллагена в области ожога у крыс 3-й группы, получавших на область ожога пантенол. При этом отсутствовали отличия в численной плотности макрофагов в воспалительных инфильтратах области ожога кожи и формирующегося рубца у крыс в указанных 2-х группах. Хотя это не исключает и прямого воздействия внешних факторов на фибробласты и их функциональную активность.

В воспалительных инфильтратах кожи в области ожога у крыс во всех группах в период с 21-х по 32-е сутки снижалось количество нейтрофилов, преобладали макрофаги и фибробласты. У крыс 2-й и 3-й группы фибробластов было больше в сравнении с таковым у крыс 1-й группы, что вероятно связано с профиброгенным функциональным статусом макрофагов, способствующим поддержанию активности фибробластов, но в количественном отношении макрофагов и фибробластов в воспалительных инфильтратах было больше у крыс 3-й группы, а у животных 1-й и 2-й группы не отличалось на 21-е и 32-е сутки эксперимента. С учетом большей толщины пласта эпителия в дне ожоговой раны у животных 3-й группы, описанные изменения, вероятно, связаны с большей экспрессией EGF, способствующего не только эпителизации дефекта после ожога кожи 3Б степени, но и образованию большего объёма коллагена, поскольку для эпителизации раны необходимым условием является формирование для пролиферирующих клеток основы из коллагена 1 типа [92; 93; 121; 211; 247]. Это подтверждалось и большей площадью послеожогового рубца у крыс 3-й группы. Таким образом, воздействие пантенолом сопровождалось усиленной

коллагенизацией области ожогового дефекта в результате активации и пролиферации фибробластов местно, а быстрое замещение области ожога указывает на более активный синтез коллагена у крыс 3-й группы в сравнении с таковым в двух других группах. Нельзя исключить и развитие ЭМП, поддерживающего процесс фиброзирования и, возможно, эпителизации. Однако в литературных данных отсутствуют сведения о свойствах пантенола стимулировать фагоцитоз клетками системы мононуклеарных фагоцитов, таким образом, эпителизация и коллагенизация области ожога реализовывались за более короткий промежуток времени, формируя рубец с площадью дефекта на 21-е и 32-е сутки, превышающей таковую у животных двух других групп, а процесс заживления ожоговой травмы не был связан в полной мере с процессами замещения некроза соединительной тканью, а процессы закрытия дефекта, вероятно, реализовывались не только за счет синтеза коллагена, но и развития ЭМП, в том числе с участием фактора транскрипции SNAIL [103; 117; 225; 244].

«Фибропластическая активность» фибробластов одинаково возрастала у крыс 1-й и 3-й группы, тогда как у животных 2-й группы, к 32-м суткам фибропластическая активность фибробластов была меньшей, чем у животных из 2-х других групп. Процесс коллагенообразования, по-видимому, был связан с созреванием ретикулярных волокон до более плотного «зрелого» коллагена, что подтверждается уменьшением содержания ретикулярных волокон у животных во всех группах и увеличением объёма коллагеновых волокон у животных 2-й группы.

Таким образом, схожая динамика коллагенообразования во всех трех группах указывает на то, что фиброзирование рубца после ожога с точки зрения регуляции фиброза не имела отличий. Однако результат, который складывался к 32-м суткам, имел отличия в объёме накапливаемого в формирующемся рубце коллагена. У животных 2-й группы объемная плотность коллагена была меньшей, чем в двух других группах, что, видимо, связано с процессами деградации или сборки коллагена во внеклеточном матриксе при воздействии ОД.

Химическая структура ОД представляет собой разветвленный полимер глюкозы с альдегидными связями, которые потенциально способны взаимодействовать с другими химическими веществами, образуя с ними связь [30]. При формировании тропоколлагена, из цитоплазмы фибробласта проколлагены высвобождаются во внеклеточный матрикс, где осуществляется дальнейшая сборка коллагеновых фибрилл и волокон [22; 74; 263]. На этом этапе коллагеновые структуры обладают свободными связями, вероятно, способными соединяться с веществами находящимися во внеклеточном матриксе [70; 74; 263]. Исходя из такого предположения, нельзя исключить механизм блокады сборки или секреции коллагена путем объединения структур коллагена и ОД.

В финале проведенного эксперимента, несмотря на закрытие области повреждения кожи эпителием, формирование в поврежденном участке кожи рубцовой плотной соединительной ткани, т.е. наличие внешних проявлений свершившегося процесса регенерации и рубцевания, присутствие клеток макрофагов, фибробластов на 32-е сутки эксперимента у крыс во всех исследуемых группах, в области предшествующего ожога кожи, изменение соотношения различных типов коллагена указывает на незавершенность процесса фиброза.

У крыс 3-й группы площадь ожогового дефекта сокращалась в меньшем объеме в сравнении с площадями ожогов у животных 2-й и 1-й группы, при этом, коллагенизация формирующегося рубца была более выражена, поскольку объем коллагена к 32-м суткам был большим в сравнении с таковым у животных двух других групп, а толщина эпителиального пласта была большей в сравнении с эпидермисом крыс в других исследуемых группах. Эти данные свидетельствуют о том, что процесс фиброзирования послеожогового рубца протекает с сокращением площади ожоговой травмы, а при воздействии ОД объем коллагена меньший, эпителизация развивается в более ранний период после нанесения ожога, и отложение меньшего объема коллагена сопровождается сокращением площади послеожогового рубца.

Процесс фиброизирования может быть стимулирован, и при очевидном заживлении ожога, депонирование коллагена происходит в избыточном объёме с очагами гиалиноза и меньшей васкуляризацией, поскольку крыс 3-й группы дефект и рубец к 32-м суткам был большим, чем у животных двух других групп [72; 87; 151]. Так, в области ожога кожи у крыс 3-й группы одновременно с процессами отторжения некротических масс область дефекта кожи заполнялась новообразованным избыточным коллагеном, в меньшей степени дефект сокращался, поскольку площадь дефекта кожи после ожога была большей на 35 % в сравнении с таковой в 1-й группе крыс и более чем в 2 раза большей в сравнении с крысами 2-й группы, получавшими после ожога ОД. Таким образом, сокращение площади дефекта не в полной мере связано контрактивными свойствами коллагена, а в процессе рубцевания кожи после ожога лежит не только процесс отложения коллагена, но и иные механизмы, позволяющие уменьшать площадь области повреждения. Одним из таких вероятных процессов является ЭМП [103; 117; 244]. В связи с чем возникло предположение об участии ЭМП в процессе фиброза, как одного из механизмов, реализующих склероз. Таким образом, вероятно, уменьшение объёмов органов при склерозе и фиброзе разнообразной этиологии может быть связано не только с накоплением коллагена в поврежденном органе или ткани, но и запуском механизмов ЭМП.

Кроме того, процесс фиброза может носить избыточный характер и не всегда зависит от масштаба некроза, реализуясь не только как исход повреждения, но и как процесс в составе механизмов регенерации и приспособления.

4.2 Морфо- и патогенез формирования посттоксического фиброза и цирроза печени при воздействии окисленным декстраном в различные периоды их развития

Учитывая полученные в ходе эксперимента с термическим ожогом данные, указывающие на незавершенность формирования рубца по истечению 32-х суток, возникло предположение, что процесс рубцевания, склероз, цирроз – является

процессом динамичным, после видимого заживления кожи или цирротической трансформации печени не останавливается, а соединительная ткань продолжает изменяться на протяжении неопределенного периода времени и, вероятно, не имеет окончательного срока завершения своего формирования. Исследовали процесс фиброзирования печени при токсическом воздействии и формировании в результате такого воздействия цирроза печени на протяжении 90 суток, а так же при воздействии на процесс фиброза ОД в различные этапы развития склероза.

4.2.1 Формирование посттоксического цирроза печени, особенности его морфогенеза

Уменьшение численной плотности двуядерных гепатоцитов, отражающих процесс регенерации гепатоцитов, в печени крыс 1-й группы с 30-х по 90-е сутки указывает на угнетение процесса репаративной регенерации в печени крыс в процессе развития гепатоза токсической этиологии и формирования цирроза печени [141; 163]. Таким образом, в ходе токсического повреждения печени и формировании цирроза происходит как повреждение гепатоцитов в виде дистрофии и некроза, так и подавление репаративного процесса, вероятно в связи с токсическим повреждением, некрозом захватывающим и двуядерные гепатоциты, однако, в ходе фиброзирования печени формируются ложные дольки [141; 163; 171]. Известно, что в процессе восполнения численности гепатоцитов после удаления доли печени в короткий промежуток времени, клетки печени начинают делиться, при этом замечено, что в процесс деления включаются все клетки, специфичные для органа и неспецифичные, но находящиеся в структуре органа. Но, замечено, что процесс деления гепатоцитов в полной мере не отражает способность и возможность печени восполнять поврежденные участки паренхимы таким путем, кроме того, современные научные данные отрицают участие в процессе регенерации печени каких-либо стволовых клеток, в связи с чем, высказываются предположения о возможности трансформации клеток, механизм которой не ясен [39; 59; 124; 139; 171; 201].

В ходе эксперимента, у крыс 1-й группы появлялись характерные для развития цирроза печени ложные дольки, их площадь увеличивалась в период с 30-х по 90-е сутки в более чем в 6 раз. При уменьшении численной плотности двуйдерных гепатоцитов, явных процессах дистрофии с некрозом клеток паренхимы печени, способствующих убыли количества гепатоцитов из печеночных и ложных долек, увеличение размеров ложных долек могло быть связано с отложением по периферии долек и в их толще коллагена, при этом возрастала и «коллагенсинтетическая активность» фибробластов. Проведенное исследование демонстрирует увеличение объёмной плотности коллагена в печени крыс 1-й группы более чем в 2 раза в период с 30-х по 60-е сутки, но далее, до 90-х суток объёмная плотность коллагена не изменялась, следовательно, отложение коллагена в толще долек и по их периферии не было соразмерным процессу увеличения площади ложных долек, а значит процесс формирования ложных долек не ограничивается проявлениями фиброза и накоплением коллагена, и, дополняется механизмами, сопряженными с процессами фиброзирования печени и склероза.

Обращает на себя внимание процесс ангиогенеза в печени крыс 1-й группы. Численная и объёмная плотность сосудов в печени крыс 1-й группы увеличивается на протяжении эксперимента. Что указывает на процесс пролиферации сосудов и их увеличение размеров, вероятно в связи со склерозом. Проплиферация сосудов, вероятно, связана с экспрессией VEGF [39; 73; 88; 124; 171; 261]. Источниками этого фактора являются разнообразные клетки, к примеру, клетки Купфера, эндотелиоциты, клетки Ито, фибробласты и некоторые другие. Согласно данным литературы, экспрессия VEGF тесно связана с сигнальным путем митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) и способствует активации указанной системы [240; 262]. Сигнальный путь МАРК участвует в реализации эпителиально-мезенхимального перехода [119; 189; 237]. Кроме того, экспрессия генов и маркеров МАРК-сигнального пути наблюдается при процессах фиброзирования различных органов [171; 189]. Таким образом, учитывая рост численной и объёмной плотности сосудов, площади ложных долек

и их прогрессирующую на протяжении эксперимента коллагенизацию, увеличение численной плотности фибробластов и клеток Ито, можно предположить об участии ЭМП в процессе фиброза печени при токсическом гепатозе и его исходе в цирроз печени [88; 171; 265]. Кроме того, возможен и обратный путь трансформации клеток с мезенхимальным фенотипом в эпителиального типа клетки – мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП) [88; 201].

Исследовав экспрессию фенотипических признаков клеток эпителиального и мезенхимального происхождения, гепатоцитами и фибробластами обнаружили, что в ходе эксперимента с 30-х по 60-е сутки нарастала экспрессия Vimentin гепатоцитами, экспрессия E-cadherin была слабо выражена, однако после прекращения введения токсических факторов, на 90-е сутки, убывала численная плотность двуядерных гепатоцитов, что указывает на реализацию мезенхимально-эпителиального перехода с образованием клеток схожими фенотипически с гепатоцитами, несмотря на очевидные проявления цирроза печени, частично компенсирующего структурные нарушения в печени. Клетки, образующиеся в результате МЭП способны частично или в полном объеме выполнять функции узкоспециализированных клеток органа, в пределах которого реализуется процесс трансформации [119; 237]. Однако проявления МЭП в полной мере не объясняют выраженного увеличения площади ложных долек. По всей видимости, процесс трансформации происходит продолжительно во времени. Согласно литературным данным, происходит блокада процесса апоптоза, после чего изменениям подвергается цитоскелет, клетка начинает изменять структуру, эти процессы связывают с экспрессией SNAIL/SLUG [20; 101; 119; 125;]. Данные, полученные в результате проведенного исследования демонстрируют, что часть клеток (в исследовании учитывали гепатоциты и фибробласты, однако экспрессию обнаруживали и в эндотелиальных клетках, клетках с фенотипом клеток Ито) находится в состоянии трансформации на период проведения эксперимента, и экспрессия SNAIL/SLUG возрастает в гепатоцитах и фибробластах на протяжении исследования. Вероятно процесс

трансформации и перестройки ультраструктурной организации клеток, подверженных этому явлению, занимает значительный промежуток времени, но возможно, клетки, подвергшиеся ЭМП не достигают окончательной трансформации, что может обеспечивать их реверсирование в исходную форму [20; 101; 119; 125].

По-видимому, процессы ЭМП и МЭП являются процессами приспособительного характера, запускаясь параллельно с процессом фиброза органа, благодаря общим звеньям в механизме индукции или реализации этих процессов, обеспечивают гомеостазирование, поддерживая структурную организацию печени путем пролиферации соединительной ткани и восполняя дефицит узкоспециализированных клеток органа путем ЭМП и МЭП, компенсируя нарушенные функции.

Учитывая отсутствие корреляционной связи между площадью ложных долек и численными плотностями двуядерных гепатоцитов, клеток Ито, фибробластов, рост численной плотности двуядерных гепатоцитов, клеток Ито, фибробластов, при очевидном прогрессировании фиброзной трансформации печени и уменьшении размеров долек на протяжении эксперимента может указывать на склерозирование органа путем реализации совокупности процессов пролиферации фибробластов и ЭМП.

4.2.2 Фибрирование печени при остром токсическом повреждении печени и воздействии окисленным декстраном

При воздействии ОД с первых суток эксперимента, в условиях острого токсического гепатоза на протяжении 60 суток, препятствовало повреждению печени и формированию фиброза, а к 60-м суткам – цирроза печени у крыс 2-й группы. Отсутствие явного роста численной плотности двуядерных гепатоцитов указывает на отсутствие существенных повреждений паренхимы печени, однако отложение коллагена в дольках и междольковых пространствах

происходило, хотя и в меньшем объёме в сравнении с печенью крыс 1-й группы, не происходило формирование ложных долек.

Полученные в ходе эксперимента с токсическим повреждением печени данные, указывают на то, что выраженность процесса фиброза не всегда зависит от масштаба повреждения, а склерозирование органа является результатом нарушенного адаптационного процесса, при котором происходит избыточное, несоразмерное повреждению, отложение коллагена. Сходные данные были получены нами при исследовании ожогов кожи, когда при воздействии на поврежденные участки кожи пантенолом получали более крупный, более плотный с очагами гиалиноза рубец в сравнении с послеожоговым рубцом у животных со спонтанным заживлением ожога.

При воздействии ОД численная плотность сосудов уменьшается, а объёмная плотность сосудов возрастает с 30-х по 60-е сутки эксперимента у животных 2-й группы, по-видимому, в связи с созреванием имеющихся сосудов, и в меньшей степени пролиферацией. Вероятно, при повреждении структур органа активируется ангиогенез, однако при воздействии ОД ввиду отсутствия выраженного повреждения паренхимы сохраняются более благоприятные условия поддержания гомеостаза даже при условии продолжающегося токсического воздействия. Учитывая отсутствие выраженных явлений увеличения численной плотности сосудов у крыс 2-й группы в сравнении с таковыми у животных 1-й группы при спонтанном развитии фиброза печени, можно предположить меньшую продукцию факторов, обеспечивающих ангиогенез, в частности VEGF, участвующего в реализации сигнального пути MAPK [119; 171; 189; 237]. Это предположение подтверждается меньшей экспрессией у крыс 2-й группы, в процессе фиброзировании печени, клеток в печени, экспрессирующих FGF и TGF β , участвующих в активации и регуляции MAPK сигнального пути [119; 158; 189; 237]. Это, в свою очередь, препятствует перестройке цитоскелета и реализации ЭМП и МЭП, как следствие – препятствует фиброзу, а так же циррозу печени, что подтверждается меньшей численной плотностью клеток, экспрессирующих FGF и TGF β , SNAIL/SLUG. В связи с угнетающим влиянием

ОД на механизмы МАРК сигнального пути, экспрессия маркеров ЭМП снижается как в гепатоцитах, так и в фибробластах, как следствие процесс фиброзирования органа менее выражен в сравнении с изменениями и экспрессией «профиброгенных» медиаторов в печени у крыс 1-й группы.

Однако отложение коллагена в печени крыс 2-й группы нами было замечено, но в меньшем объёме в сравнении с печенью крыс 1-й группы. Видимо, токсическое воздействие на паренхиму печени ведет к активации системы мононуклеарных фагоцитов [115; 188; 259], в частности, клеток Купфера и макрофагов стромы, которые по результату проведенного нами исследования демонстрируют экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как $\text{TNF}\alpha$ и IL-1 . Активированное состояние клеток Купфера и продукция указанных медиаторов способствует активации и пролиферации фибробластов и синтезу ими коллагена 1 и 3 типа. Снижение экспрессии коллагена, при увеличении «фибропластической активности» указывает на нарушенный процесс сборки коллагена, деградация коллагена классическим путем, учитывая обнаруженное преобладание экспрессии TIMP1 над MMP9 во внеклеточном матриксе, в меньшей степени влияет на уменьшение объёмной плотности коллагена в печени. Однако полученные данные полностью не исключают возможную ферментативную деградацию коллагеновых волокон, не исследованными в рамках проведенного исследования другими типами MMP и их ингибиторов.

Учитывая способность макрофагов, находясь в активированном состоянии, поддерживать функциональную активность фибробластов и синтез ими коллагена, можно предположить об изменении функционального статуса макрофагов. Для функционального статуса макрофагов M1 более характерна экспрессия IL-1 , $\text{TNF}\alpha$, тогда как экспрессия прорегенераторных медиаторов не является характерной [11; 56; 77; 96; 103; 137; 243; 268]. Таким образом, возможно, что при воздействии ОД макрофаги печени обретают статус M2 , поскольку экспрессия IL-1 , $\text{TNF}\alpha$, $\text{TGF}\beta$, была представлена в меньшем количестве клеток стромы у крыс 2-й группы в сравнении с таковыми в печени животных 1-й группы. Однако для M2 фенотипа макрофагов свойственно

стимулировать процессы фиброзирования, но при воздействии ОД этого не происходит, что в свою очередь может указывать на воздействие не по отношению к синтезу коллагена, а в отношении сборки и, вероятно, секреции предшественников коллагена.

Блокирование механизмов секреции коллагена и выполнения функции макрофагов, может способствовать гибели фибробластов различными путями, в частности апоптозом или некрозом, сопровождаясь уменьшением количества фибробластов. В ходе эксперимента нами была замечена экспрессия p53 фибробластами, а их численная плотность убывала к 60-м суткам эксперимента, что подтверждает участие механизмов апоптоза фибробластов в процессе уменьшения количества фибробластов и, вероятно, объёмной плотности коллагена при воздействии ОД.

4.2.3 Формирование фиброза печени после длительного (хронического) токсического воздействия и применении окисленным декстраном

Согласно условиям эксперимента, введение ОД животным 3-й группы начинали на 30-е сутки, когда в печени крыс после длительного токсического воздействия развивался фиброз, но типичной цирротической трансформации органа не возникало.

Полученный в ходе исследования результат демонстрирует увеличение площади ложных долек у животных 3-й группы к 90-м суткам эксперимента, сочетавшееся с увеличением численной плотности двуядерных гепатоцитов после отмены на 60-е сутки воздействия токсическими агентами (тетрахлорметаном и этиловым спиртом), что отражает способность органа к регенерации и складывающихся более благоприятных условиях реализации регенераторного процесса в печени после отмены токсикантов. Убывало и количество фибробластов, объёмная плотность коллагена у крыс 3-й группы в связи с воздействием ОД, поскольку у крыс 1-й группы после прекращения воздействия токсическими факторами, не наблюдали уменьшения объёмной плотности

коллагена. У крыс 3-й и 1-й групп сохранялась «коллагенсинтетическая активность» фибробластов, сопровождалась накоплением коллагена 1 и 3 типа в печени, хотя его объёмная плотность была меньшей в печени крыс 3-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й группы, но к 90-м суткам, содержание коллагена в печени крыс 3-й группы возрастало. Таким образом, воздействие ОД в условиях длительного токсического воздействия и формирования фиброза печени демонстрировало аналогичное с предыдущими экспериментами противифибротическое действие, однако в полной мере процесс не был ограничен, в отличие от попытки воздействия ОД с периода начала токсического гепатоза, обсуждаемом в предыдущем подразделе.

В процессе уменьшения объёмной плотности коллагена при посттоксическом фиброзе печени к 90-м суткам экспрессия MMP9 преобладала над экспрессией TIMP1 во внеклеточном матриксе печени крыс 3-й группы, таким образом, в отличие от условий воздействия ОД до возникновения фиброза, в данном случае, при воздействии ОД в процессе формирования фиброза и после отмены воздействия токсикантов, более значимую роль играла продукция MMP9 в механизмах уменьшения объёмной плотности коллагена и противифибротической эффективности ОД. Преобладание экспрессии MMP9 над TIMP1 обнаруживали в гепатоцитах, что дает основания полагать, о преимущественном влиянии гепатоцитов на процессы регулирования утилизации коллагена в условиях применения ОД. Это вероятно связано с возможностью накопления ОД гепатоцитами, поскольку применяемый разветвленный полисахарид обладает лизосомотропными свойствами [23; 30].

Однако экспрессия MMP9 и TIMP1 в полной мере не объясняют уменьшение объёмной плотности коллагена в несколько раз у крыс 3-й группы в сравнении с таковой у животных в 1-й группе.

Одним из механизмов уменьшения фиброобразования печени может являться фактор сосудистой трофики, поскольку возникающая гипоксия способна стимулировать функцию фибробластов и, как следствие, способствовать накоплению коллагена [106]. Обнаруженное в ходе исследования уменьшение

численной плотности сосудов в печени крыс 3-й группы может указывать на уменьшение продукции факторов, стимулирующих образование сосудов, в частности VEGF [19; 106; 156]. При этом сосуды были крупнее, чем в печени животных интактной группы и группы контроля фиброза и цирроза печени (1-я группа), что способствовало созданию более благоприятных условий для сосудистой трофики печени у крыс 3-й группы.

Уменьшалась и численная плотность клеток Ито в печени крыс 3-й группы, способствуя проявлениям противofiбротического эффекта, учитывая участие клеток Ито в реализации процессов фиброза в печени [38; 136; 143; 226]. При этом не ясно, каков механизм убыли клеток Ито в связи с воздействием ОД. Исследование экспрессии маркеров ЭМП обнаруживали, что на 60-е сутки экспрессия как Vimentin, так и E-cadherin была выражена в гепатоцитах крыс 3-й группы, но к 90-м суткам значительно убывала, аналогичным образом проявлялась экспрессия SNAIL/SLUG, что указывает на убывающие проявления ЭМТ в гепатоцитах, а гепатоциты не проявляли к 90-м суткам признаков мезенхимального типа клеток, в том числе и гепатоцитов, находящихся в состоянии перестройки цитоскелета. Фибробласты способны участвовать в процессе МЭП, обретать фенотипические признаки эпителиальных клеток, таким образом прекращать коллагенообразование, участвуя в поддержании функции органа [38; 103; 226; 233]. В проведенном эксперименте обнаруживали, что в сравнении с фибробластами печени крыс 1-й группы, у животных 3-й группы численная плотность фибробластов, экспрессировавших Vimentin была в 3 и в 4 раза меньшей (на 60-е и 90-е сутки соответственно), что может указывать на изменение фенотипа фибробластов и ограничение коллагенообразования этим типом клеток. Однако экспрессия E-cadherin и SNAIL/SLUG так же была представлена в меньшем количестве фибробластов. Учитывая, что численная плотность фибробластов уменьшалась в период с 60-х по 90-е сутки в печени крыс 3-й группы, снижалась экспрессия маркеров как мезенхимального, так и эпителиального фенотипа клеток, предположили о нарушении структуры самих фибробластов и их убыли путем апоптоза, применив окрашивание к p53,

обнаружили экспрессию указанного фактора в фибробластах. Таким образом, уменьшение численной плотности фибробластов с уменьшением экспрессии антигенов, характеризующих тканевое происхождение, а так же уменьшение объёмной плотности коллагенов различных типов при сохранении «коллагенсинтетической функции» фибробластов было связано с индукцией процесса апоптоза фибробластов.

Известно, что ОД способен захватываться макрофагами, в том числе клетками Купфера [103; 253]. Макрофаги выполняют важную регуляторную роль в поддержании, индукции и ограничении фиброза в различных органах, регенерации органов [103; 200; 226; 253]. Их активность, «цитокиновый профиль», обеспечивающий поддержание и запуск разнообразных регуляторных процессов, регенерацию органов и тканей, процесс фагоцитоза, зависит от функционального статуса макрофагов. Исследование экспрессии провоспалительных медиаторов и прорегенераторных (в том числе профиброгенных), относящихся соответственно к статусу M1 и M2 макрофагов, демонстрирует меньшую численную плотность экспрессии клетками стромы крыс 2-й группы таких медиаторов как IL-1 и TNF α . Таким образом, макрофаги не демонстрируют ярко выраженных признаков M1 поляризации в печени крыс 3-й группы, получавших ОД. Однако экспрессия таких медиаторов как TGF β и FGF так же представлена в малом количестве клеток стромы у крыс 2-й группы в сравнении с экспрессией указанных медиаторов клетками стромы печени крыс 1-й группы. Таким образом, у крыс 3-й группы после прекращения воздействия токсическим факторами, макрофаги в большей степени, поддерживали процессы фагоцитоза, нежели обеспечивали регуляторные процессы при посттоксическом фиброзе печени в условиях воздействия ОД. Вероятно, присутствовали как на 60-е так и на 90-е сутки оба фенотипа макрофагов (M1 и M2).

Очевидным становится, что при всех перечисленных изменениях обнаруженных после воздействия ОД, с учетом экспрессии провоспалительных и профиброгенных (прорегенераторных) медиаторов изменении численных плотностей клеток Ито, фибробластов, в процессе реализации

противофибротической эффективности ОД, важным является реализация совокупного эффекта органичения проявлений МЭП и МЭП, включение механизмов апоптоза фибробластов и снижения количества клеток Ито и фибробластов, способность гепатоцитов регулировать деградацию коллагена, и модулирование функций макрофагов в пользу фагоцитоза, что связано со свойством ОД задерживаться в цитоплазме различных типов клеток.

4.2.4 Фиброз при посттоксическом циррозе печени и при воздействии окисленным декстраном

При сформированном к 60-м суткам циррозе печени, а так же прекращении введения токсических факторов с 60-х суток эксперимента наблюдали рост площади ложных долек у крыс 4-й группы, а объёмная плотность коллагена – уменьшалась. Вероятно, трофические условия для регенерации печеночной паренхимы улучшались, на что указывает в 2 раза большая численная плотность сосудов в печени крыс 4-й группы в сравнении с таковой у интактных животных. Несмотря на большую объёмную плотность сосудов (в 3 раза большая в сравнении с таковой у интактных животных и 1,5 раза больше в сравнении с сосудами печени у крыс 1-й группы), не исключаящую их склероз, численная плотность двуядерных гепатоцитов у крыс 4-й группы была большей, чем у животных 1-й группы. Таким образом, увеличение площади ложных долек могло быть связано с регенерацией паренхимы печени путем увеличения численной плотности двуядерных гепатоцитов, отражающих процесс деления гепатоцитов, но корреляционная связь между этими двумя показателями была очень слабой положительной по шкале Чеддока [141; 163]. Следовательно, рост численной плотности двуядерных гепатоцитов в полной мере не обосновывает увеличение площади ложных долек. Остается не ясным, с участием каких клеток произошло восполнение паренхимы печени крыс 4-й группы, и какими механизмами.

Одним из предположительных механизмов является ЭМП и МЭП. В структуре исследуемого органа часть клеток способны к реализации подобного

эффекта трансформации клеток, к таковым относят фибробласты, клетки Ито, эндотелий сосудов [38; 103; 233; 237; 226]. Результат исследования демонстрирует уменьшение численных плотностей фибробластов и клеток Ито, что может отчасти объяснять увеличение площади ложных долек, но корреляционная связь была очень слабой по шкале Чеддока. При этом наблюдали экспрессию E-cadherin в большем количестве гепатоцитов у животных 4-й группы в сравнении с таковой у крыс 1-й группы, что свидетельствовало о сохранении межклеточных контактов и сохранении структуры гепатоцитов, их мембран. Но в части гепатоцитов обнаруживали у крыс 1-й группы экспрессию Vimentin, хотя и в меньшем количестве клеток в сравнении с клетками печени крыс 1-й группы, что может указывать на сохраняющиеся проявления МЭП, кроме того часть клеток находилась в состоянии перестройки цитоскелета, экспрессируя SNAIL/SLUG. При этом, в фибробластах стромы печени у крыс 4-й группы, проявляется экспрессия маркеров как мезенхимального фенотипа, так и эпителиального, кроме того часть фибробластов экспрессировали SNAIL/SLUG. Таким образом, у крыс 4-й группы, увеличение площади ложных долек обуславливает не только рост численной плотности двуядерных гепатоцитов, но и трансформация клеток из стромальных клеток с мезенхимальным фенотипом, в частности фибробластов и клеток Ито в гепатоциты. Следовательно, процесс регенерации печени обусловлен совокупным эффектом пролиферации гепатоцитов и МЭП одновременно различных типов клеток (в частности фибробластов и клеток Ито) у крыс 4-й группы при воздействии ОД. Не исключено участие и эндотелиальных клеток в указанном процессе [101; 237].

Кроме того, наличие экспрессии E-cadherin в фибробластах у крыс 4-й группы, наряду с уменьшением численных плотностей фибробластов и клеток Ито, сочеталось с отложением меньшего объёма коллагена как в перипортальных, так и междольковых областях. Таким образом, при воздействии ОД в условиях посттоксического цирроза печени проявления МЭП преобладали над проявлениями ЭМП. Такое явление у крыс 4-й группы сочеталось с меньшей численной плотностью клеток стромы (макрофагов и фибробластов),

экспрессируемых медиаторов, регулирующих и индуцирующих ЭМП, в частности FGF и TGF β , обладающих, в том числе, профиброгенной активностью, следовательно, уменьшалось количество клеток с мезенхимальным фенотипом, способных к синтезу коллагена, что в свою очередь способствовало уменьшению объёмной плотности коллагена в печени крыс, получавших ОД при циррозе печени.

Известно, что источниками FGF и TGF β являются разнообразные клетки, усиление экспрессии этих медиаторов наблюдают в макрофагах, находящихся в статусе M2. Макрофаги в M2 статусе обладают прорегенераторным потенциалом и профибротическим, им противопоставляют M1 макрофаги, обладающие, в большей степени, провоспалительной активностью, однако с учетом усиленной экспрессии ими не только TNF α , но и IL1, такие макрофаги способны стимулировать синтез коллагена фибробластами и фиброз [99; 133; 192]. В проведенном эксперименте, при циррозе печени у крыс 4-й группы и воздействии на процесс фиброзирования органа ОД обнаруживали меньшую численную плотность клеток в строме, экспрессирующих TNF α , но и IL1 в сравнении с таковыми в печени животных 1-й группы. Учитывая способность ОД к накоплению в лизосомальном аппарате клеток, прежде всего, фагоцитирующих – макрофагов, полученные данные могут указывать присутствие среди клеток стромы макрофагов с фенотипом M2, в связи с лизосомотропными свойствами ОД [17]. При этом, по-видимому, под влиянием содержащегося в макрофагах ОД, ограничивается экспрессия ими характерных для M2 типа медиаторов, в частности TGF β , способствуя не только ограничению фиброза, но и препятствуя образованию новых клеток, способных к синтезу коллагена в печени крыс 4-й группы.

В связи со складывающимися условиями, обсуждаемыми выше в рамках данного раздела, присутствие ОД при циррозе печени способствовало снижению «коллагенсинтетической активности» фибробластов, сопровождалось содержанием меньшего объема коллагена 1, 3 типа в печени крыс 4-й группы. Известно, что коллаген 3 типа предшествует формированию коллагена 1 типа.

Следовательно, воздействие ОД приводило к изменению не только функционального статуса фагоцитов, но и опосредовано влияло на синтез и сборку коллагена в печени.

Исследование механизма регуляции сборки и синтеза коллагена демонстрирует преобладание экспрессии TIMP1 над MMP9. Учитывая, что экспрессию MMP9 наблюдали, нельзя отрицать деградацию части коллагена путем ферментативного расщепления, однако, преобладание TIMP1 указывает на то, что процессы деградации с участием MMP9 были выражены слабо или ингибированы. Учитывая меньшую объёмную плотность коллагенов различных типов в печени у крыс 4-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й группы, обмен коллагена, его очевидная деградация и убыль в условиях сформированного цирроза печени зависит и от иных механизмов, в частности, нарушенного процесса сборки коллагена. Кроме того, в литературе описано явление фагоцитоза коллагена на примере хирургической раны [241; 220]. Учитывая структуру ОД, наличие альдегидных связей, способных с химической точки зрения объединяться с другими веществами и формировать соединения, внимания заслуживает процесс сборки коллагена. Так, в молекулах проколлагена или тропоколлагена присутствуют аналогичной структуры связи, следовательно, при длительном применении ОД, его химическая структура может объединяться с тропоколлагеном, блокируя дальнейшую сборку и обеспечивая фагоцитоз соединений лизосомотропного ОД с коллагеном. Нельзя при этом исключить блокаду сборки коллагена и на более поздних этапах формирования пространственных конструкций коллагена.

4.3 Фиброз при формировании спаек брюшной полости

Исследование спаек брюшной полости и процесса их формирования позволяет оценить и проанализировать процесс образования соединительной ткани во внутренней среде, брюшной полости. Особенностью использованной модели эксперимента является индуцирование образования спаек со слабо

выраженным повреждением брюшины без участия инфекционного агента, инородных тел (в отличие от моделей калового перитонита или с использованием талька) [34; 44; 258; 259]. Условия эксперимента максимально были приближены к «чистым операциям на органах брюшной полости». В условиях подсушивания брюшины и создания нескольких небольших насечек на серозной оболочке, исходя из подходов к фиброзу, как к процессу заместительного характера при повреждении структур, моделирование спаек должно было завершиться воспалительным процессом и фиброзированием брюшины, в отличие от более «грубых» моделей, например, калового перитонита или гнойного перитонита при индуцировании формирования спаек культурой микробов [91]. Однако процесс завершался в использованной нами модели образованием спаек в брюшной полости у крыс. Спонтанное формирование спаек сопровождалось образованием большего количества спаек у крыс 1-й группы (в 6 раз на 7-е сутки эксперимента, и в 4 раза на 21-е сутки) в сравнении с таковым у животных, получивших ОД. Спайки в брюшной полости у крыс 1-й группы отличались не только большим количеством, но и большим объёмом, распространенностью в брюшной полости и разнообразной структурой («шнуровидные», «плоскостные», в виде мембран), соответственно в брюшной полости у крыс 1-й группы формировались, более плотные, распространенные в брюшной полости спайки [34; 44]. За время проведения эксперимента заметили, что после 7 суток эксперимента брюшная полость самоочищалась, брюшина была гладкой и блестящей у крыс в обеих исследуемых группах. Согласно современным взглядам на формирование спаек, вне зависимости от локализации, ключевую роль выполняют макрофаги [6; 91; 126]. Учитывая особенности структуры брюшины, её гистологических, гистогенетических и функциональных особенностей элиминацией повреждающих агентов, продуктов повреждения и образующегося фибрина занимаются перитонеальные макрофаги, тканевые (блуждающие) макрофаги брюшины [63; 178]. Часть макрофагов, очевидно, мигрировала из серозной оболочки кишечника. В большом количестве макрофаги и нейтрофильные лейкоциты присутствовали в формирующихся спайках брюшной полости у крыс, однако по каким-то

причинам, макрофаги брюшной полости у крыс 1-й группы не лизировали субстрат формирующихся спаек в полной мере, развивался фиброз [178]. Вероятно, процесс формирования спаек в брюшной полости связан с функциональным состоянием присутствующих в спайках клеток. В области формирующихся рыхлых спаек прогрессировала коллагенизация серозной оболочки, но при этом избыточный характер продукции и отложения коллагена в 6 и в 4 раза, на 7-е и 21-е сутки соответственно, приводил к образованию объёмных структур в виде плотных спаек брюшной полости, несмотря на присутствие в спайках фагоцитов, фибробластов, участвующих в процессе коллагенообразования [154; 246; 264]. Новообразующиеся спайки покрывались мезотелием [21]. По видимому, для образующейся в брюшной полости соединительной ткани, брюшная полость являлась внешней средой, поскольку процесс образования спаек сопровождался процессом их эпителизации мезотелием, формировался естественный барьер между внутренней средой спаек и «внешней» по отношению к ним, средой брюшной полости.

В спайках брюшной полости у крыс 1-й группы к 21-м суткам не смотря на внешние проявления завершенности формирования спаек (плотные сформированные тяжи и мембраны, из соединительной ткани с сосудами и выстланы мезотелием), процесс их формирования не имел признаков ограничения и продолжался, поскольку воспалительная инфильтрация была более выражена, а численная плотность макрофагов, преобладавших в составе воспалительных инфильтратов, к 21-м суткам возрастала, присутствовали и нейтрофилы в сравнении с воспалительными инфильтратами в спайках у крыс 2-й группы.

При этом, несмотря на некоторое уменьшение количества спаек брюшной полости у крыс 1-й группы к 21-м суткам происходило накопление коллагена 1 типа [90; 135]. Учитывая отсутствие выраженных деструктивных изменений брюшины, накопление коллагена было несоразмерно масштабу повреждений брюшины и избыточно.

Учитывая отсутствие признаков «достаточности» фагоцитоза в формирующихся спайках брюшной полости у крыс 1-й группы, сохраняющиеся

экссудативные проявления, макрофаги проявляли признаки провоспалительного M1 статуса, для которого характерна экспрессия таких цитокинов как IL-1, ФНО α , ИФН γ и некоторые другие [55; 204; 209], в отличие от M2 статуса макрофагов при котором обнаруживают экспрессию медиаторов, обладающих противовоспалительным и прорегенераторным эффектом, таких как IL-10 и TGF- β [55; 204]. Это подтверждалось преобладанием экспрессии IL-1, ФНО α , ИФН γ на 7-е сутки эксперимента над экспрессированием медиаторов, в частности IL-10 и TGF- β , запускающих противоположные эффекты. Так, в период 7-х суток формировалась «основа спаек», которая в дальнейшем подвергалась интенсивной коллагенизации, воспалительной инфильтрации, благодаря чему спайки не имели возможности лизирования, а напротив уплотнялись, склерозировались, вплоть до гиалиноза. Позже, к 21-м суткам численная плотность клеток, экспрессировавших провоспалительные медиаторы убывала, макрофаги начинали обретать черты M2 фенотипа, однако сохранялись проявления экспрессии и провоспалительных цитокинов. Как следствие – количество спаек несколько уменьшалось в брюшной полости у крыс 1-й группы. Таким образом, критичным для формирования спаек или предотвращения их формирования является период до 7-х суток в экспериментальных условиях, когда спайки небыли плотными, эпителизированными в полной мере.

У крыс 2-й группы, после однократного воздействия ОД в начале эксперимента, к 7-м суткам преобладали в составе воспалительных инфильтратов макрофаги, однако объём воспалительных инфильтратов и их плотность были визуально меньшими, численная плотность макрофагов в структуре инфильтратов спаек брюшной полости была меньшей, чем у животных в 1-й группе в аналогичных структурах. Однако, очевидно, что экссудативные проявления были менее выражены, поскольку численная плотность нейтрофилов на 7-е сутки была меньшей в сравнении с таковой у животных 1-й группы, а на 21-е сутки в спайках встречались одиночные нейтрофилы в незначительном количестве. Учитывая меньшее количество и менее выраженных спаек в брюшной полости у крыс 2-й группы, становится очевидным, что после воздействия ОД меньшее

количество макрофагов более эффективно реализуют процесс фагоцитоза. При этом макрофаги экспрессировали медиаторы, характерные для M2 статуса в спайках брюшной полости у крыс 2-й группы. С учетом данных литературы, высокая фагоцитозная активность макрофагов у крыс 2-й группы не связана с усиленной экспрессией IFN γ на 7-е сутки эксперимента. Но на 21-е сутки эксперимента количество спаек у крыс 2-й группы не изменяется, однако несколько возрастает их «выраженность», совпадая со сменой профиля экспрессируемых цитокинов в пользу M1. Но изменение функционального статуса макрофагов на 21-е сутки в пользу провоспалительных свойств не влияло на количество спаек, что подтверждает значимость периода до 7-х суток в формировании основы спаек и начала их фиброзирования [194]. Кроме того, смена фенотипических признаков макрофагов из M2 в M1 статус наиболее вероятно связана с завершенностью фагоцитоза ОД в макрофагах, обмен которого и выведение продолжается около 7–10 суток.

Изменение функционального статуса сопровождалось ультраструктурными изменениями в макрофагах, увеличивались размеры клеток и их ядер, объёмной плотности лизосомального аппарата в сравнении с таковыми у интактных животных, что подтверждает активированное состояние макрофагов у крыс в обеих группах, кроме того, одинаково был выражен гранулярный эндоплазматический ретикулум. Однако в макрофагах, демонстрирующих M1 статус у крыс 1-й группы в меньшей степени был представлен лизосомальный аппарат, а следовательно, фагоцитозная активность их была меньшей в сравнении с макрофагами в спайках у крыс 2-й группы. Таким образом, воздействие ОД способствует усилению фагоцитоза макрофагами, как следствие явление «недостаточности фагоцитоза», характерного для формирования спаек, нивелируется у крыс 2-й группы, способствуя формированию меньшего количества спаек, экссудации.

Макрофаги, находящиеся в активированном состоянии, особенно M1 фенотип, способны образовывать активированные метаболиты кислорода (АМК), возникает оксидативный стресс [102; 165; 187; 204]. Это явление способствует

поддержанию воспалительной реакции, стимулирует активность митоген-активированной протеинкиназы, что подтверждается увеличением численной плотности сосудов, поскольку с активацией этого фактора связывают усиление сосудистого ростового фактора (VEGF) [97; 150]. Увеличение численной и объёмной плотности сосудов может указывать на склерозирование сосудов, особенно у крыс 1-й группы, создающее, в свою очередь, условия гипоксии, способствуя повреждению тканей, в том числе самих спаек, развитию гиалиноза, поддержанию активности воспаления у крыс в 1-й группе.

В связи с активацией протеинкиназы и возникающим в макрофагах оксидативным стрессом, вероятно, возникает повреждение отдельных ультраструктур, в частности, лизосомального аппарата, и запускается процесс аутофагоцитоза в макрофагах, что наблюдалось и в проведенном эксперименте со спайками брюшной полости, в макрофагах спаек у крыс 1-й и 2-й групп [94; 272]. Кроме того, активация в макрофагах аутофагоцитоза и ксеноцитоза способствует смене фенотипа макрофага M1 к M2, что и наблюдалось в обсуждаемом в данном разделе эксперименте, поскольку у крыс 1-й группы в период с 7-е по 21-е сутки возрастала экспрессия маркеров, характерных для M2 фенотипа макрофагов [49; 148; 165; 264]. Процесс аутофагии в макрофагах может иметь важную роль гомеостазирования в структуре и функции фагоцитов, способствуя замене поврежденных белков и ультраструктур в условиях продолжительного воспаления, в представленном эксперименте, занимавшем 21 сутки [4; 148; 149]. С учетом литературных данных, длительное поддержание функциональной активности макрофагов, по-видимому, сопровождалось расстройством гомеостазирования обменных процессов в этих клетках и проявлялось аутофагоцитозом у крыс в обеих группах.

Гиперпродукция IL-1 макрофагами M1, а так же продукция TGF макрофагами M2 типа способны стимулировать функции фибробластов и их активность, влияя на синтез коллагена, таким образом, приводя к развитию фиброза [264]. Так, в проведенном эксперименте при спайках брюшной полости у

крыс 1-й и 2-й группы численные плотности фибробластов были большими (более чем в 2 раза) в сравнении с таковым у интактных животных.

Активность синтеза коллагена фибробластами в спайках брюшной полости увеличивалась к 21-м суткам эксперимента у крыс обеих групп, однако была несколько ниже в фибробластах спаек 2-й группы животных. При этом, объёмные плотности шероховатого ретикулума, как и количество фибробластов в спайках брюшной полости обеих групп не отличались при сравнении между группами, но были большими, чем у интактных животных. Из этого следует, что фибробласты у крыс обеих групп находились в активированном состоянии. Однако в спайках у крыс 1-й группы в результате поддерживающейся на протяжении 21-х суток накапливалось больше коллагена. Нельзя исключить, что объём продуцируемого коллагена зависит от пути активации фибробластов, поскольку стимулы коллагенпродуцирующие клетки получали от двух различных типов макрофагов M1 и M2. Учитывая специфику цитокинового профиля указанных типов макрофагов, можно сказать, что M1 макрофаги в большей степени стимулируют накопление коллагена, вероятно в связи с гиперпродукцией IL-1, тогда как M2 макрофаги в большей степени направляют функцию на фагоцитоз, но экспрессия профиброгенных факторов, таких как TGF β и FGF в меньшей степени влияют на процесс синтеза проколлагена и коллагена или влияют опосредованно. Но нельзя исключить участие фактора гетерогенности популяции макрофагов в спайках брюшной полости, то есть преобладание в 1-й группе крыс M1 макрофагов превалировало и сопровождалось накоплением большего объёма коллагена, а у животных 2-й группы животных представительство макрофагов M1 было меньшим, и коллагена накапливалось меньше. Однако это не объясняет в достаточной степени молекулярные механизмы различий влияния макрофагов субтипа M1 и M2 на процессы активности синтеза коллагена.

При электронно-микроскопическом исследовании нами было замечено, что в макрофагах, проявлявших признаки фенотипа M2 у крыс 2-й группы (спайки + ОД) вакуолярный аппарат был более выражен, обнаруживали большее количество лизосом, фаголизосом и фагосом, что демонстрирует большую

фагоцитозную активность в макрофагах M2 типа, стимулированных ОД, кроме того в проведенном эксперименте количество макрофагов, экспрессирующих IFN γ было большим, чем при спонтанном процессе формирования спаек у крыс 1-й группы в отсутствии воздействия ОД. В условиях *in vitro* было показано, что в культуре перитонеальных макрофагов при воздействии на них ОД преобладает доля макрофагов с признаками M1 поляризации, но в M2 макрофагах присутствующих в культуре клеток увеличивается фагоцитозная активность [28]. Кроме того, Zhang M. et al. (2016) в условиях *in vitro* продемонстрировали, что M1 макрофаги проявляют более активный фагоцитоз при блокировании рецепторов CD-47 [54]. Однако в условиях эксперимента *in vivo* при спаечном процессе в брюшной полости, вероятно, в связи с присутствием не только ОД, но и наличии явных стимулов к реализации фагоцитоза (проявления альтерации, наличие экссудата) в отличие от экспериментальных моделей *in vitro*, в инфильтратах преобладают макрофаги, поляризованные в направлении M2 типа. Так, в процессе трофобластической инвазии фагоцитозную активность проявляют макрофаги M2 типа [11].

Нельзя так же исключать из внимания регуляцию синтеза и деградации коллагена специализированными ферментами, в частности MMP9 и TIMP1, между которыми, по полученным в ходе эксперимента данным, преобладание обнаруживали в численной плотности экспрессирующих TIMP1 клеток. У крыс 1-й группы, с преобладанием макрофагов M1 в спайках брюшной полости преобладало влияние TIMP1 над MMP9, а у животных 2-й группы – напротив, преобладали клетки экспрессирующие MMP9 над клетками, экспрессирующими TIMP1. Следовательно, у крыс 1-й группы происходило накопление коллагена 1 типа, а у животных 1-й группы объёмная плотность коллагена не только была меньшей, но и не изменялась в период с 7-х по 21-е сутки. Однако ферментативной деградации подвергался не весь избыточный коллаген. При анализе электронограмм, полученных при проведении электронной микроскопии обнаружили, что в макрофагах 1-й группы содержатся вакуоли, заполненные фрагментированными коллагеновыми волокнами. У крыс 2-й группы в

макрофагах подобные вакуоли тоже присутствовали, но встречались реже, в основном встречали вакуоли, содержавшие проколлаген.

Обращает на себя внимание тот факт, что внеклеточный матрикс содержал пучки коллагена в спайках у крыс 1-й группы, тогда как у животных 2-й группы коллагеновые волокна и пучки коллагена были представлены визуально в меньшем объёме, а внеклеточный матрикс содержал тропоколлаген скоплениями. Таким образом, во внеклеточном матриксе спаек у крыс 2-й группы сборка коллагена не проходила столь же активно, как у крыс из 1-й группы, и была нарушена, что также подтверждается меньшей толщиной коллагеновых волокон во внеклеточном матриксе спаек у крыс 2-й группы. Становится очевидным, что в присутствии ОД ограничивает сборку коллагена во внеклеточном матриксе.

Однако судя по количеству макрофагов и проявлениям их активности, ОД выводился до 21 суток. Это подразумевает, что в процессе нарушения сборки коллагена на 21-е сутки у крыс 2-й группы задействован еще один механизм, в частности фагоцитоз тропоколлагена макрофагами.

Обращает на себя внимание, что в цитоплазме фибробластов содержались вакуоли, заполненные тропоколлагеном, по результату проведенного электронно-микроскопического исследования, таких вакуолей в цитоплазме фибробластов в спайках крыс 2-й группы возрастало, а у животных 1-й группы – напротив, убывало. Эти данные указывают на активное выведение тропоколлагена из цитоплазмы фибробластов во внеклеточный матрикс у крыс 1-й группы к 21-м суткам. У животных 2-й группы видимо процесс выведения тропоколлагена нарушался, к 21-м суткам он в избытке накапливался в вакуолях фибробластов, таким образом, нарушение ультраструктур способствовало активации механизма апоптоза фибробластов, поскольку обнаруживали экспрессию p53 в этих клетках. При этом макрофаги уже на 7-е сутки начинали образовывать контакты с фибробластами, а на 21-е сутки крупные фибробласты в состоянии апоптоза у крыс 2-й группы поглощались макрофагами.

Таким образом, в фибробластах крыс 2-й группы нарушался процесс сборки коллагена во внеклеточном матриксе, секреции проколлагена во внеклеточный матрикс.

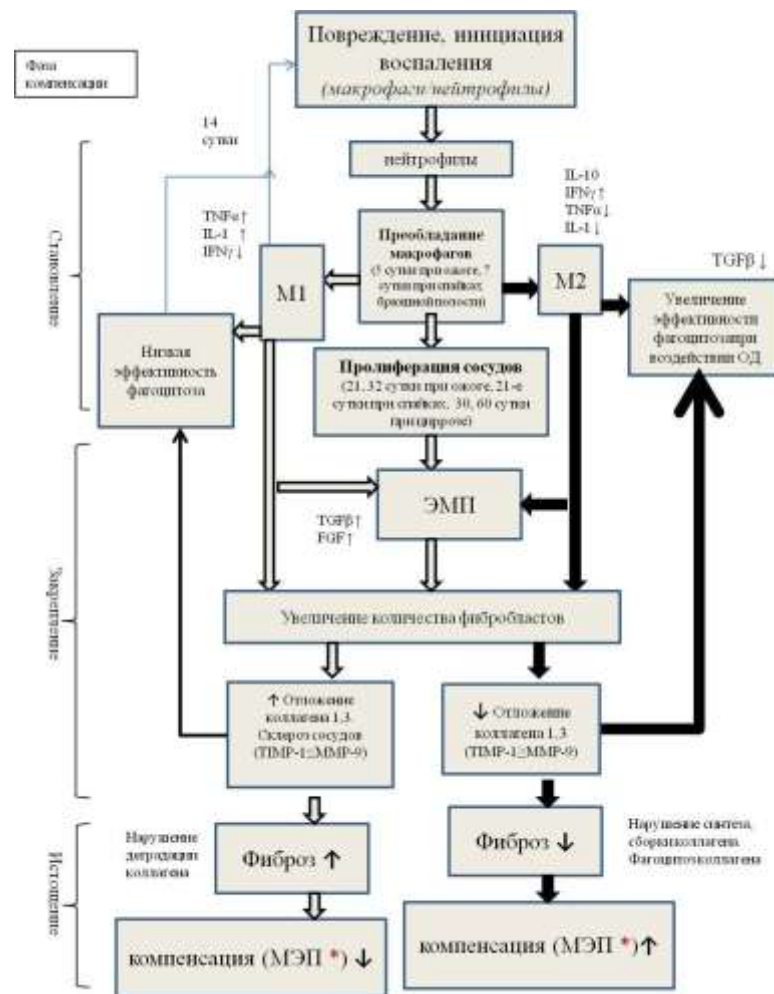
Учитывая увеличение численной и объёмной плотности сосудов, наличие аутофагосом в макрофагах, возрастающую экспрессию TGF β , можно предположить об активации в процессе фиброзировании сигнального пути митоген-активированной протеинкиназы, участвующей в трансформации цитоскелета клеток, и, как следствие, реализации проявлений ЭМП [101; 237]

Специфичным белком мембран мезотелиальных клеток является СК-18 (ссылки). У крыс 1-й группы его экспрессия уменьшалась в период с 7-х по 21-е сутки. В ходе ЭМП изменяющийся цитоскелет клеток характеризуется утратой не только специфичных для клеток, участвующих в процессе трансформации, белков, но и E-cadherin, который обеспечивает межклеточные контакты в эпителиального типа клетках [26; 145; 219]. У крыс 1-й группы происходило уменьшение численной плотности экспрессирующих E-cadherin клеток к 21-м суткам эксперимента. При этом к 21-м суткам уменьшалась экспрессия Vimentin. Таким образом, ЭМП в спайках у крыс 1-й группы проявлялся на 7-е сутки эксперимента, однако по мере формирования спаек и убыли воспалительной реакции к 21-м суткам проявления трансформации клеток эпителиального типа в мезенхимальные уменьшались. У крыс 2-й группы возрастала экспрессия белков, характерных для эпителиальных клеток, в фибробластах и мезотелии, характеризуя проявления обратной трансформации в виде мезенхимально-эпителиального перехода. Учитывая отличия в ходе фиброирования спаек брюшной полости, сравнивая проявления процесса между группами, отличия в ходе воспалительной реакции, поддерживающей фиброз, можно предположить о влиянии поляризации макрофагов на направленность трансформации клеток, экспрессию эпителиальными клетками антигенов мезенхимального типа клеток при преобладании M1 макрофагов, и напротив – мезенхимальными клетками, в частности, фибробластами, эпителиальных

маркеров при преобладании M2 типа макрофагов, однако, это предположение требует дополнительных уточнений и исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе проведенного исследования данные демонстрируют общность механизмов развития фиброза при различных экспериментальных условиях (Рисунок 112).



Примечание –*в коже участие эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов; в печени – фибробласты, гепатоциты, эпителий желчных протоков, клетки Ито; брюшная полость (брюшина) – мезотелий, фибробласты. Широкой черной стрелкой отмечены механизмы влияния ОД.

Рисунок 112 – Схема формирования фиброза различной этиологии

Так, запускаясь повреждением тканей и активацией макрофагов и нейтрофилов, сопровождаемых продукцией провоспалительных медиаторов, развивается воспалительная реакция [83; 105; 154; 177; 182; 267]. В ходе воспаления наблюдали преобладание нейтрофилов в воспалительных инфильтратах, которые в динамике развития фиброза убывали, сменялись макрофагами. В частности, в коже после термического ожога 3Б степени, нейтрофилы убывали из воспалительных инфильтратов наиболее активно на 5-е сутки эксперимента, но до 32-х суток их присутствие в воспалительных инфильтратах сохранялось. При спайках брюшной полости с 7-х по 21-е сутки эксперимента количество нейтрофилов уменьшалось, тогда как количество макрофагов возрастало. Повреждение печени токсического характера не сопровождалось выраженной нейтрофильной реакцией. По всей видимости, подобную особенность воспалительной реакции в печени обеспечивает присутствие большого количества макрофагов-резидентов, выполняющих основную регуляторную роль, обеспечивающих ход воспалительной реакции и фиброза на протяжении эксперимента [56].

Исходя из полученных данных, дальнейший ход развития фиброза и его выраженность зависят от функционального состояния макрофагов, а так же активности фагоцитоза. Исследование демонстрирует, что вне зависимости от этиологии при спонтанном развитии фиброза, макрофаги экспрессируют медиаторы, характеризующие M1 статус макрофагов [83; 208; 240]. Полученные в ходе электронно-микроскопического исследования данные демонстрируют, что в таких макрофагах объёмная плотность ядер больше, чем цитоплазмы и ядерно-цитоплазматическое соотношение смещено в сторону ядра. При этом объёмная плотность лизосомального аппарата уменьшается к 21-м суткам в условиях фиброзирования спаек брюшной полости, а шероховатого эндоплазматического ретикулума не изменяется. Таким образом, макрофаги при фиброзе поддерживают свою функциональную активность, экспрессируя разнообразные, но преимущественно провоспалительные, медиаторы, а фагоцитозная активность их снижается по мере развития фиброза.

Поддерживаемая активность макрофагов на протяжении экспериментов сопровождается экспрессией TGF β , FGF, VEGF, которые в свою очередь приводят к трансформации фибробластов в миофибробласты, синтезирующие коллаген [55; 81; 106; 154]. Объемная плотность коллагена нарастает во всех экспериментальных условиях на протяжении эксперимента, экспрессируя коллаген 1 и 3 типа.

Фиброз в условиях низкой фагоцитозной активности макрофагов сопровождается накоплением коллагена не только во внеклеточном матриксе, но и стенках сосудов, в результате чего их численная плотность и объемная плотность нарастает, что наряду с экспрессией макрофагами провоспалительных медиаторов ведет к миграции в очаг воспаления и фиброза нейтрофилов, способствуя возникновению явлений вторичной альтерации, прогрессированию накопления коллагена и фиброза.

Кроме того, низкая фагоцитозная активность макрофагов с признаками M1 статуса способствует образованию большего по площади и более плотного рубца после термического ожога, большего количества спаек в брюшной полости. Однако при воздействии ОД фагоцитозная активность макрофагов, проявляющих признаки M2 статуса, возрастает, что приводит к противоположному результату – меньшей площади и более эластичный рубец после ожога, меньшее количество спаек в брюшной полости.

Однако на примере токсического повреждения печени и формирования спаек брюшной полости становится заметным, что в ходе развития фиброза обнаруживаются проявления мезенхимально-эпителиального перехода [42; 179]. Таким образом, в условиях склерозирования сосудов, сохраняющихся медиаторных стимулах воспалительной реакции с экссудативными проявлениями, явлениями вторичной альтерации, наиболее заметной при рубцевании термического ожога кожи, репаративные способности органа путем простого деления клеток ограничиваются, но проявления признаков мезенхимально-эпителиального перехода (экспрессия e-cadherin, уменьшение экспрессии vimentin, мезенхимальными клетками в различных

экспериментальных условиях, при фиброзировании печени – экспрессия SNAIL/SLUG гепатоцитами) способствуют образованию клеток, фенотипически и функционально, схожих с узкоспециализированными клетками исходных тканей и органов, таким образом, способствуя компенсации нарушенных функций и восстановлению барьера между внутренней и внешней средой [101; 253].

Обмен коллагена в различных экспериментальных условиях и различной этиологии фиброза осуществляется не только матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами (MMP9, TIMP1), но и процессом фагоцитоза активированными макрофагами [185; 204].

Воздействие окисленным декстраном позволило повлиять на некоторые звенья в пато- и морфогенезе развития фиброза. В частности, воздействие ОД способствовало более ранней убыли нейтрофилов, уменьшению проявлений повреждения в связи с влиянием ОД на функциональное состояние и активность фагоцитоза. Так, функциональное состояние макрофагов имело признаки M2 поляризации, на что указывала более выраженная экспрессия IFN γ , IL-10, но меньшей экспрессией TNF α и IL-1 у крыс получавших ОД в сравнении со спонтанным формированием фиброза [106; 167]. В результате изучения ультраструктурных особенностей макрофагов при воздействии ОД обнаруживали увеличение объёмной плотности цитоплазмы и лизосомального аппарата в макрофагах, в отличие от макрофагов крыс, не получавших ОД при спайках брюшной полости. Учитывая экспрессию маркеров ЭМП (e-cadherin, vimentin, мезенхимальными и эпителиальными клетками в различных экспериментальных условиях, при фиброзировании печени – экспрессии SNAIL/SLUG гепатоцитами) при воздействии ОД в меньшем количестве клеток, чем при спонтанном формировании фиброза, результатом является меньший объём продукции коллагена в органах после предшествующего повреждения, следовательно, ОД препятствует развитию ЭМП, но стимулирует проявления МЭП, что ведет к проявлениям регенерации и адаптации, более раннему восстановлению узкоспециализированных структур и барьеров между внутренней и внешней средой. В том числе воздействие ОД способствовало и созданию более

благоприятных трофических условий, поскольку увеличивалась численная плотность сосудов, но меньших по размеру и с более тонкими стенками, чем при спонтанном формировании фиброза.

Проведенное исследование позволило выявить нарушение образования коллагена при воздействии ОД, так в спайках накапливалось меньше коллагена 1 типа, при формировании послеожогового рубца кожи и посттоксическом поражении печени – ретикулярных волокон [37; 52; 169; 274].

Иммуногистохимическое исследование продемонстрировало, что при воздействии ОД ингибиторы матриксных металлопротеиназ (TIMP) проявляют экспрессию в большей степени, чем матриксные металлопротеиназы, что указывает на значимость активности фагоцитоза несформированного коллагена и его предшественников, функционального состояния макрофагов при фиброзе. Ультраструктурное исследование при спайках брюшной полости позволило выявить нарушение сборки коллагена (коллагеновые волокна были тоньше, чем при спонтанном формировании спаек), при этом во внеклеточном матриксе содержалось меньшее количество коллагена, но в большем объёме был выявлен тропоколлаген. Коллаген и тропоколлаген поглощались макрофагами.

Фибробласты, при воздействии ОД на формирование спаек брюшной полости, сохраняли активность (объёмная плотность шероховатого ЭПР не отличалась от таковой при спонтанном формировании спаек брюшной полости), но в условиях нарушенного коллагенообразования подвергались апоптозу и фагоцитозу.

Таким образом, проведенное исследование демонстрирует участие фиброза и его роль в поддержании гомеостаза органов и тканей, восстановлении барьера между внутренней и внешней средой, проявляя черты компенсаторно-приспособительного процесса, реализующегося механизмом ЭМП [20; 253].

Несмотря на общность механизмов развития фиброза, его молекулярных и морфогенетических аспектов развития, отличительные черты в различных органах и тканях и обеспечиваются разнообразием клеток их формирующих,

зачастую узкоспециализированных и органотипических. Так, например, в коже участие в развитии фиброза поддерживают клетки эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов; в печени – гепатоциты, эпителий желчных протоков, клетки Ито; брюшная полость (брюшина) – мезотелий [237]. При этом фибробласты и эндотелиальные клетки, присутствующие в любом органе и ткани, исследованном в рамках экспериментов данной работы, наряду с узкоспециализированными структурами участвуют в реализации фиброза и ЭМП [9; 20; 119; 237].

ВЫВОДЫ

1. Формирование плотного гиалинизированного рубца кожи после термического ожога 3Б степени обусловлено поздним разрешением экссудативных проявлений воспаления (убыль нейтрофилов происходит к 32-м суткам эксперимента), пролиферацией и склерозом сосудов в области дефекта, поздней миграцией макрофагов в очаг воспаления (численная плотность макрофагов возрастает с 5-х суток после нанесения ожога):

а) окисленный декстран способствует эпителизации дефекта и раннему отторжению струпа, формированию меньшей площади рубца – эпителизация дефекта начинается с 7-х суток, площадь рубца уменьшается на 87 % к 21-м суткам, что связано с увеличением количества макрофагов (на 23,4 %), меньшим количеством нейтрофилов (более чем в 2 раза), улучшением трофических условий (численная плотность сосудов увеличивается на 21-е и 32-е сутки).

2. Цирроз печени при продолжительном токсическом воздействии (в течение 60 суток) характеризуется снижением регенерации гепатоцитов на клеточном уровне (уменьшение количества двуядерных гепатоцитов к 90-м суткам), а воздействие окисленного декстрана способствует регенерации гепатоцитов на клеточном уровне (увеличение количества двуядерных гепатоцитов) при условии введения окисленного декстрана с 30-х и 60-х суток эксперимента.

3. Формирование фиброза зависит от морфофункционального состояния и количества макрофагов:

а) при ожогах кожи 3Б степени увеличивается количество макрофагов, уменьшается объёмная плотность некрозов с 5-х суток, выявлена умеренная корреляционная связь между количеством макрофагов и объёмной плотностью коллагена ($r = 0,399318708$);

б) на формирование спаек брюшной полости и избыточность накопления коллагена влияет увеличение количества нейтрофилов, фибробластов, макрофагов

и их секреторной активности – увеличиваются диаметры макрофагов, объёмная плотность шероховатого эндоплазматического ретикулула;

в) при фиброзе и циррозе печени популяция макрофагов гетерогенна, представлена макрофагами, экспрессирующими признаки M1 и M2 типа, с преобладанием макрофагов, экспрессирующих цитокины IL-1 и TNF α , характеризующие M1 статус, а при воздействии окисленного декстрана в большей степени макрофаги экспрессируют IL-10 и TGF- β , характерные для M2 статуса.

4. На развитие цирроза печени влияет эпителиально-мезенхимальный переход клеток:

а) при циррозе печени эпителиально-мезенхимальный переход способствует образованию ложных долек, проявляется в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени, не достигающих конечной трансформации: эндотелиоциты, фибробласты, гепатоциты экспрессируют Vimentin и SNAIL/SLUG, фибробласты проявляют экспрессию E-cadherin, SNAIL/SLUG, увеличивается численная плотность клеток Ито к 60-м суткам эксперимента и размеры ложных долек;

б) при воздействии окисленного декстрана размеры ложных долек увеличиваются в связи с участием непаренхиматозных клеток в процессе мезенхимально-эпителиального перехода – экспрессия E-cadherin, снижение экспрессии Vimentin, уменьшение объёма коллагена 1 типа (более чем в 2 раза), количества фибробластов, клеток Ито.

5. При формировании спаек брюшной полости проявляется экспрессия CK-18 и E-cadherin фибробластами, Vimentin мезотелиальными клетками, свидетельствующая о мезенхимально-эпителиальном переходе.

6. При формировании спаек брюшной полости макрофаги, экспрессирующие признаки M1 и M2 статуса, обладают морфо-функциональными отличиями – диаметры макрофагов с признаками M1 статуса меньше, характеризуются меньшей объёмной плотностью лизосомального аппарата в сравнении с макрофагами, имеющими признаки M2 статуса, процессы фагоцитоза и лизосомальный аппарат более выражены:

а) окисленный декстран влияет на морфо-функциональный статус макрофагов путем увеличения экспрессии в макрофагах IFN γ , IL-10, TGF- β , характеризующих M2 статус макрофагов в различных экспериментальных условиях: раннее «очищение» области термического ожога кожи, образование меньшего количества спаек в брюшной полости, увеличение количества и размера макрофагов, объёмной плотности шероховатого эндоплазматического ретикулума и лизосомального аппарата в макрофагах спаек брюшной полости.

7. Фиброз органов и тканей связан с увеличением «фибропластической активности» фибробластов во всех исследованных экспериментальных условиях, а при циррозе печени и в спайках брюшной полости характеризуется преобладанием экспрессии MMP9 над TIMP1 фибробластами и макрофагами.

8. Окисленный декстран препятствует сборке коллагена во внеклеточном матриксе во всех исследованных экспериментальных условиях – меньшая объёмная плотность коллагена при рубцевании ожогов, формировании посттоксического фиброза и цирроза печени, при формировании спаек брюшной полости сочеталась с образованием более тонких (на 22 %) коллагеновых волокон:

а) окисленный декстран препятствует фиброзу путем уменьшения количества фибробластов при циррозе печени и формировании спаек брюшной полости, апоптоза фибробластов (экспрессия p53 в фибробластах).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМК	активированные метаболиты кислорода
ВКМ	внеклеточный матрикс
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
МЭП	мезенхимально-эпителиальный переход
ОД	окисленный декстран
СМФ	система моноклеарных фагоцитов
ЭМП	эпителиально-мезенхимальный переход
ЭПР	эндоплазматический ретикулум
CCl ₄	четырёххлористый углерод (тетрахлорметан)
EGF	эпидермальный фактор роста
FGF	факторов роста фибробластов
MMP	матриксная металлопротеиназа
PDGF	фактор роста тромбоцитов
TGF- β	трансформирующий фактор роста β
TIMP	тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ
TNF- α	фактора некроза опухоли
VEGF	фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева, Н. Ю. Значение генов, участвующих в регуляции апоптоза, в патогенезе наружного генитального эндометриоза (обзор литературы) / Н. Ю. Андреева, М. И. Ярмолинская, Т. Э. Иващенко. – DOI: 10.17816/JOWD62390 // Журнал акушерства и женских болезней. – 2021. – Т. 70, № 4. – С. 99–113.
2. Аникина, А. Г. Морфофункциональная характеристика фибробластов и особенности фиброгенеза в легких мышей, инфицированных вирусом гриппа A/H5N1 A/goose/Krasnoozerskoye/627/05 / А. Г. Аникина, О. В. Потапова, В. А. Шкурупий // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 9. – С. 346–349.
3. Влияние биотехнологий репрограммирования макрофагов на инициированную воспалительную реакцию в пародонте мышей (экспериментальное исследование) / В. А. Румянцев, Ш. Л. Шиманский, М. Г. Гаспарян [и др.] // Вятский медицинский вестник. – 2019. – № 2. – С. 56–60.
4. Зубова, С. Г. Роль аутофагии и поляризации макрофагов в процессах хронического воспаления и регенерации / С. Г. Зубова, А. В. Моршнева // Цитология. – 2024. – Т. 66, № 1. – С. 20–34.
5. Исследование биосовместимости липосом с противотуберкулезным средством (декстразидом) в культуре макрофагов / С. А. Архипов, В. А. Шкурупий, Д. В. Нецадим [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – Т. 1, № 9. – С. 74–78.
6. Карпов, М. А. Исследование деструктивных и репаративных процессов в печени при хроническом гранулематозе смешанной (силикотической и туберкулезной) этиологии в эксперименте / М. А. Карпов, В. А. Шкурупий, А. П. Надеев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 6. – С. 622–626.
7. Карпов, М. А. Исследование фибротических осложнений в гранулемах при хроническом силикотуберкулезе у мышей / М. А. Карпов, В. А. Шкурупий,

А. П. Надеев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 5. – С. 594–598.

8. Ключко, Д. А. Патогенетические предпосылки развития спаечного процесса брюшной полости / Д. А. Ключко // Новости хирургии. – 2021. – Т. 29, № 6. – С. 728–735.

9. Кузнецова, А. В. Эпителиально-мезенхимальный переход: молекулярные механизмы активации клеток ретинального пигментного эпителия / А. В. Кузнецова // Онтогенез. – 2022. – Т. 53, № 6. – С. 454–487.

10. Лекция 3. Особенности структуры, функции и метаболизма моноцитов крови и моноклеарно-фагоцитирующей системы тканей / Н. П. Чеснокова, Е. В. Понукалина, Т. А. Невважай [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 4–2. – С. 290–292. – URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=6637> (дата обращения: 15.03.2025).

11. Макрофаги M1/M2: происхождение, фенотип, способы получения, взаимодействие с естественными киллерами и трофобластом / А. С. Жгулева, М. С. Зементова, С. А. Сельков, Д. И. Соколов. – DOI: 10.15789/1563-0625-ММО-2877 // Медицинская иммунология. – 2024. – Т. 26, № 3. – С. 425–448.

12. Маянский, Д. Н. Лекции по клинической патологии : рук. для врачей / Д. Н. Маянский. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 464 с. – ISBN 978-5-9704-0508-2.

13. Морфофункциональная характеристика фибробластов папиллярного и ретикулярного слоев дермы кожи человека / О. С. Роговая, А. О. Зупник, Л. Ш. Измайлова, Е. А. Воротеляк // Вестник МГУ. Сер. 16: Биология. – 2021. – Т. 76, № 4. – С. 250–257.

14. Мустафин, Р. Н. Молекулярно-генетические особенности патогенеза идиопатического легочного фиброза / Р. Н. Мустафин. – DOI: 10.18699/VJGB-22-37 // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2022. – Т. 26, № 3. – С. 308–318.

15. Надеев, А. П. Исследование морфогенеза гранулем в печени мышей в различные возрастные периоды и при применении окисленного декстрана /

А. П. Надеев, А. А. Абышев, И. О. Маринкин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 1. – С. 112–116.

16. Непомнящих, Д. Л. Биопсия печени: Патоморфогенез хронического гепатита и цирроза / Д. Л. Непомнящих, С. В. Айдагулова, Г. И. Непомнящих. – Москва : Изд-во РАМН, 2006. – 368 с. : ил. – ISBN 5–7901–0086–4.

17. Окисленный декстран усиливает альтернативную активацию макрофагов мышей оппозитных линий / А. В. Чечушков, П. М. Кожин, Н. С. Зайцева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 12. – С. 749–753

18. Программируемая гибель клеток и заболевания печени / Н. А. Онищенко, З. З. Гоникова, А. О. Никольская [и др.]. – DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-72-88 // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24, № 1. – С. 72–88.

19. Продукция факторов, участвующих в регуляции фиброза, различными типами макрофагов человека / А. А. Максимова, Е. Я. Шевела, Л. В. Сахно [и др.] // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 4. – С. 625–632.

20. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в патогенезе различных заболеваний / М. А. Варданян, Э. И. Пилюгина, А. С. Бадлаева [и др.]. – DOI: 10.26442/20751753.2024.7.202966 // Consilium Medicum. – 2024. – Т. 26, № 7. – С. 455–460.

21. Семенов, Д. А. Роль мезотелиальных клеток в компенсаторно–приспособительных реакциях плевры при патологии (обзор литературы) / Д. А. Семенов. – DOI: 10.22448/AMJ.2019.4.60-64 // Амурский медицинский журнал. – 2019. – № 4 (28). – С. 60–64.

22. Синтез коллагена в коже, его функциональные и структурные особенности / О. Б. Борzych, Н. А. Шнайдер, Е. И. Карпова [и др.]. – DOI: 10.14300/mnnc.2021.16108 // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16, № 4. – С. 443–450.

23. Соединительная ткань и проблемы ее патологических состояний // В. А. Шкурупий, Л. Б. Ким, А. В. Ковнер, Л. А. Черданцева // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 75–85.

24. Структурные изменения в печени мышей при БЦЖ-гранулематозе и применении окисленного декстрана в возрастной динамике / А. А. Абышев, А. П. Надеев, М. А. Дудин, А. Б. Логинова // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2022. – Т. 6, № 2. – С. 62–73.

25. Транскрипционный фактор NF-kB как терапевтическая мишень в лечении злокачественных опухолей / К. Умегава, Ш. Х. Ганцев, Ш. Р. Кыргалин [и др.] // Креативная хирургия и онкология. – 2014. – №4. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/transkriptsionnyy-faktor-nf-kb-kak-terapevticheskaya-mishen-v-lechenii-zlokachestvennyh-opuholey> (дата обращения: 15.03.2025).

26. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения / А. И. Зорина, И. Я. Бозо, В. Л. Зорин [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 15–26.

27. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани / И. А. Шурыгина, М. Г. Шурыгин, Н. И. Аюшинова, О. В. Каня // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 110, № 3. – С. 8–12.

28. Функциональные особенности макрофагов линии PMJ2-R / П. М. Кожин, А. Л. Русанов, О. О. Шошина, Н. Г. Лузгина // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18, № 4. – С. 133–137.

29. Хомулло, Г. В. Ультраструктурная организация фибробластов новообразованной ткани при заживлении ран кожи у животных в условиях применения хитозана / Г. В. Хомулло, О. М. Довгилева, М. Б. Петрова // Верхневолжский медицинский журнал. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 41–45.

30. Шкурупий, В. А. Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия / В. А. Шкурупий. – Москва : Изд-во РАМН, 2007. – 536 с. – ISBN 978-5-7901-0098-7.

31. Шкурупий, В. А. Феномен многоядерности – реакция макрофагов на персистенцию в них *M. tuberculosis* / В. А. Шкурупий, Д. А. Ильин, С. А. Архипов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 11–2. – С. 218–222.
32. Экспрессия коллагенов в зоне повреждения при развитии спаечного процесса в брюшной полости / И. А. Шурыгина, М. Г. Шурыгин, Л. В. Родионова [и др.]. – DOI: 10.12737/article_5a0a8f324c0403.15747306 // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 6. – С. 172–176.
33. Эпителиально-мезенхимальный переход: злокачественная прогрессия и перспективы противоопухолевой терапии / А. В. Гапонова, С. Родин, А. А. Мазина, П. В. Волчков // Acta Naturae. – 2020. – № 3 (46). – С. 4–23
34. Этиология и патогенез спаечного процесса брюшной полости / А. Сопуев, Н. Маматов, М. Ормонов [и др.] // Евразийский журнал здравоохранения. – 2021. – № 3. – С. 37–45.
35. 4-aminopyridine attenuates inflammation and apoptosis and increases angiogenesis to promote skin regeneration following a burn injury in mice / V. G. Rahul, G. Ellur, A. A. Gaber [et al.]. – DOI: 10.1038/s41420-024-02199-6. – Text : electronic // Cell Death Discov. – 2024. – Vol. 10, N 1. – P. 428. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39366954/> (date of access: 19.03.2025).
36. 4-OI Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury via Regulating Oxidative Stress and the Inflammatory Response / R. Li, W. Yang, Y. Yin [et al.] // Front. Pharmacol. – 2021. – Vol. 12, N 651444.
37. A Comprehensive Review on Collagen Type I Development of Biomaterials for Tissue Engineering: From Biosynthesis to Bioscaffold / I. N. Amirrah, Y. Lokanathan, I. Zulkiflee [et al.]. – DOI: 10.3390/biomedicines10092307. – Text : electronic // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10, N 9. – P. 2307. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36140407/> (date of access: 17.03.2025).
38. Absorption of bioactive peptides following collagen hydrolysate intake: a randomized, double-blind crossover study in healthy individuals / N. Virgilio, C. Schön, Y. Mödinger [et al.] // Front. Nutr. – 2024. – Vol. 11, N 11. – P. 1416643.

39. Acquisition of epithelial plasticity in human chronic liver disease / C. Gribben, V. Galanakis, A. Calderwood [et al.]. – DOI: 10.1038/s41586-024-07465-2. – Text : electronic // Nature. – 2024. – Vol. 630, N 8015. – P. 166–173. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38778114/> (date of access: 08.04.2025).

40. Activated hepatic stellate cell-derived Bmp-1 induces liver fibrosis via mediating hepatocyte epithelial-mesenchymal transition / S. Wan, X. Liu, R. Sun [et al.]. – DOI: 10.1038/s41419-024-06437-8. – Text : electronic // Cell Death Dis. – 2024. – Vol. 15, N 1. – P. 41. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38216590/> (date of access: 19.03.2025).

41. Adhesion Prevention in Gynecologic Surgery: Guidance and Clinical Experience / I. Alkatout, R. L. De Wilde, J. Herrmann [et al.] // J. Clin. Med. – 2024. – Vol. 13, N 24. – P. 7517.

42. Administration of Gas6 attenuates lung fibrosis via inhibition of the epithelial-mesenchymal transition and fibroblast activation / Y. J. Lee, M. Kim, H. S. Kim, J. L. Kang. – DOI: 10.1007/s10565-024-09858-5. – Text : electronic // Cell Biol. Toxicol. – 2024. – Vol. 40, N 1. – P. 20. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38578518/> (date of access: 19.03.2025).

43. Advances in research on M1/M2 macrophage polarization in the pathogenesis and treatment of osteoarthritis / Z. Deng, W. Yang, B. Zhao [et al.]. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2025.e42881. – Text : electronic // Skelet. Radiol. – 2025. – Vol. 11, N 10. – P. e42881. – URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00256-025-04976-5> (date of access: 21.03.2025).

44. Ainal, A. Effect of intraperitoneal and systemic sirolimus administration on postoperative peritoneal adhesions in rats / A. Ainal, S. Saydam. – DOI: 10.30621/jbachs.977476. – Text : electronic // J. Basic. Clin. Health Sci. – 2021. – Vol. 5, N 3. – P. 195–200. – URL: <https://dergipark.org.tr/en/pub/jbachs/issue/64953/977476> (date of access: 14.04.2025).

45. Al Amin A. S. M. Carbon Tetrachloride Toxicity / A. S. M. Al Amin, R. G. Menezes : StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32965851/> (date of access: 14.04.2025).
46. Albert, R. K. Clinical Respiratory Medicine / R. K. Albert, J. R. Jett, S. G. Spiro. – 3rd Edition. – Mosby, 2008. – P. 165–176.
47. Alizadeh, M. Polarimetric second-harmonic generation microscopy of partially oriented fibers I: digital modeling / M. Alizadeh, S. Krouglov, V. Barzda // Biophys. J. – 2023. – Vol. 122, N 19. – P. 3924–3936.
48. Alleviation of liver fibrosis by inhibiting a non–canonical ATF4-regulated enhancer program in hepatic stellate cells / L. X. Yang, C. Qi, S. Lu [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-024-55738-1. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2025. – Vol. 16, N 1. – P. 524. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35308169/> (date of access: 14.04.2025).
49. Alternatively Activated Macrophages; a Double-Edged Sword in Allergic Asthma / M. H. Abdelaziz, S. F. Abdelwahab, J. Wan [et al.] // J. Transl. Med. – 2020/ – Vol. 18, N 1. – P. 58.
50. Amack, J. D. Cellular dynamics of EMT: Lessons from live in vivo imaging of embryonic development / J. D. Amack. – DOI: 10.1186/s12964-021-00761-8. – Text : electronic // Cell Commun. Signal. – 2021. – Vol. 19, N 1. – P. 79. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34294089/> (date of access: 14.04.2025).
51. An emerging view on vascular fibrosis molecular mediators and relevant disorders: from bench to bed / R. Hua, H. Gao, C. He [et al.]. – DOI: 10.3389/fcvm.2023.1273502. – Text : electronic // Front Cardiovasc. Med. – 2023. – Vol. 10, N 12. – P. 1273502. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38179503/> (date of access: 08.04.2025).
52. Añazco, C. Common Beans as a Source of Amino Acids and Cofactors for Collagen Biosynthesis / C. Añazco, P. G. Ojeda, M. Guerrero-Wyss. – DOI: 10.3390/nu152145612023. – Text : electronic // Nutrients. – 2023. – Vol. 15, N 21. – P. 4561. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37960212/> (date of access: 17.03.2025).

53. Angiogenesis-An Emerging Role in Organ Fibrosis / D. Wang, Y. Zhao, Y. Zhou [et al.]. – DOI: 10.3390/ijms241814123. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, N 18. – P. 14123. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37762426/> (date of access: 19.03.2025).
54. Anti-CD47 Treatment Stimulates Phagocytosis of Glioblastoma by M1 and M2 Polarized Macrophages and Promotes M1 Polarized Macrophages In Vivo / M. Zhang, G. Hutter, S. A. Kahn [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0153550. – Text : electronic // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, N 4. – P. e0153550. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27092773/> (date of access: 14.04.2025).
55. Antioxidant therapy against TGF- β /SMAD pathway involved in organ fibrosis / S. Ghafouri-Fard, A. Askari, H. Shoorei [et al.]. – DOI: 10.1111/jcmm.18052. – Text : electronic // J. Cell Mol. Med. – 2024. – Vol. 28, N 2. – P. e18052. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38041559/> (date of access: 08.04.2025).
56. Autophagy deficiency promotes M1 macrophage polarization to exacerbate acute liver injury via ATG5 repression during aging / R. Liu, J. Cu, Y. Sun [et al.]. – DOI: 10.1038/s41420-021-00797-2. – Text : electronic // Cell Death Discov. – 2021. – Vol. 7, N 1. – P. 397. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34930917/> (date of access: 19.03.2025).
57. Bou-Gharios, G. Principles of Bone Biology / G. Bou-Gharios, D. Abraham, B. de Crombrughe; Editors J. P. Bilezikian, T. J. Martin, T. L. Clemens, C. J. Rosen. – 4rd Edition. – Boston : Academic Press, 2020. – P. 295–337.
58. Boyer, B. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions / B. Boyer, A. M. Vallés, N. Edme. – DOI: 10.1016/s0006-2952(00)00427-5. – Text : electronic // Biochem. Pharmacol. – 2000. – Vol. 60, N 8. – P. 1091–1099. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11007946/> (date of access: 17.03.2025).
59. Buechler, M. B. Fibroblast-macrophage reciprocal interactions in health, fibrosis, and cancer / M. B. Buechler, W. Fu, S. J. Turley. – DOI: 10.1016/j.immuni.2021.04.021. – Text : electronic // Immunity. – 2021. – Vol. 54, N 5. – P. 903–915. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33979587/> (date of access: 19.03.2025).

60. Cancer cell migration on elongate protrusions of fibroblasts in collagen matrix / K. Miyazaki, J. Oyanagi, D. Hoshino [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-018-36646-z. – Text : electronic // Sci. Rep. 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 292. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30670761/> (date of access: 19.03.2025).
61. Caputo, R. E. Collagen Phagocytosis in Multicentric Reticulohistiocytosis / R. Caputo, E. Alessi, E. Berti // J. Investig. Dermatol. – 1981. – Vol. 76. – P. 342–346.
62. Carbon monoxide (CO) derived from the CO-releasing molecule CORM-2 reduces peritoneal adhesion formation in a rat model / E. İpek, G. S. E. Aşici, B. K. Kurt [et al.]. – DOI: 10.1007/s11033-023-08753-2. – Text : electronic // Mol. Biol. Rep. – 2023. – Vol. 50, N 10. – P. 8483–8495. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37639152/> (date of access: 08.04.2025).
63. Cell barrier function of resident peritoneal macrophages in post-operative adhesions / T. Ito, Y. Shintani, L. Fields [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-021-22536-y. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2021. – Vol. 12, N 1. – P. 2232. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33854051/> (date of access: 08.04.2025).
64. Characterization in mice of the resident mesenchymal niche maintaining AT2 stem cell proliferation in homeostasis and disease / S. Taghizadeh, M. Heiner, A. I. Vazquez-Armendariz [et al.] // Stem Cells. – 2021. – Vol. 39, N 10. – P. 1382–1394.
65. Characterization of Collagen I fiber thickness, density, and orientation in the human skin in vivo using second-harmonic generation imaging / M. Kröger, J. Schleusener, S. Jung, M. E. Darvin. – DOI: 10.3390/photonics8090404. – Text : electronic // Photonics. – 2021. – Vol. 8, N 9. – P. 404. – URL: <https://www.researchgate.net/publication/354756513> (date of access: 19.03.2025).
66. Cialdai, F. Role of fibroblasts in wound healing and tissue remodeling on Earth and in space / F. Cialdai, C. Risaliti, M. Monici. – DOI: 10.3389/fbioe.2022.958381. – Text : electronic // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2022. – N 10. – P. 958381. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36267456/> (date of access: 21.03.2025).

67. Collagen peptides promote skin collagen synthesis by modulating gut microbiota and activating the TGF- β pathway / H. Zhang, Z. Yao, Y. Song [et al.] // Food Funct. – 2025. – N 16. – P. 5326–5344.

68. Collagen phagocytosis by lung alveolar macrophages in animal models of emphysema / M. Lucattelli, E. Cavarra, M. M. De Santi [et al.]. – DOI: 10.1183/09031936.03.00047603. – Text : electronic // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 22, N 5. – P. 728–734. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14621076/> (date of access: 19.03.2025).

69. Collagen Structure, Synthesis, and Its Applications: A Systematic Review / M. Shenoy, N. S. Abdul, Z. Qamar [et al.]. – DOI: 10.7759/cureus.24856. – Text : electronic // Cureus. – 2022. – Vol. 14, N 5. – P. e24856. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35702467/> (date of access: 19.03.2025).

70. Collagen Synthesis in Human 3D Skin Models Containing Macrophages / S. Huth, L. Huth, Y. Marquardt [et al.] // J. Drug. Dermatol. – 2024. – Vol. 23, N 4. – P. 285–288.

71. Collison, J. Promoting apoptosis is key to reversing fibrosis / J. Collison. – DOI: 10.1038/nrrheum.2017.222. – Text : electronic // Nat. Rev. Rheumatol. – 2018. – Vol. 14, N 2. – P. 61. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29362463/> (date of access: 21.03.2025).

72. Comparative Study of the Therapeutic Effect of Panthenol Gel and Mebo Ointment on Metacarpal Wound Healing in Donkeys / M. A. Semieka, M. M. Ali, S. A. Khafar [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jevs.2018.11.016. – Text : electronic // J. Equine Vet. Sci. 2019. – Vol. 74, N 1. – P. 21–27. – URL: <https://www.sci-hub.ru/10.1016/j.jevs.2018.11.016> (date of access: 19.03.2025).

73. Comprehensive review of the vascular niche in regulating liver regeneration, fibrosis, and hepatocellular carcinoma / Y. Chen, Y. Zhou, P. Li, B.-S. Ding // Eng. Med. – 2025. – Vol. 2, N 2. – P. 100070.

74. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis / J. Winkler, A. Abisoye-Ogunniyan, K. J. Metcalf, Z. Werb. – DOI: 10.1038/s41467-020-18794-x. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2020. –

Vol. 11, N 1. – P. 5120. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33037194/> (date of access: 19.03.2025).

75. Conte, E. J. Targeting monocytes/macrophages in fibrosis and cancer diseases: Therapeutic approaches / E. J. Conte // *Pharmacol. Ther.* – 2021. – Vol. 234. – P. 108031.

76. Costa-Almeida, R. Fibroblasts as maestros orchestrating tissue regeneration / R. Costa-Almeida, R. Soares, P. L. Granja. – DOI: 10.1002/term.2405. – Text : electronic // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2018. – Vol. 12, N 1. – P. 240–251. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28109062/> (date of access: 21.03.2025).

77. Dan, X. The role and mechanisms of macrophage polarization and hepatocyte pyroptosis in acute liver failure / X. Dan, O. Shi. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1279264. – Text : electronic // *Front. Immunol.* – 2023. – Vol. 14, N 12. – P. 1–16. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37954583/> (date of access: 21.03.2025).

78. Davidson, M. D. Engineered biomaterial platforms to study fibrosis / M. D. Davidson, J. A. Burdick, R. G. Wells // *Adv. Healthc. Mater.* – 2020. – Vol. 9, N 8. – P. e1901682.

79. Dermal Fibroblast Migration and Proliferation Upon Wounding or Lipopolysaccharide Exposure is Mediated by Stathmin / R. Cen, L. Wang, Y. He [et al.]. – DOI: 10.3389/fphar.2021.781282. – Text : electronic // *Front. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 781282. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35153746/> (date of access: 17.03.2025).

80. Design of synthetic collagens that assemble into supramolecular banded fibers as a functional biomaterial testbed / J. Hu, J. Li, J. Jiang [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-022-34127-6. – Text : electronic // *ACS Nat. Commun.* – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 6761. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36351904/> (date of access: 08.04.2025).

81. Dexmedetomidine alleviates pulmonary fibrosis through the ADORA2B-Mediated MAPK signaling pathway / X. Lai, Y. Lin, S. Huang [et al.]. – DOI: 10.1186/s12931-023-02513-3. – Text : electronic // *Respir. Res.* – 2023. – Vol. 24,

N 1. – P. 214. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37644529/> (date of access: 19.03.2025).

82. Dousdampanis, P. The role of M1/M2 macrophage polarization in the pathogenesis of obesity-related kidney disease and related pathologies / P. Dousdampanis, I. Aggeletopoulou, A. Mouzaki. – DOI: 10.3389/fimmu.2024.1534823. – Text : electronic // Front. Immunol. – 2025. – Vol. 15, N 15. – P. 1534823. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39867890/> (date of access: 21.03.2025).

83. Dual role of neutrophils in modulating liver injury and fibrosis during development and resolution of diet-induced murine steatohepatitis / A. D. Kim, S. E. Kim, A. Leszczynska [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-021-03679-w. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 24194. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34921208/> (date of access: 19.03.2025).

84. Duarte V. P. Reggiori F. The Organization and Function of the Phagophore-ER Membrane Contact Sites / V. P. Duarte, F. Reggiori // Contact (Thousand Oaks). – 2023. – Vol. 6, N 25152564231183898.

85. Dysfunctional keratinocytes increase dermal inflammation in systemic sclerosis: Results from studies using tissue-engineered scleroderma epidermis / B. Russo, J. Borowczyk, W.-H. Boehncke [et al.]. – DOI: 10.1002/art.41659. – Text : electronic // Arthritis Rheumatol. – 2021. – Vol. 7. – P. 1311–1317. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33497035/> (date of access: 19.03.2025).

86. Editorial: Fibrosis: etiology, pathophysiology, measurements, and therapy / Y. Liu, J. Xu, Y. Zhao, P. Hao. – DOI: 10.3389/fphar.2023.1201830. – Text : electronic // Front. Pharmacol. – 2023. – Vol. 14, N 12. – P. 1201830. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37261281/> (date of access: 19.03.2025).

87. Effect of ultrasound and dexpanthenol on collagen organization in tegumentary lesions / G. N. Guimarães, M. S. M. Pires-De-Campos, R. L. Gislaine [et al.] // Rev. Bras. Fisioter. – 2011. – Vol. 15, N 3. – P. 227–232.

88. EGFR-mediated crosstalk between vascular endothelial cells and hepatocytes promotes Piezo1-dependent liver regeneration / Y. Hu, G. Du, C. Li // *Genes Dis* – 2025. – Vol. 12, N 3. – P. 101321.

89. Eisele, D. W. *Complications in Head and Neck Surgery* / D. W. Eisele, R. V. Smith. – 2nd edition. – Mosby, 2009. – P. 813–825. – ISBN 978-1-4160-4220-4.

90. Elucidating the fundamental fibrotic processes driving abdominal adhesion formation / D. S. Foster, C. D. Marshall, G. S. Gulati [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-020-17883-1. – Text : electronic // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, N 1. – P. 4061. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32792541/> (date of access: 08.04.2025).

91. Elucidating the Novel Mechanism of Ligustrazine in Preventing Postoperative Peritoneal Adhesion Formation / L. Yang, Z. Li, Y. Chen [et al.]. – DOI: 10.1155/2022/9226022. – Text : electronic // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2022. – Vol. 10, N 2022:9226022. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35308169/> (date of access: 14.04.2025).

92. Epidermal growth factor receptor activation is essential for kidney fibrosis development / S. Cao, Y. Pan, A. S. Terker [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-023-43226-x. – Text : electronic // *Nat Commun.* – 2023. – Vol. 14, N 1. – P. 7357. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37963889/> (date of access: 17.03.2025).

93. Epidermal Potentiation of Dermal Fibrosis / D. M. Dolivo, L. S. Sun, A. E. Rodrigues [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2023. – Vol. 193, N 5. – P. 510–519.

94. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) can be driven by macrophages through multiple signalling pathways / D. Turner, R. Dobie, J. Rzepecka [et al.] // *J. Immunol. Ther. Cancer.* – 2023. – Vol. 11.

95. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review / I. Pastar, O. Stojadinovic, N. C. Yin [et al.]. – DOI: 10.1089/wound.2013.0473. – Text : electronic // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* – 2014. – Vol. 3, N 7. – P. 445–464. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25032064/> (date of access: 19.03.2025).

96. Epithelial-mesenchymal plasticity (EMP) in wound healing: Exploring EMT mechanisms, regulatory network, and therapeutic opportunities / W. Yao, Z. Wang, H. Ma [et al.] // *Heliyon.* – 2024. – Vol. 10, N 14. – P. e34269.

97. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT): The Type-2 EMT in Wound Healing, Tissue Regeneration and Organ Fibrosis / G. D. Marconi, L. Fonticoli, T. S. Rajan [et al.]. – DOI: 10.3390/cells10071587. – Text : electronic // Cells. – 2021. – 2023. – Vol. 10, N 7. – P. 1587. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34201858/> (date of access: 19.03.2025).

98. Eren, E. C. Role of peripheral inflammatory biomarkers, transforming growth factor-beta and interleukin 6 in predicting peritoneal adhesions following repeat cesarean delivery / E. C. Eren, P. Basim. – DOI: 10.1007/s11845-021-02878-8. – Text : electronic // Ir. J. Med. Sci. – 2022– Vol. 191, N 6. – P. 2697–2704. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34988860/> (date of access: 21.03.2025).

99. Estimation of SPIO Nanoparticles Uptakes by Macrophages Using Transmission Electron Microscopy / A. Aleid, K. Alhussaini, M. Almjalli, A. S. Saad // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – N 23. – P. 13801.

100. Evidence for a lipofibroblast-to- Cthrc1 + myofibroblast reversible switch during the development and resolution of lung fibrosis in young mice / A. Lingampally, M. Truchi, O. Mauduit [et al.] // Eur. Respir. J. – 2024. – Vol. 65, N 2. – P. 1–53.

101. Examining the function of macrophage oxidative stress response and immune system in glioblastoma multiforme through analysis of single-cell transcriptomics / J. Xing, H. Cai, Z. Lin [et al.] // Front. Immunol. – 2024. – Vol. 14. – P. 1–20.

102. Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Epidermal Layer of Atopic Dermatitis / K. Kitazawa, K. Tanaka, Y. Kubota [et al.] // J. Stage. – 2024. – Vol. 47, N 1. – P. 49–59.

103. Extracellular matrix stiffness – the central cue for skin fibrosis / K. Wang, D. Wen, X. Xu [et al.] // Front. Mol. Biosci. – 2023. – Vol. 10, N 10. – P. 1–27.

104. Favier, A.-L. Molecular and Cellular Mechanisms of Inflammation and Tissue Regeneration / A.-L. Favier, K. Nikovics. – DOI: 10.3390/biomedicines11051416. – Text : electronic // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, N 5. – P. 1416. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37239087/> (date of access: 21.03.2025).

105. Fibroblast function recovery through rejuvenation effect of nanovesicles extracted from human adipose-derived stem cells irradiated with red light / J. Hyun, J. Eom, J. Im [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jconrel.2024.02.047. – Text : electronic // J. Control. Release. – 2024. – Vol. 368. – P. 453–465. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38447812/> (date of access: 08.04.2025).

106. Fibroblast inflammatory priming determines regenerative versus fibrotic skin repair in reindeer / S. Sinha, H. D. Sparks, E. Labit [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cell.2022.11.004. – Text : electronic // Cell. – 2022. – Vol. 185, N 25. – P. 4717–4736. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36493752/> (date of access: 19.03.2025).

107. Fibroblasts: Origins, definitions, and functions in health and disease / M. V. Plikus, X. Wang, S. Sinha [et al.]. – DOI: 10.1016/J.CELL.2021.06.024. – Text : electronic // Cell. – 2021. – Vol. 184, N 15. – P. 3852–3872. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34297930/> (date of access: 19.03.2025).

108. Fibrosis: Types, Effects, Markers, Mechanisms for Disease Progression, and Its Relation with Oxidative Stress, Immunity, and Inflammation / S. A. Antar, N. A. Ashour, M. E. Marawan, A. A. Al-Karmalawy. – DOI: 10.3390/ijms24044004. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, N 4. – P. 4004. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36835428/> (date of access: 17.03.2025).

109. Fibrosis: ultimate and proximate causes / V. J. Thannickal, Y. Zhou, A. Gaggari, S. R. Duncan // J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 124, N 11. – P. 4673–4677.

110. Function of Mitogen-Activated Protein Kinases in Hepatic Inflammation / G. Westenberger, J. Sellers, S. Fernando [et al.] // J. Cell Signal. – 2021. – Vol. 2, N 3. – P. 172–180.

111. Future Directions About Keloid Scars Based on Pathogenesis and Therapies / G. Zhang, Z. Liu, Z. Li, Y. Xu // Clin. Cosmet. Investig. Dermatol. – 2024. – Vol. 17, N 1. – P. 2391–2408.

112. Gelse, K. Collagens--structure, function, and biosynthesis / K. Gelse, E. Pöschl, T. Aigner // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2003. – Vol. 55, N 125. – P. 1531–1546

113. Gomes, R. N. The bright side of fibroblasts: molecular signature and regenerative cues in major organs / R. N. Gomes, F. Manuel, D. S. Nascimento. – DOI: 10.1038/s41536-021-00153-z. – Text : electronic // NPJ Regen. Med. – 2021. – Vol. 6, N 1. – P. 43. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34376677/> (date of access: 08.04.2025).

114. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) shows therapeutic effect on dimethylnitrosamine (DMN)- induced liver fibrosis in rats / M. B. Karmacharya, B. Hada, S. R. Park [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0274126. – Text : electronic // PLoS ONE. – 2022. – Vol. 17, N 9. – P. e0274126. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36054162/> (date of access: 19.03.2025).

115. Greenhalgh, D. Strategies to reduce burn scarring / D. Greenhalgh // Burns Open. – 2024. – Vol. 8. – P. 100371.

116. GRHL2 regulates keratinocyte EMT-MET dynamics and scar formation during cutaneous wound healing / T. Chen, B. Zhang, H. Xie [et al.]. – DOI: 10.1038/s41419-024-07121-7. – Text : electronic // Cell Death Dis. – 2024. – Vol. 15, N 10. – P. 748. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39402063/> (date of access: 21.03.2025).

117. H19/TET1 axis promotes TGF- β signaling linked to endothelial-to-mesenchymal transition / T. Cao, Y. Jiang, D. Li [et al.] // FASEB J. – 2020. – Vol. 34, N 6. – P. 8625–8640.

118. Haerinck, J. The epithelial-mesenchymal plasticity landscape: principles of design and mechanisms of regulation / J. Haerinck, S. Goossens, G. Berx. – DOI: 10.1038/s41576-023-00601-0. – Text : electronic // Nat. Rev. Genet. – 2023. – Vol. 24, N 9. – P. 590–609. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37169858/> (date of access: 08.04.2025).

119. Henderson, N. C. Fibrosis: from mechanisms to medicines / N. C. Henderson, F. Rieder, T. A. Wynn // Nature. – 2020. – Vol. 587, N 7835. – P. 555–566.

120. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) activates p38 to affect pulmonary fibrosis / Y. An, S.-Y. Yan, W. Xu [et al.] // *Regen. Ther.* – 2024. – Vol. 26. – P. 27–32.

121. Hinz, B. Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic disease / B. Hinz, D. Lagares. – DOI: 10.1038/s41584-019-0324-5. – Text : electronic // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2020. – Vol. 16, N 1. – P. 11–31. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31792399/> (date of access: 08.04.2025).

122. Holzer, E. The Role of ATG9 Vesicles in Autophagosome Biogenesis / E. Holzer, S. Martens, S. Tulli. – DOI: 10.1016/j.jmb.2024.168489. – Text : electronic // *J. Mol. Biol.* – 2024. – Vol. 436, N 15. – P. 168489. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38342428/> (date of access: 08.04.2025).

123. Hora, S. Liver Injury and Regeneration: Current Understanding, New Approaches, and Future Perspectives / S. Hora, T. Wuestefeld. – DOI: 10.3390/cells12172129. – Text : electronic // *Cells.* – 2023. – Vol. 12, N 17. – P. 2129. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37681858/> (date of access: 08.04.2025).

124. Hou S. Genistein: Therapeutic and Preventive Effects, Mechanisms, and Clinical Application in Digestive Tract Tumor / S. Hou. – DOI: 10.1155/2022/5957378. – Text : electronic // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2022. – N 5957378. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35815271/> (date of access: 08.04.2025).

125. Huang, C. The Vascular Involvement in Soft Tissue Fibrosis-Lessons Learned from Pathological Scarring / C. Huang, R. Ogawa. – DOI: 10.3390/ijms21072542. – Text : electronic // *Int. J. Mo. Sci.* – 2020. – Vol. 21, N 7. – P. 2542. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32268503/> (date of access: 08.04.2025).

126. Human skin dermis-derived fibroblasts are a kind of functional mesenchymal stromal cells: judgements from surface markers, biological characteristics, to therapeutic efficacy / C. Tai, Z. Xie, Y. Li [et al.]. – DOI: 10.1186/s13578-022-00842-2. – Text : electronic // *Cell Biosci.* – 2022. – Vol. 12,

N 1. – P. 105. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35831878/> (date of access: 19.03.2025).

127. Hyaluronic Acid in the Prevention of Adhesions After Gynecological Surgery: Systematic Review and Meta-Analysis / L. Adamyan, L. Pivazyan, E. Krylova [et al.] // J. Minim. Invasive Gynecol. – 2024. – Vol. 31, N 6. – P. 170.

128. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs / L. Chen, H. Deng, H. Cui [et al.]. – DOI: 10.18632/oncotarget.23208. – Text : electronic // Oncotarget. – 2017. – Vol. 9, N 6. – P. 7204–7218. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29467962/> (date of access: 17.03.2025).

129. Intraperitoneal microbial contamination drives post-surgical peritoneal adhesions by mesothelial EGFR-signaling / J. Zindel, J. Mittner, J. Bayer. – [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-021-27612-x. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2021. – Vol. 12, N 1. – P. 7316. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34916513/> (date of access: 14.04.2025).

130. Johnson, A. Apoptosis and angiogenesis: an evolving mechanism for fibrosis / A. Johnson, L. A. DiPietro. – DOI: 10.1096/fj.12–214189. – Text : electronic // FASEB J. – 2013. – Vol. 27, N 10. – P. 3893–901. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23783074/> (date of access: 08.04.2025).

131. Kisseleva, T. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression / T. Kisseleva, D. Brenner // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2021. – Vol. 18. – P. 151–166.

132. Kurtulus, I. Can serum tumor necrosis factor-alpha predict peritoneal adhesions prior to secondary laparoscopic procedures? / I. Kurtulus, S. Basim, Y. Ozdenkaya. – DOI: 10.1016/j.jviscsurg.2022.12.007. – Text : electronic // J. Visc. Surg. – 2023. – Vol. 160, N 4. – P. 261–268. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577610/> (date of access: 19.03.2025).

133. Lendahl, U. Identification, discrimination and heterogeneity of fibroblasts / U. Lendahl, L. Muhl, C. Betsholtz. – DOI: 10.1038/s41467-022-30633-9. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 3409. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35701396/> (date of access: 19.03.2025).

134. Ligustrazine nanoparticles inhibits epithelial-mesenchymal transition and alleviates postoperative abdominal adhesion / S. Liang, Y. Qian, Y. Liu [et al.]. – DOI: 10.1016/j.bbrc.2024.150994. – Text : electronic // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2024. – Vol. 739, N 150994. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39547120/> (date of access: 19.03.2025).

135. Liu, S.-Y. Alcohol-Related Liver Disease: Basic Mechanisms and Clinical Perspectives / S.-Y. Liu, I.-T. Tsai, Y.-C. Hsu. – DOI: 10.3390/ijms22105170. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 10. – P. 5170. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34068269/> (date of access: 19.03.2025).

136. Liver cirrhosis / P. Ginès, A. Krag, J. G. Abraldes // Lancet. – 2021. – Vol. 398, N 10308. – P. 1359–1376.

137. Liver Fibrosis Leading to Cirrhosis: Basic Mechanisms and Clinical Perspectives / K. Somnay, P. Wadgaonkar, N. Sridhar [et al.]. – DOI: 10.3390/biomedicines12102229. – Text : electronic // Biomedicines. – 2024. – Vol. 12, N 10. – P. 2229. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39457542/> (date of access: 19.03.2025).

138. Liver regeneration after injury: Mechanisms, cellular interactions and therapeutic innovations / Q. Liu, S. Wang, J. Fu [et al.]. – DOI: 10.1002/ctm2.1812. – Text : electronic // Clin. Transl. Med. – 2024. – Vol. 14, N 8. – P. e1812. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39152680/> (date of access: 19.03.2025).

139. Liver Regeneration: Analysis of the Main Relevant Signaling Molecules / Y. Tao, M. Wang, E. Chen, H. Tang. – DOI: 10.1155/2017/4256352. – Text : electronic // Mediators Inflamm. – 2017. – Vol. 4256352. – P. 1–9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28947857/> (date of access: 19.03.2025).

140. Liver regeneration: Cellular origin and molecular mechanisms / R. Huang, X. Zhang, J. Gracia-Sancho, W.-F. Xie. – DOI: 10.1111/liv.15174. – Text : electronic // Clin. Translat. Med. – 2024. – Vol. 42, N 7. – P. 1486–1495. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35107210/> (date of access: 08.04.2025).

141. Lu, J. L. Programmed cell death in hepatic fibrosis: current and perspectives / J. L. Lu, C. X. Yu, L. J. Song. – DOI: 10.1038/s41420-023-01749-8. –

Text : electronic // Cell Death Discov. – 2023. – Vol. 9, N 1. – P. 449. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38086792/> (date of access: 19.03.2025).

142. Lu, X. Epidermal growth factor signalling and bone metastasis / X. Lu, Y. Kang. – DOI: 10.1038/sj.bjc.6605490. – Text : electronic // Br. J. Cancer. – 2010. – Vol. 102, N 3. – P. 457–461. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20010942/> (date of access: 19.03.2025).

143. M1/M2 macrophages and their overlaps – myth or reality? / Z. Strizova, I. Benesova, R. Bartolini [et al.]. – DOI: 10.1042/CS20220531. – Text : electronic // Clin. Sci. – 2023. – Vol. 137, N 15. – P. 1067–1093. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37530555/> (date of access: 19.03.2025).

144. M2 Macrophages Promote Collagen Expression and Synthesis in Laryngotracheal Stenosis Fibroblasts / K. Motz, I. Lina, M. K. Murphy [et al.]. – DOI: 10.1002/lary.28980. – Text : electronic // Laryngoscope. – 2021. – Vol. 131, N 2. – P. E346–E353. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33051870/> (date of access: 19.03.2025).

145. M2-like tumor-associated macrophages promote epithelial-mesenchymal transition through the transforming growth factor β /Smad/zinc finger e-box binding homeobox pathway with increased metastatic potential and tumor cell proliferation in lung squamous cell carcinoma / R. Sumitomo, T. Menju, Y. Shimazu [et al.]. – DOI: 10.1111/cas.15987. – Text : electronic // Cancer Sci. – 2023. – Vol. 114, N 12. – P. 4521–4534. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37806311/> (date of access: 19.03.2025).

146. Macrophage autophagy and oxidative stress: an ultrastructural and immunoelectron microscopical study / I. Perrotta, V. Carito, E. Russo [et al.]. – DOI: 10.1155/2011/282739. – Text : electronic // Oxid. Med. Cell Longev. – 2011. – Vol. 211. – P. 282739. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21922037/> (date of access: 19.03.2025).

147. Macrophage autophagy in macrophage polarization, chronic inflammation and organ fibrosis / J.-H. Wen, D.-Y. Li, S. Liang [et al.] // Front. Immunol. – 2022. – Vol. 13. – P. 1–14.

148. Macrophage autophagy protects against hepatocellular carcinogenesis in mice / A. Deust, M. N. Chobert, V. Demontant [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-021-98203-5. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 18809. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34552122/> (date of access: 21.03.2025).

149. Macrophage in liver Fibrosis: Identities and mechanisms / Z. Wang, K. Du, N. Jin [et al.]. – DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110357. – Text : electronic // Int. Immunopharmacol. – 2023. – Vol. 120. – P. 110357. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37224653/> (date of access: 19.03.2025).

150. Macrophage M1/M2 polarization / C. Yunna, H. Mengru, W. Lei, C. Weidong. – DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173090. – Text : electronic // Eur. J. Pharmacol. – 2020. – Vol. 877. – P. 173090. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32234529/> (date of access: 14.04.2025).

151. Macrophage Polarization and Its Role in Liver Disease / C. Wang, C. Ma, L. Gong [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 14, N 12. – P. 803037.

152. Macrophage-mediated fracture healing: Unraveling molecular mechanisms and therapeutic implications using hydrogel-based interventions / B. Mi, Y. Xiong, L. Lu [et al.]. – DOI: 10.1016/j.biomaterials.2023.122461. – Text : electronic // Biomaterials. – 2024. – Vol. 305. – P. 122461. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38171119/> (date of access: 17.03.2025).

153. Macrophages and fibrosis: how resident and infiltrating mononuclear phagocytes account for organ injury, regeneration or atrophy / H. Long, J. Lichtnekert, J. Andrassy [et al.]. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1194988. – Text : electronic // Front. Immunol. – 2023. – Vol. 14, N 11. – P. 1194988. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37868987/> (date of access: 19.03.2025).

154. Macrophages directly contribute collagen to scar formation during zebrafish heart regeneration and mouse heart repair / F. C. Simões, T. J. Cahill, A. Kenyon [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-019-14263-2. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11, N 1. – P. 600. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32001677/> (date of access: 19.03.2025).

155. Macrophages in organ fibrosis: from pathogenesis to therapeutic targets / Y. Jiang, R. Cai, Y. Huang [et al.]. – DOI: 10.1038/s41420-024-02247-1. – Text : electronic // Cell Death Discov. – 2024. – Vol. 10, N 1. – P. 487. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39632841/> (date of access: 08.04.2025).

156. Macrophages promote collagen fibrillogenesis around terminal end buds of the developing mammary gland / W. V. Ingman, J. Wyckoff, V. Gouon-Evans [et al.] // Dev. Dyn. – 2006. – Vol. 235, N 12. – P. 3222–3229.

157. Maddaluno, L. Fibroblast growth factors: key players in regeneration and tissue repair / L. Maddaluno, C. Urwyler, S. Werner // Development. – 2017. – Vol. 144, N 22. – P. 4047–4060.

158. May, J. Beyond epithelial damage: vascular and endothelial contributions to idiopathic pulmonary fibrosis / J. May, L. A. Mitchell, R. G. Jenkins. – DOI: 10.1172/JCI172058. – Text : electronic // J. Clin. Invest. – 2023. – Vol. 133, N 18. – P. e172058. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37712420/> (date of access: 19.03.2025).

159. McElhinney, K. p53 and Myofibroblast Apoptosis in Organ Fibrosis / K. McElhinney, M. Irnaten, C. O'Brien. – DOI: 10.3390/ijms24076737. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, N 7. – P. 6737. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37047710/> (date of access: 19.03.2025).

160. Mechanical stiffness promotes skin fibrosis via Piezo1-Wnt2/Wnt11-CCL24 positive feedback loop / J. He, X. Cheng, B. Fang [et al.]. – DOI: 10.1038/s41419-024-06466-3. – Text : electronic // Cell Death Dis. – 2024. – Vol. 15, N 1. – P. 84. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38267432/> (date of access: 08.04.2025).

161. Mechanics of a multilayer epithelium instruct tumour architecture and function / V. F. Fiore, M. Krajnc, F. G. Quiroz [et al.]. – DOI: 10.1038/s41586-020-2695-9. – Text : electronic // Nature. – 2020. – Vol. 585, N 7825. – P. 433–439. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32879493/> (date of access: 21.03.2025).

162. Mechanisms of organ fibrosis: Emerging concepts and implications for novel treatment strategies / I. Lurje, N. T. Gaisa, R. Weiskirchen, F. Tacke. –

DOI: 10.1016/j.mam.2023.101191. – Text : electronic // Mol. Aspects Med. – 2023. – Vol. 92, N 101191. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37236017/> (date of access: 19.03.2025).

163. Michalopoulos, G. K. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications / G. K. Michalopoulos, B. Bhushan. – DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4. – Text : electronic // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2021. – Vol. 18, N 1. – P. 40–55. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32764740/> (date of access: 19.03.2025).

164. Micronutrient optimization for tissue engineered articular cartilage production of type II collagen / M. A. Cruz, Y Gonzalez, J. A. Vélez Toro [et al.]. – DOI: 10.3389/fbioe.2023.1179332. – Text : electronic // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2023. – Vol. 11. – P. 1179332. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37346792/> (date of access: 21.03.2025).

165. Mills, C. D. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages / C. D. Mills // Front. Immunol. – 2015. – Vol. 6. – P. 212.

166. miR-34c-5p inhibited fibroblast proliferation, differentiation and epithelial-mesenchymal transition in benign airway stenosis via MDMX/p53 pathway / J. Wei, Y. Chen, T. Feng [et al.]. – DOI: 10.1007/s10142-024-01317-y. – Text : electronic // Funct. Integr. Genomics. – 2024. – Vol. 24, N 2. – P. 37. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38374244/> (date of access: 19.03.2025).

167. Modeling mechanical activation of macrophages during pulmonary fibrogenesis for targeted anti-fibrosis therapy / X. Ying, Y. Linxuan, J. K. Lang [et al.] // Sci. Adv. – 2024. – Vol. 10, N 13. – P. 9559.

168. Molecular Changes Underlying Hypertrophic Scarring Following Burns Involve Specific Deregulations at All Wound Healing Stages (Inflammation, Proliferation and Maturation) / M. Čoma, L. Fröhlichová, L. Urban [et al.]. – DOI: 10.1152/ajprenal.00135.2022. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 2. – P. 897. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33477421/> (date of access: 21.03.2025).

169. Molecular Features of Hypertrophic Scars After Thermal Injury: Is There a Biologic Basis for Laser Therapy? / L. Schaffrick, J. Ding, P. Kwan, E. E. Tredget. – DOI: 10.1089/wound.2021.0060. – Text : electronic // Adv. Wound Care. – 2022. – Vol. 11, N 4. – P. 163–178. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34663086/> (date of access: 19.03.2025).

170. Molecular mechanisms in liver repair and regeneration: from physiology to therapeutics / X. Ma, T. Huang, X. Chen [et al.]. – DOI: 10.1038/s41392-024-02104-8. – Text : electronic // Signal Transduct. Target. Ther. – 2025. – Vol. 10, N 1. – P. 63. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39920130/> (date of access: 19.03.2025).

171. Monocyte-derived peritoneal macrophages protect C57BL/6 mice against surgery-induced adhesions / R. Sahputra, K. Dejyong, A. S. Woolf [et al.]. – DOI: 10.3389/fimmu.2022.1000491. – Text : electronic // Front. Immunol. – 2022. – Vol. 6, N 13. – P. 1000491. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36275765/> (date of access: 19.03.2025).

172. Multifunctional Oxidized Dextran Cross-Linked Alkylated Chitosan/Drug-Loaded and Silver-Doped Mesoporous Bioactive Glass Cryogel for Hemostasis of Noncompressible Wounds / D. Lei, J. Zhao, C. Zhu [et al.]. – DOI: 10.3390/gels9060455. – Text : electronic // Gels. – 2023. – Vol. 9, N 6. – P. 455. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37367126/> (date of access: 19.03.2025).

173. Muñoz, M. Molecular mechanisms in the process of re-epithelization in wound healing and the action of honey in keratinocytes / M. Muñoz, B. Vásquez, M. Del Sol // Int. J. Morphol. – 2020. – Vol. 38, N 6. – P. 1700–1706.

174. Naringenin: A Promising Therapeutic Agent against Organ Fibrosis / Y. Du, J. Ma, Y. Fan [et al.] // Oxid. Med. Cell Longev. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1210675.

175. Nelson, D. E. Editorial: Exploring the molecular mechanisms that regulate macrophage polarization / D. E. Nelson, M. A. Olszewski. – DOI: 10.3389/fimmu.2025.1599215. – Text : electronic // Front. Immunol. – 2025. – Vol. 16, N 16. – P. 1599215. P.1–4. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40308610/> (date of access: 19.03.2025).

176. Neutrophil dynamics in pulmonary fibrosis: pathophysiological and therapeutic perspectives / L. E. Crowley, R. A. Stockley, D. R. Thickett [et al.]. – DOI: 10.1183/16000617.0139-2024. – Text : electronic // Eur. Respir. Rev. – 2024. – Vol. 33, N 174. – P. 240139. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39603661/> (date of access: 21.03.2025).

177. Neutrophil extracellular traps and DNases orchestrate formation of peritoneal adhesions / J. Elrod, A. Heuer, J. Knopf [et al.]. – DOI: 10.1016/j.isci.2023.108289. – Text : electronic // iScience. – 2023. – Vol. 26, N 12. – P. 108289. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38034352/> (date of access: 21.03.2025).

178. Neutrophil extracellular traps and pulmonary fibrosis: an update / S. Yan, M. Li, B. Liu [et al.]. – DOI: 10.1186/s12950-023-00329-y. – Text : electronic // J. Inflamm. – 2023. – Vol. 20, N 1. – P. 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36658568/> (date of access: 14.04.2025).

179. Noncoding RNAs: Master Regulator of Fibroblast to Myofibroblast Transition in Fibrosis / H. Zhang, Y. Zhou, D. Wen, J. Wang. – DOI: 10.3390/ijms24021801. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, N 2. – P. 1801. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36675315/> (date of access: 14.04.2025).

180. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis / Y. Lurie, M. Webb, R. Cytter-Kuint [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 21, N 41. – P. 11567–11583.

181. Notch-ing up knowledge on molecular mechanisms of skin fibrosis: focus on the multifaceted Notch signalling pathway / A. G. Condorelli, M. El-Hachem, G. Zambruno [et al.]. – DOI: 10.1186/s12929-021-00732-8. – Text : electronic // J. Biomed. Sci. – 2021. – Vol. 28, N 1. – P. 1–17. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33966637/> (date of access: 21.03.2025).

182. Oliveira-Costa, K. M. Neutrophil accumulation within tissues: A damage x healing dichotomy / K. M. Oliveira-Costa, G. B. Menezes, F. P. H. Neto // Biomed. Pharmacother. – 2022. – Vol. 145. – N 112422.

183. p53 Regulates the Extent of Fibroblast Proliferation and Fibrosis in Left Ventricle Pressure Overload / X. Liu, R. M. Burke, J. K. Lighthouse [et al.]. – DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.320324. – Text : electronic // Circ. Res. – 2023. – Vol. 133, N 3. – P. 271–287. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37409456/> (date of access: 19.03.2025).

184. Pache, J. C. Epidermal growth factors / J. C. Pache // Encyclopedia of Respiratory Medicine. – New York : Academic Press, 2006. – P. 129–133.

185. Panthenol Citrate Biomaterials Accelerate Wound Healing and Restore Tissue Integrity / H. Wang, C. Duan, R. L. Keate, G. A. Ameer. – DOI: 10.1002/adhm.202301683. – Text : electronic // Adv. Healthc. Mater. – 2023. – Vol. 12, N 31. – P. e2301683. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37327023/> (date of access: 19.03.2025).

186. Pathophysiology and management of liver cirrhosis: from portal hypertension to acute-on-chronic liver failure / R. K. Jagdish, A. Roy, K. Kumar [et al.]. – DOI: 10.3389/fmed.2023.1060073. – Text : electronic // Front. Med. – 2023. – Vol. 10, N 10. – P. 1060073. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37396918/> (date of access: 08.04.2025).

187. Penatzer, J. A. The role of macrophages in thermal injury / J. A. Penatzer, S. Srinivas, R. K. Thakkar // Int. J. Burns Trauma. – 2022. – Vol. 12, N 1. – P. 1–12.

188. Pérez, S. Macrophage Polarization and Reprogramming in Acute Inflammation: A Redox Perspective / S. Pérez, S. Rius-Pérez. – DOI: 10.3390/antiox11071394. – Text : electronic // Antioxidants. – 2022. – Vol. 11, N 7. – P. 1394. – UR: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35883885/> (date of access: 19.03.2025).

189. Peritoneal adhesions: Occurrence, prevention and experimental models / J. Tang, Z. Xiang, M. T. Bernards, S. Chen [et al.]. – DOI: 10.1016/j.actbio.2020.08.036. – Text : electronic // Acta Biomater. – 2020. – Vol. 116. – P. 84–104. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32871282/> (date of access: 19.03.2025).

190. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodeling / V. Everts, E. van der Zee, L. Creemers, W. Beertsen // *Histochem. J.* – 1996. – Vol. 28, № 4. – P. 229–245.

191. Pibiri, M. Role of the Hippo pathway in liver regeneration and repair: recent advances / M. Pibiri, G. Simbula. – DOI: 10.1186/s41232-022-00235-5. – Text : electronic // *Inflamm. Regen.* – 2022. – Vol. 42, N 1. – P. 59. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36471376/> (date of access: 19.03.2025).

192. Pivotal Role of TGF- β /Smad Signaling in Cardiac Fibrosis: Non-coding RNAs as Effectual Players / S. Somayeh, N. Mahdi, M. T. Maryam // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2021. – Vol. 7. – P. 1–18.

193. Polarimetric second harmonic generation microscopy of partially oriented fibers II: imaging study / M. Alizadeh, F. Habach, M. Maciulis [et al.] // *Biophys. J.* – 2023. – Vol. 122, N 19. – P. 3937–3949.

194. Popper, H. Pulmonary Pathology. A Practical Guide / H. Popper, B. Murer. – Switzerland : Springer Nature AG, 2020. – 597 p. – URL: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-22664-0#back-to-top>. – Text : electronic (date of access: 19.03.2025).

195. Post-operative adhesions: a comprehensive review of mechanisms / A. F. Hassanabad, A. N. Zarzycki, K. Jeon [et al.]. – DOI: 10.3390/biomedicines9080867. – Text : electronic // *Biomedicines.* – 2021. – Vol. 9, N 8. – P. 867. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34440071/> (date of access: 21.03.2025).

196. Post-surgical adhesions are triggered by calcium-dependent membrane bridges between mesothelial surfaces / A. Fischer, T. Koopmans, P. Ramesh [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-020-16893-3. – Text : electronic // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, N 1. – P. 3068. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32555155/> (date of access: 08.04.2025).

197. Pradhan, M. The Molecular Mechanisms Involved in the Hypertrophic Scars Post-Burn Injury / M. Pradhan, P. Pethe. – DOI: 10.59249/RHUF5686. – Text :

electronic // Yale J. Biol. Med. – 2023. – Vol. 96, N 4. – P. 549–563. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38161582/> (date of access: 19.03.2025).

198. Pressure-garment therapy for preventing hypertrophic scarring after burn injury / I. M. Harris, K. C. Lee, J. J. Deeks [et al.]. – DOI: 10.1002/14651858. – Text : electronic // Cochrane Database Syst. Rev. – 2024. – Vol. 1, N 1. – P. CD013530. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38189494/> (date of access: 08.04.2025).

199. Prevalence of risk factors for liver fibrosis and associations of serum biomarkers with liver fibrosis in a Houston community clinic / J. P. Hwang, N. I. Heredia, S. Asrani [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2023. – Vol. 41, N 16. – P. e22518–e22518.

200. Proliferation tracing reveals regional hepatocyte generation in liver homeostasis and repair / L. He, W. Pu, X. Liu [et al.]. – DOI: 10.1126/science.abc4346. – Text : electronic // Science. – 2021. – Vol. 371, N 6532. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33632818/> (date of access: 08.04.2025).

201. Promoting collagen synthesis: a viable strategy to combat skin ageing / S. Wang, F. Li, X. Feng [et al.]. – DOI: 10.1080/14756366.2025.2488821. – Text : electronic // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. – 2025. – Vol. 40, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40213810/> (date of access: 19.03.2025).

202. Puchkina, G. Immunocompetent cells in the tissue of adhesives of patients with adhesion process in the small pelvis / G. Puchkina, A. Sulima, A. Davidova. – DOI: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-72-77. – Text : electronic // Med. Herald South Rus. – 2021. – Vol. 12, N 3. – P. 72–77. – URL: <https://www.researchgate.net/publication/354992462> (date of access: 19.03.2025).

203. Pulsed Electric Fields Induce Extracellular Matrix Remodeling through Matrix Metalloproteinases Activation and Decreased Collagen Production / S. Gouarderes, C. Ober, L. Doumard [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jid.2021.09.025. – Text : electronic // J. Invest. Dermatol. – 2022. – Vol. 142, N 5. – P. 1326–1337.e9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34688615/> (date of access: 08.04.2025).

204. Rajendran, Advanced Textiles for Wound Care. A volume in Woodhead Publishing Series in Textiles / S. Rajendran. – London : Woodhead Publishing, 2009. – P. 323–335.

205. Ramundo, V. The Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in the Development and Metastasis of Malignant Pleural Mesothelioma / V. Ramundo, G. Zanirato, E. Aldieri. – DOI: 10.3390/ijms222212216. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 22. – P. 12216. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34830097/> (date of access: 19.03.2025).

206. Reactive Oxygen Species in Macrophages: Sources and Targets / M. Canton, R. Sánchez-Rodríguez, I. Spera [et al.]. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.734229. – Text : electronic // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12, N 73. – P. 4229. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34659222/> (date of access: 17.03.2025).

207. Reduced polydopamine nanoparticles incorporated oxidized dextran/chitosan hybrid hydrogels with enhanced antioxidative and antibacterial properties for accelerated wound healing / Y. Fu, J. Zhang, Y. Wang [et al.]. – DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117598. – Text : electronic // Carbohydr. Polym. – 2021. – Vol. 257. – P. 117598. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33541635/> (date of access: 08.04.2025).

208. Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing / M. V. Plikus, C. F. Guerrero-Juarez, M. Ito [et al.]. – DOI: 10.1126/science.aai8792. – Text : electronic // Science. – 2017. – Vol. 255, N 6326. – P. 748–752. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28059714/> (date of access: 19.03.2025).

209. Regulation of alveolar macrophage death in pulmonary fibrosis: a review / G. Yang, Y. Yang, Y. Liu, X. Liu. – DOI: 10.1007/s10495-023-01888-4. – Text : electronic // Apoptosis. – 2023. – Vol. 28, N 11–12. – P. 1505–1519. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37707713/> (date of access: 14.04.2025).

210. Relationship between red blood cell aggregation and dextran molecular mass / M. Bosek, B. Ziomkowska, J. Pyskir [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-022-24166-

w. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2022. – Vol. 12, N 1. – P. 19751. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36396711/> (date of access: 17.03.2025).

211. Riley, L. Chronic Silicosis with Progressive Massive Fibrosis / L. Riley, D. Urbine // N. Engl. J. Med. – 2019. – Vol. 380, N 23. – P. 2256–2256.

212. Roehlen, N. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives / N. Roehlen, E. Crouchet, T. F. Baumert. – DOI: 10.3390/cells9040875. – Text : electronic // Cells. – 2020. – Vol. 9, N 4. – P. 875. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32260126/> (date of access: 19.03.2025).

213. Role of epithelial-mesenchymal transition (EMT) and fibroblast function in cerium oxide nanoparticles-induced lung fibrosis / J. Ma, B. Bishoff, R. R. Mercer [et al.]. – DOI: 10.1016/j.taap.2017.03.015. – Text : electronic // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2017. – Vol. 323. – P. 16–25. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28315692/> (date of access: 19.03.2025).

214. Role of macrophage polarisation in skin wound healing / X. Gao, C. Lu, Y. Miao [et al.]. – DOI: 10.1111/iwj.14119. – Text : electronic // Int. Wound J. – 2023. – Vol. 20, N 7. – P. 2551–2562. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36785490/> (date of access: 08.04.2025).

215. Secretion of epidermal growth factor by macrophages associated with breast carcinoma / C. O'Sullivan, J. O'D. McGee, A. L. Harris, J. O. McGee // Lancet. – 1993. – Vol. 342, N 8864. – P. 148–149.

216. Secretomes of M1 and M2 macrophages decrease the release of neutrophil extracellular traps / A. Manda-Handzlik, A. Cieloch, W. Kuźmicka [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-023-42167-1. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2023. – Vol. 13, N 1. – P. 15633. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37730741/> (date of access: 19.03.2025).

217. Selective suppression of M1 macrophages is involved in zinc inhibition of liver fibrosis in mice / C. Xie, L. Wan, C. Li [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jnutbio.2021.108802. – Text : electronic // J. Nutr. Biochem. – 2021. – Vol. 97, N 108802. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34119631/> (date of access: 14.04.2025).

218. Sen, C. K. MicroRNA in Regenerative Medicine / C. K. Sen. – 2nd edition. – London : Academic Press, 2023. – P. 489–506.
219. Shiraishi, M. Reparative macrophages regulate fibrosis by attenuating apoptosis and senescence of fibroblasts / M. Shiraishi, A. Yamaguchi, K. Suzuki // bioRxiv. – 2021. – Vol. 428912.
220. Sichler, A. Boosting liver regeneration: kinase inhibitor as a new tool to prevent liver failure / A. Sichler, N. Hüser, K. P. Janssen. – DOI: 10.1038/s41392-024-01879-0. – Text : electronic // Signal Transduct. Target. Ther. – 2024. – Vol. 9, N 1. – P. 168. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38956037/> (date of access: 19.03.2025).
221. Silver-doped bioactive glass particles for in vivo bone tissue regeneration and enhanced methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) inhibition / N. Pajares-Chamorro, Y. Wagley, C. V. Maduka [et al.] // Mater. Sci. Eng. – 2021. – Vol. 120. – N 111693.
222. Single cell sequencing reveals endothelial plasticity with transient mesenchymal activation after myocardial infarction / L. S. Tombor, D. John, S. F. Glaser [et al.] // Nat. Commun. – 2021. – Vol. 12, N 1. – P. 1–12.
223. Single-cell analysis uncovers fibroblast heterogeneity and criteria for fibroblast and mural cell identification and discrimination / L. Muhl, G. Genové, S. Leptidis Murphy [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-020-17740-1. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11, N 1. – P. 3953. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32769974/> (date of access: 19.03.2025).
224. Skin epithelial cells change their mechanics and proliferation upon snail-mediated EMT signaling / K. Hosseini, P. Trus, A. Frenzel [et al.] // Soft Matter. – 2022. – Vol. 18, N 13. – P. 2585–2596.
225. Smad3 Signatures in Renal Inflammation and Fibrosis / W. Wu, X. Wang, X. Yu, H. Y. Lan. – DOI: 10.7150/ijbs.71595. – Text : electronic // Int. J. Biol. Sci. – 2022. – Vol. 18, N 7. – P. 2795–2806. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35541902/> (date of access: 14.04.2025).

226. Smith, J. Novel Factors Regulating Proliferation, Migration, and Differentiation of Fibroblasts, Keratinocytes, and Vascular Smooth Muscle Cells during Wound Healing / J. Smith, V. Rai. – DOI: 10.3390/biomedicines12091939. – Text : electronic // Biomedicines. – 2024. – Vol. 12, N 9. – P. 1939. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39335453/> (date of access: 19.03.2025).

227. Spatial regulation of substrate adhesion directs fibroblast morphotype and phenotype / M. D'Urso, I. Jorba, A. van der Pol [et al.]. – DOI: 10.1093/pnasnexus/pgae289. – Text : electronic // PNAS Nexus. – 2024. – Vol. 3, N 8. – P. 289. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11316223/> (date of access: 21.03.2025).

228. STAT6 contributes to renal fibrosis by modulating PPAR α -mediated tubular fatty acid oxidation / J. Li, Y. Yang, Q. Li [et al.]. – DOI: 10.1038/s41419-022-04515-3. – Text : electronic // Cell Death Dis. – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 66. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35046382/> (date of access: 19.03.2025).

229. Stationed or Relocating: The Seesawing EMT/MET Determinants from Embryonic Development to Cancer Metastasis / C.-H. Li, T.-I. Hsu, Y.-C. Chang [et al.]. – DOI: 10.3390/biomedicines9091265. – Text : electronic // Biomedicines. – 2021. – Vol. 9, N 9. – P. 1265. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34572451/> (date of access: 19.03.2025).

230. Studies of ultrastructure, gene expression, and marker analysis reveal that mouse bladder PDGFRA⁺ interstitial cells are fibroblasts / D. R. Clayton, W. G. Ruiz, M. G. Dalghi [et al.]. – DOI: 10.1152/ajprenal.00135.2022. – Text : electronic // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2022. – Vol. 323, N 3. – P. F299–F321. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35834272/> (date of access: 21.03.2025).

231. Study on the relationship between hepatic fibrosis and epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cells / Y. Chen, Y. Fan, D.-Y. Guo [et al.]. – DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110413. – Text : electronic // Biomed. Pharmacother. – 2020. – Vol. 129. – P. 110413. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32570119/> (date of access: 21.03.2025).

232. Suppression of the Epithelial-Mesenchymal Transition and Maintenance of the Liver Functions in Primary Hepatocytes through Dispersion Culture within a Dome-Shaped Collagen Matrix / Y. Tonooka, T. Takaku, M. Toyoshima [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* – 2024. – Vol. 47, N 7. – P. 1241–1247.

233. Tansil, S. Lessons From Epithelialization: The Reason Behind Moist Wound Environment / S. Tansil, R. Dosan // *Open Dermatol. J.* – 2019. – Vol. 13. – P. 34–40.

234. Targeting Fibrosis: From Molecular Mechanisms to Advanced Therapies / X. Di, Y. Li, J. Wei [et al.]. – DOI: 10.1002/advs.202410416. – Text : electronic // *Adv. Sci.* – 2025. – Vol. 12, N 3. – P. e2410416. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39665319/> (date of access: 21.03.2025).

235. Targeting fibrosis: mechanisms and clinical trials / M. Zhao, L. Wang, M. Wang [et al.]. – DOI: 10.1038/s41392-022-01070-3. – Text : electronic // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2022. – Vol. 7, N 1. – P. 206. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35773269/> (date of access: 14.04.2025).

236. Targeting the TGF- β signaling pathway for fibrosis therapy: a patent review (2015–2020) / X. Li, Z. Ding, Z. Wu [et al.]. – DOI: 10.1080/13543776.2021.1896705. – Text : electronic // *Exp. Opin. Ther. Pat.* – 2021. – Vol. 31, N 8. – P. 723–743. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33645365/> (date of access: 19.03.2025).

237. TGF- β 1 dominates stromal fibroblast-mediated EMT via the FAP/VCAN axis in bladder cancer cells / Q. Ping, C. Wang, X. Cheng [et al.]. – DOI: 10.1186/s12967-023-04303-3. – Text : electronic // *J. Transl. Med.* – 2023. – Vol. 21, N 1. – P. 475. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37461061/> (date of access: 19.03.2025).

238. The clinical dynamic changes of macrophage phenotype and function in different stages of human wound healing and hypertrophic scar formation / L Chen, J. Wang, S. Li [et al.]. – DOI: 10.1111/iwj.13041. – Text : electronic // *Int. Wound J.* – 2019. – Vol. 16, N 2. – P. 360–369. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30440110/> (date of access: 17.03.2025).

239. The combined effect of erythropoietin and granulocyte macrophage colony stimulating factor on liver regeneration after major hepatectomy in rats / I. Vassiliou, E. Lolis, C. Nastos [et al.]. – DOI: 10.1186/1477-7819-8-57. – Text : electronic // World J. Surg. Oncol. – 2010. – Vol. 8, N 1. – P. 1–6. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20604971/> (date of access: 19.03.2025).

240. The Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Liver Regeneration in a Rat Model / M. Yazı, H. Özdemir, Z. Özdemir [et al.] // Haydarpasa Num. Med. J. – 2024. – Vol. 64, N 1. – P. 29–34.

241. The Epidermal Growth Factor Receptor System in Skin Repair and Inflammation / S. Pastore, F. Mascia, V. Mariani, G. Girolomon. – DOI: 10.1038/sj.jid.5701184. – Text : electronic // J. Invest. Dermatol. – 2008. – Vol. 128, N 6. – P. 1365–1374. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18049451/> (date of access: 19.03.2025).

242. The impact of epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by metabolic processes and intracellular signaling pathways on chemo-resistance, metastasis, and recurrence in solid tumors / M. Liaghat, S. Ferdousmakan, S. Mortazavi [et al.]. – DOI: 10.1186/s12964-024-01957-4. – Text : electronic // Cell Commun. Signal. – 2024. – Vol. 22, N 1. – P. 575. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39623377/> (date of access: 19.03.2025).

243. The mechanisms and roles of selective autophagy in mammals / J. N. S. Vargas, M. Hamasaki, T. Kawabata [et al.]. – DOI: 10.1038/s41580-022-00542-2. – Text : electronic // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2023. – Vol. 24, N 3. – P. 167–185. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36302887/> (date of access: 19.03.2025).

244. The multiple roles of macrophages in peritoneal adhesion / S. Yang, Y. Zheng, Z. Pu [et al.]. – DOI: 10.1111/imcb.12831. – Text : electronic // Immunol. Cell Biol. – 2025. – Vol. 103, N 1. – P. 31–44. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39471989/> (date of access: 14.04.2025).

245. The phagocytic state of brain myeloid cells after ischemia revealed by superresolution structured illumination microscopy / S. Fumagalli, F. Fiordaliso, C. Perego [et al.]. – DOI: 10.1186/s12974-019-1401-z. – Text : electronic // J.

Neuroinflammation. – 2019. – Vol. 16, N 1. – P. 9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30651101/> (date of access: 08.04.2025).

246. The relationship between lung fibrosis, the epidermal growth factor receptor, and disease outcomes in COVID-19 pneumonia: a postmortem evaluation / S. U. Dülger, N. Mutlu, İ. Ceylan, E. Özhan. – DOI: 10.1007/s10238-022-00872-7. – Text : electronic // Clin. Exp. Med. – 2023. – Vol. 23, N 48. – P. 1181–1188. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35986823/> (date of access: 21.03.2025).

247. The risk of postoperative complications is higher in stage I–III colorectal cancer patients with previous abdominal surgery: a propensity score matching analysis / X. R. Liu, F. Liu, Z. W. Li [et al.]. – DOI: 10.1007/s12094-023-03210-9. – Text : electronic // Clin. Transl. Oncol. – 2023. – Vol. 25, N 12. – P. 3471–3478. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37173570/> (date of access: 19.03.2025).

248. The role of aging in idiopathic pulmonary fibrosis / J. Leung, Y. Cho, R. F. Lockey, N. Kolliputi. – DOI: 10.1007/s00408-015-9729-3. – Text : electronic // Lung. – 2015. – Vol. 193, N 4. – P. 605–610. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25903793/> (date of access: 19.03.2025).

249. The role of autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis: from mechanisms to therapies / Y. L. Yue, M. Y. Zhang, J. Y. Liu [et al.]. – DOI: 10.1177/17534666221140972. – Text : electronic // Ther. Adv. Respir. Dis. – 2022. – Vol. 16. – P. 17534666221140972. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36468453/> (date of access: 14.04.2025).

250. The role of extracellular matrix in skin wound healing / N. N. Potekaev, O. B. Borzykh, G. V. Medvedev [et al.]. – DOI: 10.3390/jcm10245947. – Text : electronic // J. Clin. Med. – 2021. – Vol. 10, N 24. – P. 5947. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34945243/> (date of access: 19.03.2025).

251. The Role of Macrophages in Liver Fibrosis: New Therapeutic Opportunities / E. Binatti, A. Gerussi, D. Barisani, P. Invernizzi. – DOI: 10.3390/ijms23126649. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, N 12. – P. 6649. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35743092/> (date of access: 17.03.2025).

252. The transition between M1 and M2 macrophage phenotypes is associated with the disease status follow-ng CD19 CAR-T therapy for B cell lymphoma/leukemia / L. Zhao, F. Yan, D. Tang [et al.]. – DOI: 10.1038/s41419-025-07610-3. – Text : electronic // Cell Death Dis. – 2025. – Vol. 16, N 1. – P. 275. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40216772/> (date of access: 14.04.2025).

253. The wHole Story About Fenestrations in LSEC / K. Szafranska, L. D. Kruse, C. F. Holte [et al.]. – DOI: 10.3389/fphys.2021.735573. – Text : electronic // Front. Physiol. – 2021. – Vol. 12, N 12. – P. 735573. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34588998/> (date of access: 19.03.2025).

254. Topical Administration of an Apoptosis Inducer Mitigates Bleomycin-Induced Skin Fibrosis / M. N. Huda, E. A. Borrego, C. D. Guerena [et al.]. – DOI: 10.1021/acsptsci.3c00039. – Text : electronic // ACS Pharmacol. Transl. Sci. – 2023. – Vol. 6, N 5. – P. 829–841. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37200808/> (date of access: 08.04.2025).

255. Translation of Collagen Ultrastructure to Biomaterial Fabrication for Material-Independent but Highly Efficient Topographic Immunomodulation / M. Ryma, T. Tylek, J. Liebscher [et al.]. – DOI: 10.1002/adma.202101228. – Text : electronic // Adv. Mater. – 2021. – Vol. 33, N 33. – P. 2101228. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34240485/> (date of access: 19.03.2025).

256. Tschumperlin, D. J. Fibroblasts and the ground they walk on / D. J. Tschumperlin. – DOI: 10.1152/physiol.00024.2013. – Text : electronic // Physiology (Bethesda). – 2013. – Vol. 28, N 6. – P. 380–390. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24186933/> (date of access: 19.03.2025).

257. Ultrastructure study of skin fibroblasts in patients with Ehlers-Danlos Syndrome (EDS): preliminary results / M. Celli, C. Iacovino, A. Febbo [et al.]. – DOI: 10.7417/CT.2020.2253. – Text : electronic // Clin. Ter. – 2020. – Vol. 171, N 5. – P. e431–e436. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32901788/> (date of access: 17.03.2025).

258. Understanding fibrosis pathogenesis via modeling macrophage-fibroblast interplay in immune-metabolic context / E. Setten, A. Castagna, J. M. Nava-Sedeño

[et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-022-34241-5. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 6499. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36310236/> (date of access: 19.03.2025).

259. Unsal, V. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants / V. Unsal, M. Cicek, İ. Sabancilar. – DOI: 10.1515/reveh-2020-0048. – Text : electronic // Rev. Environ. Health. – 2021. – Vol. 36, N 2. – P. 279–295. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32970608/> (date of access: 19.03.2025).

260. Vascular damage and excessive proliferation compromise liver function after extended hepatectomy in mice / M. De Rudder, R. Manco, L. Coubeau [et al.]. – DOI: 10.1097/HEP.0000000000000900. – Text : electronic // Hepatology. – 2025. – Vol. 81, N 5. – P. 1468–1484. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38661628/> (date of access: 21.03.2025).

261. Vascular endothelial growth factor protein and gene delivery by novel nanomaterials for promoting liver regeneration after partial hepatectomy / Y. Jin, Y. H. Guo, J. C. Li [et al.]. – DOI: 10.3748/wjg.v29.i24.3748. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2023. – Vol. 29, N 24. – P. 3748–3757. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37426320/> (date of access: 08.04.2025).

262. Visualizing inflammation with an M1 macrophage selective probe via GLUT1 as the gating target / H. Cho, H. Y. Kwon, A. Sharma [et al.]. – DOI: 10.1038/s41467-022-33526-z. – Text : electronic // Nat. Commun. – 2022. – Vol. 13, N 1. – P. 5974. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36216803/> (date of access: 21.03.2025).

263. Wang, J. Neutrophils in tissue injury and repair / J. Wang. – DOI: 10.1007/s00441-017-2785-7. – Text : electronic // Cell Tissue Res. – 2018. – Vol. 371, N 3. – P. 531–539. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29383445/> (date of access: 19.03.2025).

264. Wee, P. Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways / P. Wee, Z. Wang. – DOI: 10.3390/cancers9050052. – Text : electronic // Cancers (Basel). – 2017. – Vol. 9, N 5. – P. 52. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28513565/> (date of access: 19.03.2025).

265. Weissman, D. N. Progressive massive fibrosis: An overview of the recent literature / D. N. Weissman. – DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108232. – Text : electronic // Pharmacol. Ther. – 2022. – Vol. 240, N 8. – P. 108232. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35732247/> (date of access: 19.03.2025).

266. Wilson, M. S. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation / M. S. Wilson, T. A. Wynn. – DOI: 10.1038/mi.2008.85. – Text : electronic // Mucosal Immunol. – 2009. – Vol. 2, N 2. – P. 103–121. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19129758/> (date of access: 19.03.2025).

267. Wu, M. Biochemistry, Collagen Synthesis / M. Wu, K. Cronin, J. S. Crane : StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29939531/> (date of access: 14.04.2025).

268. Wynn, T. A. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease / T. A. Wynn, T. R. Ramalingam. – DOI: 10.1038/nm.2807. – Text : electronic // Nat. Med. – 2012. – Vol. 18, N 7. – P. 1028–1040. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22772564/> (date of access: 14.04.2025).

269. Yang, S. Mechanosensitive Regulation of Fibrosis / S. Yang, S. V. Plotnikov. – DOI: 10.3390/cells10050994. – Text : electronic // Cells. – 2021. – Vol. 10, N 5. – P. 994. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33922651/> (date of access: 14.04.2025).

270. Yasuma, T. Cell Death in Acute Organ Injury and Fibrosis / T. Yasuma, E. C. Gabazza. – DOI: 10.3390/ijms25073930. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2024. – Vol. 25, N 7. – P. 3930. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38612740/> (date of access: 14.04.2025).

271. Yoshimatsu, Y. Emerging roles of inflammation-mediated endothelial-mesenchymal transition in health and disease / Y. Yoshimatsu, T. Watabe. – DOI: 10.1186/s41232-021-00186-3. – Text : electronic // Inflamm. Regen. – 2022. – Vol. 42, N 1. – P. 9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35130955/> (date of access: 14.04.2025).

272. Zhang, Y. Mammalian cargo receptors for endoplasmic reticulum-to-Golgi transport: mechanisms and interactions / Y. Zhang, V. Srivastava, B. Zhang. –

DOI: 10.1042/BST20220713. – Text : electronic // Biochem. Soc. Trans. – 2023. – Vol. 51, N 3. – P. 971–981. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37334845/> (date of access: 14.04.2025).

273. Zonal Characteristics of Collagen Ultrastructure and Responses to Mechanical Loading in Articular Cartilage / J. Hu, K. Zheng, B. E. Sherlock [et al.]. – DOI: 10.1016/j.actbio.2025.01.047. – Text : electronic // Acta Biomater. – 2025. – Vol. 195. – P. 104–116. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39870148/> (date of access: 08.04.2025).

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Отторжение струпа по краям области ожоговой травмы у крысы 1-й группы (ожог) через 10 суток после нанесения ожога 3Б степени. С. 61
2. Рисунок 2 – Отторжение струпа с поверхности области сократившейся ожоговой травмы на 10-е сутки после нанесения ожога 3Б степени у крысы 2-й группы (ожог + ОД). С. 61
3. Рисунок 3 – Рубцующийся послеожоговый дефект у крысы 1-й группы (ожог) на 21-е сутки после ожоговой травмы. Ожог неправильной овальной формы. С. 62
4. Рисунок 4 – Рисунок 4 – Внешний вид формирующегося рубца кожи после ожога 3Б степени у крысы 2-й группы (ожог + ОД), 21-е сутки С. 62
5. Рисунок 5 – Кожа крысы 2-й группы на 10-е сутки. «Наползание» эпителия по поверхности ожоговой раны под отторгающимся струпом. Увеличение $\times 50$. Окрасивание гематоксилином и эозином. С. 63
6. Рисунок 6 – Результаты измерения площади поверхности ожоговой раны (P_{ix}) 3Б степени у крыс породы Wistar, ($M \pm m$) С. 64
7. Рисунок 7 – Результаты измерения глубины зоны некроза (мм) в коже крыс породы Wistar после нанесения ожога 3Б степени, ($M \pm m$) С. 65
8. Рисунок 8 – Кожа крысы 1-й группы (ожог) на 32 сутки эксперимента. Рубец неправильной «звездчатой» формы. С. 69
9. Рисунок 9 – Кожа крысы 3-й группы (ожог + пантенол) на 32-е сутки эксперимента. Плотный рубец округлой формы, по центру рубца сохраняется струп. С. 70
10. Рисунок 10 – Кожа крысы 2-й группы (ожог + ОД) на 32-е сутки

- эксперимента. Тонкий рубец линейной формы. С. 70
11. Рисунок 11 – Кожа крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Правая часть слайда край дефекта, левая часть слайда дно дефекта. К тонкому слою эпидермиса прилежит струп. В дерме плотная воспалительная инфильтрация. Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 74
12. Рисунок 12 – Кожа крысы 2-й группы на 32-е сутки. Воспалительная инфильтрация менее выражена, слой эпидермиса покрывает область ожога. Одиночная сальная железа в области формирующегося рубца. Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 75
13. Рисунок 13 – Кожа крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента. Слой эпидермиса в крае и дне дефекта широкий, присутствуют по краю регенерирующие волосяные фолликулы. Сохраняется воспалительная инфильтрация. Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 76
14. Рисунок 14 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 1-й группы на 21-е сутки эксперимента, среди инфильтрата присутствуют нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты, фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 80
15. Рисунок 15 – Кожа крысы 2-й группы на 21-е сутки эксперимента. Воспалительная инфильтрация выражена слабо, видны одиночно расположенные макрофаги, лимфоциты, фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 81
16. Рисунок 16 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента, среди инфильтрата сохраняется присутствие нейтрофилов, макрофаги, лимфоциты, крупные фибробласты с набухшими ядрами. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 82

17. Рисунок 17 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента, в дерме рассеянные макрофаги, лимфоциты, фибробласты крупные с набухшими тусклыми ядрами. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 83
18. Рисунок 18 – Воспалительная инфильтрация в коже крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента, в дерме рассеянные макрофаги, лимфоциты, крупные фибробласты, встречаются нейтрофилы. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 84
19. Рисунок 19 – Кожа крысы 1-й группы на 21-е сутки эксперимента. Тонкий слой ретикулярных волокон в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом. Увеличение $\times 100$. Окрашивание методом импрегнации серебром. С. 86
20. Рисунок 20 – Кожа крысы 2-й группы на 21-е сутки эксперимента. Слой ретикулярных волокон в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом. Увеличение $\times 100$. Окрашивание методом импрегнации серебром. С. 87
21. Рисунок 21 – Кожа крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Ретикулярные волокна в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом отсутствуют. Увеличение $\times 400$. Окрашивание методом импрегнации серебром. С. 88
22. Рисунок 22 – Кожа крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента. Сохраняются нерегулярные ретикулярные волокна в сосочковом слое дермы на границе с эпидермисом. Увеличение $\times 400$. Окрашивание методом импрегнации серебром. С. 89
23. Рисунок 23 – Выражено отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 1-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена расположены хаотично. Увеличение $\times 400$.

- Окраска по Ван Гизону. С. 90
24. Рисунок 24 – Отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 2-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена тонкие, расположены хаотично. Увеличение $\times 400$.
Окраска по Ван Гизону. С. 91
25. Рисунок 25 – Выражено отложение коллагена в дерме области ожоговой травмы у крысы 3-й группы на 32-е сутки эксперимента. Пучки коллагена расположены хаотично. Увеличение $\times 400$.
Окраска по Ван Гизону. С. 92
26. Рисунок 26 – Площадь ложных долек (мм^2) в печени крыс 1-й группы при остром гепатозе с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$). . . С. 94
27. Рисунок 27 – Численная плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов в печени крыс 1-й группы при остром гепатозе с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$) С. 95
28. Рисунок 28 – Печень крысы при формировании цирроза печени в исходе гепатоза сочетанной токсической этиологии на 90-е сутки эксперимента. Выражены дистрофические изменения гепатоцитов, некрозы групп гепатоцитов, встречаются редкие двуядерные гепатоциты. Увеличение $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 96
29. Рисунок 29 – Хаотичное отложение коллагена между ложными дольками на 60-е сутки посттоксического фиброза печени с исходом в цирроз. Увеличение $\times 400$. Окрашивание по Ван Гизону С. 98
30. Рисунок 30 – «Фибропластическая активность» фибробластов (УЕ) в печени крыс 1-й группы, ($M \pm m$) С. 99
31. Рисунок 31 – Объёмные плотности (V_v) коллагена 1-го и 3-го типа в печени крыс при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$). С. 100
32. Рисунок 32 – Экспрессия MMP9 в клетках стромы, эндотелиальных

- клетках, клетках Купфера и внеклеточном матриксе в печени крыс с посттоксическим фиброзом печени и исходом в цирроз на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 102
33. Рисунок 33 – Экспрессия TIMP1 в клетках стромы, эндотелиальных клетках и внеклеточном матриксе в печени крыс с посттоксическим фиброзом печени и исходом в цирроз на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 103
34. Рисунок 34 – Объёмная плотность внеклеточного матрикса, экспрессирующего экспрессия MMP9 и TIMP1 в печени крыс 1-й группы при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$) С. 104
35. Рисунок 35 – Склерозированные сосуды портальных трактов печени крыс с посттоксическим фиброзом печени в исходе в цирроз на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Окрашивание методом Ван Гизон. С. 106
36. Рисунок 36 – Экспрессия TNF α и IL-1 клетками Купфера и фибробластами при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$) С. 107
37. Рисунок 37 – Клетки Ито в печени крысы при посттоксическом гепатозе с исходом в цирроз на 90-е сутки эксперимента. Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2. С. 108
38. Рисунок 38 – Численная плотность (Nai) клеток Ито в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$) С. 109
39. Рисунок 39 – Численная плотность (Nai) клеток стромы печени (фибробластов и макрофагов) крыс 1-й группы, экспрессирующих FGF и TGF β при токсическом гепатозе смешанной этиологии с

- исходом в цирроз печени, ($M \pm m$) С. 110
40. Рисунок 40 – Экспрессия Vimentin в фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 112
41. Рисунок 41 – Экспрессия SNAIL+SLUG в гепатоцитах, эпителии желчных протоков, фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 113
42. Рисунок 42 – Экспрессия E-cadherin в гепатоцитах, фибробластах фиброзированных портальных трактов печени при формировании цирроза на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 114
43. Рисунок 43 — Печень крысы 2-й группы при остром гепатозе сочетанной токсической этиологии на 60-е сутки. Ложные долики отсутствуют. Архитектоника печеночных долек сохранена. Преобладают дистрофические изменения гепатоцитов, некрозы отдельных гепатоцитов. Увеличение $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином. С. 115
44. Рисунок 44 – NaI двуядерных гепатоцитов в печени крыс при формировании фиброза печени в условиях острого гепатоза, ($M \pm m$) С. 116
45. Рисунок 45 – Печень крысы 2-й группы (острый гепатоз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Ложные долики отсутствуют коллаген откладывается в виде тонких пучков вокруг некоторых сосудов и реже между печеночными дольками. Увеличение $\times 100$. Окраска методом Ван Гизон. С. 118
46. Рисунок 46 – «Фибропластическая активность» фибробластов (УЕ)

- при фиброзировании печени крыс в условиях острого токсического гепатоза, ($M \pm m$) С. 119
47. Рисунок 47 – Экспрессия P53 фибробластами в печени крыс 2-й группы при фиброзировании органа в условиях острого токсического гепатоза на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 120
48. Рисунок 48 – Клетки Ито окрашены ярко-розовым цветом в печени крысы 2-й группы (острый гепатоз+ОД) на 30-е сутки. Увеличение $\times 100$. Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2. С. 122
49. Рисунок 49 – Численная плотность (N_{ai}) клеток Ито при фиброзировании печени в исходе острого гепатоза, ($M \pm m$). С. 123
50. Рисунок 50 – Объёмная плотность (V_v) экспрессии MMP9 во внеклеточном матриксе печени при посттоксическом остром гепатозе, ($M \pm m$) С. 127
51. Рисунок 51 – Объёмная плотность (V_v) экспрессии TIMP1 во внеклеточном матриксе при посттоксическом остром гепатозе. С. 128
52. Рисунок 52 – Экспрессия SNAIL+SLUG ядер и цитоплазмы гепатоцитов, фибробластов фиброзированных портальных трактов печени крысы при остром гепатозе после повторных введений ОД (2-я группа) на 30-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 133
53. Рисунок 53 – Площадь ложных долек (mm^2) в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 135
54. Рисунок 54 – Численная плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 136
55. Рисунок 55 – Печень крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Ложные дольки разделены тонкими

- коллагеновыми септами. Увеличение $\times 100$. Окраска по Ван Гизону С. 138
56. Рисунок 56 – Печень крысы 1-й группы (фиброз) на 90-е сутки эксперимента. Коллаген откладывается в виде септ, формируя ложные дольки. Увеличение $\times 100$. Окраска по Ван Гизону. С. 139
57. Рисунок 57 – Экспрессия p53 в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 140
58. Рисунок 58 – «Фибропластическая активность» фибробластов (УЕ) в печени крыс при фиброзе печени, ($M \pm m$) С. 141
59. Рисунок 59 – Объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса, экспрессирующего MMP9 при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$) С. 144
60. Рисунок 60 – Объёмная плотность (V_v) внеклеточного матрикса, экспрессирующего TIMP1 при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$) С. 145
61. Рисунок 61 – Численная плотность (N_{ai}) клеток Ито в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени (1-я группа), ($M \pm m$). С. 150
62. Рисунок 62 – Клетки Ито окрашенные в розово-фиолетовый цвет в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 60-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Окрашивание реактивом Шиффа с докрашиванием Азуром 2. С. 150
63. Рисунок 63 – Клетки Ито окрашенные в розово-фиолетовый цвет в печени крысы 3-й группы (фиброз + ОД) на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Окрашивание реактивом Шиффа с докрашиванием Азуром 2. С. 151
64. Рисунок 64 – Экспрессия Vimentin гепатоцитами и фибробластами в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 153
65. Рисунок 65 – Экспрессия SNAIL+SLUG в цитоплазме гепатоцитов,

- эпителием желчных протоков, ядерное и цитоплазматическое окрашивание фибробластов в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 154
66. Рисунок 66 – Экспрессия E-cadherin фибробластами, слабая экспрессия в гепатоцитах, отсутствует экспрессия в эпителии желчных протоков в печени крыс 3-й группы (фиброз + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 156
67. Рисунок 67 – Площадь ложных долек (мм^2) при посттоксическом циррозе печени у крыс и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 158
68. Рисунок 68 – Численная плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов при посттоксическом циррозе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 159
69. Рисунок 69 – Коллаген в виде тонких септ вокруг портальных трактов между дольками после применения ОД у крыс 2-й группы (цирроз + ОД). Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону С. 160
70. Рисунок 70 – «Фибропластическая активность» фибробластов в печени крыс при экспериментальном посттоксическом циррозе и воздействии ОД ($M \pm m$) С. 161
71. Рисунок 71 – Объёмная плотность (V_v , %) коллагенов 1-го и 3-го типа при циррозе печени крыс и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 163
72. Рисунок 72 – Экспрессия FGF и TGF клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 165
73. Рисунок 73 – Экспрессия провоспалительных цитокинов клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 166
74. Рисунок 74 – Численная плотность клеток Ито в печени крыс при экспериментальном циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 167
75. Рисунок 75 – Клетки Ито окрашены в розово-фиолетовый цвет редкие в печени крысы 4-й группы (цирроз+ОД) после применения

- ОД на фоне отсутствия структур ложных долек. Увеличение $\times 200$.
 Окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием Азуром 2. . . . С. 167
76. Рисунок 76 – Экспрессия E-cadherin в некоторых гепатоцитах, в эндотелиальных клетках в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД).
 Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 168
77. Рисунок 77 – Экспрессия Vimentin в эндотелиальных клетках и одиночных фибробластах в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД).
 Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 170
78. Рисунок 78 – Экспрессия SNAIL+SLUG ядер и цитоплазмы в эндотелиальных клетках, гепатоцитах, фибробластах и эпителии желчных протоков в печени крыс 4-й группы (цирроз + ОД).
 Увеличение $\times 100$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 171
79. Рисунок 79 – Экспрессия медиаторов, регулирующих ЭМП клетками стромы печени (Nai) при циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 172
80. Рисунок 80 – Шнуровидные спайки в брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) между внутренним краем послеоперационного шва и серозными оболочками кишечника, желудка на 21-е сутки эксперимента С. 174
81. Рисунок 81 – Лигатурный свищ в области рубцующейся операционной раны у крысы 1-й группы (спайки) на 21-е сутки эксперимента. С. 177
82. Рисунок 82 – Количество спаек (n) в брюшной полости у крыс в эксперименте, ($M \pm m$) С. 178
83. Рисунок 83 – Спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 1-й группы (спайки). Отложение плотного коллагена на 7-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону. С. 179
84. Рисунок 84 – Тонкая мембранозная спайка брюшной полости с

- прилежащей брыжейкой у крысы 2-й группы (спайки+ОД).
Скудное отложение рыхлого коллагена на 7-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону. С. 180
85. Рисунок 85 – Спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 1-й группы (спайки). Массивное отложение плотного коллагена на 21-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$.
Окрашивание по Ван Гизону. С. 181
86. Рисунок 86 – Тонкая мембранозная спайка брюшной полости с прилежащей брыжейкой у крысы 2-й группы (спайки + ОД). Скудное отложение рыхлого коллагена на 21-е сутки после лапаротомии. Увеличение $\times 100$. Окрашивание по Ван Гизону. С. 182
87. Рисунок 87 – Спайка брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки после лапаротомии. Диффузная инфильтрация соединительнотканной основы нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами. Обильно представлены фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином. С. 184
88. Рисунок 88 – Спайка брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки после лапаротомии. рассеянная инфильтрация соединительнотканной основы нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами, встречаются фибробласты. Увеличение $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином. С. 185
89. Рисунок 89 – Численная плотность (N_{ai}) макрофагов в инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$) С. 186
90. Рисунок 90 – Численная плотность (N_{ai}) нейтрофилов в инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$). С. 187
91. Рисунок 91 – Фрагмент макрофага в спайке крысы 2-й группы (спайки + ОД) – большое количество лизосом, фаголизосом, шероховатого эндоплазматического ретикулума, формируются псевдоподии. Трансмиссионная электронная микроскопия,

- увеличение $\times 25000$ С. 189
92. Рисунок 92 – Фрагмент макрофага в спайке крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента: малое количество лизосом и фагосом, псевдоподий. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 25000$ С. 190
93. Рисунок 93 – Объёмная плотность лизосомального аппарата в цитоплазме макрофагов спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$) С. 193
94. Рисунок 94 – Объёмная плотность шероховатого эндоплазматического ретикулума в цитоплазме макрофагов спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$) С. 194
95. Рисунок 95 – Фрагмент макрофага в спайке брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки после лапаротомии. Трансмиссионная электронная микроскопия. Увеличение $\times 20000$ С. 196
96. Рисунок 96 – Фрагмент макрофага в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки после лапаротомии. Трансмиссионная электронная микроскопия. Увеличение $\times 15\,000$ С. 197
97. Рисунок 97 – Экспрессия Vimentin клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 200
98. Рисунок 98 – Экспрессия E-cadherin клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 201
99. Рисунок 99 – Экспрессия CK-18 клетками инфильтратов спаек брюшной полости и мезотелием на 7-е сутки эксперимента у животных 1-й группы (спайки). Увеличение $\times 200$. Фоновое окрашивание гематоксилином. С. 202
100. Рисунок 100 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки

- брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента. Видны коллагеновые волокна, расположенные разнонаправленно во внеклеточном матриксе. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$ С. 204
101. Рисунок 101 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 1-й группы (спайки) на 21-е сутки эксперимента. Видны компактно-расположенные переплетающиеся коллагеновые волокна. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$ С. 205
102. Рисунок 102 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Малое количество тонких коллагеновых волокон, скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$ С. 206
103. Рисунок 103 – Электронограмма внеклеточного матрикса спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 21-е сутки эксперимента, тонкие коллагеновые волокна, скопления тропоколлагена во внеклеточном матриксе. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 80\,000$ С. 207
104. Рисунок 104 – Объёмная плотность (V_v) коллагена 1 типа в спайках брюшной полости у крыс и при воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 208
105. Рисунок 105 – Поглощение коллагена макрофагом (белая стрелка), сформированная фагосома в цитоплазме макрофага (черная стрелка) в спайке брюшной полости у крысы 1-й группы (спайки) на 7-е сутки эксперимента. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$ С. 209
106. Рисунок 106 – Электронограмма фибробласта спайки брюшной полости крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Цитоплазма выражена, содержит вакуоли.

Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 40\,000$	С. 212
107. Рисунок 107 – Объёмная плотность (Vv) вакуолей в цитоплазме фибробластов в спайках брюшной полости у крыс, $(M \pm m)$	С. 213
108. Рисунок 108 – Объёмная плотность (Vv) ЭПР в фибробластах спаек брюшной полости у крыс, $(M \pm m)$	С. 214
109. Рисунок 109 – Контакт фибробласта (Ф) и макрофага (М) в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки эксперимента. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$	С. 215
110. Рисунок 110 – Ультраструктура фибробластов и макрофагов в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 21 сутки эксперимента: отсутствие ядра и наличие тропоколлагена в цитоплазме фибробласта (Ф), в цитоплазме макрофага (М) выражены лизосомальный аппарат и шероховатый ретикулум, содержатся фагосомы с фрагментами фибробласта и тропоколлагеном. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$	С. 216
111. Рисунок 111 – Экспрессия p53 в фибробластах спаек брюшной полости у крыс 2-й группы (спайки + ОД). Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином, стандартным методом. . . .	С. 217
112. Рисунок 112 – Схема формирования фиброза различной этиологии	С. 254
113. Таблица 1 – Клеточный состав инфильтратов в коже крыс популяции Wistar при нанесении ожога 3Б степени, $(M \pm m)$	С. 66
114. Таблица 2 – Площадь дефекта в коже крыс при формировании рубца после термического ожога 3Б степени (мм^2), $(M \pm m)$	С. 71
115. Таблица 3 – Толщина эпителиального пласта (мкм) эпидермиса у крыс при термическом ожоге 3Б степени в краях ожоговой раны, $(M \pm m)$	С. 73
116. Таблица 4 – Толщина эпителиального пласта (мкм) эпидермиса у	

крыс при термическом ожоге 3Б степени в дне ожоговой раны, ($M \pm m$)	C. 74
117. Таблица 5 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в коже крыс из области ожога 3Б степени, ($M \pm m$)	C. 77
118. Таблица 6 – Клеточный состав воспалительных инфильтратов (%) в ожоговой ране 3Б степени кожи крыс, ($M \pm m$)	C. 78
119. Таблица 7 – Численная плотность (N_{ai}) клеток в ожоговой ране при ожоге кожи 3Б степени, ($M \pm m$)	C. 79
120. Таблица 8 – Объёмная плотность (V_v) коллагеновых и ретикулярных волокон в дне ожоговой раны 3Б степени в коже крыс, ($M \pm m$)	C. 85
121. Таблица 9 – «Фибропластическая активность» фибробластов в дне ожоговой раны 3Б степени в коже крыс (УЕ), ($M \pm m$)	C. 93
122. Таблица 10 – Объёмная плотность (V_v) коллагена и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при гепатозе смешанной токсической этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$).	C. 97
123. Таблица 11 – Экспрессия MMP9 и TIMP1 клетками печени у крыс 1-й группы при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$).	C. 101
124. Таблица 12 – Численная плотность (N_{ai}) и объёмная плотность (V_v) сосудов в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$).	C. 105
125. Таблица 13 – Численная плотность (N_{ai}) гепатоцитов и фибробластов, экспрессирующих маркеры эпителиально- мезенхимального перехода в печени крыс 1-й группы при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)	C. 111
126. Таблица 14 – Объёмная плотность коллагена (V_v) и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при формировании фиброза печени	

- в условиях острого токсического гепатоза, ($M \pm m$) С. 117
127. Таблица 15 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при фиброзировании печени в условиях острого токсического гепатоза и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 121
128. Таблица 16 – Объёмная плотность (V_v) экспрессируемого коллагена 1 и 3 типа в печени крыс при токсическом гепатозе, ($M \pm m$) С. 124
129. Таблица 17 – Численные плотности (N_{ai}) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при гепатозе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 125
130. Таблица – 18. Численные плотности (N_{ai}) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих TNF α и IL-1 в процессе фиброзирования печени крыс с острым гепатозом, ($M \pm m$) С. 129
131. Таблица 19 – Численная плотность (N_{ai}) гепатоцитов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 130
132. Таблица 20 – Численная плотность (N_{ai}) фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 131
133. Таблица 21 – Численная плотность (N_{ai}) клеток стромы (фибробластов и макрофагов), экспрессирующих TGF β и FGF в процессе фиброзирования печени при остром токсическом гепатозе, ($M \pm m$) С. 134
134. Таблица 22 – Объёмная плотность коллагена (V_v) и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$) С. 137
135. Таблица 23 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при посттоксическом фиброзе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 142

136. Таблица 24 – Экспрессия коллагена 1-го и 3-го типа в печени крыс с фиброзом печени и при воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 143
137. Таблица 25 – Численная плотность (N_{ai}) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$). С. 146
138. Таблица 26 – Численные плотности (N_{ai}) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих TNF α и IL-1 в печени крыс при посттоксическом фиброзе печени, ($M \pm m$). С. 149
139. Таблица 27 – Численная плотность (N_{ai}) гепатоцитов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом фиброзе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 152
140. Таблица 28 – Численная плотность фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом фиброзе смешанной этиологии и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 154
141. Таблица 29 – Результаты исследования численной плотности (N_{ai}) клеток, экспрессирующих FGF и TGF β в строме печени (фибробласты и макрофаги) у крыс при посттоксическом фиброзе печени и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 157
142. Таблица 30 – Объёмная плотность (V_v) коллагена и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при посттоксическом циррозе печени у крыс и воздействии ОД на 90-е сутки эксперимента. С. 161
143. Таблица 31 – Численная (N_{ai}) и объёмная (V_v) плотность сосудов в печени крыс при посттоксическом циррозе и воздействии ОД, ($M \pm m$) С. 162
144. Таблица 32 – Численная плотность (N_{ai}) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при посттоксическом циррозе печени и воздействии ОД на 90-е сутки

эксперимента, ($M \pm m$)	C. 163
145. Таблица 33 – Численная плотность гепатоцитов и фибробластов, экспрессирующих маркеры ЭМП в печени крыс при посттоксическом циррозе смешанной этиологии и воздействии ОД на 90-е сутки, ($M \pm m$)	C. 169
146. Таблица 34 – Результаты оценки выраженности спаечного процесса в брюшной полости у крыс в количестве баллов.	C. 176
147. Таблица 35 – Численная плотность (N_{ai}) фибробластов и объёмная плотность (V_v) коллагена в спайках брыжеек у крыс после введения окисленного декстрана в брюшную полость после лапаротомии, ($M \pm m$)	C. 181
148. Таблица 36 – Соотношение макрофагов и нейтрофилов (%) в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)	C. 183
149. Таблица 37 – Численная и объёмная плотность сосудов в спайках брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)	C. 188
150. Таблица 38 – Результаты морфометрического исследования макрофагов в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, $Me (Q_1, Q_3)$	C. 191
151. Таблица 39 – Численная плотность (N_{ai}) макрофагов, экспрессирующих провоспалительные и противовоспалительные цитокины при спайках в брюшной полости и в условиях воздействия ОД, $Me (Q_1, Q_3)$	C. 195
152. Таблица 40 – Численная плотность (N_{ai}) стромальных и мезотелиальных клеток, экспрессирующих маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, в спайках брюшной полости у крыс, ($M \pm m$)	C. 203
153. Таблица 41 – Численная плотность (N_{ai}) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих $Mmp9$, $Timp1$, FGF	

при формировании спаек брюшной полости у крыс и воздействии окисленным декстраном, ($M \pm m$)	С. 210
154. Таблица 42 – Результаты электронно-микроскопического исследования коллагена и фибробластов в спайках у крыс и при воздействии окисленным декстраном, ($Me (Q1; Q3)$).	С. 211

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(справочное)

Таблицы данных

Таблица А.1 – Результаты измерения площади поверхности ожога 3Б степени (Р_{ох}) и глубины зоны некроза (мм) у крыс породы Wistar (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после нанесения ожога (сутки)	Исследуемые группы	
		Интактные животные	Окисленный декстран
Площади поверхности ожога (Р _{ох})	1	118636,7 ± 1305,11	116414,9 ± 2129,80
	5	112142,3 ± 4053,49	91335,11 ± 5767,26
	14	71641,3 ± 5265,48	70329,8 ± 2655,66
	21	49669,4 ± 4703,97	9153,8 ± 3798,57
Глубина зоны некроза (мм)	1	0,60 ± 0,02	0,62 ± 0,03
	5	0,77 ± 0,03	0,55 ± 0,04
	14	0,86 ± 0,04	0,77 ± 0,09
	21	0,22 ± 0,05	0,004 ± 0,001

Таблица А.2 – Площадь ложных долек (мм^2) и численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов и клеток Ито в печени крыс при посттоксическом гепатозе гепатозе с исходом в цирроз печени и при воздействии ОД ($n = 80$)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
Площадь ложных долек (мм^2)	30	1-я группа	$17,3 \pm 11,73$
	60	1-я группа	$72,3 \pm 9,28$
		3-я группа	$59,7 \pm 5,61^*$
	90	1-я группа	$140,2 \pm 19,30$
		3-я группа	$159,2 \pm 13,64^*$
		4-я группа	$235,8 \pm 17,70^*$
Nai двуядерных гепатоцитов	30	1-я группа	$0,5 \pm 0,07$
		2-я группа	$0,6 \pm 0,07$
	60	1-я группа	$0,6 \pm 0,08$
		2-я группа	$0,4 \pm 0,05$
		3-я группа	$1,0 \pm 0,12^*$
	90	1-я группа	$0,3 \pm 0,06$
		3-я группа	$0,6 \pm 0,08$
		4-я группа	$0,8 \pm 0,14^*$
Nai клеток Ито	30	1-я группа	$0,6 \pm 0,1$
		2-я группа	$0,8 \pm 0,12$
	60	1-я группа	$1,8 \pm 0,15$
		2-я группа	$1,0 \pm 0,1^*$
		3-я группа	$2,0 \pm 0,18$
	90	1-я группа	$1,7 \pm 0,12$
		3-я группа	$0,8 \pm 0,1^*$
		4-я группа	$0,5 \pm 0,07^*$

Таблица А.3 – «Фибропластическая активность» фибробластов (УЕ) в печени крыс при посттоксическом циррозе, фиброзе печени и при воздействии ОД (n = 80)

Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
30	1-я группа	$1,2 \pm 0,05$
	2-я группа	$0,8 \pm 0,04^*$
60	1-я группа	$1,5 \pm 0,04$
	2-я группа	$1,9 \pm 0,08$
	3-я группа	$1,0 \pm 0,04^*$
90	1-я группа	$1,8 \pm 0,05$
	3-я группа	$1,4 \pm 0,06$
	4-я группа	$1,0 \pm 0,04^*$

Таблица А.4 – Объёмная плотность (Vv) внеклеточного матрикса, экспрессирующего MMP-9, TIMP1 при посттоксическом гепатозе с исходом в цирроз печени и при воздействии ОД (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
MMP-9 (%)	30	1-я группа	$14,4 \pm 0,83$
		2-я группа	$2,6 \pm 0,61$
	60	1-я группа	$25,6 \pm 2,32$
		2-я группа	$7,6 \pm 1,37$
		3-я группа	$10,9 \pm 1,36$
	90	1-я группа	$20,6 \pm 1,99$
		3-я группа	$11,8 \pm 0,80$
		4-я группа	$14,4 \pm 0,83$
TIMP1 (%)	30	1-я группа	$6,3 \pm 0,82$
		2-я группа	$7,6 \pm 1,04$
	60	1-я группа	$15,9 \pm 1,91$
		2-я группа	$18,7 \pm 1,68$
		3-я группа	$10,3 \pm 0,52$
	90	1-я группа	$17,6 \pm 1,54$
		3-я группа	$7,2 \pm 0,61$
		4-я группа	$11,8 \pm 0,55$

Таблица А.5 – Объёмная плотность (Vv) коллагенов 1-го и 3-го типа при посттоксическом циррозе печени у крыс и воздействии ОД (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
Коллаген 1 типа (%)	30	1-я группа	$9,2 \pm 0,64$
		2-я группа	$6,2 \pm 1,27^*$
	60	1-я группа	$19,2 \pm 2,59$
		2-я группа	$2,9 \pm 0,68^*$
		3-я группа	$4,2 \pm 0,85^*$
	90	1-я группа	$11,2 \pm 1,87$
		3-я группа	$4,9 \pm 1,16^*$
		4-я группа	$5,9 \pm 1,66^*$
Коллаген 3 типа (%)	30	1-я группа	$5,4 \pm 1,13$
		2-я группа	$6,8 \pm 1,41$
	60	1-я группа	$10,5 \pm 1,02$
		2-я группа	$2,5 \pm 0,73^*$
		3-я группа	$1,6 \pm 0,62^*$
	90	1-я группа	$10,1 \pm 1,88$
		3-я группа	$2,8 \pm 0,67^*$
		4-я группа	$4,7 \pm 1,03^*$

Таблица А.6 – Экспрессия TNF α и IL-1 клетками Купфера и фибробластами при токсическом гепатозе смешанной этиологии с исходом в цирроз печени и при воздействии ОД (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
TNF α	30	1-я группа	$2,6 \pm 0,29$
		2-я группа	$1,1 \pm 0,24$
	60	1-я группа	$2,7 \pm 0,29$
		2-я группа	$0,4 \pm 0,13$
		3-я группа	$1,8 \pm 0,42$
	90	1-я группа	$4,1 \pm 0,43$
		3-я группа	$0,5 \pm 0,15$
		4-я группа	$0,6 \pm 0,12$
IL-1	30	1-я группа	$1,0 \pm 0,22$
		2-я группа	$1,5 \pm 0,29$
	60	1-я группа	$5,0 \pm 0,41$
		2-я группа	$1,5 \pm 0,16$
		3-я группа	$1,4 \pm 0,25$
	90	1-я группа	$2,8 \pm 0,22$
		3-я группа	$0,5 \pm 0,12$
		4-я группа	$0,8 \pm 0,19$

Таблица А.7 – Экспрессия FGF и TGF β клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
FGF	30	1-я группа	$3,8 \pm 0,29$
		2-я группа	$2,0 \pm 0,18$
	60	1-я группа	$4,6 \pm 0,43$
		2-я группа	$0,4 \pm 0,11$
		3-я группа	$0,7 \pm 0,19$
	90	1-я группа	$1,6 \pm 0,22$
		3-я группа	$0,3 \pm 0,21$
		4-я группа	$0,4 \pm 0,14$
TGF β	30	1-я группа	$2,3 \pm 0,22$
		2-я группа	$1,4 \pm 0,14$
	60	1-я группа	$6,0 \pm 0,45$
		2-я группа	$0,3 \pm 0,11$
		3-я группа	$1,4 \pm 0,32$
	90	1-я группа	$3,7 \pm 0,34$
		3-я группа	$0,5 \pm 0,15$
		4-я группа	$0,9 \pm 0,21$

Таблица А.8 – Экспрессия FGF и TGFβ клетками стромы печени (фибробласты, макрофаги) при циррозе и воздействии ОД (n = 80)

Исследуемый показатель	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Исследуемые группы	Величины исследуемых показателей
FGF	30	1-я группа	$3,8 \pm 0,29$
		2-я группа	$2,0 \pm 0,18$
	60	1-я группа	$4,6 \pm 0,43$
		2-я группа	$0,4 \pm 0,11$
		3-я группа	$0,7 \pm 0,19$
	90	1-я группа	$1,6 \pm 0,22$
		3-я группа	$0,3 \pm 0,21$
		4-я группа	$0,4 \pm 0,14$
TGFβ	30	1-я группа	$2,3 \pm 0,22$
		2-я группа	$1,4 \pm 0,14$
	60	1-я группа	$6,0 \pm 0,45$
		2-я группа	$0,3 \pm 0,11$
		3-я группа	$1,4 \pm 0,32$
	90	1-я группа	$3,7 \pm 0,34$
		3-я группа	$0,5 \pm 0,15$
		4-я группа	$0,9 \pm 0,21$

Таблица А.9 – Количество спаек (n) в брюшной полости у крыс, численная плотность макрофагов и нейтрофилов (Nai) в инфильтратах спаек брюшной полости и при воздействии ОД (n = 40)

Исследуемый показатель	Время с момента выполнения лапоротомии (сутки)	Исследуемые группы	
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки+ОД)
Количество спаек	7	$6 \pm 0,89$	$0,8 \pm 0,37^*$
	21	$4,8 \pm 0,8$	$1,2 \pm 0,48^*$
Макрофаги	7	$13,8 \pm 1,78$	$9,6 \pm 0,74^*$
Нейтрофилы		$6,35 \pm 0,86$	$2,95 \pm 0,47^*$
Макрофаги	21	$18,7 \pm 1,44$	$9,1 \pm 1,34^*$
Нейтрофилы		$2,4 \pm 0,41$	$0,05 \pm 0,05^*$

Таблица А.10 – Объёмная плотность (Vv) коллагена 1 типа в спайках брюшной полости у крыс и при воздействии ОД (n = 40)

Время с момента выполнения лапоротомии (сутки)	Исследуемые группы	
	1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)
7	$46,3 \pm 2,03$	$20,2 \pm 1,5^*$
21	$64,2 \pm 1,85$	$22,6 \pm 2,49^*$

Таблица А.11 – Объемная плотность (Vv) ультраструктур в макрофагах, фибробластах спаек брюшной полости у крыс и при воздействии ОД (n = 40)

Тип клетки	Исследуемая ультраструктура	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
			1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки+ОД)
Макрофаги	Лизосомальный аппарат (%)	7	$8,8 \pm 3,73$	$17,5 \pm 5,69^*$
		21	$4,2 \pm 0,24$	$28,7 \pm 4,44^*$
	Эндоплазматический ретикулум (%)	7	$14,7 \pm 4,49$	$18,4 \pm 2,60^*$
		21	$12,0 \pm 1,71$	$14,0 \pm 2,53$
Фибробласты	Вакуолярный аппарат (%)	7	$10,0 \pm 1,97$	$3,3 \pm 1,32^*$
		21	$1,4 \pm 0,57$	$8,5 \pm 2,17^*$
	Эндоплазматический ретикулум (%)	7	$16,7 \pm 3,01$	$21,5 \pm 5,19^*$
		21	$19,7 \pm 3,59$	$28,3 \pm 4,34^*$