

## **Отзыв**

официального оппонента д.м.н., профессора Морозова Виталия Валерьевича на диссертацию 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

### **Актуальность избранной темы.**

Диссертация Карпова М.А. посвящена изучению актуальной проблемы современной медицины и биологии – развитию фиброза различной этиологии и локализации. Недостаточная изученность молекулярных аспектов формирования фиброза и структурных преобразований в органах при термическом ожоге, циррозе печени и формировании спаек брюшной полости отражается в отсутствии эффективных методов их лечения и профилактики, что определяет актуальность поиска средств, препятствующих формированию грубых рубцовых проявлений фиброза. Было проведено исследование молекулярных механизмов воздействия окисленного декстрана на процесс фиброгенеза.

Процесс фиброза связывают с повреждением клеток и структур органов. Развивающаяся вслед за повреждением воспалительная реакция предполагает дальнейший фагоцитоз поврежденных структур и регенерацию. Таким образом, взаимодействие фагоцитов и фибробластов, их активность и функциональное состояние способны влиять на развитие патологического изучаемого в представленной работе процесса. Наибольшее внимание отводят макрофагам, которые способны продуцировать трансформирующий фактор роста бета и ряд других медиаторов, влияющих на морфофункциональное состояние фибробластов, синтез компонентов

внеклеточного матрикса. Фиброз нередко является прогрессирующим процессом, связанным с избыточным накоплением коллагенов. Важной частью развития этого патологического процесса является взаимодействие матриксных металлопротеиназ различных типов и их ингибиторов, регулирующих накопление коллагена. Изменения во внеклеточном матриксе, механизмы регуляции синтеза и деградации коллагена, органные и этиологические особенности при фиброзе в настоящее время изучены недостаточно.

Важным моментом, определяющим актуальность исследования Карпова М.А. является изучение аспектов регуляции трансформирующего фактора роста бета зависимых сигнальных путей в развитии фиброза печени и спаек брюшной полости. К таковым относят канонический и неканонические сигнальные пути, регулирующие развитие фиброза (Smad и MAPK). Известно, что различные сигнальные пути не только регулируют изучаемый в представленном диссертационном исследовании патологический процесс, но и клеточную пролиферацию, трансформацию и апоптоз клеток, регулирующих фиброз, структурных элементов тканей органов.

Разнообразие возможных механизмов развития фиброза, вариабельность проявлений при различной этиологии и локализации фиброза, способность разностороннего влияния факторов, регулирующих фиброз, на процесс избыточного накопления компонентов внеклеточного матрикса, активность и состояние макрофагов, фибробластов, клеток тканей органов, формируют комплексный подход к пониманию процессов фиброза в настоящее время. Проблема недостаточной изученности различных этапов развития фиброза, органных особенностей и общих закономерностей развития этого патологического процесса рассматривается в представленной диссертационной работе.

Исследуемые в диссертации Карпова М.А. молекулярные и клеточные



аспекты влияния окисленного декстрана на процесс фиброза являются основой для разработки средств, направленных на предотвращение и коррекцию фиброза в исходе разнообразных патологических процессов.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность представленных в диссертационной работе Карпова М.А научных положений и выводов основывается на корректно поставленных задачах, анализе большого количества экспериментального материала: в эксперименте с термическим ожогом 3Б степени было использовано 143 крысы, при моделировании посттоксического фиброза и цирроза печени – 150 крыс, в экспериментальном спаечном процессе брюшной полости – 45 животных. Изготовлено и проанализировано по 338 микропрепаратов с использованием окраски гематоксилином и эозином, и дополнительных окрасок. В эксперименте, нацеленном на изучение фиброза и цирроза печени, спаек брюшной полости изготовлены и исследованы дополнительные срезы иммуногистохимическим методом с использованием широкой панели 14 антител (ИЛ-1, ИЛ-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , FGF, P53, Collagen 1, MMP-9, TIMP-1, Vimentin, CK-19, E-Cadherin, SNAIL/SLUG).

Исследование на уровне световой и электронной микроскопии проведено с применением методов морфометрии. Использовано современное программное обеспечение для анализа микрофотографий и морфометрии. Трансмиссионная электронная микроскопия применена при исследовании спаек брюшной полости на достаточном объёме материала (20 объектов, с которых получено 714 электронограмм).

В диссертационном исследовании задействованы адекватные методы статистической обработки данных: критерий Колмагорова-Смирнова, параметрические и непараметрические методы (критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, критерий Фишера), корреляционный анализ по методу Пирсона.

### **Достоверность и новизна полученных автором результатов.**

В работе приведены исследования механизмов развития фиброза с точки зрения компенсаторно-приспособительного процесса, рассматривается его роль в формировании «барьера» между внутренней и внешней средой на различных уровнях, выявлены особенности и закономерности развития фиброза в различной локализации и этиологии. Исследование содержит оценку и выявляет механизмы противофибротической эффективности окисленного декстрана в органах и тканях при выбранных экспериментальных условиях.

Исследование проведено на большом объёме экспериментального материала, результаты обсуждаются с использованием современной научной литературы. Группы из животных в проводимых экспериментах распределены логично и достаточны по объёму для получения необходимых данных адекватно поставленной цели и задачам работы. Применяемые в работе методики исследования современные. Методы статистической обработки полученных данных адекватны и позволили провести корректный анализ данных. Выводы в представленной работе соответствуют цели работы и поставленным задачам.

Впервые продемонстрирована связь проявлений эпителиально-мезенхимального перехода в фибробластах, эндотелиальных клетках сосудов, эпителии желчных протоков печени, мезотелии брюшины с фиброзом в различных экспериментальных условиях.

Выявлены особенности реагирования различных типов клеток в процессе фиброзирования печени, формирования рубца после термического ожога кожи, формирования спаек брюшной полости в условиях применения ОД, заключающиеся в участии паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени при циррозе в формировании ложных долек путем эпителиально-мезенхимального перехода, влиянии ОД на раннее отторжение струпа и формирование меньшей площади рубца, зависимости фиброза от



активности фагоцитоза макрофагами.

Впервые показано, что раннее развитие выраженного фиброза связано с экссудативными проявлениями воспалительной реакции, пролиферацией и склерозом сосудов, высокой экспрессией провоспалительных цитокинов макрофагами и их низкой фагоцитозной активностью в различных экспериментальных условиях. Воздействие ОД ведет более быстрому очищению области повреждения, пролиферации более тонкостенных сосудов, 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 при повышенной экспрессии FGF и TGF- $\beta$ , но сохранении баланса между матриксными металлопротеиназами и их ингибиторами.

Впервые исследованы особенности синтеза и деградации коллагена при воздействии ОД, заключающиеся в меньшей коллагенпродуцирующей активности фибробластов, уменьшении их количества путем апоптоза, меньшей экспрессии профиброгенных факторов (ИЛ-1, FGF и TGF- $\beta$ ) в различных экспериментальных условиях (формировании посттоксического цирроза печени и спайках брюшной полости).

Впервые показано, что воздействие окисленного декстрана способствует изменению морфофункционального состояния макрофагов, экспрессией медиаторов, характерных для M2 статуса 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 М2 поляризации макрофагов процессы фагоцитоза более активные, чем при экспрессии признаков М1 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.

Выводы опираются на результаты проведенного разностороннего исследования фиброза. Проведенный анализ литературы позволяет заключить о том, что данные в представленном диссертационном исследовании получены впервые. Таким образом, достоверность и новизна полученных данных не вызывает сомнений.

#### **Оценка теоретической и практической значимости результатов исследования**

Сформулированные практические рекомендации основываются на результатах проведенного исследования и полученных выводах. Полученные результаты исследования влияния окисленного декстрана на механизмы фиброобразования (регуляцию фиброза, синтез и сборку коллагена) могут рассматриваться, как этап доклинического исследования применения окисленного декстрана при фиброзе различной этиологии. Полученные в результате исследования сведения демонстрируют возможность применения окисленного декстрана для получения профилактического противофибротического эффекта и коррекции формирующегося фиброза.

Полученные в результате исследования данные демонстрируют возможность применения окисленного декстрана в составе композиции с



другими лекарственными средствами. При экспериментальном циррозе печени продемонстрирована лечебная эффективность окисленного декстрана.

На основании полученных в ходе исследования результатов получен патент на изобретение RU 2789693 C1 (опубликовано 07.02.2023) «Средство для снижения патоморфологических проявлений посттоксического цирроза печени и его осложнений».

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность кафедры патологической анатомии, кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, а так же в исследовательскую деятельность лаборатории ультраструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

### **Оценка структуры и содержания работы**

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 331 странице машинописного текста. Список литературы представлен 273 источниками в иностранных и российских изданиях.

Диссертация структурирована, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, глав результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, списка литературы. Диссертация содержит 42 таблицы и 112 иллюстраций (диаграммы и качественные микрофотографии)

Главам предшествует введение, отражающее актуальность проводимого исследования, степень разработанности избранной исследователем темы, цель и задачи, научные положения, выносимые на защиту, новизну и практическую значимость работы.

Первая глава представлена литературным обзором, содержит разделы, посвященные обзору современных представлений и сведений о развитии

фиброза, участия клеток органов и тканей в изучаемом патологическом процессе, молекулярных и генетических аспектах его развития. Кроме того, приводится краткий обзор особенностей формирования фиброза в коже, печени, при формировании спаек брюшной полости.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования. Описан процесс моделирования исследуемых патологических процессов. Объем исследованного материала является достаточным, поскольку в работе использовано более 300 лабораторных животных. В главе описаны методы постановки эксперимента. Исследование проведено в широком временном диапазоне, позволяющем оценить динамику и механизмы развития длительно развивающегося фиброза. Кроме того, в главе описаны методы гистологической обработки экспериментального материала, указаны методы проведения дополнительных окрасок, содержатся описания подготовки срезов для иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования. В конце второй главы содержится описание примененных методов статистической обработки и анализа данных.

Третья глава представлена подглавами и разделами, содержащими описание результатов проведенных экспериментов: заживление глубокого термического ожога, фиброз и цирроз печени, формирование спаек брюшной полости. В главе 3 приведено описание полученных результатов: макро- и микроскопическое описание обнаруженных патологических изменений, проявлений фиброза в исследуемых в рамках диссертационной работы органах и тканях, спайках брюшной полости. В описание полученных результатов внедрены данные, полученные при использовании дополнительных окрасок (по Ван Гизону, импрегнацией сернокислым серебром, азуром 2 с докрашиванием реактивом Шиффа), и применении иммуногистохимического метода. В разделе, посвященном результатам исследования спаек брюшной полости, содержится описание результатов ультраструктурного исследования, отражающих особенности структуры



макрофагов и фибробластов, морфологические отличия этих клеток при воздействии окисленным декстраном.

В четвертой главе отражено обсуждение полученных результатов. В ходе обсуждения автор ссылается на современные литературные источники, большую часть которых цитирует в первой главе «Обзор литературы». Глава подразделяется соответственно проведенным экспериментальным исследованиям заживления кожи при глубоком термическом ожоге, развития фиброза и цирроза печени, формирования спаек брюшной полости. В 4-й главе обсуждаются и обосновываются особенности развития фиброза в исследуемых органах и тканях в зависимости от выбранной экспериментальной модели, уделяется внимание ряду общих изменений, которые так же обсуждаются.

В заключении, содержатся обобщающие результаты проведенного исследования в различных экспериментальных условиях, выделяются общие морфо- и патогенетические проявления в механизмах развития фиброза и регенерации поврежденных структур органов и тканей, приведена схема развития фиброза, основанная на результатах проведенного диссертационного исследования. Далее следуют выводы, логично вытекающие из результатов, описанных и обсужденных в главах. В диссертации содержится список сокращений приложение, представленное таблицами к диаграммам.

Цель диссертации достигнута, раскрывается результатами проведенного исследования. Достоверность полученных данных, представленных в диссертационном исследовании, не вызывает сомнений. Задачи соответствуют цели исследования и полученным выводам. В работе применяется современный методологический подход в планировании и проведении экспериментов, анализе и систематизации данных, полученных на достаточном объеме материала. Результаты широко описаны и обосновываются при обсуждении, логично отражены в сформулированных

выводах. Научные результаты апробированы, доложены на научных и научно-практических конференциях различного уровня.

### **Структура и содержание автореферата**

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

### **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 K1, 5 публикаций в журналах категории K2, в том числе 6 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science. Список опубликованных по материалам диссертации 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 24.09.2013г.

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертации нет. Вместе с тем, в порядке научной дискуссии и обсуждения работы, имеются вопросы:

1. Считаете ли Вы универсальными механизмы влияния окисленного декстрана на формирование фиброза при локализации в различных органах при воздействии различных этиологических факторов?

2. При поставленной задаче локальной коррекции процессов



фиброзирования какой способ использования окисленного декстрана представляется Вам предпочтительным?

3. В перспективе в каких случаях применение окисленного декстрана в профилактических целях было бы оправданным?

4. Какие тонкие механизмы регуляции фиброза с помощью окисленного декстрана по Вашему мнению нуждаются в особенно тщательном изучении?

5. Уточните - какие именно полученные Вами данные говорят о возможности применения окисленного декстрана в композиции с другими лекарственными средствами?

### **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, обладающей существенным фундаментальным и прикладным значением для развития патологической анатомии и клеточной биологии, содержащей решение актуальной научной проблемы: исследованы молекулярные механизмы развития фиброза, особенности реакции клеток органов и тканей на развитие фиброза, участие фиброза в процессе компенсации и приспособления, изучены молекулярные и клеточные аспекты воздействия окисленного декстрана на процесс фиброза при заживлении и рубцевании кожи после термического ожога, фиброзе и циррозе печени, формировании спаек брюшной полости.

Диссертационная работа Карпова Михаила Александровича соответствует требованиям Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, пункту 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного

постановлением Правительства Российской Федерации (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г. и № 1382 от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а Карпов Михаил Александрович заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, профессор

14.00.16 (патологическая физиология)

заведующий лаборатории экспериментальной

и клинической медицины

ФГБУН Институт химической биологии

и фундаментальной медицины СО РАН

630090, г. Новосибирск,

проспект Академика Лаврентьева, 8

(383) 363-51-50

niboch@lbio.ru

26-01-2026 г.

Виталий Валерьевич Морозов

Подпись доктора медицинских наук, профессора Виталия Валерьевича

Морозова заверяю:

Ученый секретарь ФГБУН Институт химической биологии

и фундаментальной медицины СО РАН

к.б.н.

Логашенко Евгения Борисовна.

Печать организации

