



ТЕОРИЯЛЫҚ ПӘНДЕР
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ДИСЦИПЛИНЫ
THEORETICAL DISCIPLINES



ЗЕРТХАНАЛЫҚ МЕДИЦИНА
ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА
LABORATORY MEDICINE

Получена: 05.02.2024/Принята: 01.03.2024/Опубликована online: 30.03.2024

УДК 616-002-08:612.017.1:549.25/.28

DOI: [10.26212/2227-1937.2024.42.45.019](https://doi.org/10.26212/2227-1937.2024.42.45.019)

Г.К. Кайранбаева ^{1*}, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9337-7728>

М.К. Балабекова ¹, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3238-9893>

А.Х. Балапанова ¹, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6827-6970>

Edgaras Stankevicius², ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2210-708X>

В.К. Ю ³, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6508-707X>

^{1*}Казахский Национальный Медицинский Университет имени С.Д. Асфендиярова,
Алматы, Казахстан, автор-корреспондент

²Литовский университет наук о здоровье, Каунас, Литва

³Институт химических наук имени А.Б. Бектурова, Алматы, Казахстан

ТИМУСОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОСПАЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
КОМПЛЕКСОМ

Резюме: оценена микроскопическая картина тимуса в условиях асептического воспаления. В экспериментальных условиях проведена оценка эффективности нового соединения (Комплекс), синтезированного в Институте химических наук им. А.Б. Бектурова, в качестве патогенетической коррекции выявленных в тимусе нарушений. В результате проведенных морфологических исследований тимуса установлено, что под влиянием Комплекса у экспериментальных крыс в динамике течения асептического воспаления восстановилась граница корковой зоны, что способствовало повышению кортико-медуллярного соотношения за счет увеличения клеточности лимфоцитов в корковом веществе и, соответственно, клеточности тимуса. В результате патогенетической коррекции Комплексом существенно повышалось содержание лимфоцитов в общей лейкоцитарной фракции крови в период разгара воспаления, а на стадии разрешения воспаления вернулось к контрольному уровню, что существенно отличалось от группы животных с асептическим воспалением без коррекции Комплексом.

Ключевые слова: тимус, асептическое воспаление, эксперимент, крысы

Г.Қ. Қайранбаева ¹, М.Қ. Балабекова ¹, А.Х. Балапанова ¹, Edgaras Stankevicius², В.К. Ю ³

^{1*}С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан, корреспондент-автор

²Литва денсаулық ғылымдары университеті, Каунас, Литва

³Ә.Б. Бектұров атындағы Химия ғылымдары институты, Алматы, Қазақстан

КОМПЛЕКСЕН ПАТОГЕНЕЗДІК ТҮЗЕТУ ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ ТИМУСДЕЛДАЛДЫҚ ҚАБЫНУДЫҢ РЕТТЕЛУІ

Түйін: асептикалық қабыну жағдайында тимустың микроскопиялық суреті бағаланды. Ә.Б. Бектұров атындағы Химия ғылымдары институтында синтезделген жаңа қосылыс (Кешен) тәжірибелік жағдайда тимуста анықталған бұзылыстарды патогенетикалық түзету ретінде тиімділігін көрсетті. Тимусты морфологиялық зерттеу нәтижесінде тәжірибелік егеуқұйрықтарда Кешеннің әсерінен асептикалық қабыну динамикасында кортикальды аймақтың шекарасы қалпына келгені анықталды, бұл кортико-медуллярлық қатынастың жоғарылауына ықпал етуі қыртыстағы лимфоциттердің жасушалылығының және сәйкесінше тимустың жасушалылығының жоғарылауына байланысты. Кешенмен патогенетикалық түзету нәтижесінде қанның жалпы лейкоцитарлық фракциясындағы лимфоциттердің мөлшері қабынудың жоғарылау кезеңінде айтарлықтай өсті, ал қабынудың басылу сатысында ол бақылау тобы деңгейіне оралды, салыстырмалы түрде кешенмен түзетусіз асептикалық қабынуы бар жануарлар тобынан айтарлықтай ерекшеленген.

Түйінді сөздер: Тимус, асептикалық қабыну, эксперимент, егеуқұйрықтар

Г.К. Kairanbayeva^{1*}, М.К. Balabekova ¹, А.Кh. Balapanova ¹, Edgaras Stankevicius², V.K. Yu ³

^{1*}Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan, corresponding author

²Lithuania University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania

³A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences, Almaty, Kazakhstan

THYMUS-MEDIATED REGULATION OF INFLAMMATION UNDER CONDITIONS OF PATHOGENETIC CORRECTION BY THE COMPLEX

Resume: the microscopic picture of the thymus under conditions of aseptic inflammation was assessed. Under experimental conditions, the effectiveness of a new compound (Complex), synthesized at the Institute of chemical sciences named after A.B. Bekturov, as a pathogenetic correction of disorders identified in the thymus. As a result of the morphological studies of the thymus, it was established that under the influence of the Complex in experimental rats, in the dynamics of aseptic inflammation, the border of the cortical zone was restored, which contributed to an increase in the corticomedullary ratio due to an increase in the cellularity of lymphocytes in the cortex and, accordingly, the cellularity of the thymus. As a result of pathogenetic correction with the Complex, the content of lymphocytes in the total leukocyte fraction of the blood significantly increased during the height of inflammation, and at the stage of resolution of inflammation it returned to the control level, which was significantly different from the group of animals with aseptic inflammation without correction with the Complex.

Key words: Thymus, aseptic inflammation, experiment, rats

Введение: Воспалительный процесс рассматривается как неотъемлемый защитный механизм, критически важный для поддержания здоровья [1]. Реакция иммунной системы в ответ на патогены, собственные поврежденные клетки при воздействии различных токсичных веществ направлена на устранение последствий их повреждающего воздействия и запуск процесса заживления. Так, смягчение и минимизацию последствий повреждения ткани во время острой фазы воспаления обеспечивают эффективные клеточные и молекулярные процессы [2]. Это способствует восстановлению тканевого гомеостаза и разрешению острой фазы. Непосредственное отношение к этим процессам имеет тимус, как один из центральных органов иммуногенеза, где происходит созревание и дифференцировка Т-клеток [3-5]. Являясь первичным лимфоидным органом, тимус является местом, где формируются и созревают Т-лимфоциты (Т-клетки). Доказано, что от функции тимуса, где модулируется развитие и созревание лимфоцитов, зависит течение патологического процесса [6]. Таким образом, учитывая ключевую роль тимуса, исследование его морфологической картины может обеспечить новую стратегию патогенетической коррекции воспалительного процесса неинфекционного происхождения.

Цель исследования: Изучить морфологическую картину асептического воспаления у экспериментальных крыс с целью применения патогенетической коррекции при помощи нового синтезированного соединения Комплекс.

Методы исследования: При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях», Страсбург 18 марта 1986 г. Эксперименты одобрены этическим комитетом Казахского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова (протокол №3 (94) от 25.03.2020 г.). Эксперименты проведены на 50 белых беспородных крысах-самцах массой тела 180–220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе. Проведены 3 серии экспериментов: 1 серия – контрольные

животные (К); 2 серия – экспериментальное воспаление у интактных животных (АВ), которое моделировали путем подкожного введения 0,3 мл скипидара на вазелиновом масле в межлопаточную область [7]; 3 серия – животным после моделирования асептического воспаления вводили Комплекс (АВ/Комплекс), синтезированный в АО «Институт химических наук имени А.Б. Бектурова», в дозе 325 мг/кг, растворяя в физиологическом растворе, и вводили подкожно в объеме 0,5 мл в течение 10 дней. Исследования проводили на 7 и 14 сутки после моделирования асептического воспаления (в каждой серии было по 10 крыс). Животных выводили из эксперимента под анестезией Золетил-Ксилазином, производили забор крови и тимуса.

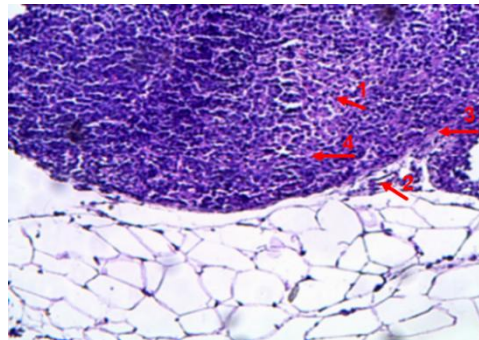
Проводили ежедневный визуальный контроль за состоянием животных, фиксируя состояние раны, активности, массу тела, аппетит и т.д.), оценку крови проводили с помощью определения общего количества лейкоцитов, лейкоформулы (по общепринятой методике);

Тимус фиксировали в 10% нейтральном формалине, после фиксации ткани тимуса отмывали от фиксатора, обезжизняли и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 7–8 мм окрашивали гематоксилин-эозином. Препараты исследовали с помощью светового микроскопа Axio ZEISS Lab.A1 со встроенной цифровой камерой AxioCamERc5s (Германия) при увеличениях в 100 и 200 раз.

Статистический анализ. Переменные анализировали с помощью одностороннего анализа ANOVA с апостериорным критерием Тьюки-Крамера, значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Значения выражены как среднее \pm стандартное отклонение по крайней мере шести независимых экспериментов. GraphPad Prism 4 использовался для создания и проектирования графики данных.

Результаты и обсуждение: При светооптическом исследовании тимуса у контрольных крыс отмечалось дольчатое строение органа, где дольки оказались равноценными по величине (рисунок 1 - Контроль). Соединительнотканная капсула тимуса и междольковые перегородки представлены тонкими и гладкими очертаниями.

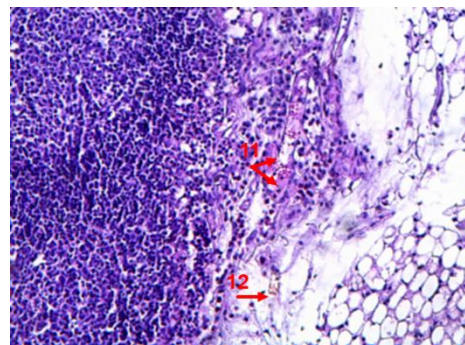
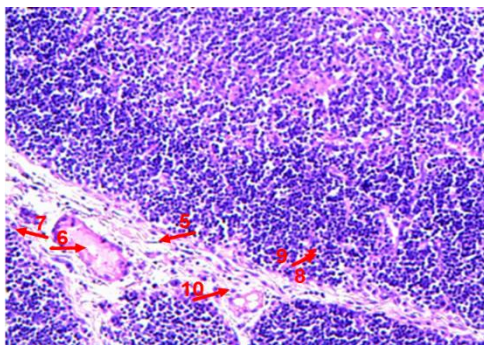
Контроль



АВ

АВ/Комплекс

через 7 суток



через 14 суток

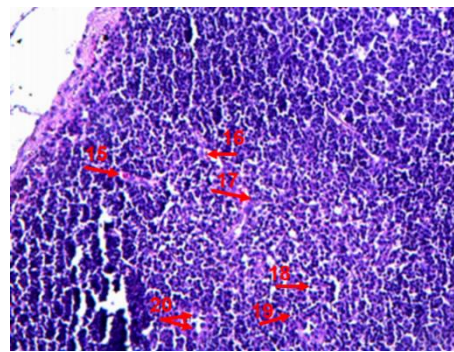
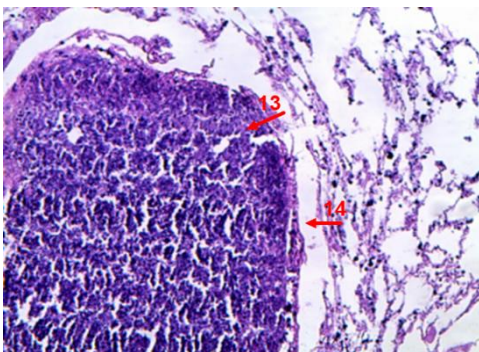


Рисунок 1 - Микроскопическая картина тимуса экспериментальных животных с асептическим воспалением

Ткань тимуса фиксировали в парафине и окрашивали гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$. Показаны гистологические слайды для группы **Контроль**: микроскопическая картина тимуса: 1 - макрофаги, плазмоциты; 2 - просвет сосуда; 3 - перегородка; 4 - плазмоциты; для группы **АВ**: **через 7 суток** после начала эксперимента: 5 - отек междольковой соединительной ткани; 6 - просвет сосуда; 7 - нейтрофилы; 8 - лимфоцит в состоянии апоптоза; 9 - лимфоцит в состоянии апоптоза; 10 - нейтрофилы; **через 14 суток** после начала эксперимента: 13 - лимфоцит; 14 - отек; для группы **АВ/Комплекс**: **через 7 суток** после начала эксперимента: 11 - тельца Гассаля; 12 - стертые границы между корковым и мозговым слоем; **через 14 суток** после начала эксперимента: 15 - тельца Гассаля;

В периваскулярном пространстве выявлены единичные макрофаги, лимфоциты, а субкапсулярная

зона была коры представлена 1–2 слоями больших лимфоцитов.

Таким образом, в тимусе контрольных крыс патологических изменений не обнаружено, что соответствовало морфологической картине нормы. Далее проводили исследование в группе АВ через 7 суток после моделирования асептического воспаления (рисунок 1 – АВ через 7 суток). Течение воспаления в течение 7 суток сопровождалось отеком стромы, увеличением перикапиллярного пространства. Наблюдали полнокровие сосудов, а также лимфоциты в состоянии апоптоза. По сведениям *Willard-Mack CL et al.* [8], апоптоз лимфоцитов может быть результатом стресса (высвобождение глюкокортикоидов), что, по-нашему предположению, явилось результатом развития воспаления. Авторы также утверждают, что низкий уровень апоптоза лимфоцитов в тимусе считается нормальным физиологическим отклонением. Через 14 суток в структуре капсулы тимуса сохранялись явления отека (рисунок 1 – АВ через 14 суток). Наблюдались убыль лимфоцитов из коркового слоя и появление коллабироваия ретикулярной сети долек, также было видно небольшое снижение количества мелких тимических телец. Обнаружены неравномерно полнокровные кровеносные сосуды, а также мелкоочаговые кровоизлияния с примесью лейкоцитов и лимфоцитов. В исследованиях ряда авторов [9-11] показано, что как острая, так и хроническая инфекции вызывают истощение тимоцитов, особенно кортикальных лимфоцитов и провоцируют изменения в воспалительных и супрессорных путях. Животным группы АВ/Комплекс проведена патогенетическая коррекция, после чего была исследована морфологическая картина тимуса. Ткань тимуса на 7 сутки была представлена с окружающей жировой тканью, дольчатого строения (рисунок 1 – АВ/Комплекс через 7 суток). Границы между мозговыми и корковыми веществами представлены стертыми. Клеточное корковое вещество состояло из лимфоцитов и моноцитов и типичных макрофагов. В мозговом веществе имелись с трудом определяемые тельца Гассала. Морфологическая картина оказалась характерной для гуморальной иммунной реакции тимуса. По литературным источникам [8-10], тельца Гассала участвуют в очистке клеточного мусора, которыми могут являться лимфоциты в состоянии апоптоза. По-видимому, тельца Гассала практически не определялись вследствие уменьшения апоптоза лимфоцитов, что, возможно, свидетельствовало об эффективности недельной коррекции Комплексом. На 14-е сутки морфология тимуса оказалась мало изменена, дольчатого строения с четко различимой границей корковой зоны, узкими междольковыми прослойками и полнокровием сосудов. Клеточная ткань состояла из тимоцитов, малых, средних и больших лимфоцитов, также плазмоцитов. В мозговой зоне наблюдали единичные тельца Гассала. Морфологическая картина оказалась характерной для слабовыраженной тимомегалии. Таким образом, под влиянием Комплекса повышалось кортико-медулярное соотношение за счет увеличения клеточности лимфоцитов в корковом веществе, что, по-нашему мнению, и восстановило клеточность тимуса. Кровь и лимфоидные органы имеют схожие структурные и функциональные особенности и одинаково реагируют на разные проблемы.

Уникальность лимфоцитов заключается в том, что различные субпопуляции лимфоцитов функционально различны, но взаимосвязаны. Наши дальнейшие исследования были сосредоточены на определении лимфоцитов в периферической крови. На рисунке 2 представлены результаты определения содержания лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови экспериментальных крыс. Согласно проведенного исследования, через 7 суток в группах АВ и АВ/Комплекс обнаружены высокие показатели лейкоцитов. Так, содержание лейкоцитов в обеих группах статистически значимо превышали значения контроля в 1,5 и более раза ($p=0,0095$; $p=0,0046$). Через 14 суток содержание лейкоцитов под влиянием Комплекса вернулось к контрольным значениям, тогда как в группе АВ оставалось выше контроля и АВ/Комплекс на 51,9% ($p=0,0755$) и 67,5% ($p=0,0322$). В ряду лейкоцитарной фракции лимфоциты занимали существенную позицию.

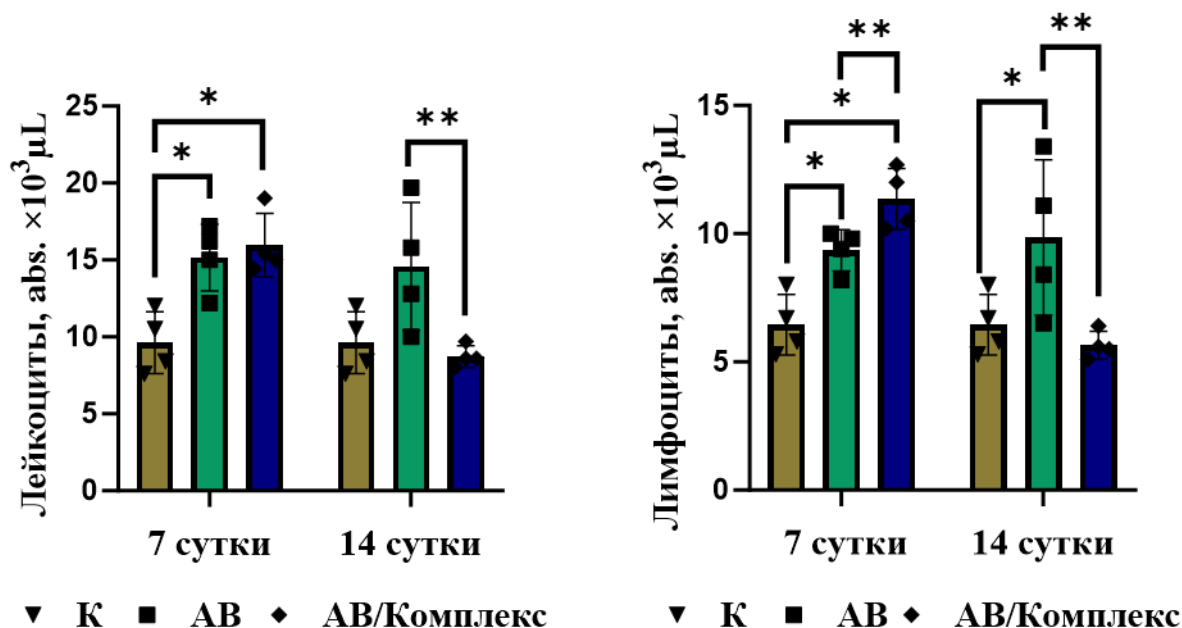


Рисунок 2 - Содержание лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови экспериментальных крыс в динамике наблюдения. Значения *p* указаны как: * *p* < 0,05 по сравнению с К; ** *p* < 0,05 по сравнению с соответствующей группой АВ.

Так, в динамике воспаления 7 сутки сопровождалось статистически значимым повышением лимфоцитов в группе АВ на 46,1% (*p*=0,0067). Однако, под влиянием Комплекса значения лимфоцитов статистически значимо повышались выше уровня АВ на 20,7% (*p*=0,0323), выше уровня контроля на 77,3% (*p*=0,0011). Через 14 суток комплекс вернул значения лимфоцитов к контрольному уровню, тогда как в группе АВ лимфоциты оставались на предыдущем уровне.

Выводы: Результаты морфологических исследований тимуса показали, что течение асептического воспаления в группе АВ сопровождалось наличием лимфоцитов в состоянии апоптоза и истощением тимоцитов коркового слоя.

1. Под влиянием Комплекса у экспериментальных крыс в динамике течения асептического воспаления восстановилась граница корковой зоны, что способствовало повышению кортико-медуллярного соотношения за счет увеличения клеточности лимфоцитов в корковом веществе и, соответственно, клеточности тимуса.

2. В результате патогенетической коррекции Комплексом существенно повышалось содержание лимфоцитов в общей лейкоцитарной фракции крови в период разгара воспаления, а на стадии разрешения воспаления вернулось к контрольному уровню, что существенно отличалось от группы животных с асептическим воспалением без коррекции Комплексом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES:

1 Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;14;9(6):7204-7218. DOI: 10.18632/oncotarget.23208. PMID: 29467962; PMCID: PMC5805548.

2 Lawrence T. The Nuclear Factor NF-κB Pathway in Inflammation. *CSH Perspect Biol*. 2009 Dec;1(6):a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651

3 Savino W, Durães J, Maldonado-Galdeano C, Perdigon G, Mendes-da-Cruz DA, Cuervo P. Thymus, undernutrition, and infection: Approaching cellular and molecular interactions. *Front Nutr*. 2022 Sep26;9:948488. DOI: 10.3389/fnut.2022.948488. PMID: 36225882; PMCID: PMC9549110.

4 Ciofani M, Zúñiga-Pflücker JC. The thymus as an inductive site for T lymphopoiesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:463–93. DOI:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123547

5 Diez-Quijada L, Casas-Rodriguez A, Guzmán-Guillén R, Molina-Hernández V, Albaladejo RG, Cameán AM, Jos A. Immunomodulatory Effects of Pure Cylindrospermopsin in Rats Orally Exposed for 28 Days. *Toxins (Basel)*. 2022 Feb 15;14(2):144. DOI: 10.3390/toxins14020144. PMID: 35202170; PMCID: PMC8877299.

6 Dai X, Hua L, Chen Y, Wang J, Li J, Wu F, Zhang Y, Su J, Wu Z, Liang C. Mechanisms in hypertension and target organ damage: Is the role of the thymus key? (Review). *Int J Mol Med*. 2018 Jul;42(1):3-12. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3605. Epub 2018 Mar 30. PMID: 29620247; PMCID: PMC5979885.

7 Kalra R, Singh SP, Pena-Philippides JC, Langley RJ, Razani-Boroujerdi S, Sopori ML. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of nicotine administered by patch in an animal model. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004 May;11(3):563-8. DOI: 10.1128/CDLI.11.3.563-568.2004. PMID: 15138183; PMCID: PMC404586.

8 Willard-Mack CL, Elmore SA, Hall WC, Harleman J, Kuper CF, Losco P, Rehg JE, Rühl-Fehlert C, Ward JM, Weinstock D, Bradley A, Hosokawa S, Pearse G, Mahler BW, Herbert RA, Keenan CM. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Hematolymphoid System. *Toxicol Pathol*. 2019 Aug;47(6):665-783. DOI: 10.1177/0192623319867053. PMID: 31526133; PMCID: PMC6752743.

9 Savino W. The thymus is a common target organ in infectious diseases. PLoS Pathog. 2006 Jun;2(6):e62. DOI: 10.1371/journal.ppat.0020062. PMID: 16846255; PMCID: PMC1483230.

10 Luo M, Xu L, Qian Z, Sun X. Infection-Associated Thymic Atrophy. Front Immunol. 2021 May 25;12:652538. DOI: 10.3389/fimmu.2021.652538. PMID: 34113341; PMCID: PMC8186317.

11 Deobagkar-Lele M, Chacko SK, Victor ES, Kadthur JC, Nandi D. Interferon- γ - and glucocorticoid-mediated pathways synergize to enhance death of CD4(+) CD8(+) thymocytes during Salmonella enterica serovar Typhimurium infection. Immunology. 2013 Apr;138(4):307-21. DOI: 10.1111/imm.12047. PMID: 23186527; PMCID: PMC3719942.

Вклад авторов: Все авторы принимали равносильное участие при написании данной статьи

Конфликт интересов – не заявлен.

Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами. При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами. Финансирование – не проводилось.

Авторлардың үлесі. Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

Мүдделер қақтығысы – мәлімделген жоқ. Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ. Қаржыландыру жүргізілмеді.

Authors' Contributions. All authors participated equally in the writing of this article.

No conflicts of interest have been declared. This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers. There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work. Funding - no funding was provide

Сведения об авторах:

№	ФИО (полностью)	Должность, место работы	Телефон	Эл.почта
1	Кайранбаева Гульгуль Кайранбаевна	Лектор кафедры патологической физиологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова	87786090306	kairanbayeva.g@kaznmu.kz
2	Балабекова Марина Казыбаевна	Заведующий кафедрой патологической физиологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова	87074402502	balabekova.m@kaznmu.kz
3	Балапанова Анар Хайржановна	Заведующий кафедрой патологической анатомии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова	87076133524	balapanova.an@kaznmu.kz
4	Edgaras Stankevicius	Директор Института физиологии и фармакологии Литовского университета наук о здоровье	+37068748989	edgaras.stankevicius@lsmuni.lt
5	Ю Валентина Константиновна	Заведующий лабораторией химии синтетических и природных лекарственных веществ Института химических наук им. А.Б. Бектурова	87019419690	yu_vk@mail.ru