

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Шкурупий Вячеслав Алексеевич

доктор медицинских наук, профессор

Надеев Александр Петрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Морозов Виталий Валерьевич

(Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, лаборатория технологий управления здоровьем, заведующий, г. Новосибирск)

доктор медицинских наук, профессор

Карев Вадим Евгеньевич

(Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городское патологоанатомическое бюро», Адмиралтейское централизованное патологоанатомическое отделение, заведующий отделением, г. Санкт-Петербург),

доктор медицинских наук, профессор

Казачков Евгений Леонидович

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко, заведующий кафедрой, г. Челябинск)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского» (г. Москва)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35; <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/5009>)

Автореферат разослан «_____» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Фиброз развивается в исходе различных по этиологии и патогенезу заболеваний, патологических процессов. Примерами могут послужить келоидные рубцы, спайки брюшной полости, фиброз и цирроз печени, пневмосклероз, нефросклероз. Тяжесть проявлений склероза разнообразна и характеризуется ограничением функций органов, вплоть до инвалидизации пациентов и летального исхода (Yang L. X., Qi C., 2025; Al Amin A. S. M. et al., 2025; Tonooka Y. et al., 2024; Somnay K. et al., 2024; Antar S. A. et al., 2023, Liu Y. et al., 2023).

По мере прогрессирования фиброза, структура органов, их трофика и функции необратимо нарушаются (Sornay K. et al., 2024; Antar S. A., 2023; Liu Y., Xu J, 2023).

Фиброз связан с нарушением обмена коллагена и его накоплением, склерозом сосудов. Механизмы процесса фиброза изучены недостаточно. При этом средства лечения и профилактики, обладающие высокой эффективностью отсутствуют, а лечение носит радикальный хирургический характер (Sornay K., et al., 2024; Alkatout I. et al., 2024; Wan S. et al., 2024; Wang K. et al., 2023; Hwang J. P. et al., 2023; Liu S.-Y. et al., 2021; Ключко Д. А. и соавт., 2021; Maksimova A. A. и соавт., 2020).

В механизмах развития фиброза важное значение имеет экспрессия активированными макрофагами «профиброгенных» факторов, таких как ИЛ-1, TGF β и других медиаторов. Это способствует трансформации фибробластов в миофибробласты (Lee, Y. J. et al., 2024; Wei J. et al., 2024; Lingampally A. et al., 2024; Smith, J. et al., 2024; Plikus M. V. et al., 2021). Процесс преобразования фибробластов в миофибробласты является одним из проявлений эпителиально-мезенхимального перехода. Кроме того, известно, что эпителиально-мезенхимальный переход может проявляться в трансформации клеток мезенхимального происхождения в мезенхимальные (например, адипоциты) и эпителиальные клетки (сальные железы, покровный эпителий), обладая двусторонней направленностью (Wei J. et al., 2024; Lingampally A. et al., 2024; Smith, J. et al., 2024; Plikus M. V. et al., 2021). Однако имеющиеся данные об этих процессах не объясняют механизмы фиброза в достаточной степени для формирования подходов к эффективной коррекции этого процесса (Jiang, Y. et al., 2024; Ghafouri-Fard S. et al., 2024; Gouarderes S. et al., 2022)

Степень разработанности темы диссертации. Ранее, при исследовании гранулематоза в печени мышей, индуцированного БЦЖ, частицами кремния, обнаруживали более выраженный процесс фиброзирование гранулем, обусловленный воздействием неорганического фактора, однако выраженность деструктивных изменений в печени не отличалась (Карпов М. А., Шкурупий В. А., 2010; Карпов М. А., Шкурупий В.А., 2010). При исследовании гриппа N5N1 обнаруживали в легких проявления раннего фиброза

(Аникина А. Г., 2012; Шкурупий В. А. и соавт., 2017). 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 полисахарида, окисленного различными путями, сопутствует снижение проявлений склероза в органах и тканях (Шкурупий В. А., 2007; Шкурупий В. А. и соавт., 2017).

В научной литературе имеются многочисленные сведения об особенностях развития фиброза в различных органах и тканях (Antar S. A. et al., 2023). При этом однотипность эффекта от воздействия ОД в различных экспериментальных условиях указывает на неспецифичность процесса фиброза, его пато- и морфогенетических механизмов, но требует более полного изучения механизмов его влияния.

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. Впервые продемонстрирована связь проявлений 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 МЭП, проявляющиеся в фибробластах, эндотелиальных клетках сосудов, эпителии желчных протоков печени, мезотелии брюшины.

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 2789693 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 однотипными 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); 6-м съезде Российского общества патологоанатомов (Москва, 2022); 7-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Челябинск, 2023); 4-й 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 – филиала 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.

Объем и структура диссертации. 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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Модели эксперимента. 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 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. Во всех экспериментальных условиях перед началом моделирования патологических процессов и выведением из эксперимента, животных вводили в состояние наркоза путем внутримышечного введения в бедренную мышцу раствора смеси тилетамина (50 мг) и золазепама (50 мг) по 0,1 мл на 100г массы тела. Крыс во всех экспериментальных условиях выводили из эксперимента путем декапитации. Во всех экспериментальных условиях применяли 5 % раствор окисленного декстрана с молекулярной массой 40 кДа, степенью окисления 10 %.

1. Моделирование ожога осуществляли медной пластиной, нагретой до стандартной температуры 180°C с экспозицией 10 секунд в области спины на границе грудного и поясничного отдела позвоночника. Проведено два эксперимента. В каждом эксперименте формировали группы по 7 животных. В эксперименте № 1: 1-я группа (ожог) контрольная; 2-я группа (ожог + ОД) – крысам на область ожога ежедневно наносили по 1 мл раствора ОД, материал забирали на 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е и 21-е сутки. Эксперимент №2: 1-я группа (ожог) – контрольная; 2-я группа (ожог + ОД) – на область ожога ежедневно наносили композицию на основе ОД, включающую в состав (метронидазол 0,1 % и лидокаин 0,04 %), 3-я группа (ожог + пантенол) – на область ожога наносили декспантенол в мазевой форме ежедневно.

2. Моделирование посттоксического фиброза и цирроза печени осуществляли путем поочередного введения тетрахлорметана интраперитонеально и раствора этилового спирта per os. Для оценки механизмов фиброза и влияния ОД на разных этапах развития цирроза печени были сформированы группы по 10 животных: 1-я группа (цирроз) – контрольная группа (сроки забора материала 30-е, 60-е, 90-е сутки); 2-я группа (токсический гепатоз + ОД) воздействие ОД с 1-х суток эксперимента (забор материала на 30-е и 60-е сутки); 3-я группа (фиброз + ОД) – воздействие ОД с 30-х суток эксперимента (забор материала на 60-е и 90-е сутки эксперимента); 4-я группа (цирроз + ОД) – воздействие ОД с 60-х суток (забор материала на 90-е сутки).

3. Спайки брюшной полости моделировали путем срединной лапаротомии в стерильных условиях операционной. Петли кишечника выводили на марлевую стерильную салфетку, подсушивали под потоком воздуха, скарификатором на париетальной брюшине

формировали по 3 «насечки» с правой и левой половины передней брюшной стенки, после чего укладывали петли кишечника в брюшную полость, операционную рану ушивали послойно, проводили обработку операционной раны антисептическими растворами. Формировали группы (по 10 животных): 1-я группа (спайки) – контроль; 2-я группа (спайки + ОД) – однократное введение 2 мл раствора ОД в брюшную полость перед наложением последнего шва на передней брюшной стенке.

Методика забора экспериментального материала. Фрагменты кожи забирали из области термического ожога с прилежащей неизменной кожей для гистологического исследования, как краев послеожогового дефекта кожи, так и дна. Фрагменты спаек, фиксированных к брюшине, фрагменты печени забирали после вскрытия брюшной полости путем срединного разреза тканей передней брюшной стенки.

Методика изготовления гистологических препаратов. Образцы органов и тканей фиксировали в 10 % нейтральном формалине. После стандартной гистологической проводки фрагменты тканей заливали в парафин, при помощи микротомы Carl Zeiss (Германия) изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван Гизона, методом импрегнации сернокислым серебром, для выявления клеток Ито применяли окрашивание реактивом Шиффа с докрасиванием азуром 2 (Непомнящих Д. Л. и соавт., 2006).

Методика иммуногистохимического изготовления гистологических препаратов. 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 и 9 типов, тканевому ингибитору матриксных протеиназ (TIMP) 1 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). В экспериментальном исследовании спаек брюшной полости и токсического повреждения печени дополнительно использовали антитело к P53, в разведении 1 : 100, рекомендованном производителем (Abcam, США).

Трансмиссионная электронная микроскопия. Образцы спаек фиксировали в 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, с последующей дофиксацией в течение 1 часа в 1 % 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. Отбор образцов и области для электронно-микроскопического исследования производили в срезах, окрашенных толуидиновым синим (49 микропрепаратов), с помощью светового микроскопа Axio Lab (Carl Zeiss, Германия). 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 1 400 (JEOL, Япония) в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН, расположенном на базе ФИЦ ИЦиГ СО РАН (руководитель ЦКП – канд. биол. наук С. И. Байборodin). Использовали комбинированное увеличение. Всего проанализировано 714 фотоснимков (электронограмм).

Морфометрическое исследование. Исследование проводили при помощи светооптического микроскопа AxioStar plus «Carl Zeiss». Для выявления коллагена различных типов применяли дополнительную окраску по методу Ван Гизона и импрегнации серебром. 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 1 600 мкм² при увеличении в 400 раз и 2 500 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). Экспрессию антител в клетках и внеклеточном матриксе оценивали вне зависимости от выраженности экспрессии.

На электронограммах (цифровых фотографиях), полученных при увеличении $\times 10\,000$, производили измерение размеров макрофагов, фибробластов и их ядер, при увеличении $\times 80\,000$ измеряли толщину коллагеновых волокон (результат измерения выражали в мкм), с помощью компьютерной программы ImageJ (Wayne Rasband, США), вычисляли объемную плотность (V_v) шероховатого эндоплазматического ретикулума, лизосомального аппарата макрофагов и вакуолярного аппарата фибробластов, ядер, цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение.

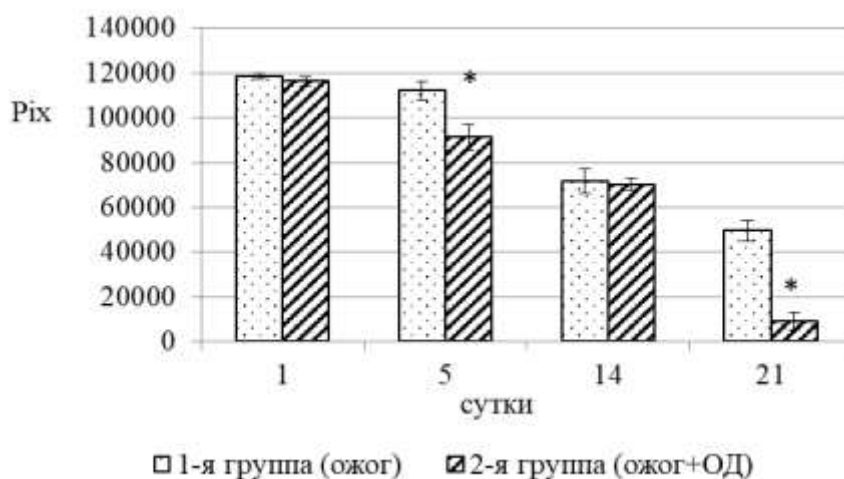
Статистическое исследование. Вероятность достоверности различий между

сравнимаемыми 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 ($Me (Q1; Q3)$) 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование формирования рубца после термического ожога кожи 3Б степени и при воздействии окисленным декстраном. Полученные в результате проведенного исследования данные о заживлении ожога и формировании рубца демонстрируют уменьшение площади ожогового дефекта с 14-х суток при спонтанном заживлении дефекта кожи (Рисунок 1).

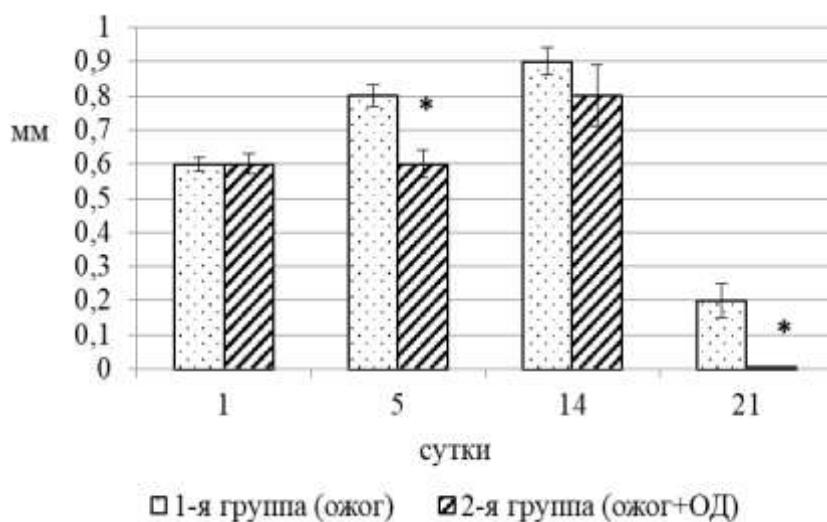


Примечание: * – показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 1-й групп ($p < 0,05$).

Рисунок 1 – Динамика изменения площади (Pix) ожогового дефекта кожи у крыс ($M \pm m$)

Однако при воздействии ОД сокращение площади ожога начиналось с 5-х суток (площадь ожога на 18,6 % меньше, чем при спонтанном заживлении) (см. Рисунок 1). Темпы

сокращения площади не отличались у крыс 1-й и 2-й группы на 14-е сутки в связи с явлениями вторичной альтерации (глубина некроза возросла у крыс в обеих группах на 14-е сутки). Элиминация некротических масс из области ожога отставала от темпов сокращения площади дефекта у крыс в обеих группах, но в большей мере – у крыс 1-й группы (Рисунок 2).



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

Рисунок 2 – Глубина некроза (мм) области термического ожога кожи у крыс ($M \pm m$)

Уменьшению глубины некроза способствовало демаркационное воспаление, характер которого изменялся на протяжении эксперимента: уменьшалось содержание нейтрофилов (в период с 1-х по 21-е сутки у крыс 1-й группы (ожог) – в 3,2 раза, у животных 2-й группы (ожог + ОД) – в 24,5 раза), а макрофагов – возрастало (у крыс 1-й группы – в 3,9 раза, у животных 2-й группы – в 2,3 раза). Это способствовало «очищению» области ожога от некротических масс путем их фагоцитоза, сокращению площади ожога к 21-м суткам (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), однако в большей мере – у крыс, получавших ОД (на 21-е сутки некроз у крыс 2-й группы отсутствовал, а площадь сократилась в период с 14-х по 21-е сутки на 87 %).

В проведенном эксперименте полученные данные демонстрируют увеличение содержания фибробластов в инфильтратах кожи крыс в области ожога на протяжении эксперимента в обеих группах, что предположительно указывает на M2 статус макрофагов, обладающих прорегенераторным и профиброгенным потенциалом (Hua R. et al., 2023; Huang C. et al., 2020).

У крыс 1-й группы проявления воспаления и некроза сочетались с проявлениями отторжения струпа к 14-м суткам, гиперплазией эпителия в краях дефекта, тогда как у крыс 2-й группы на 7-е и 10-е сутки эпителий в виде тонкого пласта по большей части площади закрывал поверхность ожогового дефекта, совпадая с проявлениями раннего отторжения струпа (с 7-х суток частичное отторжение, к 10-м суткам полное отторжение струпа).

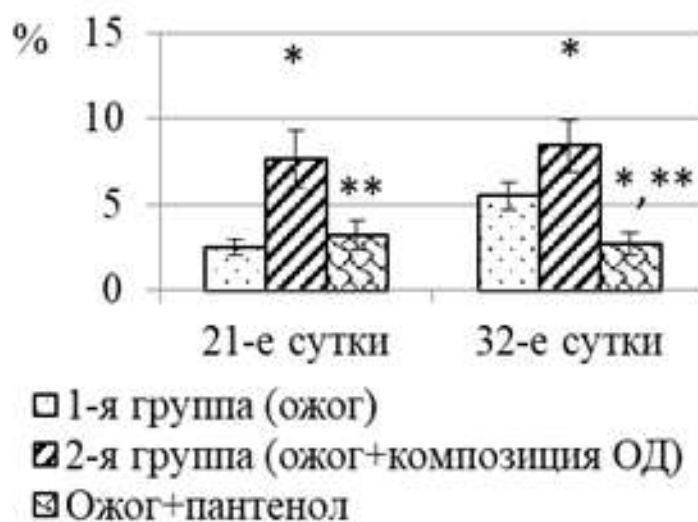
Применение композиции на основе ОД при формировании рубца после термического ожога кожи 3Б степени. На протяжении эксперимента темпы сокращения дефекта кожи и макроскопические проявления динамики заживления дефекта имели сходство с таковыми в вышеописанном эксперименте, наиболее выраженное сокращение площади дефекта у крыс во всех исследуемых группах было обнаружено на 21-е сутки эксперимента. Однако у крыс 2-й группы, получавших композицию на основе ОД, на 32-е сутки площадь формирующегося рубца была наименьшей, а консистенция – более эластичной в сравнении с величинами аналогичного показателя у животных 1-й и 3-й групп (на 34 % и 57,7 % соответственно).

Процесс эпителизации области ожогового дефекта сопровождался гиперплазией эпителия в краях и дне ожогового дефекта у крыс 1-й и 3-й групп, сопровождался уменьшением численной и объёмной плотности сосудов, в сравнении с таковыми у животных 2-й группы, где величины указанных показателей возрастали на 21-е и 32-е сутки эксперимента (Рисунки 3 и 4).



Примечание: * – показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 3-й групп с величинами показателей 1-й группы животных; ** – сравнение величин показателей 2-й и 3-й групп ($p < 0,05$).

Рисунок 3 – Численная плотность (Nai) сосудов в области формирующегося рубца после ожога кожи 3Б степени



Примечание: * – показаны достоверные различия величин показателей у животных 2-й и 3-й групп с величинами показателей 1-й группы животных; ** – сравнение величин показателей 2-й и 3-й групп ($p < 0,05$).

Рисунок 4 – Объемная плотность (V_v) сосудов области формирующегося рубца после термического ожога 3Б степени ($M \pm m$)

Пролиферация эпителия и эпителизация дефекта, очевидно, связаны с более благоприятными сосудисто-трофическими условиями, складывающимися в очаге повреждения у крыс 2-й группы. Пролиферацию сосудов при фиброзе связывают с экспрессией VEGF, участвующего в развитии MAPK-зависимого пути ЭМП (He, J. et al., 2024; Wang K. et al., 2023; Condorelli A. G. et al., 2021). Кроме того, известно, что в спонтанном заживлении хирургических ран и ожогов участвует ЭМП, который сопровождается формированием рубца и образованием сальных желез, волосяных фолликулов и кератиноцитов, участвующих в процессе ЭПМ (Yao W. et al., 2024; He J. et al., 2024; Greenhalgh D. 2023; Čoma M. et al., 2021; Marconi G. D. et al., 2021). Учитывая динамику изменений численной и объемной плотности сосудов у крыс при тяжелом термическом ожоге, применение композиции на основе ОД, препятствовало механизмам MAPK-сигнального пути и ЭМП, и как следствие, сопровождалось менее выраженным фиброзом (Pastore S. et al., 2008; Wee P. et al., 2017).

Экссудативные проявления воспалительной реакции у крыс 1-й группы более выражены и сочетаются с формированием более крупного и плотного рубца кожи, чем у крыс 2-й группы, где менее выраженные проявления экссудации на 21-е сутки эксперимента, поскольку в инфильтратах кожи области ожога обнаруживали меньшее количество нейтрофилов в сравнении с таковыми у животных 1-й и 3-й групп (Таблица 1).

Таблица 1 – Клеточный состав воспалительных инфильтратов (% от общего количества учитываемых клеток инфильтратов) в ожоговой ране 3Б степени кожи крыс ($M \pm m$)

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

У животных 1-й и 3-й групп присутствие нейтрофилов сохранялось на 32-е сутки. Во всех исследованных группах к 32-м суткам эксперимента в области термического ожога кожи возрастало содержание в инфильтратах макрофагов, однако с учетом динамики изменения глубины некроза, наибольшая фагоцитозная активность макрофагов была у крыс 2-й группы.

К 32-м суткам содержание фибробластов в области термического ожога возрастало у крыс 2-й и 3-й групп. У крыс 1-й и 3-й групп активность фибробластов была высокой, откладывалось больше коллагена, чем у крыс 2-й группы. Однако ретикулярных волокон у крыс 2-й группы было больше на 21-е и 32-е сутки эксперимента (Таблица 2). Эти изменения, по-видимому, обуславливали большую плотность рубца у крыс 1-й и 3-й групп, в отличие от более эластичного рубца с меньшей площадью у животных 2-й группы.

Таблица 2 – Объёмная плотность (V_v) коллагеновых и ретикулярных волокон в дне ожоговой раны 3Б степени в коже крыс ($M \pm m$)

Период после нанесения ожога (сутки)	Тип волокон	Исследуемая группа		
		1-я группа (ожог)	2-я группа (ожог + композиция)	3-я группа (ожог + пантенол)
1	2	3	4	5
21	коллагеновые	$7,92 \pm 0,59$	$6,85 \pm 0,35$	$11,37 \pm 0,54^{**}$
	ретикулярные	$14,4 \pm 1,72$	$23,88 \pm 1,98^*$	$10,3 \pm 1,07^{**}$

Продолжение Таблицы 2

1	2	3	4	5
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: *– достоверные отличия исследуемого показателя 3-й группы крыс от таковой у животных 1-й (контроль) группы; ** – достоверные отличия величины исследуемого показателя у крыс 3-й (пантенол) и 2-й групп (ОД) ($p < 0,05$).				

На 21-е сутки эксперимента обнаружили прямую умеренную корреляционную связь между численной плотностью макрофагов и объёмной плотностью коллагена в дне ожоговой раны в коже у крыс 1-й (ожог) и 2-й групп (ожог + композиция ОД), которая составила 0,399318708 и 0,419629112 соответственно, что указывает на связь макрофагов с обменом коллагена и участием фагоцитоза в этом процессе. У крыс 3-й группы (ожог + пантенол) корреляционная связь была слабой положительной (0,104386), учитывая наибольшую площадь формирующегося рубца у животных этой группы, макрофаги обладали наименьшей фагоцитозной активностью. Кроме того, с учетом динамики экссудативных проявлений воспаления на темпы и объёмы фиброза влияет не только фагоцитозная активность, но и функциональное состояние макрофагов.

Определенную роль в развитии фиброза оказывают и внешние воздействия, процесс фиброза может быть не только ограничен, но и стимулирован: 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.

Эпителизация и коллагенизация области ожога реализовывались у крыс 2-й группы за более короткий промежуток времени, формируя рубец с площадью дефекта на 21-е и 32-е сутки меньшей, чем у животных двух других групп, а процесс заживления ожоговой травмы не был связан в полной мере с процессами замещения некроза соединительной тканью. Таким образом, процессы закрытия дефекта реализовывались за счет не только синтеза коллагена, но и развития ЭМП, в том числе с участием фактора транскрипции SNAIL (Chen T. et al., 2024; Yao W. et al., 2024; Kitazawa K., 2024; Hosseini K. et al., 2022).

Формирование посттоксического цирроза печени сочетанной (этаноловой и тетрахлорметановой) этиологии. 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 процессах развития гепатоза токсической этиологии и формирования цирроза печени – численная плотность двудерных гепатоцитов уменьшалась в период с 30-х по 90-е сутки на 40 %.

В ходе фиброзирования печени формируются ложные дольки. Увеличение площади ложных долек с 30-х по 90-е сутки более чем в 8,1 раза у крыс 1-й группы сочеталось с увеличением численной плотности клеток Ито и фибробластов, увеличением содержания коллагена. Обнаруживали экспрессию коллагенов 1-го и 3-го типов.

Известно, что механизмы ЭМП лежат в основе трансформации фибробластов в миофибробласты, способные к синтезу коллагена. Регуляция этого процесса обеспечивается TGF- β и FGF, экспрессия которых возрастает к 60-м суткам эксперимента и сопровождается наибольшим приростом объёмной плотности коллагена (Таблица 3).

Таблица 3 – Объёмная плотность (Vv) коллагена и численная плотность (Nai) фибробластов, клеток Ито, макрофагов, экспрессирующих TGF- β и FGF при гепатозе смешанной токсической этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$).

Период после начала токсического воздействия (сутки)	Объёмная плотность (Vv) коллагена	Численная плотность (Nai)	Численная плотность клеток Ито (Nai)	Экспрессия TGF- β	Экспрессия FGF
30	26,3 $\pm$ 1,25	18,8 $\pm$ 0,60	0,6 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,22	3,8 $\pm$ 0,29
60	56,7 $\pm$ 1,74*	29,7 $\pm$ 0,58*	1,8 $\pm$ 0,15*	6,0 $\pm$ 0,45*	4,6 $\pm$ 0,43*
90	54,4 $\pm$ 1,58	28,4 $\pm$ 0,77	1,7 $\pm$ 0,12	3,7 $\pm$ 0,22	1,6 $\pm$ 0,22
Примечание: * – достоверные отличия величин показателей на 60-е и 30-е сутки ($p < 0,025$).					

Однако, количество двудерных гепатоцитов к 90-м суткам уменьшается, возрастает количество клеток Ито, фибробластов, а содержание коллагена не изменяется в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента, при этом площадь ложных долек увеличивается в указанный период в 2 раза. Таким образом, после отмены токсического воздействия (с 60-х суток) в механизмах формирования ложных долек участвуют проявления эпителиально-мезенхимального перехода, на что указывает увеличение экспрессии регулирующего этот процесс фактора TGF- β , численной плотности сосудов фиброзирующихся околопортальных пространств. Кроме того, на проявления ЭМП паренхиматозными и непаренхиматозными клетками указывает снижение экспрессии E-cadherin гепатоцитами, проявлением в них экспрессии Vimentin, а в фибробластах экспрессия E-cadherin и меньшая экспрессия Vimentin.

При этом в большем количестве гепатоцитов и фибробластов возрастает экспрессия факторов транскрипции SNAIL + SLUG в период с 30-х по 90-е сутки эксперимента (Рисунок 5, Таблица 4). Таким образом, формирование ложных долек связано с развитием эпителиально-мезенхимального перехода в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках, не достигающих конечной трансформации к 90-м суткам эксперимента. Вместе с тем, экспрессия Vimentin, SNAIL + SLUG проявлялась в эндотелиальных клетках, эпителии желчных протоков, которые не экспрессировали E-cadherin.

Таблица 4 – 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: * – отличия величин исследуемых показателей на 60-е сутки от таковых на 30-е сутки; ** – отличия величин исследуемых показателей на 30-е и 90-е сутки ($p < 0,05$).			

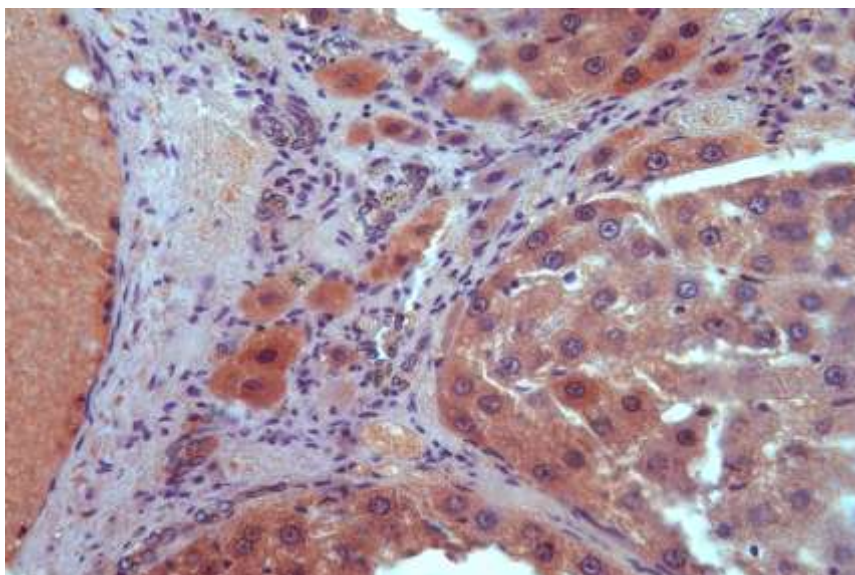


Рисунок 5 – Экспрессия SNAIL + SLUG гепатоцитами и клетками в строме печени крысы 1-й группы при посттоксическом циррозе печени на 90-е сутки эксперимента. Увеличение $\times 400$. Фоновое окрашивание гематоксилином

В период с 30-х по 90-е сутки поддерживалась провоспалительная и профиброгенная активность непаренхиматозных клеток печени, проявлявшаяся экспрессией ИЛ-1 и $\text{TNF}\alpha$. При этом, на 30-е и 60-е сутки эксперимента преобладала экспрессия MMP-9 над TIMP-1, но, учитывая динамику накопления коллагена в печени крыс, становится очевидным, что темпы деградации коллагена отстают от коллагенообразования (Таблица 5).

Таблица 5 – Исследование численной плотности (Nai) клеток, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 в печени у крыс 1-й группы при длительном токсическом повреждении смешанной этиологии с исходом в цирроз печени, ($M \pm m$)

Вид клеток	Период после начала токсического воздействия (сутки)	Экспрессия MMP-9	экспрессия TIMP-1
1	2	3	4
Фибробласты	30	$2,6 \pm 0,45$	$2,0 \pm 0,19$
	60	$10,3 \pm 0,82^*$	$2,7 \pm 0,35^*$
	90	$6,8 \pm 0,73^{**}$	$7,4 \pm 0,65^{**}$
Гепатоциты	30	$0,3 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,07$
	60	$1,0 \pm 0,17^*$	$0,2 \pm 0,08$
	90	$0,4 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,12^{**}$

Продолжение Таблицы 5

1	2	3	4
Клетки Купфера	30	$1,9 \pm 0,18$	$0,7 \pm 0,16$
	60	$3,7 \pm 0,33^*$	$1,1 \pm 0,15^*$
	90	$2,2 \pm 0,21$	$3,0 \pm 0,11^{**}$
Эндотелиоциты	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: * – отличия величин исследуемых показателей на 60-е сутки от таковых на 30-е сутки; ** – отличия величин исследуемых показателей на 30-е и 90-е сутки ($p < 0,05$).			

После отмены токсических факторов, по условиям эксперимента, на 90-е сутки обнаруживали преобладание экспрессии препятствующего деградации коллагена TIMP-1 над экспрессией MMP-9. Таким образом, после отмены воздействия токсических факторов (с 60-х суток) на 90-е сутки эксперимента обмен коллагена регулировался не только матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами, но и иными процессами, среди которых можно рассматривать фагоцитоз коллагена стимулированными ИЛ-1 и TNF α макрофагами.

Для обнаружения связи проявлений роста площади ложных долек с различными видами клеток в печени крыс провели исследование корреляционной взаимосвязи. Выявили отсутствие корреляционной взаимосвязи площади ложных долек с численной плотностью двуядерных гепатоцитов, клеток Ито, фибробластов – между двуядерными гепатоцитами и площадью ложных долек ($r = -0,016947213$), между фибробластами и площадью ложных долек ($r = -0,171358459$), между клетками Ито и площадью ложных долек ($r = 0,186474687$). Таким образом, в реализации проявлений ЭМП в печени крыс при посттоксическом циррозе одновременно участвуют разнообразные клетки (как паренхиматозные, так и непаренхиматозные), формируя ложные дольки, способствуя увеличению их площади, компенсируя структурные нарушения в паренхиме печени.

Воздействие окисленного декстрана на фиброзирование печени при остром токсическом повреждении печени смешанной (этаноловой и тетрахлорметановой) этиологии. Воздействие ОД с 1-х суток эксперимента на протяжении 60 суток в условиях острого токсического гепатоза препятствовало повреждению печени и формированию к 60-м суткам цирроза печени у крыс 2-й группы. Отсутствие явного роста численной плотности двуядерных гепатоцитов и клеток Ито указывает на отсутствие существенных повреждений паренхимы печени (Рисунки 6 и 7).

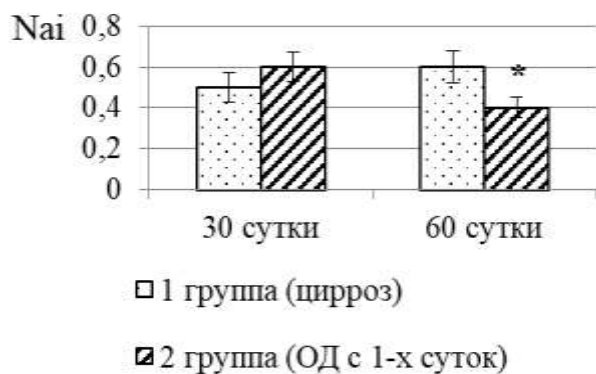


Рисунок 6 – Численная плотность (Nai) динуклеарных гепатоцитов в печени крыс при формировании посттоксического цирроза печени и воздействии ОД ($M \pm m$)

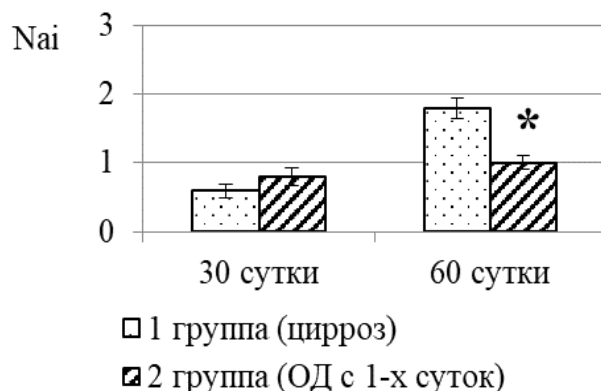


Рисунок 7 – Численная плотность (Nai) клеток Ито в печени крыс при формировании посттоксического цирроза печени и воздействии ОД ($M \pm m$)

Несмотря на отсутствие формирования ложных долек, отложение коллагена в толще долек и вокруг портальных триад у крыс 2-й группы происходило, хотя и в меньшем объеме (в 1,9 раза на 60-е сутки) в сравнении с печенью крыс 1-й группы в связи с увеличением (в 2 раза) коллаген-синтетической активности фибробластов, поскольку численная плотность фибробластов уменьшалась на 37,8 % в печени крыс 2-й группы к 60-м суткам. Полученные данные демонстрируют, что в ранние сроки после токсического повреждения печени определяется дальнейший ход склерозирования органа, формирования цирроза, а воздействие ОД в ранние сроки эксперимента препятствует развитию фиброза.

Снижение содержания коллагена в печени крыс 2-й группы при увеличении «фибропластической активности» фибробластов указывает на нарушенный процесс сборки коллагена. Учитывая обнаруженное преобладание экспрессии в непаренхиматозных клетках печени TIMP1 над MMP9 на 30-е и 60-е сутки эксперимента, ОД препятствовал процессу деградации коллагена классическим путем.

При воздействии ОД с 1-х суток в период на 30-е сутки возрастает численная плотность сосудов, а к 60-м суткам – уменьшается, но объемная плотность сосудов возрастает на 60-е сутки эксперимента у животных 2-й группы, по-видимому, в связи с созреванием имеющихся сосудов, и, в меньшей степени, с их пролиферацией. Это предположение подтверждается меньшей экспрессией клетками FGF и TGF β – факторов, участвующих в активации и регуляции MAPK-сигнального пути у крыс 2-й группы. Это, в свою очередь, препятствует перестройке цитоскелета и реализации ЭМП и МЭП, и как следствие – препятствует фиброзу, а также циррозу печени, что подтверждается меньшей численной плотностью клеток, экспрессирующих SNAIL/SLUG (Рисунок 8).

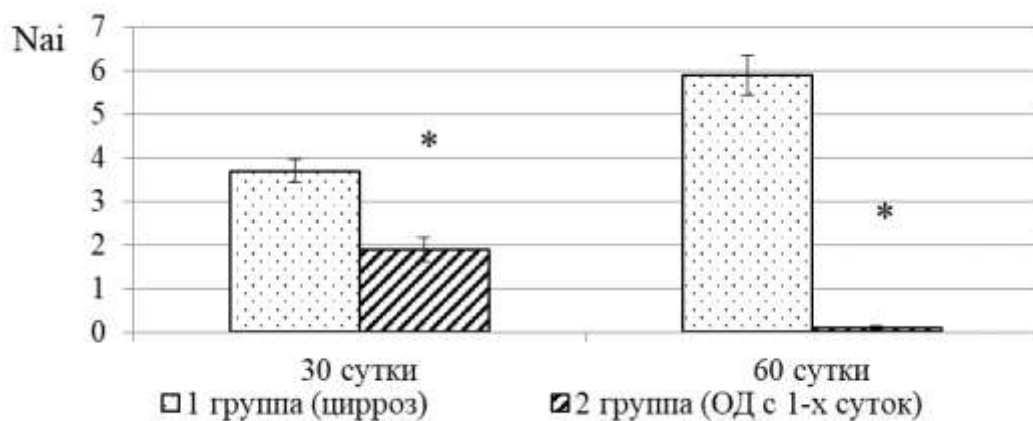


Рисунок 8 – Экспрессия SNAIL + SLUG гепатоцитами при воздействии ОД в условиях формирования цирроза печени ($M \pm m$)

В связи с угнетающим влиянием ОД на механизмы MAPK-сигнального пути, экспрессия маркеров ЭМП снижается как в гепатоцитах, так и в фибробластах; как следствие процесс фиброзирования органа менее выражен в сравнении с изменениями в печени у крыс 1-й группы. У крыс 2-й группы экспрессия TNF α была в 2 раза меньше на 30-е сутки, в 6,8 раза меньше на 60-е сутки, а экспрессия ИЛ-1 была в 3,3 раза меньше на 60-е сутки.

Нарушение механизмов образования предшественников коллагена в фибробластах может способствовать гибели фибробластов различными путями, в частности, апоптозом или некрозом, сопровождаясь уменьшением количества фибробластов. В ходе эксперимента обнаружена экспрессия p53 фибробластами, а их численная плотность убывала к 60-м суткам эксперимента, что подтверждает участие механизмов апоптоза фибробластов в процессе уменьшения их количества.

Формирование цирроза печени при воздействии ОД с 30-х суток. Согласно условиям эксперимента введение ОД животным 3-й группы начинали на 30-е сутки, когда в печени крыс после длительного токсического воздействия развивался фиброз, начинали формироваться ложные дольки, но в полной мере типичной цирротической трансформации органа к 60-м суткам не возникало.

Полученный в ходе исследования результат демонстрирует увеличение площади ложных долек у животных 3-й группы к 90-м суткам эксперимента (Рисунок 9).

Увеличивалась численная плотность двуядерных гепатоцитов после отмены на 60-е сутки воздействия токсическими агентами (тетрахлорметаном и этиловым спиртом) (Рисунок 10). Эти данные отражают способность органа к регенерации при складывающихся более благоприятных условиях реализации регенераторного процесса в печени после отмены токсикантов.

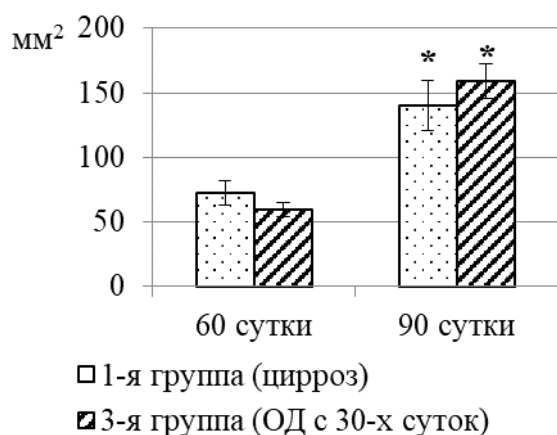


Рисунок 9 – Площадь (мм^2) ложных долек при воздействии ОД с 30-х суток эксперимента в условия формирования цирроза печени ($M \pm m$)

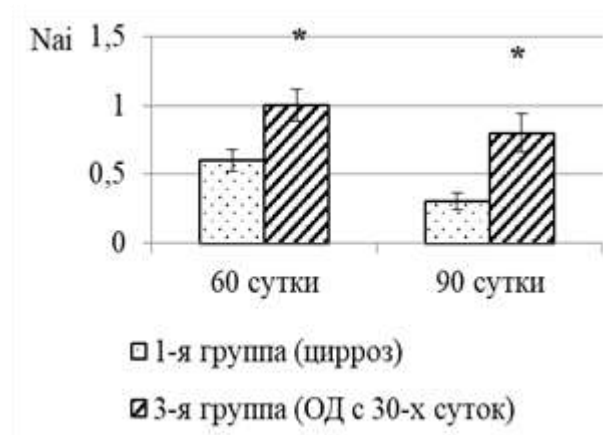


Рисунок 10 – Численная плотность двуядерных гепатоцитов при воздействии ОД с 30-х суток эксперимента в условия формирования цирроза печени ($M \pm m$)

Убывала численная плотность фибробластов. В уменьшении количества фибробластов участвовал механизм апоптоза, обнаруживали экспрессию P53. Объёмная плотность коллагена в печени у крыс 3-й группы была меньше при воздействии ОД, в отличие от величин аналогичных показателей у животных 1-й группы. У крыс 3-й и 1-й групп сохранялась «фибропластическая активность» фибробластов, сопровождаясь накоплением коллагена 1-го и 3-го типов в печени, хотя его объёмная плотность была меньшей в печени крыс 3-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й группы (Таблицы 8 и 9).

При этом наблюдали меньшую экспрессию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и $\text{TNF}\alpha$) непаренхиматозными клетками, а, следовательно, в меньшей степени стимулируется фиброгенез у крыс 3-й группы.

Таблица 8 – Объёмная плотность коллагена (V_v) и численная плотность (N_{ai}) фибробластов при посттоксическом фиброзе печени ($M \pm m$)

Период после начала токсического воздействия (сутки)	Объёмная плотность коллагена (V_v , %)		Численная плотность фибробластов (N_{ai})	
	1-я группа (цирроз)	3-я группа (ОД с 30-х суток)	1-я группа (цирроз)	3-я группа (ОД с 30-х суток)
60	$56,7 \pm 1,74$	$30,6 \pm 1,21^*$	$29,7 \pm 0,58$	$28,8 \pm 0,67$
90	$54,4 \pm 1,58$	$23,7 \pm 0,95^*$	$28,4 \pm 0,77$	$15,4 \pm 0,49^*$
Примечание: * – достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).				

Таблица 9 – Результаты исследования объёмной плотности (Vv) коллагена 1-го и 3-го типов, фибропластической активности фибробластов в печени крыс с посттоксическим фиброзом печени и при воздействии ОД ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Период исследования (сутки)	Исследуемая группа	
		1-я группа (цирроз)	3-я группа (ОД с 30-х суток)
Объёмная плотность коллагена 1-го типа (%)	60	$19,2 \pm 2,59$	$4,2 \pm 0,85^*$
	90	$11,2 \pm 1,87$	$4,9 \pm 1,16^*$
Объёмная плотность коллагена 3-го типа (%)	60	$10,5 \pm 1,02$	$1,6 \pm 0,62^*$
	90	$10,1 \pm 1,88$	$2,8 \pm 0,67^*$
Фибропластическая активность фибробластов (УЕ)	60	$1,5 \pm 0,04$	$1,0 \pm 0,04$
	90	$1,8 \pm 0,05$	$1,4 \pm 0,06$
Примечание: * – достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).			

Таким образом, воздействие ОД в условиях длительного токсического воздействия и формирования фиброза печени демонстрировало аналогичное с предыдущими экспериментами противотоксическое действие, однако в полной мере процесс не был ограничен, в отличие от результата введения ОД с 1-х суток.

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 с 1-х суток начало воздействия ОД в более поздний период формирования фиброза и после отмены воздействия токсикантов, в обмене коллагена и в уменьшении его объёмной плотности играет роль продукция MMP9.

Одним из механизмов уменьшения фиброобразования печени может являться фактор сосудистой трофики. В ходе исследования обнаружено уменьшение численной плотности сосудов в печени крыс 3-й группы, что может указывать на уменьшение продукции факторов, стимулирующих образование сосудов.

На 90-е сутки в 2 раза уменьшилась численная плотность (Nai) клеток Ито в печени крыс 3-й группы в сравнении с таковой на 60-е сутки и была в 2 раза меньше, чем у крыс 1-й группы.

Экспрессию маркеров ЭМП обнаруживали на 60-е сутки эксперимента – Vimentin и E-cadherin были экспрессированы в гепатоцитах крыс 3-й группы. К 90-м суткам экспрессия указанных маркеров значительно убывала, аналогичным образом проявлялась экспрессия

SNAIL/SLUG (Таблица 10).

Полученные данные указывают на убывающие проявления ЭМП в гепатоцитах в условиях воздействия ОД, а гепатоциты не проявляли к 90-м суткам признаков мезенхимального типа клеток, в том числе и гепатоцитов, находящихся в состоянии перестройки цитоскелета.

Таблица 10 – 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 (цирроз)	3-я группа (ОД с 30-х суток)
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: * – достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 3-й группами животных ($p < 0,05$).			

При этом увеличение площади ложных долек не имело корреляционной связи с численной плотностью двуядерных гепатоцитов ($r = -0,121553293$), с численной плотностью фибробластов ($r = 0,063696762$), численной плотностью клеток Ито ($r = 0,045341595$).

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), это указывает на изменение фенотипа фибробластов и, возможно, 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 нарушение структуры самих фибробластов и их убыль путем апоптоза, применив окрашивание к p53, и обнаружили экспрессию указанного фактора в фибробластах.

Очевидно, что при всех перечисленных изменениях, обнаруженных после воздействия ОД, с учетом экспрессии провоспалительных и профиброгенных (прорегенераторных)

медиаторов изменения численных плотностей клеток Ито, фибробластов в процессе реализации противифибротической эффективности ОД, важными являются реализация эффекта ограничения проявлений ЭМП и МЭП, включение механизмов апоптоза фибробластов и снижение количества клеток Ито и фибробластов, что связано со свойством ОД задерживаться в цитоплазме различных типов клеток.

Фиброз при посттоксическом циррозе печени и при воздействии ОД. При сформированном к 60-м суткам циррозе печени, а так же прекращении введения токсических факторов с 60-х суток эксперимента наблюдали большую на 37 % площадь ложных долек у крыс 4-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й группы. При этом объёмная плотность коллагена (Vv) 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 большую в сравнении с таковой у интактных животных и 1,5 раза большую 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 (Рисунок 11).

Таким образом, увеличение площади ложных долек могло быть связано с регенерацией паренхимы печени путем увеличения численной плотности двуядерных гепатоцитов, отражающих процесс их деления, но корреляционная связь между этими двумя показателями была очень слабой положительной ($r = 0,209566099$).

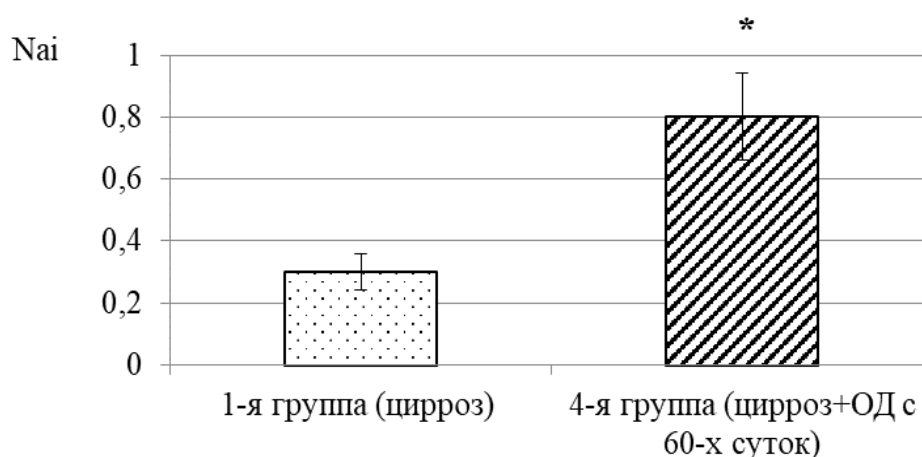


Рисунок 11 – Численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов при воздействии ОД с 60-х суток в условиях формирования цирроза печени ($M \pm m$)

Следовательно, рост численной плотности двуядерных гепатоцитов в полной мере не обосновывает увеличение площади ложных долек. Одним из 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 (Wan S. et al., 2024; Somnay K. et al., 2024; Wang Z. et al., 2023; Plikus M. V. et al., 2021). Результат исследования демонстрирует уменьшение численных плотностей фибробластов и клеток Ито, что может объяснять увеличение площади ложных долек, но корреляционная связь была очень слабой (между численной плотностью фибробластов и площадью ложных долек ($r = -0,25149377$), между площадью ложных долек и численной плотностью клеток Ито ($r = 0,094232521$)). 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 4-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.

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 (Таблица 11). Таким образом, у крыс 4-й группы, увеличение площади ложных долек обусловлено не только ростом численной плотности двуядерных гепатоцитов, но и трансформацией клеток с мезенхимальным фенотипом, в частности, фибробластов и клеток Ито, в гепатоциты.

Таблица 11 – Численная плотность (Nai) 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: * – достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных ($p < 0,05$).			

Следовательно, процесс регенерации печени у крыс 4-й группы при воздействии ОД обусловлен совокупным эффектом пролиферации гепатоцитов и МЭП одновременно в различных типах клеток (в частности, фибробластов и клеток Ито). Не исключено участие эндотелиальных клеток и эпителия желчных протоков в процессе трансформации, поскольку эти клетки проявляли экспрессию SNAIL/SLUG.

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 объема 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), экспрессировавших медиаторы, регулирующие и индуцирующие ЭМП, в частности FGF и TGF β , обладающие 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.

Экспрессия FGF и TGF β в непаренхиматозных клетках была в 4 и 4,1 раза менее выражена у крыс 4-й группы (ОД с 60-х суток) в сравнении с таковой у животных 1-й группы.

Известно, что источниками FGF и TGF β являются разнообразные клетки, усиление экспрессии этих медиаторов наблюдают в макрофагах, находящихся в статусе M2. 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 (в 8 раз), ИЛ-1 (в 2,8 раза) в сравнении с таковыми в печени животных 1-й группы.

Эти проявления сниженной экспрессии профиброгенных и провоспалительных медиаторов способствуют менее выраженным проявлениям фиброза в печени крыс, получавших ОД.

Снижалась «фибропластическая активность» фибробластов, уменьшалось содержание коллагена 1-го, 3-го типов в печени крыс 4-й группы. Поскольку коллаген 3-го типа предшествует формированию коллагена 1-го типа, воздействие ОД приводило к изменению не только функционального статуса фагоцитов, но и опосредовано влияло на синтез и сборку коллагена в печени (Рисунки 12 и 13).

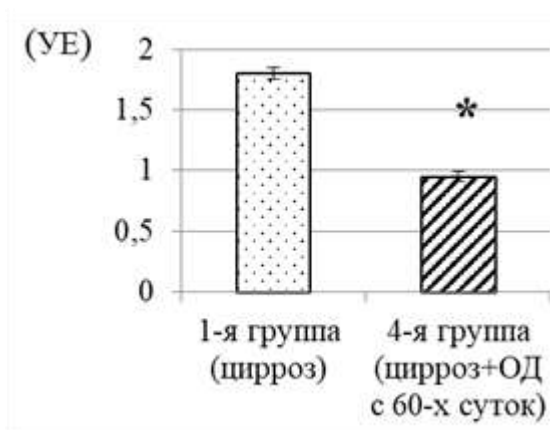


Рисунок 12 – Фибропластическая функция фибробластов при воздействии ОД с 60-х суток в условиях формирования цирроза печени ($M \pm m$)

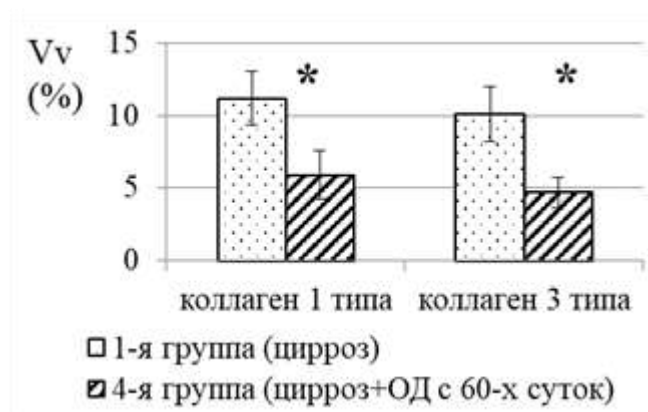


Рисунок 13 – Объёмная плотность (Vv) коллагенов 1-го и 3-го типов при воздействии ОД с 60-х суток в условиях формирования цирроза печени ($M \pm m$)

Исследование механизма регуляции сборки и синтеза коллагена демонстрирует преобладание экспрессии TIMP-1 над MMP-9 (Таблица 12).

Учитывая, что экспрессию MMP-9 наблюдали, нельзя отрицать деградацию части коллагена путем ферментативного расщепления, однако, преобладание TIMP-1 указывает на то, что процессы деградации с участием MMP-9 были выражены слабо или ингибированы.

Таблица 12 – Численная плотность (Nai) клеток паренхимы и стромы печени, экспрессирующих MMP9 и TIMP1 при посттоксическом циррозе печени и воздействии ОД на 90-е сутки эксперимента, ($M \pm m$)

Вид исследуемых клеток	Экспрессия MMP9		Экспрессия TIMP1	
	1-я группа (фиброз)	4-я группа (ОД с 60-х суток)	1-я группа (фиброз)	4-я группа (ОД с 60-х суток)
Фибробласты	$6,8 \pm 0,73$	$4,5 \pm 0,27^*$	$7,4 \pm 0,65$	$5,2 \pm 0,24^*$
Гепатоциты	$0,4 \pm 0,11$	$0,5 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,12$	$0,5 \pm 0,10$
Клетки Купфера	$2,2 \pm 0,21$	$1,7 \pm 0,16$	$3,0 \pm 0,11$	$2,1 \pm 0,20^*$
Эндотелиоциты	$0,7 \pm 0,13$	$0,2 \pm 0,11^*$	$0,9 \pm 0,12$	$0,7 \pm 0,12$
Примечание: * – достоверные отличия величин исследуемых показателей между 1-й и 4-й группами животных ($p < 0,05$).				

Меньшая объёмная плотность коллагенов различных типов в печени у крыс 4-й группы в сравнении с таковой у животных 1-й группы демонстрирует, что в условиях преобладания

TIMP-1 над MMP-9 деградация и убыль коллагена при сформированном циррозе печени зависит и от иных механизмов, в частности, от нарушенного процесса сборки коллагена или его фагоцитоза активированными макрофагами.

Фиброз при формировании спаек брюшной полости. 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 у крыс отличались количеством, объёмом, распространенностью в брюшной полости, разнообразной структурой («шнуровидные», «плоскостные», в виде мембран); оценку проводили в баллах, характеризующих «выраженность» процесса по указанным параметрам. В брюшной полости у крыс 1-й группы «выраженность» спаечного процесса была в 4,3 раза большей ($p = 0,009$) на 7-е сутки и в 2,4 раза большей ($p = 0,0008$) на 21-е сутки, формирующиеся спайки были крупнее, более плотные, распространенные, в сравнении с таковыми у животных во 2-й группе.

Во 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 (Yang L. et al., 2022; Ito T. et al., 2021; Tang J. et al., 2020). 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 (Elrod J. et al., 2023; Ito T. et al., 2021). Часть макрофагов, очевидно, мигрировала из серозной оболочки кишечника. В большом количестве макрофаги и нейтрофильные лейкоциты присутствовали в формирующихся спайках брюшной полости у крыс 1-й группы, однако, по каким-то причинам перитонеальные фагоциты в не очищали брюшную полость и формировались спайки. Макрофаги преобладали в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс в обеих группах на 7-е и 21-е сутки. Однако в спайках у животных в 1-й группе на 7-е сутки макрофагов было на 30 %, а на 21-е сутки на 51 % больше в сравнении с таковыми у 2-й группы крыс. При этом на 7-е сутки нейтрофилов в спайках у крыс 1-й группы было больше в 1,4 раза, а к 21-м суткам нейтрофилы в воспалительных инфильтратах спаек у крыс 2-й группы отсутствовали.

Учитывая меньшее количество 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. Очевидно, процесс формирования спаек в брюшной полости связан с функциональным состоянием присутствующих в спайках фагоцитирующих клеток.

Сохранялись экссудативные проявления в спайках брюшной полости у крыс 1-й группы. Макрофаги проявляли признаки провоспалительного M1 статуса (Таблица 13).

Таблица 13 – 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
IFN γ	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
TNF α	7	8 (6; 11,75)	2,5 (1; 4)	0,000001
	21	5 (4; 6)	3 (2; 5)	0,0729995
TGF β	7	2 (1; 2)	3 (2; 5)	0,000346
	21	2 (2; 3)	6 (4,25; 7)	0,000001

Для M1 статуса макрофагов характерна экспрессия таких цитокинов как ИЛ-1, ФНО α , ИФН γ и некоторые другие, в отличие от M2 статуса макрофагов при котором обнаруживают экспрессию медиаторов, обладающих противовоспалительным и прорегенераторным эффектом, таких как ИЛ-10 и TGF- β (Ghafouri-Fard S. et al., 2024; Gouarderes S. et al., 2022; Yang S. et al., 2021).

При этом макрофаги в спайках брюшной полости у крыс 1-й группы были меньшего размера, с меньшей объёмной плотностью цитоплазмы на 7-е и 21-е сутки эксперимента (Таблица 14). Макрофаги спаек брюшной полости крыс 1-й группы отличались меньшей (на 85,4 %) объёмной плотностью лизосомального аппарата на 21-е сутки эксперимента, по сравнению с макрофагами спаек у крыс 2-й группы, получавших ОД (Рисунок 14).

Таблица 14 – Результаты морфометрического исследования макрофагов в воспалительных инфильтратах спаек брюшной полости у крыс, Ме (Q1, Q3)

Исследуемый показатель	Период после лапаротомии (сутки)	Исследуемые группы			
		1-я группа (спайки)	2-я группа (спайки + ОД)	P-значение при сравнении 1-й и 2-й групп	Интактные
1	2	3	4	5	6
Объёмная плотность (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	

Продолжение Таблицы 14

1	2	3	4	5	6
Объёмная плотность (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	

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, менее выраженным проявлениям экссудации и экспрессии маркеров M2 фенотипа макрофагов.

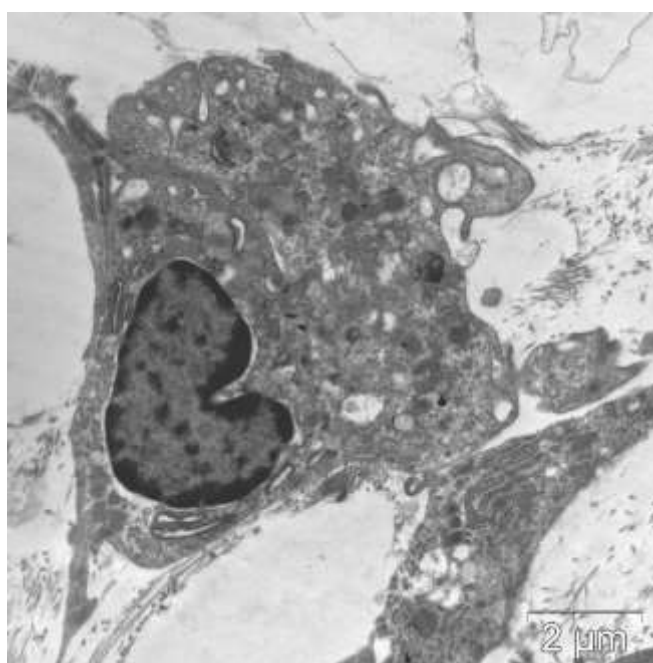


Рисунок 14 – Макрофаг в спайке брюшной полости у крысы 2-й группы (спайки + ОД) на 7-е сутки после лапаротомии: выражен лизосомальный аппарат, шероховатый эндоплазматический ретикулум. Трансмиссионная электронная микроскопия.

Увеличение $\times 15\,000$

В 1-й группе крыс макрофаги проявляли меньшую активность фагоцитоза и иммунофенотипические признаки M1 фенотипа с провоспалительным профилем экспрессируемых медиаторов.

В формирующихся рыхлых спайках у крыс в 1-й группе на 7-е сутки накапливался избыточный коллаген в 6 и в 4 раза в большем объеме на 7-е и 21-е сутки соответственно в сравнении с таковым у животных 2-й группы (Рисунок 15).



Рисунок 15 – Объемная плотность (Vv) коллагена 1-го типа в спайках брюшной полости у крыс ($M \pm m$)

При этом в обмене коллагена отсутствовали отличия экспрессии матричных металлопротеиназ и их ингибиторов у крыс 1-й и 2-й групп, очевидно, что в обмене коллагена и его деградации принимают участие не только MMP9, TIMP1 (Таблица 15).

Таблица 15 – Численная плотность (Nai) клеток стромы (фибробласты, макрофаги), экспрессирующих MMP9, TIMP1, FGF при формировании спаек брюшной полости у крыс и при воздействии окисленным декстраном ($M \pm m$)

Экспрессируемый маркер	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: * – достоверные отличия между величинами показателей 1-й и 2-й групп ($p < 0,01$).			

Ферментативной деградации подвергался не весь избыточный коллаген. При анализе электронограмм обнаружили, что в процессе обмена коллагена (его деградации) принимали участие активированные макрофаги в спайках у крыс в обеих группах, поскольку обнаруживали

фагосомы содержащие коллаген.

В результате фиброзирования спаек образовывались широкие коллагеновые волокна у крыс 1-й группы, более тонкими и в меньшем объеме были представлены волокна коллагена у крыс 2-й группы (Таблица 16).

Однако фибропластическая функция фибробластов сохранялась на протяжении эксперимента у крыс в обеих группах, ядерно-цитоплазматическое соотношение в сторону цитоплазмы в большей степени было смещено в фибробластах спаек у крыс 2-й группы, в цитоплазме содержались вакуоли с проколлагеном. Очевидно, нарушалось выведение предшественников коллагена во внеклеточный матрикс. 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, в присутствии ОД ограничена сборка коллагена во внеклеточном матриксе. Часть фибробластов подвергалась апоптозу, экспрессируя p53.

Таблица 16 – 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)	р-значение при сравнении 1-й и 2-й групп	3-я группа (интактные животные)
Толщина коллагеновых волокон (Нм)	7	32,5 (30,9; 37,4)	29,9 (26,3; 34,8)	0,000297	28 (26,2; 34,9)
	21	37,4 (34,1; 41,5)	29,3 (26,2; 32,8)	0,000001	
Диаметры фибробластов (мкм)	7	12,3 (9,7; 16,2)	18,5 (11,8; 27,5)	0,059319	6,8 (6,3; 5,7)
	21	12 (11,2; 12,6)	16 (14,4; 18)	0,000196	
Диаметры ядер фибробластов (мкм)	7	6,8 (6,1; 10,6)	9,3 (8; 11,4)	0,247752	4,8 (4; 5,7)
	21	7,9 (7; 9,3)	6,8 (5,8; 7,9)	0,370503	
Соотношение ядра и цитоплазмы в фибробластах	7	0,6 (0,5; 0,7)	0,4 (0,3; 0,7)	0,100489	0,75 (0,7; 0,8)
	21	0,7 (0,6; 0,8)	0,4 (0,3; 0,5)	0,000298	

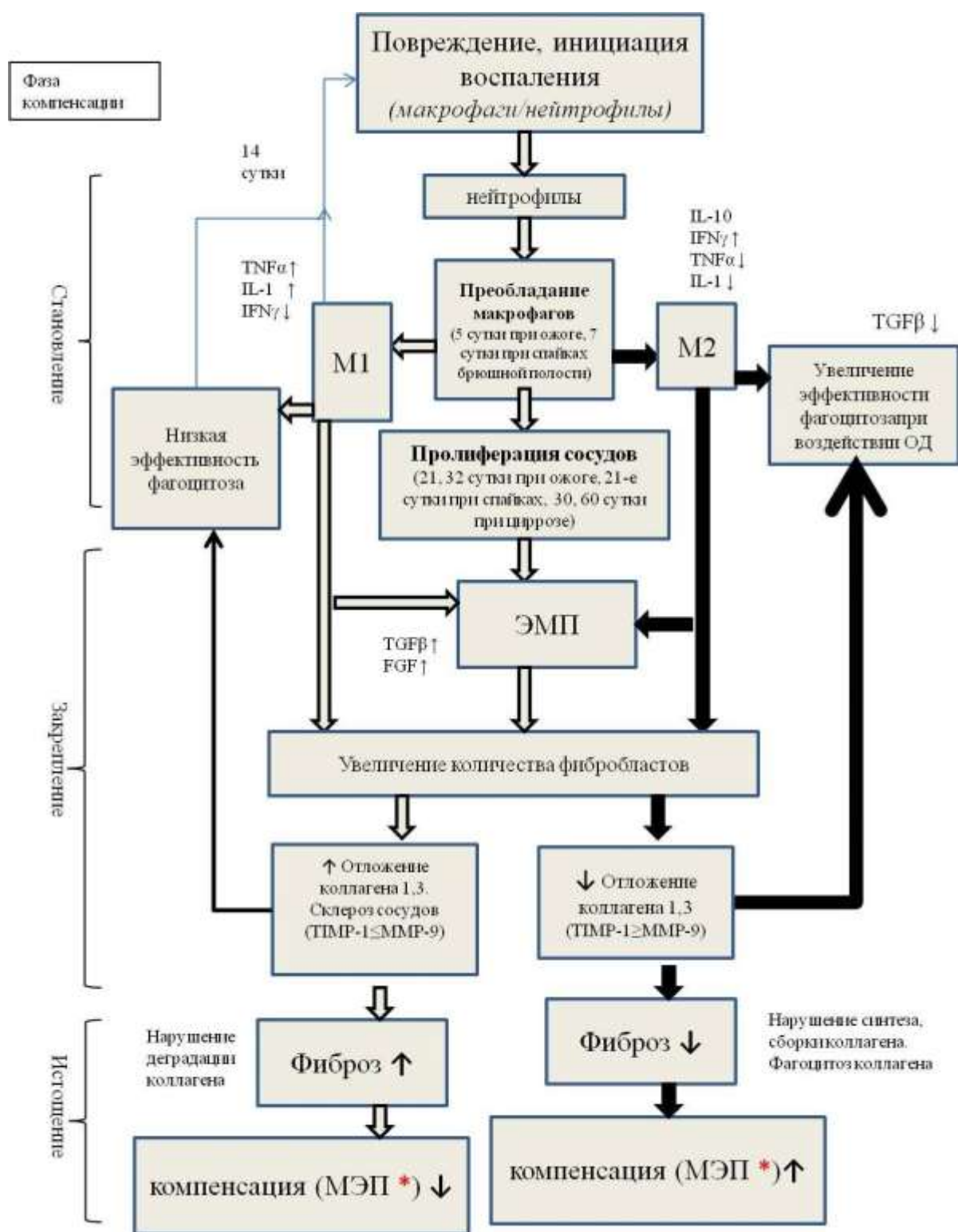
Объёмные плотности шероховатого ретикулума, как и количество фибробластов в спайках брюшной полости обеих групп не отличались при сравнении между группами, но были большими, чем у интактных животных. Из этого следует, что фибробласты у крыс обеих групп находились в активированном состоянии.

Учитывая увеличение численной и объёмной плотности сосудов, возрастающую экспрессию TGF β и FGF, можно предположить активацию в процессе фиброобразования сигнального пути митоген-активированной протеинкиназы, участвующей в трансформации цитоскелета клеток, и, как следствие, реализацию проявлений ЭМП (Lingampally A. et al., 2024; Smith J. et al., 2024; Plikus M. V. et al., 2021). Это подтверждалось уменьшением экспрессии Vimentin на 34,3 %, увеличением экспрессии E-cadherin на 13 % фибробластами и мезотелиальными клетками спаек брюшной полости у крыс 1-й группы (спайки) с 7-х по 21-е сутки эксперимента. У животных 2-й группы возрастала экспрессия Vimentin с 7-х по 21-е сутки на 35,4 %, E-cadherin – на 69,8 % в фибробластах и мезотелии у крыс 2-й группы. При этом на 7-е сутки эксперимента экспрессия Vimentin и E-cadherin в спайках у крыс 2-й группы была в 2,1 раза и 3,8 раза меньшей соответственно в сравнении с величиной аналогичных показателей у животных 1-й группы (спайки + ОД). К 21-м суткам у крыс 1-й группы (спайки) экспрессия СК-18 уменьшилась на 27,8 %, а в спайках брюшной полости у 2-й группы (спайки + ОД) крыс экспрессия СК-18 возросла на 89,6 % и была на 33,3 % большей, чем у животных 1-й группы (спайки).

Таким образом, ЭМП в спайках у крыс 1-й группы проявлялся на 7-е сутки эксперимента, однако к 21-м суткам проявления трансформации клеток эпителиального типа в мезенхимальные уменьшались. Воздействие ОД препятствовало проявлениям экспрессии ЭМП в спайках у крыс 2-й группы. Учитывая наличие экспрессии TGF- β , пролиферацию сосудов (численная плотность сосудов возрастала к 21-м суткам на 33,3 % и 21,3 % у крыс 1-й и 2-й групп соответственно), механизмы ЭМП реализовывались в пользу увеличения количества фибробластов (численная плотность фибробластов у крыс в обеих группах была в 2,4 раза большей, в сравнении с таковой в группе интактных животных). Однако при воздействии ОД проявления ЭМП в спайках брюшной полости были выражены меньше, чем у животных 1-й группы, но рост экспрессии СК-18 демонстрировал проявления МЭП, способствующего формированию эпителиального барьера между внутренней средой новообразованной соединительной ткани и брюшной полостью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в результате проведенного исследования данные указывают на наличие общих проявлений механизмов формирования фиброза при различных экспериментальных условиях, в частности, на связь формирования фиброза с функциональной активностью макрофагов (Рисунок 16). При преобладании макрофагов, проявляющих провоспалительную секреторную активность, поддерживающих экссудативные проявления воспаления, откладывается большой объём коллагена в области повреждения в связи с фагоцитозной недостаточностью макрофагов. При воздействии ОД активность фагоцитоза в макрофагах возрастает (Кожин П. М. и соавт., 2020; Чечушков А. В. и соавт., 2015). Кроме того, при воздействии ОД уменьшаются проявления экссудации и провоспалительной активности макрофагов, при этом уменьшается и объём коллагена (Чечушков А. В. и соавт., 2015). Таким образом, чем раньше применяли ОД, тем более выраженного противofiбротического эффекта достигали, что указывает на то, что морфофункциональное состояние макрофагов в ранние периоды эксперимента определяет выраженность фиброзирования (до 5 суток при ожогах, до 7 суток при формировании спаек, до 30 суток при посттоксическом циррозе печени). Однако в отдаленные периоды экспериментов наблюдали пролиферацию и склероз сосудов у крыс, не получавших ОД, при этом, отмечалась репаративная регенерация специализированных клеток органов и тканей, а при воздействии ОД такие проявления наблюдали в более ранние периоды экспериментов. Важной частью механизмов формирования фиброза является ЭМП, проявления которого затрагивают не только трансформацию фибробластов в миофибробласты, но и способствуют регенерации поврежденного органа путем МЭП (Lee Y. J. et al., 2024; Wei J. et al., 2024; Lingampally A. et al., 2024; Smith. J. et al., 2024; Plikus M. V. et al., 2021). Проявления ЭМП, регулируются $TGF\beta$ и зависят от морфо-функционального статуса макрофагов (Варданын М. А., 2024; Liaghat M. et al., 2024; Haerinck J. et al., 2023). Преобладание экспрессии медиаторов, характерных для M1 статуса макрофагов ($IL1$, $TNF\alpha$), способствовало ЭМП наряду с экспрессией $TGF\beta$. При влиянии ОД наблюдаются преобладание обратной направленности трансформации (МЭП) и экспрессии медиаторов, характерных для M2 статуса макрофагов ($IL-10$, $IFN\gamma$, $TGF\beta$).



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 16 – Схема формирования фиброза различной этиологии.

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 ретикулума;

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 СК-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).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты исследования могут рассматриваться, как этап доклинического исследования применения ОД при фиброзе различной этиологии и могут быть использованы для разработки лекарственных средств на основе окисленного декстрана, оказывающих как лечебный, так и профилактический эффект, препятствующий развитию фибротических, рубцовых осложнений в органах и тканях.

2. Использование ОД для коррекции фиброза возможно в любой период возникновения фиброза органов, но наиболее выраженный противофибротический эффект при использовании ОД отмечен при использовании в ранние сроки формирования фиброза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шкурупий, В. А. Влияние окисленного декстрана на репаративную регенерацию кожи после ожоговой травмы / В. А. Шкурупий, **М. А. Карпов**, Н. Г. Лузгина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012 – Т. 153, № 5. – С. 600–604.

2. Effectiveness of composition based on oxidized dextran in the treatment of grade IIIB skin burns / V. A. Shkurupy, **M. A. Karpov**, A. V. Troitskii [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2015. – Vol. 158, N 5. – P. 628–631.

3. **Karpov, M. A.** The Study of Efficiency of the Approach to Prevent the Adhesions in the Abdominal Cavity of Rats / **M. A. Karpov**, V. A. Shkurupy, A. V. Troitskii // Bull. Exp. Biol. Med. – 2021. – Vol. 171, N 4. – P. 416–420.

4. **Карпов, М. А.** Влияние окисленного декстрана на гепатоциты крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии / **М. А. Карпов**, В. А. Шкурупий, В. Д. Клочин // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – Т. 41, № 5. – С. 25–30.

5. Структурные изменения в печени при посттоксическом циррозе и его лечении окисленным декстраном. Иммуногистохимическое исследование / **М. А. Карпов**, В. Д. Клочин, А. П. Надеев [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 174, № 9. – С. 392–395.

6. **Карпов, М. А.** Исследование влияния окисленного декстрана на процессы фиброобразования в печени крыс при токсических гепатозах и циррозе печени / **М. А. Карпов**, В. Д. Клочин, В. А. Шкурупий // Сибирский научный медицинский журнал. – 2022. – Т. 42, № 1. – С. 49–55.

7. Исследование молекулярно-клеточных механизмов фиброобразования печени крыс при посттоксическом гепатозе смешанной этиологии и при применении окисленного декстрана / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. Д. Клочин [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2023. – Т. 7, № 2. – С. 128–137.

8. **Karpov, M. A.** A Study of the Effect of Oxidized Dextran on the Processes of Fibrosis in the Liver of Rats with Toxic Hepatosis and Liver Cirrhosis / **M. A. Karpov**, V. D. Klochin, V. A. Shkurupii // Cell Tiss. Biol. – 2023. – Vol. 17, N 2. – P. 203–207.
9. Исследование роли металлопротеиназ и их ингибиторов при формировании посттоксического фиброза и цирроза печени и применении окисленного декстрана в эксперименте / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 34–39.
10. Морфологическое исследование механизмов формирования спаек в брюшной полости и при воздействии окисленным декстраном в эксперименте / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий, С. В. Залавина // Уральский медицинский журнал. – 2024. – Т. 23, № 6. – С. 35–44.
11. Исследование морфофункционального статуса макрофагов в спайках брюшной полости у крыс и при воздействии окисленным декстраном / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2025. – Т. 45, № 2. – С. 94–101.
12. Молекулярно-клеточные механизмы фиброобразования спаек брюшной полости и при воздействии окисленным декстраном в эксперименте / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2025. – Т. 179, № 6. – С. 768–774.
13. Патент № 2628613 Российская Федерация, МПК МПК А61К 31/721 (2006.01), А61Р 1/16 (2006.01). Средство для снижения патоморфологических проявлений посттоксического цирроза печени и его осложнений : № 2021138298 : заявл. 21.12.2021 : опубл. 07.02.2023 / В. А. Шкурупий, **М. А. Карпов**, В. Д. Клочин, А. В. Троицкий ; заявитель ФИЦ ФТМ. – Бюл. № 4.
14. Экспрессия маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при посттоксическом циррозе печени и воздействии окисленным декстраном / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий, В. Д. Клочин // Бородинские чтения : материалы IV Междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2024. – С. 203–211.
15. Противофибротические свойства окисленного декстрана на модели спаечного процесса в брюшной полости / **М. А. Карпов**, А. В. Троицкий, П. Е. Медведев, Д. А. Миронова // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов : материалы 8-й Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Новосибирск, 2018. – С. 48–49.
16. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в формировании посттоксического гепатоза и цирроза печени в эксперименте / **М. А. Карпов**, В. Д. Клочин, А. П. Надеев [и др.] // Актуальные вопросы патологоанатомической практики : материалы VII Всерос. науч.-практ.

конф. с междунар. участием. – Челябинск, 2023. – С. 53–56.

17. Электронно-микроскопическое исследование макрофагов спаек брюшной полости у крыс при воздействии окисленным декстраном / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий [и др.] // Актуальные вопросы патологоанатомической практики : материалы VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию каф. патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В. Л. Коваленко ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России и 40-летию основания Челябинского обл. патологоанатомического бюро. – Челябинск, 2024. С. 107–110.

18. Ультраструктура макрофагов и фибробластов при формировании спаек брюшной полости и воздействии окисленным декстраном у крыс / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий [и др.] // Актуальные вопросы патологоанатомической практики : материалы IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Челябинск, 2025. – С. 109–111.

19. Эффективность лекарственной композиции на основе окисленного декстрана при ожоге 3Б степени у крыс / **М. А. Карпов**, А. В. Троицкий, Е. П. Гуляева [и др.] // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов : материалы 7-й Всерос. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2015. – С. 100–101.

20. Противοфибротическая эффективность окисленного декстрана при формировании цирроза печени в исходе хронического гепатоза / **М. А. Карпов**, В. Д. Клочин, А. П. Надеев, В. А. Шкурупий // Материалы VI съезда Российского общества патологоанатомов. – Новосибирск, 2022. – С. 67–69.

21. **Карпов, М. А.** Роль E-cadherin в развитии посттоксического цирроза печени смешанной этиологии и при воздействии окисленным декстраном у крыс / **М. А. Карпов**, А. П. Надеев, В. Д. Клочин // Актуальные вопросы патологической анатомии : сб. тр. обл. науч.-практ. конф. врачей-патологоанатомов и судебно-медицинских экспертов, посвящ. 70-летию каф. патологической анатомии. – Благовещенск : Амурская гос. мед. акад., 2024. – Вып. 3. – С. 45–47.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ОД	окисленный декстран
МАРК	митоген-активированная протеинкиназа
ЭМП	эпителиально-мезенхимальный переход
МЭП	мезенхимально-эпителиальный переход