

«Утверждаю»
Директор
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В.
Петровского»
академик РАН, профессор,
доктор медицинских наук


К.В. Котенко
«30» декабря 2025г.

Отзыв ведущей организации

о научно-практической ценности диссертации Карпова Михаила Александровича «Структурно-молекулярные механизмы фиброза различной этиологии и при воздействии окисленным декстраном в эксперименте», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.2 Патологическая анатомия, 1.5.22 Клеточная биология в диссертационный совет Д 21.2.046.05 на базе ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Актуальность исследования

Диссертационная работа М.А. Карпова посвящена актуальной проблеме современной медицины - изучению структурных и молекулярно-клеточных механизмов развития фиброза как универсального и неспецифического компенсаторно-приспособительного процесса, лежащего в основе формирования рубца при разных патологических процессах.

При фиброзе структура органов, их трофика и функции необратимо нарушаются, что может приводить к инвалидизации пациентов, а в ряде случаев и к летальному исходу. В механизмах развития фиброза важное значение имеет экспрессия активированными макрофагами «профиброгенных» факторов, таких как IL-1, TGFβ и других медиаторов, способствующих

проявлениям эпителиально-мезенхимального перехода, одним из проявлений которого является преобразование фибробластов в миофибробласты. Имеющиеся данные о регуляции фиброза, особенностях его формирования и развития в различных органах не полные, в достаточной степени не объясняют механизмы фиброза, что влечет за собой отсутствие средств эффективной профилактики и лечения этого процесса.

Фиброз в настоящее время относят к патологическому процессу, являющемуся исходом неполной репаративной регенерации (субституции). В ряде случаев склероз органов возникает без предшествующих некротических, глубоких дистрофических изменений тканей и органов, воспаления и носит избыточный характер, например, при пылевых болезнях. Новообразующийся коллаген в соединительной ткани избыточно накапливается, прогрессирует в фиброз. В связи с этим, остается не ясным отношение фиброза к проявлениям процессов компенсации и адаптации, каковы механизмы и особенности обмена коллагена во внеклеточном матриксе при воздействиях различной этиологии и при локализации фиброза в различных органах.

Актуальным остается разработка средств профилактики и коррекции развития фиброза, обладающих универсальной эффективностью и не зависящих от этиологии и особенностей развития широкого спектра органофиброзов. В качестве такого средства в работе рассматривается воздействие окисленного декстрана (ОД), способного влиять на механизмы формирования фиброза, поддерживая проявления компенсаторных процессов.

Новизна, достоверность и ценность полученных автором результатов

В работе проведено исследование структурно-молекулярных механизмов реагирования клеток на повреждение, при фиброзе тканей и органов, в том числе на ультраструктурном уровне, направленное на изучение молекулярных и клеточных механизмов фиброза, а также для разработки средств коррекции и профилактики грубых рубцовых изменений органов, возникающих в исходе разнообразных по этиологии и патогенезу заболеваний.

В работе впервые продемонстрирована связь проявлений т.н. 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, проявляющиеся в фибробластах, эндотелиальных клетках сосудов, эпителии желчных протоков печени, мезотелии брюшины.

Выявлены особенности реактивности различных типов клеток в процессе фиброзирования печени, формирования рубца после термического ожога кожи, развития спаек брюшной полости и в условиях применения ОД. Формирование ложных долек и увеличение их размеров связаны с ЭМП паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени и при применении ОД. Раннее отторжение струпа при термических ожогах обусловлено пролиферацией клеток эпидермиса и способствует «очищению» области ожога от некротических масс, формированию меньшей площади рубца при воздействии ОД. При развитии спаечного процесса в брюшной полости эпителизация и восстановление эпителиального барьера мезотелием не влияют на выраженность спаечного процесса. Однако существенное значение принадлежит макрофагам и активности фагоцитоза в ранний период эксперимента, а также пролиферации и склерозу сосудов в области спаек и при применении ОД.

Автором впервые показано, что экссудативные проявления воспалительной реакции, пролиферация и склероз сосудов, сохраняющаяся экспрессия провоспалительных цитокинов макрофагами, а также низкая фагоцитарная активность способствуют раннему и выраженному развитию фиброза в различных экспериментальных условиях. Воздействие ОД ведет к увеличению фагоцитарной активности макрофагов, ограничивает проявления экссудации, способствует более быстрому очищению области повреждения, пролиферации тонкостенных сосудов, что в конечном итоге приводит к улучшению трофических условий для регенераторного процесса.

М.А. Карповым впервые установлены 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 IL-1, FGF и TGF- β .

Обнаружено, что воздействие окисленного декстрана способствует изменению морфофункционального состояния макрофагов, характерных для M2 статуса (регуляторные) проявляющиеся экспрессией макрофагами медиаторов, увеличению фагоцитарной 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 объёме цитоплазмы у макрофагов крыс, получавших ОД.

Автором 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.

Таким образом, проведенное М.А. Карповым исследование, посвященное изучению механизмов развития и прогрессирования фиброза на тканевом, клеточном, ультраструктурном и молекулярном уровне, обладает значимостью для медицинской науки и практики, является актуальным.

Обоснованность научных положений и выводов

Обоснованность представленных в диссертационной работе М.А. Карпова научных положений и выводов основывается на корректно поставленных задачах, анализе большого научного материала, проведенного с использованием адекватно подобранных и современных методов исследования и грамотной статистической обработки полученных данных.

Объем исследованного материала достаточный: в экспериментальных исследованиях задействовано 338 лабораторных животных (в эксперименте с термическим ожогом 3Б степени было включено 143 крысы, при моделировании посттоксического фиброза и цирроза печени использованы 150 крыс, в экспериментальном исследовании формирования спаек брюшной полости использованы 45 крыс).

В диссертационной работе М.А. Карпова реализован комплексный подход к изучению клеточных и молекулярных механизмов фиброза на различных уровнях организации тканей и органов: макроскопическое исследование, микроскопическое гистологическое исследование с использованием световой микроскопии, иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование с использованием трансмиссионной электронной микроскопии.

Группы экспериментальных животных сформированы корректно, позволяют проводить сравнительную оценку полученных данных. Исследование проведено в разнообразные сроки, что позволило исследователю

оценить обнаруженные изменения в динамике и провести анализ клеточных и молекулярных механизмов развития фиброза как протяженного во времени процесса.

Гистологическое исследование с применением морфометрического метода произведено с использованием разнообразных гистологических окрасок (гематоксилин и эозин, по Ван Гизону, импрегнация нитратом серебра, PAS-реакция и др.), что позволило охарактеризовать и описать широкий спектр изменений, возникающих в тканях кожи, спаек брюшной полости и в печени.

В работе использован иммуногистохимический метод для получения обоснованных результатов исследования и выводов, касающихся молекулярных механизмов развития фиброза, регуляции этого процесса, особенностей реагирования клеток тканей и органов в процессе формирования рубцовых изменений тканей и органов в рамках заложенных работой экспериментальных условиях.

Электронная микроскопия проведена на достаточном объёме материала: 20 объектов, с которых получено и проанализировано более 700 электронограмм.

В работе задействованы различные методы статистического исследования, проведен корреляционный анализ некоторых показателей. В представленном диссертационном исследовании корректное применение различных показателей формирует совокупность убедительных результатов, отражающихся в выводах.

Таким образом, следует считать, что цель исследования достигнута, раскрыта проведенными исследованиями. Задачи сформулированы исходя из цели исследования, выводы соответствуют задачам. Содержание выводов логично связано с полученными результатами.

Полученные при исследовании данные обсуждаются с использованием современной литературы. Около 70% использованных в диссертационной работе литературных источников опубликованы в течение последних пяти лет.

Достоверность полученных данных, представленных в диссертационном исследовании, не вызывает сомнений. В диссертационной работе М.А. Карпов провел исследование на большом объеме материала, использовал современный методологический подход для планирования и проведения экспериментов, анализа и систематизации данных при проведении исследования, что является достоинством диссертации и позволило достичь значимых результатов. Полученные научные данные апробированы и доложены на научных и научно-практических конференциях различного уровня.

Личный вклад автора

Автором подобраны модели, составлены планы, выполнены эксперименты, сформулированы цели и задачи, проведен анализ литературы как отечественной, так и зарубежной, освещающей современное состояние проблемы фиброза. Автором самостоятельно выполнены все этапы работы, включающие подготовку образцов для исследования, статистическую обработку и интерпретацию полученных данных, опубликование результатов.

Значимость результатов для медицинской науки и практики

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 не только дополняют и углубляют представления о механизмах развития фиброза на молекулярном, внутриклеточном, клеточном и тканевом уровнях, но и являются исследованием применения окисленного декстрана при фиброзе различной этиологии как самостоятельного монокомпонентного универсального средства,

так и в составе в виде композиции лекарственных средств, оказывающего профилактический и лечебный эффект, препятствующий склерозу органов и тканей, развитию рубцовых осложнений в органах и тканях. Таким образом, полученные в результате исследования сведения о молекулярных и клеточных механизмах фиброза могут быть использованы для разработки средств лечения ожогов, спаек, фиброза и цирроза печени.

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, лаборатории ультраструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Структура и объём диссертации, оценка содержания и завершенности работы

Диссертация выполнена в классическом виде, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение полученных результатов), заключения и выводов, списка литературы. Объём диссертации составляет 331 страницу машинописного текста, содержит 42 таблицы и 112 рисунков (микрофотографий и графиков). Список литературы представлен 273 источниками в зарубежных и российских изданиях.

Автором проведен анализ полученных данных, результаты исследования систематизированы в главах, разделах, широко описаны и обсуждаются с использованием современных литературных источников. Научные положения и полученные выводы последовательны, логично связаны с содержанием текста работы, являются научно-обоснованными, соответствуют цели и задачам диссертации.

Во введении отражена актуальность проводимого исследования, степень разработанности выбранной темы, представлены цель и задачи, положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе, представленной обзором литературы, раскрываются современные взгляды на проблему фиброза, его механизмов развития. Глава структурирована в разделы, рассматривающие различные аспекты механизмов развития фиброза: инициация и поддержание процесса, регуляция образования коллагена при различной этиологии фиброза, участие макрофагов и фибробластов в развитии процесса, участие в накоплении коллагена и активности фибробластов клеток стромы и паренхимы органов, роль клеток? формирующих барьер с внешней средой.

Во второй главе, посвященной материалам и методам исследования, раскрывается описание проведенных экспериментов, подробно описаны методы моделирования изучаемых патологических процессов (термического ожога, фиброза и цирроза печени, спаек брюшной полости) у крыс. Эксперименты проведены в стандартных условиях для каждой выбранной модели, что позволило получить стандартизированный результат. Кроме того, описаны методы, при помощи которых проводилась подготовка и окрашивание гистологических срезов для световой микроскопии с применением иммуногистохимических методов и ряда специализированных окрасок, методов отбора образцов и их подготовки для проведения трансмиссионной электронной микроскопии. В главе описаны статистические методы

исследования, примененные для анализа полученных в ходе эксперимента данных.

В третьей главе описаны результаты собственных исследований. В виде подглав изложены результаты проведенных исследований по нескольким экспериментам (термический глубокий ожог кожи, фиброз и цирроз печени, спайки брюшной полости). В главе размещены иллюстрации в форме микрофотографий, электроннограмм и графиков, отражающих содержание и способствующие восприятию описанных в главе результатов исследования.

Глава 4 посвящена обсуждению результатов, полученных в ходе отдельных экспериментов. Глава содержит разделы, соответствующие направлениям выполненных экспериментов. При обсуждении результатов автор использует современные научные публикации.

В главе «Заключение», резюмирующее и объединяющее результаты выполненных экспериментов, являющихся предметом изучения в рамках представленной работы. Здесь изложены полученные в диссертационной работе собственные результаты в разрезе общего процесса фиброза, имеющего отличительные черты в зависимости от этиологии и топографии фиброза, общие звенья в морфогенезе и патогенезе фиброза, указывающие на неспецифичность процесса и роль в развитии компенсаторно-приспособительных реакций в органах и тканях. По полученным результатам сформировано заключение с приведенной схемой развития фиброза, основанная на собственных данных.

Сформулированные выводы логично вытекают из четко поставленных цели и задач.

Приведен список сокращений, облегчающих восприятие текста диссертации. Список литературы структурирован, содержит преимущественно современные отечественные и зарубежные источники.

Диссертацию дополняют приложения, представленные таблицами к графикам, содержащимся в 3-й главе текста диссертации, что позволяет

ознакомиться с конкретными величинами показателей, полученными в ходе проведенного исследования, способствует восприятию содержания диссертации.

Цель поставленная М.А. Карповым в диссертационном исследовании достигнута, задачи выполнены, отражены в представленных выводах. Выводы обосновывают сформулированные научные положения. Таким образом, диссертационное исследование является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне.

Практические рекомендации логично вытекают из полученных выводов.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ, 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 К1, 5 публикаций в журналах категории К2, в том числе 6 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science, что соответствует требованиям к публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора наук, предусмотренных п. 11 и п. 13 Положения о присуждении ученых степеней Постановления Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями п.25 Положения о присуждении ученых степеней. Структура автореферата полностью отражает содержание диссертации, включая все основные положения и выводы.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа М.А. Карпова соответствует паспортам научных специальностей: 3.3.2. Патологическая анатомия, а именно п. 2 – «Научный

анализ патологических процессов, лежащих в основе заболевания, прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов», п. 3 – «Исследование структурных, молекулярно-клеточных и молекулярно-генетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ персонализированной патогенетической терапии и профилактики») и паспорту научной специальности 1.5.22. Клеточная биология, а именно п. 2 – «Клеточные компартменты и органеллы, их пространственная и структурно-функциональная организация. Цитоплазма, ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, эндосомы, лизосомы и лизосомоподобные органеллы, пероксисомы, хлоропласты и другие пластиды, плазматическая мембрана, клеточная оболочка. Рибосомы. Протеасомы. Немембранные органеллы и структуры, формируемые внутренне неупорядоченными белками и РНК», п. 13 – «Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели» и п. 16 «Особенности биологии трансформированных клеток. Механизмы трансформации».

Замечания по работе

Диссертационная работа М.А. Карпова заслуживает высокой оценки. Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению работы не имеется. Вместе с тем, следует обратить внимание автора на необходимость повышения качества представляемых микрофотографий, что, однако, не влияет на общее понимание обнаруженных и демонстрируемых феноменов.

В ходе анализа диссертационной работы возникли следующие дискуссионные вопросы:

- в Вашей диссертационной работе было проведено комплексное исследование структурно-молекулярных механизмов фиброза различной этиологии. Дайте, пожалуйста, объяснение выбору (предпочтению) именно этих трех типов фиброзирования в условиях эксперимента: термический ожог 3Б степени кожи, посттоксический фиброз и цирроз печени и формирования спаек брюшной полости. Почему не изучался, например, постинфарктный кардиосклероз – исход инфаркта миокарда, относящегося к социально-значимым заболеваниям? Поясните, пожалуйста.

- Вами установлено, что превалирование макрофагов функционального фенотипа M2 сопровождается повышением фагоцитарной активности. Вместе с тем, из литературы известно, что фагоцитарным свойством характеризуются прежде всего макрофаги M1. Каким образом Вы трактуете обнаруженную закономерность?

Заключение

Диссертация Карпова Михаила Александровича «Структурно-молекулярные механизмы фиброза различной этиологии и при воздействии окисленным декстраном в эксперименте», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия, 1.5.22. Клеточная биология является самостоятельной и законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании результатов проведенных автором исследований содержится решение актуальной научно-практической проблемы: изучены структурно-молекулярные механизмы развития фиброза различной этиологии, молекулярно-клеточные механизмы влияния окисленного декстрана на процесс фиброза в различных экспериментальных условиях. Проведенное исследование обладает существенным фундаментальным и прикладным значением для развития патологической анатомии и клеточной биологии.

Диссертационная работа Карпова Михаила Александровича соответствует требованиям Постановления Правительства РФ от 24.09.2013

