	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация


**Аннотация диссертационной работы Токушевой Алии Нурлановны
на тему «Молекулярно-биологические особенности течения асептического
воспаления, ассоциированного с экологенной иммунодепрессией»
представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по
специальности 6D110100 – «Медицина»**

Актуальность темы исследования

Среди медико-биологических проблем изучению патогенетических основ воспаления придается особое значение. Это обусловлено развитием при воспалении дизрегуляторных сдвигов в многочисленных функциональных системах, причем, как в системах, выполняющих интегративную регулируемую роль (нервной, эндокринной, иммунной), так и на местном, клеточном уровне, что проявляется сложной совокупностью перестроек в «динамическом гомеостазе» организма, следствием которых может стать формирование патологических состояний, характеризующихся выраженным ограничением функциональных возможностей организма. Контроль и регуляция всего комплекса вышеупомянутых реакций осуществляется как за счет отдельных узкоспецифичных и относительно автономных механизмов, так и посредством системных регуляторных механизмов, способных оказывать влияние на целый ряд различных органов и систем организма. В условиях воздействия изменяющихся факторов среды обитания человека (Aalami AH, Hoseinzadeh M, Hosseini Manesh P, Jiryai Sharahi A, et al., 2022; Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, et al., 2021; Muhammad Imtiaz, Muhammad Shahid Rizwan, Shuanglian Xiong, et al., 2015) состояние иммунной системы организма служит адекватным показателем надежности адаптации, т.к. иммунологические механизмы тонко реагируют на неблагоприятные изменения в окружающей среде (Fortoul T. I., Rojas-Lemus M., Rodriguez-Lara V., Gonzalez-Villalva A., et al., 2014).

Общепризнано, что физиологическая функция Т регуляторных клеток важна для сдерживания фатальных аутоиммунных и воспалительных реакций. Необходимо определить нераспознанные пути, регулирующие развитие и функционирование Т регуляторных клеток. Аналогичным образом, мы также должны помнить, что соответствующие исследования не могут рассматриваться независимо. Скорее, они взаимодействуют друг с другом.


С позиции определения механизмов иммунологической реактивности перспективным представляется изучение Т регуляторных клеток, роль которых до последнего времени связывали с дисфункцией иммунной системы. Общепризнано, что физиологически Т регуляторные клетки необходимы для сдерживания агрессивных аутоиммунных и воспалительных реакций, среди которых CD4 + CD25 + Foxp3 + являются наиболее физиологически значимыми. Между тем, следует принять во внимание тот факт, что регуляторные клетки не действуют изолированно, а скорее имеют множество

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

связей друг с другом, создавая сложные манипуляции с иммунной системой (Zhang Xu, Xue Jiang, Xueyu Dai and Bing, 2022; Hai Zhao, Xuelian Liao, Yan Kang, 2017). Однако, еще необходимо определить нераспознанные пути, регулирующие развитие и функционирование Т регуляторных клеток (Merghoub T, Wolchok JD., 2017, Ali N, Zirak B, Rodriguez RS, et al., 2017, Arpaia N, Green JA, Molledo B, et al., 2015).

Известно, что прогрессирование иммунодепрессии часто сопровождается снижением количества и функциональной активности Т-лимфоцитов (Zhan Xu, Xue Jiang, Xueyu Dai and Bin Li, 2022; Bold T. D., 2011). Между тем, одним из основных звеньев патогенеза воспаления является лимфоцитарный дисбаланс (Th2/Th1) (Zhu J., 2015; Wang LQ, Lin ZZ, Zhang HX, et al., 2014, Sidler C, Wóycicki R, Pnytskyu Y, et al., 2013, Stojić-Vukanić Z, Bufan B, Arsenović-Ranin N, et al., 2013). Причины Т-клеточной анергии при экологической иммунодепрессии до настоящего времени остаются непонятными. Предполагается, что CD4+CD25+ eT регуляторных клеток подавляют пролиферацию и активацию других субпопуляций Т-лимфоцитов. Считается, что это механизм опосредован через снижение продукции ИЛ-2 Т-клетками, который является следствием межклеточного взаимодействия Т регуляторных клеток с антиген-презентирующей клеткой (Трошина Е.А., Сенюшкина Е.С., 2019; Торгашина А.В., Соловьев С.К., 2018; Shevyrev Daniil, Tereshchenko Valeriy, 2019). Однако механизмы накопления Т регуляторных клеток при воспалительных состояниях, развившихся на фоне иммунодепрессии, не изучены и до настоящего времени такие сведения в литературе отсутствовали.

Наряду с изучением системных изменений в организме при воспалении (уровней цитокинов, лимфоцитов, макрофагов, поврежденных структур), необходимо уделять особое внимание тканеспецифичным особенностям экспрессии генов. В частности, изучение влияния экспрессии генов на функционирование отдельных звеньев иммунитета у лиц, проживающих в экологически неблагоприятных регионах, практически не изучено. Наиболее перспективным представляется подход, основанный на изучении транскриптома тканеспецифичных клеток. Изучение транскриптома позволит выявить гены, ответственные за различную степень активации иммунной системы (Ding Wan, Jin Feng, Peng Wang, et al., 2022, Lin Wang, Dominik Aschenbrenner, Zhiyang Zeng, et al., 2021; Ena Oreskovic, Emily C. Wheeler, Kristen E. Mengwasser, et al., 2022). Для установления причинно-следственных связей между экспрессией мРНК соответствующих генов и изменением активации отдельных звеньев иммунитета существенно изучение экспрессии генов на уровне функциональной активности всего генома, а не только отдельных групп генов. Раскрытие механизмов, определяющих эти особенности, станет прорывом в понимании патогенеза заболеваний, связанных с экологией, иммунопатологией и воспалением, позволит

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

разработать принципиально новые подходы к персонифицированной диагностике, профилактике и лечению экологенных иммунопатологий.

Поэтому поиски в этом направлении не могут быть замкнуты пределами одной только иммунной системы т.к. в патогенезе иммунных расстройств с развитием вторичных иммунодефицитных состояний немаловажную роль играет дисбаланс экспрессии генов-регуляторов, ответственных за врожденный и адаптивный иммунитет, в связи с чем возникают трудности в коррекции выявленных нарушений и подборе правильной лекарственной терапии.

Все вышеизложенное дало нам основание изучить особенности течения асептического воспаления, усугубленного предварительной интоксикацией соединениями ванадия и хрома, а также применить вновь синтезированное соединение в качестве патогенетической коррекции выявленных нарушений.

Цель настоящего исследования: изучить молекулярно-клеточные механизмы формирования иммунного ответа при асептическом воспалении в условиях интоксикации организма солями хрома и ванадия для создания новых методов патогенетической коррекции выявленных нарушений.


Задачи:

1. Изучить влияние хрома и ванадия на дифференциальную экспрессию тканеспецифичных генов, ассоциированных с манифестацией воспаления;
2. Оценить динамику изменений основных иммунологических показателей в периферической крови и селезенке экспериментальных животных с асептическим воспалением;
3. Определить наиболее информативные иммунологические показатели, отражающие ключевые механизмы регуляции воспаления;
4. Провести экспериментальную оценку корректирующего воздействия МХФ18 на течение асептического воспаления у опытных крыс по результатам количественной оценки селезеночных субклеточных популяций;
5. На основе полученного массива данных методом дискриминантного анализа установить отличительные особенности течения воспаления в экспериментальных группах;
6. Дать патофизиологическую оценку закономерности регуляции воспаления, вызванного после двухнедельного воздействия хрома и ванадия.

Научная новизна работы

Соли тяжелых металлов вызывают нарушение иммунологических механизмов регуляции воспалительного процесса. Впервые установлена систематическая разница в экспрессии генов (тимус, селезенка, костный мозг, брыжеечные лимфатические узлы и кровь) в исследованных группах.

У животных с асептическим воспалением, вызванным на фоне предварительной затравки ванадатом аммония и бихроматом калия, впервые

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

выявлены 20 генов ответственных за регуляцию иммунного ответа, в том числе экстраклеточных сигнальных белков (цитокинов), взаимодействующих с клетками иммунной системы, дифференцировку и пролиферацию клеточных компонентов иммунной системы, адаптивный иммунитет. Благодаря определению соотношения регулируемых и нерегулируемых генов, были установлены предпосылки для снижения регуляции воспалительного ответа, приводящего к депрессии иммунной системы за счет угнетения эффекторного и индуцирования регуляторного звеньев иммунитета.


Установлено, что под влиянием солей хрома и ванадия течение асептического воспаления усугублялось прогрессирующим снижением клеточной численности селезенки экспериментальных животных, угнетением активности IFN γ и IL-4 на фоне снижения дифференцировки эффекторных Т-лимфоцитов, что свидетельствовало о развитии Т-клеточной анергии.

Впервые установлено нарушение регуляции асептического воспаления, вызванного на фоне предварительной затравки ванадием и хромом, за счет индуцирования дифференцировки селезеночных субклеточных популяций с фенотипами CD4+CD25+, CD4+CD25+FoxP3+, CD4+FoxP3+CTLA+.

Впервые установлено, что МХФ18 оказывает иммуномодулирующую эффективность на показатели неспецифической резистентности и иммунологической реактивности. Впервые установлено, что в селезенке опытных крыс с асептическим воспалением, вызванном на фоне предварительной затравки ванадатом аммония и бихроматом калия, МХФ18 препятствуют накоплению CD4+FoxP3+ и CD4+FoxP3+CTLA4+ и предупреждает внутриклеточное накопление FoxP3+ на всем протяжении эксперимента.

Практическая и теоретическая значимость.

1. Решение проблемы эпигенетической регуляции развития патологических состояний в организме является чрезвычайно актуальной как для фундаментальной науки, так и, в перспективе, для практического применения. Работа направлена на решение фундаментальной проблемы геномики – установлению молекулярных механизмов эпигенетической регуляции тканеспецифической экспрессии генов, выявлению влияния соединений тяжелых металлов на вариабельность генома органов иммуногенеза и взаимного регуляторного влияния важных звеньев этих механизмов на течение воспалительного процесса.
2. Значимость нашего поискового исследования определяется междисциплинарным подходом. Оригинальность предлагаемого подхода заключается в комплексном исследовании иммунофенотипирования Т-регуляторных клеток, показателей адаптивного и врожденного звеньев иммунитета с секвенированием нового поколения. Полученные результаты соответствуют мировому уровню исследований и в дальнейшем могут быть использованы для создания алгоритмов, предсказывающих характер течения воспалительных заболеваний и новых терапевтических средств с учетом экологически неблагоприятных условий проживания населения.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

3. Результаты исследования существенно дополняют представления о механизмах патогенеза воспалительных процессов данными об участии в них экспрессии генов. Полученные в ходе исследования новые знания позволят рекомендовать необходимый дифференцированный подход к противовоспалительной терапии с учётом фазы, стадии и степени выраженности процесса, в том числе с учетом активации отдельных генов – индукторов на ранних этапах развития воспаления, что представляет огромное социальное и экономическое значение.

Методы исследования

Доклинические исследования на животных проводились согласно «Правилам проведения доклинических исследований, медико-биологических экспериментов и клинических испытаний в Республике Казахстан» утвержденным приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 25 июля 2007 года №442 в соответствии с Госстандартом Республики Казахстан «Надлежащая лабораторная практика. Основные положения», утвержденным приказом Министра индустрии и торговли РК от 29 декабря 2006 года № 575 и № 557. В исследовании учитывались рекомендации, изложенные в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» /под ред. Р.У. Хабриева, Москва, 2005 г. При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях», Страсбург 18 марта 1986 г.

Все исследования проводились после процедуры рассмотрения и заключения ЛЭК КазНМУ (заявка, регистрационный №166, протокол № 3 от 01.04.2015).

Лабораторные методы

Гематологические исследования. Количество форменных элементов крови определяли на гематологическом анализаторе (Sysmex 1000i, Япония, 2010г.) общий анализ крови, содержание гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов; цитология костного мозга.


Иммунологические исследования. Проводились в лаборатории Института молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина согласно Договора №34 от 07.07.2015 г. с «Институтом молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан».

Транскриптомный анализ. Проводился в лаборатории коллективного пользования НИИФиПМ им. Б.А. Атчабарова для выделения образцов мРНК и дальнейшего секвенирования.

Биоинформатический анализ. Проведен на основании Договора №3 от 25 октября 2016 г. с Институтом Биоинформатики г. Санкт-Петербург (РФ).

Статистическая обработка результатов исследования

Полученные в ходе экспериментов данные статистически обработаны при помощи программы STATISTIKA 6,0, SPSS версия 15. Количественные показатели представлены в виде М (СО, где М – среднее значение, а СО – стандартное отклонение.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

Для проверки совпадения распределения исследуемых количественных показателей с нормальным в группах использован критерий согласия Колмогорова-Смирнова. Если закон распределения исследуемых числовых показателей отличался от нормального, то значимость различий была проверена при помощи U-критерия Манна-Уитни (в случае парных независимых совокупностей), критерия Краскалла-Уоллиса (в случае множественных независимых совокупностей). Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Для определения существования функциональных связей между параметрами был вычислен коэффициент корреляции R Спирмана, который считался значимым при $p < 0,05$. Анализ геномных данных проводился с помощью R, пакетов DESeq2 и Reactome.

Дискриминантный анализ проведен с использованием критерия Хи-квадрат Пирсона с последовательным включением и исключением независимых переменных. Проведен канонический анализ с вычислением дискриминантных функций и использованием стандартизованных коэффициентов. Используются коэффициенты факторной структуры для вычисления корреляции между переменными дискриминирующих функций.

Объект исследования

Исследования выполнены на 220 беспородных крысах самцах средней массой 180-240 г.


Экспериментальные исследования проводили по следующим сериям:

- 1 серия – половозрелые крысы (контроль);
- 2 серия – половозрелые крысы с асептическим воспалением;
- 3 серия – половозрелые крысы + ванадат аммония (ВА) и бихромат калия (БК);
- 4 серия – половозрелые крысы+ металлы+ асептическое воспаление (опыт);
- 5 серия - половозрелые крысы с асептическим воспалением + МХФ18;
- 6 серия - половозрелые крысы с асептическим воспалением + ПО;
- 7 серия - опыт + МХФ18;
- 8 серия - опыт + ПО;

Животных 2-8 серий делили по 3 подгруппы по 10 крыс в каждой.

Асептическое воспаление моделировали путем подкожного введения в межлопаточную область 0,3 мл скипидара на вазелиновом масле. Перед этим у крыс в межлопаточной области выстригали шерсть и подкожно вводили 0,5 мл воздуха.

Комбинированную затравку ванадатом аммония и бихроматом калия производили ежедневно (кроме воскресенья) в течение двух недель из расчета по 5 мг/кг м.т. перорально при помощи металлического зонда. Сразу после двухнедельной затравки ВА и БК у крыс второй и четвертой серий эксперимента моделировали асептическое воспаление. Забой всех серий эксперимента производили через 1, 7 и 14 суток от начала моделирования асептического воспаления. После забоя у всех крыс забирали тимус, селезенку, брыжеечные лимфатические узлы, костный мозг, кровь для проведения иммунологических, гематологических и геномных исследований. Животных до и после эксперимента взвешивали. Забранные органы опытных животных до транспортировки в

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

лабораторию Института молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина и геномную лабораторию НИИ ФиПМ им. Б.А. Атчабарова предварительно взвешивали. В журнале протоколов регистрации эксперимента производили запись всех полученных параметров, а также визуальные показатели состояния внутренних органов опытных крыс. Кроме того, проводили фото- и видеосъемку эксперимента.


Основные положения, выносимые на защиту

1. Асептическое воспаление, вызванное в условиях интоксикации метаванадатом аммония и бихроматом калия, вызывает нарушение регуляции тканеспецифичных генов, что прогнозирует неблагоприятный исход воспалительного процесса.
2. Ванадий и хром осложняют течение экспериментального воспаления развитием анемии, дефицитом лейкоцитарного звена и цитокиновой регуляции, а также нарушением дифференцировки Т-и В-клеточного иммунитета.
3. Ключевые механизмы ванадий- и хроминдуцированной иммунодепрессии ассоциированы с нарушением клеточного и гуморального иммунитета.
4. МХФ18 обладает иммуномодулирующим влиянием и при применении избирательно нивелируют иммунотоксические проявления соединений ванадия и хрома, о чем свидетельствуют гематологические и иммунологические показатели крови и селезенки экспериментальных животных с асептическим воспалением.
5. Эффективность МХФ18 в разные сроки экспериментального исследования избирательно сопоставима с полиоксидонием.

Результаты исследования:

Дифференциальную экспрессию генов определяли в пакете DESeq2.


Было обработано 9 сравнений и только тимус вызывал устойчивые различия экспрессии на генном уровне. В результате проведенного биоинформатического анализа были идентифицированы 20 генов. Анализ отдельно для upregulated показал 10 значительно обогащенных наборов генов из категории GOBP. Так, 11875 регулируемых генов были обогащены для 10 категорий GOBP (FDR < 0,05), включая процесс клеточного ответа на стресс (1565 генов, из которых 140 генов перекрываются с этой категорией, FDR=1,07E-44). 1893 регулируемых гена были обогащены для 3 канонических путей (клеточный цикл, иммунная система и адаптивная иммунная система) (237 перекрытий генов, FDR= 5,17E-24). На основе проведенного анализа генных модулей с использованием базы данных MSigDB и анализа генного обогащения (GSEA) было установлено, что соединения металлов вызывают нарушения сигнальных и метаболических путей. Так, металлы активируют гены, вовлеченные в клеточный цикл, в сравниваемых группах: АВ против Me+AB и АВ против Me. Проведенными исследованиями были обнаружены дифференциально экспрессирующиеся гены со средней силой экспрессии (up - down), которые были дифференциально регулируются в тимусе. Были идентифицированы 20 генов: Tnfrsf14, Cr2, Sp3, Stag2, H3f3a, Dpp4, Anp32a,

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

Prpf40a, Hsp90aa1, Tardbp, Dnaja1, Eef2k, Mfge8, Macf1, Arhgef11, Txndc5, Srrm2, Syk, Clu, Cd19.

Результаты исследований гематологического анализа крови у крыс, получавших соли ванадата аммония и бихромата калия в течение двух недель показали, что, через 7 суток в группе АВ наблюдали статистически значимое увеличение общих лейкоцитов на 69,7% по сравнению с контролем, чему способствовало увеличение нейтрофилов (абс) и лимфоцитов (абс) на 153,3% и 59,1% соответственно. Через 14 суток эти показатели оставались выше контрольного уровня. Отличительная особенность в картине крови группы Ме+АВ заключалась в более низких показателях лейкоцитарной фракции. Так, значения общих лейкоцитов оставались на уровне контроля, тогда как абсолютное значение лимфоцитов через 7 суток оказалось ниже АВ на 58,1% ($p=0,0076$) и на 29,7% ($p=0,0245$) через 14 суток. В сравнительной характеристике нейтрофильной фракции крови для групп АВ и Ме+АВ отмечалась следующая тенденция: содержание нейтрофилов в группе Ме+АВ, лишь на 60% и 86,7% статистически значимо превысив значения контроля, так и не достигало значений АВ. Снижение моноцитов в 1-е сутки исследования в группе Ме+АВ сменилось их возвращением до контрольного уровня в последующие сутки, тогда как для группы АВ 14-е сутки эксперимента сопровождалось статистически значимым приростом моноцитов на 83,3% по отношению к контролю ($p=0,0019$). Снижение эритроцитов в группах АВ и Ме+АВ со статистически значимыми значениями через 7 суток от начала эксперимента исследования ($p=0,0083$, $p=0,0856$ соответственно), сменилось их возвращением до контрольного уровня через 14 суток. Между тем, содержание гемоглобина во всех группах оставалось статистически значимо ниже контроля во все сроки исследования. Предварительное введение солей тяжелых металлов в группах Ме и Ме+АВ снижало средний объем гемоглобина в эритроците, о чем судили по значениям МСН через 14 суток, которые оказались статистически значимо ниже контрольного уровня соответственно на 6% и 4,1%.


Затравка животных солями тяжелых металлов абсолютно не влияла на уровень IL-6, тогда как асептическое воспаление сопровождалось 6-кратным повышением уровня цитокина в 1 сутки наблюдений ($M=273$, $CO=28$ пкг/мл, $pk=0,004$), который нормализовался в последующие сроки (7 сут., 14 сут). Однако развитие асептического воспаления на фоне затравки солями тяжелых металлов снижало выброс в кровотока IL-6 в 1-й день наблюдения ($M=144$, $CO=24$ пкг/мл, $pAB=0,004$) с нормализацией уровня цитокина в последующие сроки. Очевидно, воздействие Ме тормозило продукцию IL-6 в 1-е сутки. Уровень IL-1 β достоверно не изменялся во всех вариантах эксперимента. Уровень TGF β существенно не отличался от контроля (61 ± 7 нг/мл) при воздействии Ме или АВ, но достоверно повышался ($M=80$, $CO=6$ нг/мл, $pk=0,023$, $M=75$, $CO=5$ нг/мл, $P=0,05$,

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

соответственно) при сочетанном их воздействии на 7-й и 14-й дни наблюдения. Существенных изменений уровня содержания IL-10 во всех исследуемых группах, кроме группы Me+AB, не наблюдалось. У животных группы Me+AB в 1-й день наблюдения имело место существенное повышение содержания IL-10 в периферической крови ($M=142$, $CO=\pm 24$ пкг/мл, $p=0,013$). В последующие сроки наблюдения уровень IL-10 возвращался к норме и не превышал среднего уровня в контроле ($M=23$, $CO=2$ пкг/мл).

Результаты наглядно демонстрируют, что под воздействием соединений ванадия и хрома клеточная численность селезенки, начиная с 7 суток эксперимента, снижается и не восстанавливается до конца эксперимента. Так, динамика изменений клеточной численности селезенки выглядела следующим образом: воздействие солей тяжелых металлов уже через 1 сутки после последнего введения приводило к более чем двукратному снижению клеточной численности селезенки по сравнению с контролем (с $0,78\pm 0,2$ млн. кл./мг до $0,31\pm 0,03$ 5 млн. кл./мг, $p=0,002$), что свидетельствовало об их цитотоксическом действии на селезенку. Через 7 суток наблюдалось статистически значимое ($p=0,007$) увеличение клеточной численности до $0,5\pm 0,05$ млн. кл./мг, что можно объяснить развитием компенсаторной реакции селезенки в ответ на токсическое воздействие тяжелых металлов. Однако, такая гиперпролиферация селезенки оказалась транзиторной, так как на 14-е сутки наблюдалось такое же значение клеточной численности ($0,48\pm 0,02$ млн. кл./мг) как и на 7-е сутки эксперимента и сохранялась статистически значимая разница по сравнению с контролем ($p=0,01$). Возможно, здесь имеет место истощение компенсаторных пролиферативных процессов в селезенке. Иная картина наблюдалась при введении скипидара, индуцирующего асептическое воспаление под кожей. Через 7 суток мы не наблюдали разницы в данном показателе по сравнению с контролем, тогда как через 14 суток клеточная численность селезенки достоверно снижалась до $0,47\pm 0,08$ млн. кл./мг ($p=0,01$), что свидетельствовало о вызванном воспалении в модели. Сочетанное воздействие тяжелых металлов и воспаления на селезенку характеризовалось резким снижением клеточной численности до $0,48\pm 0,05$ млн. кл./мг ($p_{\text{контр.}}=0,01$) через 7 суток и $0,5\pm 0,06$ млн. кл./мг ($p_{\text{контр.}}=0,02$) через 14 суток эксперимента, не отличающимся от воздействия только металлов. Таким образом, соли ванадия и хрома способны снижать клеточную численность селезенки опытных крыс с асептическим воспалением.


Следующим направлением нашего исследования послужили популяции Т- и В-лимфоцитов. Проведенные экспериментальные исследования показали, что пролиферативная активность CD3+CD4+ Т-лимфоцитов в течение недели оставалась на уровне контрольных величин. Через 14 суток в группе AB доля CD3+CD4+ возрастала на 23,2% ($M=31,3$, $CO=8,7$; $p_{7\text{сут}}=0,014$) по сравнению с

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

предыдущим сроком исследования ($M=25,4$, $CO=3,8$). Между тем, в этот срок исследования в группах Me и Me+AB доля $CD3+CD4+$ статистически значимо отставала от AB соответственно на 8% ($M=28,8$, $CO=3$; $p_{AB}=0,002$) и 28,4% ($M=22,4$, $CO=4,6$; $p_{AB}=0,008$). В группе AB для субпопуляций Tх1 установлен статистически значимый прирост IFNg как через 1 сутки на 29,3%, так и через 7 и 14 суток на 95% и 63,1% соответственно. Уровень определяемого IL-4 (Tх2) через 1 и 7 суток исследования превышал контрольные значения на 41,4%, через 14 суток на 76%. Иную картину застали в группе крыс, затравленных солями ванадия и хрома. Так, в группе Me соли ванадия и хрома вызывали стабильно низкую и, соответственно, отличную от контроля продукцию IFNg и IL-4 во все сроки исследования. Развитие воспаления на этом фоне (Me+AB) вызвало сохранение IFNg и IL-4 в первый срок исследования на контрольном уровне, тогда как от аналогичной группы AB, не подвергавшейся воздействию солей ванадия и хрома, их содержание отставало соответственно на 25% ($p \leq 0,05$) и 17,1%. В последующие сроки содержание IFNg и IL-4 прогрессивно отставало от показателей AB на 68,6% и 73,2% через 7 суток и на 66% и 76,5% через 14 суток соответственно. Содержание $CD8+$ для AB оказалось в 1,3 раза ($p \leq 0,05$) статистически значимо выше по отношению к контролю через 1 и 14 суток исследования. В группе Me+AB через 14 суток содержание $CD8+$ статистически значимо отставало от показателей AB на 29%. Развитие асептического воспаления в группе AB не оказывало влияния на пролиферативную активность В-лимфоцитов ни через 7, ни через 14 суток исследования.

Тенденция к снижению доли $CD45+B220+$ спленоцитов намечалась через 7 суток для группы предварительно затравленных животных (Me) ($M=40,5\%$, $CO=7,8$ против $M=44,5\%$, $CO=9,1$ контроля), которая к 14 суткам эксперимента достигла значимых различий как по отношению к контролю ($M=35,5$, $CO=4,8$ против 44,5, $CO=9,1$; $p_{контр.}=0,0003$), так и по отношению к AB ($M=45,3$, $CO=2,5$; $p_{AB}=0,01$). Сочетанное воздействие металлов и вызванного асептического воспаления значительно снижало долю $CD45+B220+$ спленоцитов по отношению к контрольному уровню на 33,1% ($M=29,8$, $CO=2,8$ против $M=44,5$, $CO=9,1$ контроля, $p_{контр.}=0,009$) через 7 суток и на 57,1% ($M=19,1$, $CO=5,1$ против $M=44,5$, $CO=9,1$ контроля, $p_{контр.}=0,0003$) через 14 суток. При этом, предварительная затравка крыс солями металлов приводила к снижению данного показателя и по сравнению с группой AB по истечению 7 и 14 суток соответственно на 33,5% ($M=29,8$, $CO=2,8$ против $M=44,8$, $CO=4,2$ AB, $p_{AB}=0,00008$) и на 60% ($M=19,1$, $CO=5,1$ против $M=45,3$, $CO=2,5$ AB, $p_{AB}=0,00007$).

В ответ на антигенную стимуляцию очага воспаления крысы групп Me и Me+AB демонстрировали повышение экспрессии RT1+ соответственно в 2,7 ($M=55,0$; $CO=15,3$ против $M=20,6$; $CO=11,8$ контроля, $p_{контр.}=0,007$) и 2,2 раза


	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

($M=46,3$; $CO=15,3$ против $M=20,6$; $CO=11,8$ контроля, $p_{\text{контр}}=0,016$) на 7-е сутки эксперимента по отношению к контролю. Умеренное накопление доли $RT1^+$ в $CD45^+CD45R(B220)^+$ гейте у крыс группы АВ не имело статистически значимой разницы с контролем. К 14-м суткам эксперимента для этой группы животных экспрессия $RT1^+$ снижалась до контрольного уровня, что свидетельствовало, по-видимому, о снижении антигенной стимуляции из очага воспаления. Между тем, к этому сроку исследования экспрессионная активность $RT1^+$ в группах Ме ($M=62,0$; $CO=6,2$, $p_{\text{контр}}=0,0001$) и Ме+АВ ($M=62,8$; $CO=6,8$, $p_{\text{контр}}=0,0001$) достигла одинакового уровня, превышавшего в 3 раза значения контроля ($M=20,6$; $CO=11,8$). Аналогичная разница достигнута у группы Ме+АВ и по отношению к АВ.

Об активности В-клеток в экспериментальных группах судили по экспрессии молекулы МНС-II, анализируя долю $B220^+RT1(MHC-II)^+$ -спленоцитов в гейте $CD45^+$ лимфоцитов. На 7-е сутки после индукции асептического воспаления наблюдалось статистически значимое увеличение $B220^+RT1^+$ -спленоцитов ($M=28,2$; $CO=9,3$; $p_{\text{контр}}=0,15$) по сравнению с контрольными значениями ($M=14,7$; $CO=5,1$), что свидетельствовало о нормальном провоспалительном фоне. На 14-е сутки данный показатель имел значения, сопоставимые с контролем. В группе Ме количество $B220^+RT1^+$ -спленоцитов по сравнению с контролем было повышено через 7 суток эксперимента ($M=25,4$, $CO=5,2$; $p_{\text{контр}}=0,044$), что, возможно, связано со стимулирующим влиянием соединений ванадия на пролиферацию В-лимфоцитов, показанную ранее в экспериментах с применением метаванадата натрия ($NaVO_3$). Доля В-клеток, экспрессирующих $RT1^+$, в группе Ме через 14 суток эксперимента была в 2,5 раза ($M=28,8$, $CO=3,0$; $p_{AB}=0,003$) по сравнению с АВ ($M=11,4$, $CO=8,7$) и в 1,5 раза статистически значимо выше ($M=28,8$, $CO=3,0$; $p_{Me+AB}=0,025$) по сравнению с Ме+АВ ($M=18,9$, $CO=6,6$).

Доля спленоцитов с фенотипом Т регуляторных клеток ($CD4^+CD25^+$) не изменялась в группе АВ в течение 7 суток от начала развития асептического воспаления, а на 14-е сутки отмечалось более чем двукратным повышением этих клеток ($M=5,5$, $CO=0,8$; $p_{\text{контр}}=0,001$) по сравнению с контролем ($M=2,3$, $CO=0,4$). Напротив, в группах Ме и Ме+АВ уже на 7-е сутки исследования установили повышение доли $CD4^+CD25^+$ от контрольного уровня ($M=2,3$, $CO=0,4$) соответственно на 87% ($M=4,3$, $CO=0,8$; $p_{\text{контр}}=0,03$) и 100% ($M=4,6$, $CO=0,3$, $p_{\text{контр}}<0,0001$). Тенденция к увеличению продолжилась и на 14-е сутки, где разница с контролем составила для Ме 91,3% ($M=4,4$, $CO=1,7$; $p_{\text{контр}}=0,033$), для Ме+АВ 156,5% ($M=5,9$, $CO=1,2$; $p_{\text{контр}}=0,001$).


Транскрипционный фактор Foxp3 критически важен для развития и функционирования регуляторных Т-лимфоцитов. Экспрессия FoxP3, играющего основную роль в супрессорной активности Т регуляторных клеток, анализируемого

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

нами в CD4⁺CD25⁺ гейте, и супрессорной молекулы CTLA-4 CD4⁺FoxP3⁺-спленоцитами имела аналогичную динамику в группе АВ через 14 суток, что говорит о позитивной роли расширения пула Т регуляторных клеток в разрешении воспаления. Так, через 7 суток в группе АВ доля FoxP3 экспрессирующих CD4⁺CD25⁺ ($M=14,4$, $CO=3,2$) и CD4⁺FoxP3⁺CTLA4⁺ спленоцитов ($M=12,3$, $CO=5,0$) колебалась на уровне соответствующих контролей ($M=12,0$, $CO=4,0$; $M=11,6$, $CO=2,6$). Лишь к 14 суткам исследования наблюдали выраженный прирост активности CD4⁺CD25⁺FoxP3 и CD4⁺FoxP3⁺CTLA4⁺ соответственно в 2,3 раза ($M=28,1$, $CO=6,2$; $p_{\text{контр}} < 0,001$) и 1,8 раза ($M=20,8$, $CO=6,4$; $p_{\text{контр}}=0,015$) по сравнению с контролем. При этом, мы наблюдали повышение доли CD4⁺CD25⁺-спленоцитов и экспрессии FoxP3 данными клетками в группе Me по сравнению с контролем уже в первый день после окончания введения Me и сохранялось до конца эксперимента. Через 7 суток доля CD4⁺CD25⁺FoxP3 статистически значимо превышала контрольный уровень на 58,3% ($M=19,0$, $CO=3,2$; $p_{\text{контр}}=0,041$) и продолжала нарастать и на 14-е сутки, превышая контроль уже в 2 раза ($M=24,0$, $CO=4,0$; $p_{\text{контр}}=0,021$). Аналогичную картину наблюдали и в группе Me+AB. Экспрессия CTLA-4 CD4⁺FoxP3⁺-спленоцитами в группах Me и Me+AB по сравнению с контролем статистически значимо повышалась на 7-е сутки в 2 раза ($M_{\text{Me}}=21,5$, $CO=1,3$; $M_{\text{Me+AB}}=21,0$, $CO=5,0$; $p_{\text{контр}} \leq 0,05$) и сохранялась до конца эксперимента.

Результаты исследований гематологического анализа крови у крыс с асептическим воспалением, получавших МХФ18 и ПО. На 7 сутки после моделирования асептического воспаления и проведенной коррекции МХФ18 и ПО мы обнаружили повышенный уровень лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов, в 2-3 раза статистически значимо превышавший аналогичные показатели в группе АВ. 14-е сутки исследования охарактеризовались полуторадвукратным снижением исследуемых показателей в группах АВ+МХФ18 и АВ+ПО от предыдущего уровня, но превышавшие показатели АВ. Статистически значимых различий между АВ+МХФ18 и АВ+ПО не наблюдалось. Проведенными исследованиями установлено, что МХФ18 и ПО не восстанавливают показатели эритроцитов, гемоглобина и гематокрита, которые во все сроки исследования оказались статистически значимо ниже контрольного уровня.

Исследование клеточной численности селезенки показало, что через 7 суток под влиянием ПО и МХФ18 клеточная численность селезенки не достигала уровня контроля и АВ. Через 14 суток клеточная численность селезенки в группе АВ+ПО продолжала снижаться, тогда как МХФ18 восстановил клеточную численность селезенки ($M=0,7$, $CO=0,1$), превысив на 40% значения АВ ($M=0,5$, $CO=0,1$; $p_{\text{AB+МХФ18}}=0,002$) и на 75% АВ+ПО ($M=0,4$, $CO=0,1$; $p_{\text{AB+МХФ18}}=0,0008$), а также на 16,7% ($M=0,7$, $CO=0,1$ против $M=0,6$, $CO=0,1$; $p_{7\text{сут}}=0,034$) собственные

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

значения предыдущего срока. Таким образом, МХФ18 к 14 суткам исследования по сравнению с ПО восстанавливает клеточную численность селезенки, возвращая ее значения до контрольного уровня.

Проведенные исследования показали, что полиоксидоний в течение недели не стимулировал расширение пула В-клеток, а значения CD45+B220+ оказались ниже уровня АВ на 25,3% ($p_{AB}=0,024$). Пролиферативная активность CD45+B220+спленоцитов под влиянием МХФ18 в этот срок исследования превосходила значения АВ+ПО на 42% ($p_{ПО}=0,011$). Через 14 суток значения АВ+ПО вернулись к контрольному уровню, тогда как МХФ-18 статистически значимо снижал CD45+B220+ по отношению к контролю на 34,8% ($p_K=0,006$), к АВ на 36% ($p_{AB}=0,00008$), к АВ+ПО на 32,4% ($p_{ПО}=0,0008$) и к собственным значениям предыдущего срока на 38,8% ($p_{7\text{суток}}=0,00008$). По-видимому, МХФ18 снижает антигенную стимуляцию с очага воспаления, что и способствовало ингибированию пролиферативной активности CD45+B220+. Процентное содержание активных В-лимфоцитов, способных к экспрессии молекулы МНС-II, через 7 суток после применения ПО и МХФ18 колебалось на уровне АВ, превышая контрольный уровень соответственно на 56,5% ($p_{\text{контр}}=0,018$) и 49,6% ($p_{\text{контр}}=0,016$). Через 14 суток под влиянием МХФ18 доля B220+RT1 оставалось на уровне предыдущего исследования, но существенно превышало их долю в группах контроль, АВ и АВ+ПО соответственно на 84,4% ($p_{\text{контр}}=0,005$), 137,7% ($p_{AB}=0,006$) и 204,5% ($p_{AB+ПО}=0,0004$).

Через 7 суток экспрессия RT1+ в активированных В-лимфоцитах существенно возростала под влиянием ПО, значения которого на 48% и 141,3% превышала АВ ($p_{AB}=0,041$) и контроль ($p_{\text{контр}}=0,0008$) соответственно. Через 14 суток МХФ18 стимулировал экспрессию RT1+, значения которых в 2,7 раза превышали значения контроля ($p_{\text{контр}}=0,0002$), 3,1 раза АВ ($p_{AB}=0,006$), 4,6 раза АВ+ПО ($p_{AB+ПО}<0,05$) и собственные значения предыдущего срока в 1,5 раза ($p_{7\text{сут}}=0,003$). Через 7 суток доля CD4+CD25+ спленоцитов под влиянием МХФ18 ($M=3,9$, $CO=0,9$) статистически значимо превышала значения групп АВ ($M=2,1$, $CO=0,9$) и АВ+ПО ($M=2,6$, $CO=1,0$) соответственно на 85,7% ($p_{AB}=0,005$) и 50% ($p_{AB+МХФ18}=0,051$). Через 14 суток под влиянием МХФ18 тенденция к приросту CD4+CD25+ спленоцитов была несущественной. Между тем, эти значения существенно возросли в группах АВ ($M=5,5$, $CO=0,8$) и АВ+ПО ($M=5,5$, $CO=1,3$), превышая собственные значения предыдущего срока в 2,6 ($p_{7\text{сут}}<0,0001$) и 2,1 раза ($p_{7\text{сут}}=0,002$).


В результате проведенных нами исследований было установлено, что через 7 суток доля CD4+FoxP3+ под влиянием МХФ18 ($M=3,2$, $CO=0,5$) оказалась на 60% ($p_{AB+ПО}=0,025$) больше ПО ($M=2,0$, $CO=0,5$). Через 14 суток отмечалось существенное повышение супрессорной активности в группе АВ и АВ+ПО. Так, в

группе АВ доля CD4+FoxP3+ по сравнению с контролем (M=2,3, CO=0,2) повышалась на 82,6% (M=4,2, CO=0,5; рконтр<0,0001), а в группе АВ+ПО на 126,1% (M=5,2, CO=1,3; рконтр=0,002), что превышало собственные результаты предыдущего исследования (M=2,0, CO=0,5) в 2,6 раза (р7 сут=0,001). Между тем, доля CD4+FoxP3+ группы АВ+МХФ18 в этот срок исследования (M=2,8, CO=0,9) практически колебалась на уровне предыдущего срока, но оказалась в 2 раза меньше группы АВ+ПО (рАВ+ПО=0,006).


Изучение CD4+ Т регуляторных клеток, экспрессирующих FoxP3+, показало, что через 7 суток их доля под влиянием МХФ18 (M=19,7, CO=1,4) превышала контроль (M=12,0, CO=2,3) на 64,2% (рконтр=0,0006), АВ (M=14,4, CO=4,0) на 36,8% (рАВ=0,022), АВ+ПО (M=14,6, CO=2,8) на 35% (рАВ+ПО=0,008). Через 14 суток в группе АВ+МХФ18 доля FoxP3+ клеток среди CD4+CD25+ лимфоцитов вернулась к контрольному уровню. В дальнейшем изучали долю экспрессируемых STLA4+ среди CD4+FoxP3+ лимфоцитов и изменяемых под влиянием МХФ18 и ПО. Доля через 7 суток резко повышалась, тогда как на 14 сутки исследования наблюдали спад экспрессионной активности. Так, доля STLA4+ среди CD4+FoxP3+ лимфоцитов под влиянием МХФ18 (M=25,3, CO=3,0) повышалась на 118,1% (рконтр=0,004) больше по сравнению с контролем (M=11,6, CO=2,6) и на 105,7% (рАВ=0,002) больше по сравнению с АВ (M=12,3, CO=5,0). Аналогичные результаты получены и под влиянием ПО.

Через 1 сутки коррекции МХФ18 и ПО среднее значение лейкоцитов и лимфоцитов оказалось статистически значимо выше значений Опыта соответственно на 94,7% и 94,4%. После недельной коррекции МХФ18 нарастание показателей крови продолжалось, значения которых имели отличия от контроля и Опыта соответственно в 2,1 и 2,6 раза для лейкоцитов, в 2,1 и 3,2 раза для лимфоцитов, в 1,7 и 2,5 раза для моноцитов. Уровень нейтрофилов превышал как контрольный уровень, так и уровень предыдущего срока более чем в 1,5 раза. Статистически значимые отличия между МХФ18 и ПО наблюдали в недельный срок исследования, когда эффективность МХФ18 превышала ПО на 69,4% в отношении лейкоцитов, на 67% в отношении лимфоцитов, на 100% в отношении моноцитов.

Целью дальнейших исследований была оценка корригирующей эффективности МХФ18 и ПО на иммунофенотипические параметры селезеночных популяций лимфоцитов опытных животных. Так, через 7 суток после моделирования асептического воспаления опытным животным под влиянием МХФ18 доля В-клеток (M=36,2, CO=5,6) оказалась на 21,5% больше по сравнению с группой Опыт (M=29,8, CO=2,8;) (рОП=0,040). Доля В220+RT1+ после воздействия МХФ18 и ПО оставалась на уровне нелеченных животных.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТИ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация
		Редакция: 1 Страница 15 из 21

Экспрессионная активность В-лимфоцитов RT1+ среди CD45+CD45R(B220)+ под влиянием МХФ18 (M=51,8, CO=7,6;) и ПО (M=47,2, CO=11,6;) выросла, превысив контрольный уровень соответственно на 151,4% (pконтр=0,006) и 129,1% (pконтр=0,05). Однако эти же значения соответствовали и группе Опыт. Как через 7, так и через 14 суток наблюдалось статистически значимое повышение доли В-клеток под влиянием МХФ18. Так, доля CD45+CD45R(B220)+ в группе Опыт+МХФ18 (M=31,1, CO=6,0;) повышалась на 62,8% больше (pопыт=0,006) по сравнению с опытной группой. Аналогичные результаты установлены и в отношении ПО. Через 7 суток определение в каждой группе поверхностной экспрессии 4-х кластеров дифференцировки (CD4+, CD4+CD25+, CD4+CD25+FоxP3+, CD4+FоxP3+CTLA4+) показало, что оба препарата влияли на иммунофенотип лимфоцитов однонаправлено: снижая экспрессию CD4+CD25+, CD4+CD25+FоxP3+, CD4+FоxP3+CTLA4+ по сравнению с группой Опыт. Так, под влиянием МХФ18 и ПО экспрессия CD4+CD25+ составила соответственно 3,7% (CO=0,6) и 3,4% (CO=0,4), что оказалось ниже группы Опыт (M=4,6, CO=0,3) на 19,6% (pопыт=0,017) и 26,1% (pопыт=0,0003). Экспрессия CD4+CD25+FоxP3+ снижалась под влиянием МХФ18 (M=11,6, CO=4,6) на 42% (pопыт=0,036) и под влиянием ПО (M=6,9, CO=3,7) на 65,5% (pопыт=0,005) по сравнению с опытом (M=20,0, CO=6,1). Экспрессия CD4+FоxP3+CTLA4+ как под влиянием МХФ18, так и под влиянием ПО оказалась в 2 раза статистически значимо ниже опытной группы. Через 14 суток статистически значимых групповых различий в относительном содержании CD4+ Т-лимфоцитов не наблюдалось. Дифференцировка CD4+CD25+ клеток в пуле CD4+ Т-лимфоцитов под влиянием МХФ18 и ПО оставалась таковой, как и через 7 суток исследований. Между тем, наблюдался существенный прирост экспрессионной активности CD4+CD25+FоxP3+, CD4+FоxP3+CTLA4+ лимфоцитов под влиянием МХФ18 и ПО. Так, установлено, что через 14 суток под влиянием ПО экспрессия CD4+CD25+FоxP3+ (M=20,1, CO=4,3) превышала предыдущий уровень экспрессии (M=6,9, CO=3,7) и контрольный уровень (M=11,9, CO=2,3) соответственно на 191,3% (p7суток=0,0007) и 68,9% (pконтр=0,0007), но оставалась в диапазоне опытных значений. Через 14 суток под влиянием МХФ18 отмечался незначительный прирост CD4+CD25+FоxP3+ (M=15,6, CO=6,6 против M=11,6, CO=4,6), что на 34,5% превышало собственные значения предыдущего срока (p7суток=0,0007), но их уровень в 1,6 раза отставал от опыта (M=24,7, CO=3,3; pопыт=0,019). Через 7 суток доля CD4+FоxP3+CTLA4+ лимфоцитов почти в 2 раза отставала от опыта (M=21,0, CO=5,0) как под влиянием ПО (M=10,1, CO=3,0), так и под влиянием МХФ18 (M=11,1, CO=3,5; pопыт<0,05). Через 14 суток отмечалось повышение доли CD4+FоxP3+CTLA4+ как по отношению к контролю, так и по отношению к предыдущему сроку под влиянием ПО (M=18,2, CO=3,8 против контроля: M=11,6, CO=2,6, против 7 суток; M=10,1,

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация
		Редакция: 1 Страница 16 из 21

СО=3,0) соответственно на 56,9% (pконтр=0,014) и на 80,2% (p7суток=0,006), а под влиянием МХФ18 (M=25,4, СО=9,3 против контроля: M=11,6, СО=2,6, против 7 суток; M=11,1, СО=3,5) соответственно более, чем в 2 раза (pконтр=0,014, p7суток=0,012).


Выводы

1. Анализ дифференциально экспрессируемых генов показал групповые различия экспрессии генов тимуса в группах «Me+AB» против «AB», в результате которого идентифицированы 20 генов. Установлена сверхэкспрессия Hsp90aa и Stag2, ответственных за трансляцию сигналов иммуносупрессии, а также статистически значимое повышение экспрессии Tnfrsf4, Clu, Sp3, Cd19, запускающих процессы активации Трег, FoxP3, апоптоза, хронизации воспаления, опухолевого роста. Установлено статистически значимое снижение экспрессии иммунных регуляторов - Dpp4, Txndc5, Syk, ответственных за экспрессию клеточных воспалительных цитокинов ИЛ-6, TNF- α , апоптоз, В-клеточную дифференциацию, что является предиктором неблагоприятного течения воспаления.

2. Ключевые показатели экспериментального воспаления под влиянием метаванадата аммония и дихромата калия в крови опытных животных ассоциированы с развитием анемии; дефицитом лейкоцитов преимущественно за счет их лимфоцитарной и нейтрофильной фракций; дисбалансом цитокиновой регуляции в сторону повышения противовоспалительных ИЛ-10 и TGF- β цитокинов и недостаточной продукции ИЛ-6 и ИЛ-1 β ; дисбалансом селезеночных субклеточных популяций с фенотипами IFNg+/IL-4- и IFNg-/IL-4+; нарушением дифференцировки и последующей активности В-лимфоцитов, индуцированием дифференцировки селезеночных субклеточных популяций с фенотипами CD4+CD25+, CD4+CD25+FoxP3+, CD4+FoxP3+CTLA+.

3. Наибольший вклад в характеристику ванадий- и хроминдуцированных нарушений в манифестации воспаления вносят развитие анемии, расстройство гуморального звена иммунитета и неспецифической резистентности организма с доминированием супрессорной роли селезеночных субпопуляций Т-регуляторных лимфоцитов.

4. Установлено, что в недельный срок исследования корригирующая эффективность МХФ18 превышает ПО в отношении лейкоцитарных фракций крови. Корригирующей эффективности МХФ18 и ПО в отношении эритроцитов и гемоглобина в обозначенные сроки исследования установлено не было. МХФ18 повышает долю В-клеток, среди которых отмечался существенный прирост клеток с фенотипом B220+RT1+. Однако ПО, также

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация


как и МХФ18 не изменяют долю RT1+ в CD45+CD45R(B220)+ гейте лимфоцитов опытных крыс. Сравнимость уровней экспрессии маркеров иммуносупрессии на поверхности лимфоцитарных клеток при воспалении, вызванном на фоне затравки ванадием и хромом, под влиянием МХФ18 и ПО приводит к повышению экспрессии иммунофенотипических маркеров CD4+CD25+FoxP3+, CD4+FoxP3+CTLA4+ к 14 суткам исследования, что способствует резолюции воспалительного процесса.

5. В результате проведенного дискриминантного анализа удалось установить, что группы «Опыт+МХФ18» и «Опыт+ПО» дискриминируют с группой «Опыт» по показателям, характеризующим степень ингибирования активации CD4+FoxP3+ и CD4+FoxP3+CTLA4+. Из вышеизложенного следует, что на 7 сутки течения асептического воспаления МХФ18 и ПО равнозначно препятствуют накоплению CD4+FoxP3+ и CD4+FoxP3+CTLA4+. На 14 сутки исследования установлено, что МХФ18 дискриминирует с ПО по его эффективности предупреждать внутриклеточное накопление FoxP3+ на всем протяжении эксперимента. Кроме того, МХФ18 в отличие от ПО лучше стимулирует пролиферативную активность и, тем самым, фагоцитарную активность моноцитов с нарастающим эффектом на протяжении всего эксперимента.

6. Транскриптомный анализ тканеспецифичной экспрессии генов дал фундаментальное представление о закономерностях регуляции иммунного ответа в условиях интоксикации организма солями хрома и ванадия. В совокупности наши результаты продемонстрировали различные профили экспрессии генов тимуса опытных крыс с высоким и низким ответом во время острого асептического воспаления. Большее количество генов с пониженной модуляцией нарушали механизм разрешения воспаления. Среди 20 аннотированных генов ключевую роль отвели Hsp90aa (белок теплового шока) как инициатору супрессорного иммунного ответа. Проведенные фундаментальные исследования согласуются с выводами транскриптомного анализа и подтверждают их роль в регуляции воспалительных фенотипов. Подтверждением тому является сопоставление результатов количественной и качественной оценки воспалительных фенотипов с экспрессионным профилем идентифицированных генов.

Практические рекомендации

1. Установленные в ходе экспериментальных исследований данные могут быть полезны при проведении прикладных исследований, посвященных изучению медицинской проблемы в рамках актуального приоритетного направления.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

2. Данные об иммуотоксическом влиянии ванадия и хрома, как одних из распространенных антропогенных загрязнителей, могут быть полезны при оценке факторов риска заболевания с учетом региона проживания пациента и предотвращения его хронизации с включением в диагностику оценку иммунного статуса.
3. Выводы настоящего исследования могут также быть полезными для государственных и коммерческих структур, заинтересованных в разработке и продвижении новых лекарственных брендов отечественного производства.
4. Материалы диссертации могут быть использованы в учебно-методическом процессе на медицинских и биологических факультетах, а также на курсах последипломного образования иммунологов, терапевтов и врачей общей практики.
5. По результатам проведенных исследований получены два свидетельства на полезную модель. По материалам диссертации издана монография, которая включена в список рекомендуемой литературы для студентов 2, 3 курса общей медицины при подготовке к практическим занятиям.

Апробация результатов диссертации.

Основные положения диссертации доложены на заседаниях кафедры патофизиологии НАО «КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова».


Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

1. Международной научно-практической конференции «Актуальные научные исследования в современном мире» (Переяслав-Хмельницкий, Украина, 26-27 октября 2016 г.)
2. «8th European Immunology Conference 2017» (Мадрид, Испания, 29 июня- 1 июля 2017 г.)
3. ISER «International Conference on Science, Health and Medicine» 2017 (Афины, Греция, 7-8 ноября 2017 г.)

Опубликованные работы по результатам диссертационного исследования:

1 статья - в издании, индексированном в информационных базах Scopus и PubMed:

1. Marina K. Balabekova, Yekaterina O. Ostapchuk, Yuliya V. Perfilyeva, Aliya N. Tokusheva, Adilman Nurmuhambetov, Rustam R. Tuhvatshin, Vasiliy V. Trubachev, Zhaugashty B. Akhmetov, Nurshat Abdolla, Gulgul K. Kairanbayeva, Koks Sulev & Nikolai N. Belyaev. Oral administration of ammonium metavanadate and potassium dichromate distorts the inflammatory reaction induced by turpentine oil injection in male rats. Drug and Chemical

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

Toxicology.2019; ISSN: 0148-0545 (Print) 1525-6014 (Online) Journal
 homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/idct20>. Scopus CiteScore 2021 -
 5,4. процентиль-79, IF-2,597.

4 статьи - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки РК:

1. М.К.Балабекова, А.Н.Нурмухамбетов, Р.Р.Тухватшин, Н.Н. Рыспекова, А.Н.Токушева, В.В.Трубачев, Ж.Е.Альдекеева. Современный взгляд на механизмы формирования экологенной иммунодепрессии. Вестник каззму 2017; . с.375-380 ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2018г. – 403
2. М.К.Балабекова, Р.Р.Тухватшин, А.Н.Нурмухамбетов, Н.Н. Рыспекова, А.Н.Токушева, В.В.Трубачев, Ж.Е.Альдекеева. Роль врожденного иммунитета в регуляции воспаления. Вестник каззму 2017; с.375-380. ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2018г. – 403
3. А.Н. Токушева, М.К. Балабекова , Sulev Kõks. Влияние полиоксидония на активность В-клеток и Т-регуляторных клеток опытных крыс в динамике экспериментального воспаления. Фтизиопульмонология 2024; с.150-155. ISSN 2227-1937 (Print). ISSN 2663-1504 (Online).
4. А.Н. Токушева, М.К. Балабекова , Sulev Kõks. Анализ дифференциальной экспрессии генов в лимфоорганах экспериментальных крыс. Фтизиопульмонология 2024; с.156-161. ISSN 2227-1937 (Print). ISSN 2663-1504 (Online).

4 тезиса – в сборниках зарубежных международных конференций индексируемых в базе Scopus и PubMed:

1. M.K. Balabekova, A.N. Tokusheva, V.V. Trubachev. Salts of heavy metals cause phenotypic changes of immune competent cells participants and regulators of aseptic inflammation. Molecular biology of the cell, 2017, Vol.28. ASCB an international forum for cell biology. ISSN:1059-1524. <https://doi.org/10.1091/mbc.e17-10-0618> . Scopus CiteScore 2022 – 6,3. процентиль-92, IF-3,612.
2. Marina K. Balabekova, A.Tokusheva, Y.Ostapchuk, N.Abdolla, R. Tuhvatshin. Expansion of His48+CD11b/c+ myeloid cells in rats after vanadium and chromium salts administration. Molecular biology of the cell, 2017, Vol.28. ASCB an international forum for cell biology. ISSN:1059-1524.

<https://doi.org/10.1091/mbc.e17-10-0618> . Scopus CiteScore 2022 – 6,3.
 процентыль-92, IF-3,612.


- Aliya N. Tokusheva, Marina K. Balabekova, Yekaterina O.Ostapchuk, Nikolay N.Belyaev and Rustam R. Tukhvatshin. Vanadium and chromium mediated impairments in the immunological reactivity of rats with aseptic inflammation. 8th European Immunology Conference 2017.J Clin Cell Immunol 2017, 8:3(Suppl) DOI: 10.4172/2155-9899-C1-037
- Балабекова М.К., Токушева А.Н., Трубачев В.В., Беляев Н.Н., Альдекеева Ж.Е., Баратов З.Р., Инкарбек Ж.Н., Бердибай Ж.Т. Изучение клеточности лимфоорганов крыс в эксперименте. Международная научно-практическая конференция «Актуальные научные исследования в современном мире», Переяслав-Хмельницкий, Украина, 2016 г. Сборник научных трудов. Выпуск 10 (18) часть 4. с.26-30 ISSN:2524-0986.

1 патент на полезную модель:

- Пат. №3006. Способ прогнозирования хронизации воспалительного процесса в условиях интоксикации солями ванадия и хрома (09.07.2018).

4 статьи в международных журналах:

- Балабекова М.К., Рыспекова Н.Н., Жукешева М.К., Токушева А.Н., Мырзагулова С.Е., Ахмедшина Д.А., Трубачев В.В. Динамика течения воспаления, вызванного на фоне металлиндуцированной иммунодепрессии. 2015; Современные проблемы науки и образования. ISSN 2070-7428. ИФ РИНЦ = 1,006.
- Токушева А.Н., Балабекова М.К., Мырзагулова С.Е., Ахмедшина Д.А., Жукешева М.К., Трубачев В.В., Рыспекова Н.Н. Реакция периферической крови крыс в ответ на воспаление, вызванное на фоне интоксикации соединениями ванадия и хрома (эксперимент) 2015; Современные проблемы науки и образования. ISSN 2070-7428. ИФ РИНЦ = 1,006.
- Трубачев В.В., Балабекова М.К., Касенов Б.Ж., Карчалова А.М., Токушева А.Н., Ахмедшина Д.А., Альдекеева Ж.Е., Жукешева М.К., Рыспекова Н.Н. Экспериментальные исследования влияния соединений ванадия и хрома на поведенческие реакции крыс. 2016; Современные проблемы науки и образования. ISSN 2070-7428. ИФ РИНЦ = 1,006.
- Balabekova M.K., Nurmuchambetov A.N., Tokusheva A.N., Ryspekova N.N., Myrzagulova S.E., Akhmedshina D.A., Zhukesheva M.K., Trubachev V.V., Yu V.K. Effects of immune modulators at metall induced immunosuppression. International Journal of Applied and Fundamental Research. 2017.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра патологической физиологии имени профессора А.Н. Нурмухамбетова	Аннотация

Сертификаты:

1. Прошла семинар «Стратегия и идеология современных биомедицинских исследований ориентированных на генетическую эпидемиологию» в объеме 66 часов, 12-23 сентября 2016 г., под руководством профессора Лившица Г. (Израиль)
2. Участвовала в семинаре по геномной биоинформатике с 9-11 ноября 2016 г. Санкт-Петербург, под руководством Предеуса А.

Личный вклад докторанта

Диссертант непосредственно участвовала в разработке идеи исследования, определении цели и задач, а также в проектировании и проведении экспериментов научно-технического проекта МНиВО РК «Молекулярно-биологические особенности течения асептического воспаления, ассоциированного с экологенной иммундепрессией». Диссертант внесла существенный вклад в выбор методов исследования, сбор и анализ данных, а также интерпретацию результатов. Диссертант активно участвовала во всех этапах исследования, включая подготовку образцов, забор биологического материала, анализ полученных данных и статистическую обработку. Также автор участвовала в постановке и проведении транскриптомного и биоинформатического анализов. Диссертант принимала активное участие в выдвижении научной гипотезы, формулировании выводов, публикации результатов исследования в профильных научных журналах и на конференциях.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований, выводов, и практических рекомендаций. Библиографический список содержит 319 источников. Диссертация изложена на 150 страницах, содержит 30 таблиц, 46 рисунков и 1 приложение.