

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘӨЖ: 612.017.1(043)

Қолжазба құқығында

ДӘУЛЕТ ГҮЛДАНА ДӘУЛЕТҚЫЗЫ

**Екіншілік миелодепрессиялық жағдайда синтетикалық азоттық
қосылыстардың миело- және лимфоцитопозз ынталандырушы
белсенділігін зерттеу**

8D05101-Биология

Философия докторы (PhD)

ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Ғылыми кеңесшілер:

б.ғ.к., доцент Бактыбаева Л.К.

б.ғ.д., профессор Беляев Н.Н.

Пастер атындағы Санкт-Петербург
эпидемиология және микробиология
ғылыми-зерттеу институты (Ресей)

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2024

МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР	6
АНЫҚТАМАЛАР	7
БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	9
КІРІСПЕ	11
ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ	21
1.1 Постнаталды даму кезеңіндегі қан түзілу физиологиясы	21
1.2 Гемопозтикалық бағаналы жасушалардың дифференциация бағыты	22
1.3 Гранулоцитопоз физиологиясы	24
1.4 Моноцитарлы-макрофагалды жасуша миелопоэзінің физиологиясы	25
1.5 Эмбрионалды және постнаталды даму кезеңіндегі Т-лимфопоэздің реттелуі	26
1.5.1 Тимустағы Т-лимфопоэздің арнайылығы	27
1.5.2 Аңғал Тreg-жасушаларының пролиферация, дифференциациясы мен функционалды жүктемесі	28
1.5.3 Эффекторлы Т-жасушалардың, Т-жад жасушалардың пролиферация, дифференциациясы мен функционалды жүктемесі	29
1.6 Эмбрионалды және постэмбрионалды даму кезеңіндегі В-лимфопоэздің дамуы	30
1.6.1 В-лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі	33
1.6.1.1 В-2 лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі	33
1.6.1.2 MZB-лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі	34
1.6.2 В-жад жасушаларының жетілуі және функционалды жүктемесі	35
1.6.3 В-реттеуші жасушалардың жетілуі және функционалды жүктемесі	37
2 Миело- және лимфоцитопоздепрессиялық жағдай және ынталандырушылар мен модуляторларды қолдану	38
2.1 Миело- және лимфоцитопозді ынталандыратын препараттар: түрлері, оң және теріс фармакологиялық қасиеттері	38
2.2 Эритропоэзынталандырушылар: түрлері, оң және теріс фармакологиялық қасиеттері	41
2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	43
2.1 Зерттеу материалдары	43
2.1.1 Жануарлар	43
2.1.2 Зерттелетін қосылыстар	43
2.2.1 Егеуқұйрықтардың перифериялық қанындағы гемоынталандырушы белсенділікті зерттеуге арналған тәжірибелік дизайн	45

2.2.2	Миело- және лимфоцитопозз ынталандырушы белсенділікті зерттеуге арналған тәжірибелік дизайн	47
2.2	Зерттеу әдістері	48
2.2.1	Фосфатты-тұзды буферін (PBS) және колонка буферін дайындау әдісі	48
2.2.2	Сүйек кемігінің жасушалығын бағалау	48
2.2.3	Көкбауырдың жасушалығын бағалау	49
2.2.4	Тимустың жасушалығын бағалау	49
2.2.5	Ағынды иммуноцитофлуориметрия әдісін жүргізу	49
2.3	Статистикалық талдау	50
3	НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	51
3.1	Циклофосфамид әсерінен кейінгі лимфо-миелоидты мүшелердегі субпопуляцияларының өзгерістері	51
3.1.1	Циклофосфамидтің Т- лимфоцитопоззге әсері	51
3.1.2	Циклофосфамидтің В-лимфоцитопоззге әсері	54
3.2	Циклофосфамид негізіндегі қанның гематологиялық көрсеткіштерінің өзгерістері бойынша қосылыстардың скринингі	56
3.2.1	Биспидин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	56
3.2.2	Диенон қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	61
3.2.3	Пиразолопиридин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	65
3.2.4	Пиперазин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	69
3.2.5	Пиперидин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	75
3.2.6	Тримакаин иондық қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу	81
3.3	Сүйек кемігі, тимус және көкбауырдың жасушалығын бағалау	88
3.3.1	Сүйек кемігінің, тимустың және көкбауырдың салмағын, жалпы жасуша саны мен жасушалығын талдау	88
3.3.1.1	Тимустың салмағы, жалпы жасуша саны және жасушалығы	88
3.3.1.2	Көкбауырдың салмағы, жалпы жасуша саны және жасушалығы	90
3.3.1.3	Сүйек кемігінің жалпы жасуша саны және жасушалығы	92
3.4	BIV және TIS әсерінен лимфо-миелоидты мүшелердегі (ГБЖ, Т-, В-лимфоциттер) субпопуляцияларының қайта қалпына келуі	94
3.4.1	Жаңа синтезделген BIV және TIS қосылыстарының сүйек кемігіндегі ГБЖ, Т-лимфоциттер деңгейінің қайта қалпына келуіндегі белсенділігі	94
3.4.2	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде тимикалық Т-лимфоцитопозз және жаңа синтезделген BIV, TIS қосылыстарымен тимустағы Т-лимфоциттер деңгейінің қалпына келу белсенділігі	96

3.4.3	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде гомеостатикалық спленоцитарлы Т-лимфопоэз және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарымен қайта қалпына келу белсенділігі	103
3.4.4	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі, тимикалық және гомеостатикалық спленоцитарлы Т-лимфоцитопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының сүйек кемігіндегі, тимустағы, көкбауырдағы Т-лимфоциттер деңгейінің қалпына келуіндегі белсенділігін талдау	112
3.4.4.1	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі Т-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпын келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	112
3.4.4.2	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде тимустағы Т-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	116
3.4.4.3	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде көкбауырдағы Т-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	119
3.4.5	Циклофосфамидтің лимфо-миелоидты мүшелерге цитостатикалық әсері және қалпына келудегі ВІV, ТІС қосылыстарының оң қасиеттері	121
3.5	ВІV және ТІС әсерінен лимфо-миелоидты мүшелердегі (ГБЖ, В-лимфоциттер) субпопуляцияларының қайта қалпына келуі	123
3.5.1	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кеміктік В-лимфопоэз және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарымен сүйек кемігіндегі В-лимфоциттер деңгейінің қалпына келуі	123
3.5.2	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде спленоцитарлы В-лимфопоэз және ВІV, ТІС қосылыстарымен көкбауырдағы В-лимфоциттердің қалпына келу белсенділігі	125
3.5.3	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі және көкбауырдағы спленоцитарлы В-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының В-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	131
3.5.3.1	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі спленоцитарлы В-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының В-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	131
3.5.3.2	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде көкбауырдағы спленоцитарлы В-лимфопоэздің және жаңа	

3.6	синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының В-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы	132
	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде ВІV және ТІС қосылыстарының сүйек кемігіне, спленоцитарлы регенеративті миелоцитопоззге әсері	138
3.6.1	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі, спленоцитарлы гранулоцито-моноцитопозз және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының гранулоциттер мен моноциттер/макрофагтар деңгейінің қалпына келуіндегі белсенділігі	138
3.6.2	Циклофосфамидпен ықпалдандырылған сүйек кемігіндегі эритроцитопозз және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының эритроцитопозз деңгейін қалпына келтірудегі белсенділігі	142
	ҚОРЫТЫНДЫ	146
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	149
	ҚОСЫМША А	174
	ҚОСЫМША Ә	175
	ҚОСЫМША Б	176
	ҚОСЫМША В	177
	ҚОСЫМША Г	178
	ҚОСЫМША Д	179

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертация мемлекеттік ұйымдардың келесі бұйрықтарына, нұсқауларына және рұқсаттарына сәйкес жазылған:

«Биологиялық белсенді заттарға клиникаға дейінгі (клиникалық емес) зерттеулер жүргізу қағидаларын бекіту туралы» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау Министрінің 2020 жылғы 4 қарашадағы ҚР ДСМ-181/2020 бұйрығы.

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің жергілікті этикалық комиссиясының 2020 жылғы 12 маусымдағы №470 рұқсаты, ұзарту мерзімі 2021 жылғы 10 маусым, соңғы ұзарту 2022 жылғы 9 маусым. Жарамдылық мерзімі 2023 жылдың 8 тамызына дейін.

Қазақстан Республикасында биологиялық белсенді заттардың клиникаға дейінгі зерттеулерін және (немесе) сынақтар жүргізу жөніндегі нұсқаулық (Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау Министрінің 2005 жылғы 14 ақпандағы №51 бұйрығы).

АНЫҚТАМАЛАР

Бұл диссертацияда келесі терминдер сәйкес анықтамаларымен қолданылды:

В-лимфоцит – (*bursa fabricii* атауына байланысты, алғашқы рет осы мүшеде табылған) – гуморальдық иммунитетті қамтамасыз етуде маңызды рөл атқаратын лимфоциттердің функционалды түрі.

V_{mem} – В-жад жасушалары – белсендірілген В-лимфоциттер. Олар В-жасушаларының ұзақ өмір сүретін клоны болып табылады, жылдам иммундық жауап береді және бір антиген қайта енген кезде иммуноглобулиндердің көп мөлшерін өндіреді.

Гемопоз – омыртқалы жануарларда қан жасушаларының – лейкоциттердің, эритроциттердің, тромбоциттердің түзілу, даму және жетілу процесі. Эмбрионалды (жатырішілік) және постэмбрионалды қан түзілуі болып жіктеледі.

Гемопоз ынталандырушы белсенділік – қан жасушаларын гемопозге ынталандыратын қосылыстардың белсенділік түрі.

Лимфоцитопоз ынталандырушы белсенділік – лимфо-миелоидты кешен мүшелерінің лимфоидты жасушаларын лимфоцитопозге ынталандыратын қосылыстардың белсенділік түрі.

Миелопоз – сүйек кемігінде миелоидты жасушалардың, соның ішінде гранулоциттердің – нейтрофилдердің, эозинофилдердің және базофилдердің (гранулопоз деп аталады) және моноциттердің (моноцитопоз деп аталатын) реттеліп түзілуінен тұратын қан түзілу процестерінің бөлігі.

Миелопоз ынталандырушы белсенділік – сүйек кемігіндегі миелопозді, миелоидты жасушаларды ынталандыратын қосылыстардың белсенділік түрі.

Т-лимфоциттер – Т-жасушалар (лат. *thymus* "тимус") – сүтқоректілерде қызыл сүйек кемігінен тимуска келетін ізашар-претимоциттерден дамитын лимфоциттер.

CD маркерлер – Дифференциация кластері (ағылшын тілінен: *cluster of differentiation, cluster designation*) – лимфоциттер субпопуляциясының беткейлік маркерлі ақуыздарының белгіленуі үшін қолданылады.

c-kit⁺ (ГБЖ) – гемопозэтикалық бағаналы жасушалары - сүйек кемігінің жасушалары, олардан дифференциация және жетілу нәтижесінде қан жасушаларының барлық түрлері: эритроциттер, тромбоциттер және лейкоциттердің әртүрлі түрлері таралады.

CTL - Цитотоксикалық Т-лимфоциттер – Т-киллерлер (ағылшын тілінен: *killer*) – ағзаның өзіндегі зақымдалған жасушаларды лизиске ұшырататын Т-лимфоциттердің бір түрі.

MZB-лимфоциттер – маргиналды аймақ В-жасушалары (MZB) көкбауырдың маргиналды аймағында орналасқан, ол ақ пульпаны қызыл пульпадан бөліп тұрады.

Pre-B-лимфоциттер – Пре-В-жасушалар - В-лимфоциттің дамуына шыққан жасуша түрі (ағылшын тілінен: "pre" сөзі - precursor).

Pro-B-лимфоциттер – Про-B-лимфоциттердің дамуына шыққан жасуша түрі, олар ерте (про-B-I) және кеш (pro-B-II) болып бөлінеді;

T_{mem} - Т-жад жасушалары – бұрын әсер еткен антигендер туралы ақпаратты сақтайтын және екінші иммундық жауапты құрайтын Т-лимфоциттердің популяциясы, ол біріншілік иммундық жауапқа қарағанда қысқа мерзімде жүзеге асырылады, өйткені ол осы процестің негізгі кезеңдерін айналып өтеді.

Transite В-лимфоциттер – транзиторлы В-жасушалары;

Th-лимфоциттер – Т-хелпер (ағылшын тілінен: *helper*-көмекші) лимфоцит, CD4⁺ Т-жасушалары немесе CD4⁺-оң лимфоциттер деп те аталады - реттеу қызметін атқаратын Т-жасушалардың бір түрі, иммундық жүйенің басқа жасушаларын реттеу қызметін (Т-киллерлер, В-лимфоциттер, макрофагтар, NK жасушалары) атқарады, антигендерді таниды және алынған жасушалық иммундық жауап механизмдерінің жұмыс істеу процестерін іске қосу немесе тоқтату туралы «шешім қабылдайды».

FO-B - лимфоциттер – фолликулярлық В-лимфоциттер (FO-B).

FoxP3⁺ Treg жасушалары – Т-реттеуші лимфоциттер, Т-супрессорлар (ағылшын тілінен: *regulatory T cells, suppressor T cells, Treg*) - иммундық жауаптың орталық реттеушілері.

Mature В – лимфоциттер – жетілген В жасушалары – IgD синтезінің бастамасы.

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

АПЖ	- антигенпрезентациялаушы жасуша
АТН	- ауыр туа біткен нейтропения
БИВ	- биологиялық ынталандырушы қосылыс
ГБЖ	- гемопоэтикалық бағаналы жасуша
ДЖ	- дендриттік жасуша
ЛПИ	- лейкоциттік протеаза ингибиторы
МДП	- мурамилпептидті препараттар
МП	- миелопептидтер
ТАЭ	- тәжірибелік аутоиммунды энцефаломиелит
ЦТЛ	- цитотоксикалық Т-лимфоцит
ЦФ	- циклофосфамид
ЭПО	- эритропоэтин
ВА	- (comparative basophil value) базофилдердің салыстырмалы саны
BAS	- (absolute basophil value) базофилдердің абсолютті саны
BM	- (Bone marrow) сүйек кемігі
BIV	- (Biological immunostimulating value) биологиялық ынталандырушы қосылыс
c-kit	- гемопоэтикалық бағаналы жасушалардың белокты тирозинкиназасы
CLP	- (Common lymphoid progenitors) жалпы лимфоидты ізашарлар
CMF	- (Common myeloid progenitors) жалпы миелоидты ізашарлар
DN	- (double negative) қос негативті
DP	- (double positive) қос позитивті
EDTA	- (Ethylenediaminetetraacetic acid) этилендиаминтетрасірке қышқылы
ETP	- (early thymus progenitors) ерте тимус ізашарлары
FITC	- (fluorescein isothiocyanate) флуоресцеинизотиоцианат
FoxP3 ^{T_{reg}}	- Т-реттеуші жасушалардың Forkhead box P3
GMP	- (granulo-monocyte progenitors) грануло-моноцит ізашарлары
HCT	- (hematocrit) гемокрит
HGB	- (hemoglobin) гемоглобин
HLA	- (human leucocyte antigen) адамның лейкоцитарлы антигені
In vivo	- тұтас тірі ағзада жасалынатын зерттеу
In vitro	- оқшауланған жасуша культурасында, ұлпа, мүше, мүшелер жүйесінде жүргізілетін зерттеу
IL-2	- (interleukin 2) интерлейкин-2
LLPC	- (long lived plasma cells) ұзақ өмір сүретін плазмалық жасушалар
LN	- (lymph nodes) лимфа түйіндері
LY	- (comparative lymphocytic value) лимфоциттердің салыстырмалы саны

LYM	- (absolute number of lymphocyte value) лимфоциттердің абсолютті саны
MALT	- (mucosa-associated lymphoid tissue) шырышты қабықпен байланысты лимфоидты ұлпа
MCH	- (the average content of hemoglobin) гемоглобиннің орташа көлемі
MCHC	- (the average concentration of hemoglobin in red blood cells) эритроциттегі гемоглобиннің орташа концентрациясы
MCV	- (the average volume of erythrocytes) эритроциттердің орташа көлемі
MDP	- (Monocyte-dendritic progenitors) моноцит-дендриттік ізашарлар
MEP	- (megakaryocyte–erythroid progenitors) мегакариоцитарлы-эритроиды ізашарлар
MHC	- (major histocompatibility complex) негізгі гистосәйкестік кешені
MO	- (comparative monocyte value) моноциттердің салыстырмалы саны
MON	- (absolute monocyte value) моноциттердің абсолютті саны
MPV	- (the average volume of platelets) эритроциттердің орташа көлемі
MU	- (methyluracil) Метилурацил
NE	- (comparative neutrophil value) нейтрофилдердің салыстырмалы саны
NEU	- (absolute neutrophil value) абсолютті нейтрофилдер саны
PBS	- (phosphate-buffer saline) фосфатты-тұзды буфер
PCT	- (trombocyte) тромбоцит
PDW _c	- (the latitude distribution of platelets) тромбоциттердің көлем бойынша салыстырмалы таралуы
PE	- (phycoerythrin) фикоэритрин
PL	- (placebo) плацебо
PLT	- (total platelets volume) жалпы тромбоциттер саны
RBC	- (total erythrocytes value) жалпы эритроциттер саны
RDW _{SD}	- (the latitude distribution of red blood cells) эритроциттердің көлем бойынша таралуы
SLPC	- (short lived plasma cells) қысқа өмір сүретін плазмалық жасушалар
SP	- (single positive) жалғыз позитивті
TCR	- (T cell receptor) Т-жасушалық рецептор
Th _{act}	- белсендірілген Т-хелпер
T _{mem}	- Т-жад жасушасы
T _{emra}	- эффекторлық Т-жасушасы
T _{naiv}	- Т-аңғал жасуша
TIC	- (Trimecain ionic compound) тримекаинның иондық қосылысы
UT	- (Untreated group) сау жануарлар тобы
WBC	- (total leukocyte count) жалпы лейкоциттер саны

КІРІСПЕ

Зерттеу жұмысының жалпы сипаттамасы: Диссертация циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік миело- және лимфоцитопоздепрессиялық жағдайда жасушалар құрамы деңгейінің өзгеруін зерттеуге және циклофосфамидпен ықпалдандырылған миело-, лимфоцитопоздепрессиялық жағдайда перифериялық қандағы жасушалар құрамы деңгейін қалпына келтіруде, лимфо-миелоидты мүшелерде миелопозз-және лимфоцитопозз ынталандырушы синтетикалық азотты қосылыстардың тиімді, белсенді қосылыстарын іздеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі: Қазақстан Республикасының қазіргі Президенті Қасым-Жомарт Тоқаевтың 2021 жылғы халыққа жолдауына сәйкес фармацевтикалық нарықты дамыту бойынша өткір мәселелер қойылды: «Елдің ұлттық қауіпсіздігін дені сау халық қамтамасыз етеді, оны денсаулық сақтау құрылымдары қолдауы тиіс. Медицина саласы қомақты қаржыландыруды қажет етеді. Әңгіме инфрақұрылым, кадрлар, дәрі-дәрмекпен қамтамасыз ету туралы болып отыр. Фармацевтика өнеркәсібі ерекше назар аударуды талап етеді. Отандық өндірістегі дәрілік заттар мен медициналық құралдардың үлесін 2025 жылға дейін қолда бар 17%-дан 50%-ға дейін жеткізу қажет» [1]. Осылайша, Қазақстан Республикасының Президенті еліміздегі фармацевтикалық нарықтың дамуымен жеке дәрілік заттардың фармакологиялық әзірлемелерін дамытудың және оларды фармацевтикалық өндіріске енгізудің өткір мәселесін өзекті етіп, атап өтті.

Осы сала бойынша өзекті мәселелердің бірі – миелопозз- және лимфоцитопозз ынталандырушы белсенділігі бар препараттарды жасау. Бұл бағыт жаңа, миелопозздің екінші түрімен және лимфоцитопозздік депрессиямен ауыратын науқастардың пайыздық көрсеткішінің артуына байланысты өзекті болып табылады [2].

Екіншілік миелопозз- және лимфоцитопозздепрессивті жағдай келесідей себептерге байланысты туындайды: теріс экологиялық фактор; ауыр вирустық және бактериялық инфекциялар (постинфекциялық түрлері); цитостатиктердің онкология, ревматология, аллергология, дерматология, жүрек-қан тамыр, стоматология, травматология, трансплантациялық тәжірибеде (яторогенді түрлері); дұрыс тамақтанбау мен қоректік заттардың дұрыс сіңбеуіндегі бұзылыстары (алиментарлы түрлері); иондық радиациялардың әсері, стресс (постстресс түрлері); метаболикалық синдром (метаболика түрлері) [3-5].

ДДҰ қоршаған ортаның әсерінен туындайтын миелопозз- және лимфоцитопозздепрессивті жағдай адам ауруларының 20% құрайды деп есептейді. Сыртқы ортаның ластануы жыл сайын 1,7 миллион 5 жасқа дейінгі баланың, 5 миллион ересек адамның өмірін қияды [6-10].

Қазақстан Республикасы бүкіл әлем сияқты, экожүйенің нашарлауын тудыратын урбанизация мен индустрияландыру бағыттарының өсуімен сипатталады. Қазақстандағы қазіргі жағдай қоршаған ортаның нашарлауы тек әл-ауқатқа ғана емес, сонымен қатар халықтың өміріне де қатер төндіретіндей. Республика аумағының төрттен бір бөлігінен астамы әскери полигондардағы

сынақтардың салдарынан өмір сүруге жарамсыз болып табылады, өнеркәсіптік кәсіпорындар өз қызметтерінен кейін улы өнеркәсіптік қалдықтарды қалдырады, ал ауыл шаруашылығында арамшөптер мен жәндіктермен күресу үшін тонналап улы химикаттар қолданылады [11]. Мұндай экологиялық жағдай ҚР халқының әрбір 10-шы адамы экологиялық миелопоз- және лимфоцитопоздепрессиялық жағдайдан зардап шегуіне әкеледі.

Миело- және лимфоцитопоздің зақымдануының ятрогендік түрі цитостатикалық препараттарды емдік мақсатта пайдаланатын науқастардың көбеюіне байланысты жыл сайын артып келеді. Қазіргі таңда, Қазақстан Республикасында диспансерлік есепте тұрған халықтың 38%-дан астамы цитостатиктерді онкологиялық, ревматологиялық, дерматологиялық, аллергиялық ауруларды емдеуде, стоматология, травматология, косметология және трансплантология тәжірибесінде қолданады [12, 13].

Миело- және лимфоцитопоздің зақымдануының алиментарлы түрі тағамдық жеткіліксіздікпен байланысты; сақтау мерзімі ұзақ, консервіленген өнімдерді тұтынудың артуы; қоректік заттардың сінуінің бұзылуы [14]. Бұл, әлеуметтік жағдайы нашар халықта, соның ішінде созылмалы аурулары бар науқастарда байқалады [15, 16].

Жүре пайда болған миело- және лимфоцитопоздепрессиялық жағдай созылмалы инфекциялық, саңырауқұлақтық, паразитарлық аурулар мен онкологиялық ауруларға, асқынулары бар атеросклерозға (миокард инфарктісі, цереброваскулярлық бұзылыс және т.б.), аутоиммунды этиологиялы қант диабеті, аллергиялық және аутоиммундық ауруларға әкеледі. Әлемдік медициналық тәжірибе үшін сүйек кемігінің, қанның гемо- және лейкограмма көрсеткіштерін қалпына келтіру, туа біткен және адаптивті иммунитеттің қорғаныс механизмдерін ынталандыру және белсендіру арқылы ауыр ауруларды жеңуге болатыны белгілі болды. А.Г.Хоменко былай деп жазады: «Иммундық жүйедегі репаративті процестерді ынталандыратын әдістерді қолдану инволюция процестерін жеделдетіп қана қоймай, емдеудің жалпы ұзақтығын қысқартуға мүмкіндік береді» [17]. Сондықтан, науқастарды емдеуде оңтайлы клиникалық әсерге дененің қорғаныс күштері мен дәрілік заттардың әсер етуінде синергизм болған жағдайда ғана қол жеткізуге болатыны анық. Осыған байланысты қазіргі уақытта лимфо-миелоидты мүшелерде және перифериялық қанда миело- және лимфоцитограмма көрсеткіштерін қалпына келтіруге қабілетті препараттарға қызығушылық күрт артты.

Белгілі болғандай, ағзаның қорғаныс күші мен дәрілік заттардың бірлесуінен тұратын әсерінің болуы науқастардың клиникалық тиімді терапиясына жеткізуі мүмкін. Осыған байланысты, қазіргі таңда лимфо-миелоидты мүшедегі миело- және лимфоцитограмма көрсеткіштерін қалпына келтіретін препараттарға деген қызығушылық бірден артты.

Бұл бағыт тиімді миелопоз- және лимфоцитопоз ынталандырушы препараттарды алу, иммуноонкология үшін онковакциналарды өндеуде өзекті. Миелопоз және лимфоцитопоз ынталандырушы препараттар жасушаларды *in vitro* өсіру кезінде қажет.

Сонымен қатар, бұл мәселе ауыр жанама әсерлері бар қолданылатын миелопозз- және лимфоцитопозз ынталандырушы препараттардың жетілмегендігіне де байланысты өзекті. Бүгінгі күні препараттар келесі ауқымда ұсынылған: биогендік заттар (тимус, көкбауыр мен сүйек кемігінен алынған препараттар, интерлейкиндер) және синтетикалық қосылыстар.

Жоғары пирогендік және сенсбилизациялық қасиеттеріне байланысты экзогендік микробтық текті лейкопозз ынталандырушы сирек қолданылады. Екінші мен үшінші буынның тимикалық препараттары тек аурухана жағдайында және дәрігердің бақылауымен тағайындалады. Олар «цитокиндік дауылға» және сепсиске дейін ауыр нәтиже беретін иммундық жауаптардың каскадын тудырады. Миелопептидтер кеңінен қолданылады, бірақ негізгі жанама әсері ауыр ауқымды аллергиялық реакциялар болып табылады. Цитокиндік препараттарды қабылдау өте қиын және тіпті ең төменгі мөлшерде (10^{-6} - 10^{-12}) ағзаның күрделі бақыланатын иммундық жауаптарын тудырады. Нуклеин қышқылдарының синтетикалық және табиғи препараттары барлық жасушалардың өсуі мен бөлінуін ықпалдандырады, атап айтқанда: эукариот, прокариот, қатерсіз, қатерлі. Шөптік препараттарды тағамдық қоспа, адаптогендерге жатқызады [18].

Химиялық таза препараттарды екі топқа: төмен молекулалық және жоғары молекулалық деп бөлуге болады. Төмен молекулалы препараттардың шығу тегі Левамизол (Декарис) – фенилимидазоль. Левамизол, сондай-ақ БЦЖ, лейкопозз ынталандырушы препарат ретінде АҚШ және Батыс Еуропада медициналық қолдануға рұқсат етілген алғашқы препараттардың бірі болып табылады. Бұл топтың қызығушылық туындатып отырған препараты - Диуцифон, Галавит. Полиоксидоний – жоғары молекулалы химиялық таза препарат [19]. Препараттың қолданылу ауқымы өте тар.

Ұсынылған миелопоззді және лимфоцитопоззді ынталандыратын препараттар, қолданылатын препарат ауқымының жеткіліксіз және препараттың әр тобында ауыр жанама әсерлердің бар екенін көрсетеді, синтетикалық препараттар неғұрлым перспективті топ болып табылады. Осылайша, диссертациялық жұмыстың өзектілігі келесі жайттарға байланысты:

1. Қазақстан Республикасында Президент еліміздегі фармацевтикалық нарықтың дамуымен жеке препараттардың фармакологиялық әзірлемелерін жасау мен оларды фармацевтикалық өндіріске енгізудің өзекті мәселесін атап өтті.

2. Дүниежүзілік фармацевтикалық нарықта медициналық тәжірибеде қолдану мен онковакциналарды әзірлеу үшін миело- және лимфоцитопозз ынталандырушы препараттарға сұраныстың өсу бағыты.

3. Миелопозз- және лимфоцитопозз ынталандырушы белсенділігі және төмен деңгейде жанама әсерлері бар қосылыстарды синтездеу бағыты әзірленбеген. Терапевтикалық тәжірибеде миелопозз- және лимфоцитопозз ынталандырушы препараттардың қолданылу ауқымы өте мардымсыз, әр топ препараттың ауыр жанама әсері бар, көбінесе синтетикалық препараттар перспективалы болып табылады.

Жұмыстың мақсаты: циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік миелопоэз- және лимфоцитопоэздепрессиялық жағдайда жасуша деңгейінің өзгеруін зерттеу мен екіншілік миелопоэз- және лимфоцитопоэздепрессиялық жағдайда жаңадан синтезделген азоттық қосылыстар арасынан, перифериялық қан, лимфо-миелоидты мүшелердегі қан жасушалары деңгейін тиімді қалпына келтіретін белсенді қосылыстарды іздеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік Т-лимфоцитодепрессиялық жағдайларды зерттеу.
2. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік В-лимфоцитодепрессиялық жағдайларды зерттеу.
3. Біріншілік скрининг жүргізу арқылы жаңадан синтезделген азотты қосылыстардан биспидин, диенон, пиразолопиридин, пиперазин, пиперидин құрылымдық ядролары бар және сұйық тримекаинді иондық заттарынан гемоинталандырушы белсенділігі жоғары қосылыстарды алу.
4. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған Т-лимфоцитодепрессия кезінде лимфо-миелоидты кешен мүшелеріндегі Т-лимфоциттердің деңгейінің қалпына келуіндегі жаңадан синтезделген ВІV және ТІС қосылыстарының белсенділігін талдау.
5. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитодепрессия кезінде лимфо-миелоидты кешен мүшелеріндегі В-лимфоциттердің деңгейінің қалпына келуіндегі жаңадан синтезделген ВІV және ТІС қосылыстарының белсенділігін талдау.
6. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия жағдайында ВІV және ТІС қосылыстарының сүйек кемігіне, спленоцитарлы регенеративті миелоцитопоэзге әсерін зерттеу.

Зерттеу объектілері мен материалдары: Зерттеуге БІВ-шифрымен 40 қосылыс алынды: 32 қосылыс құрылымында биспидинді, диенонды, пиразолопиридинді, пиперазинді, пиперидинді ядромен болды. 32 қосылыс А.Б. Бектуров атындағы химия ғылымдары ғылыми-зерттеу институтында «синтетикалық және табиғи дәрілік заттар химиясы» лабораториясында х.ғ.д, профессор Ю В.К. басшылығымен және 8 сұйық тримекинды иондық қосылыс Қазақ-Британ техникалық университетінің базасында, «химиялық инженерия» мектебінде PhD, профессор Зазыбин А.Г. басшылығымен синтезделген.

Зерттеу объектісі ретінде, әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология клиникасынан алынған ақ альбинос егеуқұйрықтар, Charles River зертханасынан (АҚШ) сатып алынып, Айқымбаев атындағы Қазақ ғылыми карантиндік және зооноздық инфекциялар орталығында көбейтілген C57BL6/J линиялы тышқандар алынды.

Келесі биологиялық материалдар пайдаланылды: альбинос егеуқұйрықтардың перифериялық қаны; C57BL6/J линиялы тышқандарының сүйек кемігі, тимус, көкбауыры; иммуноцитофлуорометриялық белгілер: APC-CD117, APC-CD11b, PE-Ly-6C, PE-Ly6G, PerCP-Ter119⁺/CD71, APC-

B220/CD45R, PE-CD43, PerCP-CD19, PE-MHCII, PE-CD40, PE-CD3e, FITC-CD4, PerCP-CD8a, PerCP-CD25, PE-FoxP3, PerCP-CD28, FITC-CD44.

Келесі жасуша субпопуляциялары есептелді:

1. APC-CD117⁺ - сүйек кемігінің гемопоэтикалық бағаналы жасушалары;
2. APC-CD11b⁺ PE-Ly-6C⁺ PE-Ly6G⁺ – гранулоцитарлы лейкоциттер (нейтрофилдер, эозинофилдер және базофилдер) және моноцитарлы лейкоциттер қатарының жасушалары;
3. PerCP-Ter119⁺/CD71⁺ – дифференциацияның эритроидты бағытының жасушалары;
4. APC-B220/CD45R⁺ PE-CD43⁺ PerCP-CD19⁺ – ерте Pro- B-I- және Pro-B-II- лимфоциттер;
5. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ – жетілген B-лимфоциттер;
6. APC-B220/CD45R⁺ PE-CD43⁻ PerCP-CD19⁺ – Pre-B-I- және Pre-B-II- лимфоциттер және транзиторлы B-лимфоциттер (T1, T2, T3);
7. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19^{+/mid} – маргиналды аймақтың B-лимфоциттері (MZB-лимфоциттер) мен фолликулярлы аймақтың B-лимфоциттері (FO-B-лимфоциттер);
8. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ PE-MHCII⁺ – герментативті орталықтың белсендірілген B-лимфоциттері;
9. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ PE-CD40⁺ – B_{mem}-жад лимфоциттері;
10. PE-CD3e⁺ PerCP-CD19⁻ – ерте пре-T-лимфоциттер;
11. PE-CD43⁺ PE-CD3e⁺CD4⁺ – тимуста селекциядан өткен Th-лимфоциттер;
12. PE-CD43⁺ PE-CD3e⁺ PerCP-CD8a⁺ – тимуста селекциядан өткен цитотоксикалық T-лимфоциттер;
13. FITC-CD4⁺ PerCP-CD25⁺ – белсендірілген клондаушы Th_{act}-лимфоциттер;
14. FITC-CD4⁺ PerCP-CD25⁺ PE-FoxP3⁺ – T-реттеуші лимфоциттер;
15. PerCP-CD28⁺ PerCP-CD8a⁺ FITC-CD44⁺ – костимулденген T_{mem}-жад лимфоциттер.

Зерттеу пәні: Циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік миело- мен лимфоцитодепрессияның функционалдық және фенотиптік ерекшеліктері. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған екінші миело- және лимфоцитодепрессия жағдайында жаңа синтезделген азотты қосылыстардың миело- мен лимфоцитопоз ынталандырушы белсенділігі.

Зерттеу әдістері:

1. Жаңа синтезделген 40 азотты қосылыстардың алғашқы скринингін жүргізуде циклофосфамидпен ықпалдандырылған гемодепрессия моделіндегі гемоынталандырушы зерттеу әдісі (перифериялық қан үшін «MicroCC-20 Plus» гематологиялық анализаторы (Қытай)), Гимза әдісі бойынша перифериялық қан жағындысын цитологиялық бақылау (микроскоп Micromed MP-3) қолданылды.

2. ВІV және ТІС қосылыстарының екінші скринингін жүргізуде лимфо-миелоидты кешен мүшелерінің жасушалық қасиетін бағалау әдісі, лимфо-миелоидты кешен мүшелерінің жасушаларының миелоцитарлы және

лимфоцитарлы субпопуляцияларын зерттеуге арналған FACSCalibur ағынды цитометрі (BD Biosciences, АҚШ) қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

Жүргізілген зерттеулер негізінде, алғаш рет циклофосфан реактивті біріншілік және рециркуляциялық T_{mem} -жад лимфоциттерінің сүйек кемігіндегі (36,91%) және көкбауырдағы (28%) деңгейінің біршама төмендеуін туындататындығы айқындалды, бұл, екіншілік Т-жасушалық иммундық жауаптың реактивтілігі мен құндылығына кері әсерін тигізуі мүмкін. Циклофосфан көкбауырдағы $FoxP3^+T_{reg}$ -лимфоциттердің (48,08%) деңгейін, тимустағыға (19,13%) қарағанда 2 есе төмендеуін туындатты. Көкбауырдағы $FoxP3^+T_{reg}$ -жасушаларының төмендеуі, CTL-лимфоциттердің деңгейін (32,87%-ға) жоғарылатты, ол өз кезегінде аутоиммунды ауруларға және сепсиске дейін әкелетін, бақыланбайтын иммундық реакцияны туғызуы мүмкін. Сондай-ақ, тимуста рециркуляцияланатын Th_{act} -лимфоциттердің компенсаторлық шоғырлануы (132,05%-ға), иммундық жүйенің гипербелсенділігіне әкеп соғуы мүмкін. В-лимфопоэзге қатысты циклофосфан теріс әсер етті, ол герментативті орталықтағы реактивті жасушалардың толықтай сарқылуын тудырды: көкбауырдағы МНС class II^+ - B_{act} -лимфоциттердің (74,83%-ға) және B_{mem} -жад лимфоциттердің (68,05%-ға) азаюы гуморальды иммунитеттің белсенділігінің қауіпті деңгейге дейін төмендеуіне әкеп соғуы мүмкін.

Алғаш рет, жаңадан синтезделген 32 азагетероциклды қосылыстарынан, 8 тримекаинді иондық сұйық субстанциянан гемоынталандырушы белсенділігі 4 орта деңгейлі және жоғары деңгейлі 2 қосылысты алумен алғашқы скринингі жүргізілді.

Алғаш рет, BIV (БИВ-190) 5-бензил-7-(*o*-фторбензилиден)-2,3-бис(*o*-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H*-пиразоло[4,3-*c*]пиридиннің β -циклодекстринмен кешені қосылысы Метилурацил препаратының белсенділігінен асып түсетін, айқын миело- және лимфоцитопоэз ынталандырушы белсенділігі анықталды. BIV қосылысы Т-лимфоцит субпопуляцияларының деңгейін қалпына келтіруде иммуномодуляциялық белсенділік көрсетті: Th_{act} , $FoxP3^+T_{reg}$, T_{mem} -лимфоциттердің деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін арттырып, CTL-лимфоциттердің жоғары деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін төмендетті. BIV қосылысы В-лимфоциттер: Pre-B-I-, Pre-B-II-, жетілмеген В-, транзиторлы В-, FO-B-, MZB-, МНС class II^+ белсендірілген В-, B_{mem} -В-лимфоциттерді бірегей, эритроциттер, гранулоциттер мен моноциттердің деңгейін тиімді қалпына келтіріп отырды.

Алғаш рет, TIS (БИВ-119) (бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний) қосылысы Метилурацил препаратының белсенділігінен біршама арта отырып, жоғары миело- және лимфоцитопоэз ынталандырушы белсенділікке ие екендігі анықталды. TIS қосылысы эритроциттердің, гранулоциттердің және моноциттердің барлық Т- және В-лимфоциттік субпопуляцияларын қалпына келтіруде жоғары белсенділікке ие болды.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы. Аталмыш диссертациялық жұмыс іргелі иммунологияның иммунодепрессивті күй бөліміне біршама үлес қосады. Циклофосфамидтің біріншілік және екіншілік лимфо-миелоиды мүшелердегі Т-және В-лимфоциттердің әртүрлі популяцияларына әсерін зерттеу лимфоцитралы субпопуляцияның деңгейлерінің өзара байланыстылығы мен өзара тәуелділігін түсінуге мүмкіндік береді. Құрамында азоты бар ВІV және ТІС қосылыстарының миело- және лимфоцитопоз ынталандырушы белсенділігін зерттеу іргелі иммунофармакологияның лейкопоз ынталандырушы препараттар бөліміне өз үлесін қосады.

Жұмыстың практикалық маңыздылығы. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері практикалық маңызға ие.

ҚР Әділет министрілігі ұлттық зияткерлік меншік институтынан 6 қосылысқа патент алынды:

1. 22.04.2022 ж. №35632 лейкопоз ынталандырғыш белсенділікке ие 5-бензил-7-(о-фторбензилиден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен кешені өнертабысты патент;

2. 09.12.2022 ж. №35977 иммуноынталандырушы белсенділігі бар бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний қосылысына өнертабысты патент;

3. 31.03.2023 ж. №36148 миелоынталандырғыш миелоынталандырғыш белсенділікке ие диметил(1-гидроксициклогексил) марганец(ІІ) фосфонаты кешенінің ацетатына өнертабысты патент;

4. 31.03.2023 ж. №36149 гемопозды ынталандырғыш белсенділігіне ие 1-(2-этоксипропил)-3,5-ди[2-(трифторметил)бензилиден]пиперидин-4-онның β-циклодекстринмен кешенді қосылысына өнертабысты патент;

5. 31.03.2023 ж. №36150 миелоынталандырғыш белсенділікке ие диметил((4-бензгидрилпиперазин-1-ил)(3-феноксифенил)метил)фосфонатының β-циклодекстринмен кешенді қосылысына өнертабысты патент;

6. 31.03.2023 ж. №36151 миелоынталандырғыш белсенділікке ие β-циклодекстринмен кешеніндегі диметил ((1Н-бензо[d]имидазол-1-ил)) (3-фторофенил)метил)фосфонат қосылысына өнертабысты патент;

ВІV қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік миело-және лимфоцитодепрессиялық жағдайларды емдеуге арналған препарат ретінде перспективалы болып табылады. ВІV бірегей Т-лимфоциттерді ынталандыратын модуляциялық белсенділікке ие.

ТІС қосылысы екіншілік циклофосфамидпен ықпалдандырылған миело-және В-лимфоцитодепрессиялық жағдайларды емдеуге арналған препарат ретінде перспективалы болып табылады. ТІС қосылысы Т_{mem}-жад жасушалары мен СТL-цитотоксикалық лимфоциттердің деңгейін арттыруда тиімді ынталандыруға қабілетті қосылыс ретінде перспективалы болып табылады, бұл онкологиялық ауруларды емдеуде қолданылатын *in vitro* онковакциндерді әзірлеуде үлкен маңызға ие.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. Циклофосфамид сүйек кемігіндегі CD117⁺ гемопоэтикалық бағаналы жасушалардың деңгейін (40%-дан астам), Т-жасушалары ізашарларының (42%-ға) және рециркулденетін T_{mem}-жад жасушаларын (37%-ға) айтарлықтай төмендете отырып, Т-лимфопоэзге маңызды әсер етті; көкбауырда Т-лимфоциттерінің жалпы деңгейін (20%-дан астам), сонымен бірге, рециркулдеуші T_{mem}-жад жасушаларын (28%-ға) айтарлықтай төмендетті, CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттерінің деңгейінің біршама артуымен (33%-ға) байланысты FoxP3⁺T_{reg}-Т-реттеуші жасушаларының санын (48%-ға) азайтты; тимуста жетілмеген Т-лимфоциттердің деңгейін біршама төмендете отырып (83%-ға), Th_{act}-белсендірілген хелпер жасушалардың деңгейін біркелкі арттыра (32%-ға) Т-лимфопоэздің айтарлықтай әлсіреуін туындатты.

2. Циклофосфамид сүйек кемігіндегі белсенді пролиферацияланушы (34-54%-ға) және көкбауырдағы В-лимфоциттер (Pro-B-I-, Pro-B-II-лимфоциттер, Pre-B-I-, Pre-B-II-лимфоциттер, жетілмеген В-лимфоциттер, транзиторлы В-лимфоциттер, FO-B-лимфоциттер және MZB-лимфоциттер), көкбауырда жетілген В-лимфоциттердің түрлі субпопуляцияларының (MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттер және V_{mem}-жад лимфоциттері) деңгейін айтарлықтай төмендете отырып (68-75%-ға), В-лимфопоэзге маңызды әсер етті.

3. Жүргізілген 32 жаңа синтезделген азагетероциклді қосылыстардың биспидинді, диенонды, пиразолопиридинді, пиперазинді, пиперидинді құрылымды ядролармен қосылыстарының және 8 сұйық тримекаинды иондық субстанциялары қосылыстарының біріншілік скринингі нәтижесінде гемоинталандырушы белсенділігі жоғары 2 қосылыс (BIV және TIS) таңдап алынды. Циклофосфамидпен ықпалдандыру негізінде BIV және TIS қосылыстары салыстырмалы препарат Метилурацил белсенділігінен басым гемоинталандырушы белсенділікке ие болды.

4. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде BIV, TIS қосылыстары Т-лимфоцит субпопуляциялары (Th_{act}-, FoxP3⁺T_{reg}-, T_{mem}-Т-лимфоциттері) деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін жоғарылата, ынталандырушы әсер етті және жоғары CTL - цитотоксикалық Т-лимфоциттердің деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін төмендетті.

TIS қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде Т-лимфоцит субпопуляцияларына (Th_{act}-, FoxP3⁺T_{reg}-, T_{mem}-лимфоциттері), олардың физиологиялық қалыпты мөлшерін арттыра отырып, ынталандырушы әсер етті, мұның өзі CTL - цитотоксикалық Т-лимфоцит деңгейін көтерді.

5. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде BIV қосылысы (5-бензил-7-(о-фторбензилиден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен кешені) В-лимфоцит түрлі субпопуляциялары (Pre-B-I-, Pre-B-II-, жетілмеген В-, транзиторлы В-, FO-B-, MZB-, MHC-II⁺ белсендірілген В-лимфоциттер және V_{mem}-жад лимфоциттер) деңгейлерінің тиімді қалпына келуімен айқындалатын

Метилурацилдің белсенділігінен басым түсетін В-лимфопоэз ынталандырушы белсенділікке ие болды.

Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде ТІС қосылысы (бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний иондық сұйықтығы) В-лимфопоэз ынталандырушы белсенділігі бойынша біршама маңызды болып келді.

6. ВІV және ТІС қосылыстары циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде сүйек кемігіндегі және көкбауырдағы эритроциттердің, гранулоциттердің, моноциттердің деңгейін қалпына келтіре отырып, Метилурацил белсенділігінен асып түсетін айқын миелопоэз ынталандырушы белсенділікке ие болды.

Тақырыптың зерттелу деңгейі. Диссертациядағы зерттеу жұмысы молекулалық, жасушалық, ұлпалық, мүшелік және ағзалық деңгейлерде жүргізілді.

Автордың жеке үлесі. Диссертацияда сипатталып жазылған барлық негізгі нәтижелер автордың жеке қатысуымен жинақталған және орындалған. Диссертант, алдына қойған мақсаттарды толығымен жүзеге асырған, мәліметтерді жинақтаған, статистикалық өңдеуді жүргізген, график түзіп, суретпен рәсімдеген, алынған зерттеу нәтижелеріне сараптама жүргізіп, қорытынды жасаған.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы. Берілген диссертациялық жұмыс АР08856051 «Ауыл шаруашылығы және/немесе медицинаға арналған жаңа биобелсенді молекулалық жүйелерге пиперидин және пиперазин туындылары – полифункционалды азагетероциклдердің бағытталған модификациясы» ғылыми-зерттеу гранттары және АР08857345 «Бифункционалды иондық қосылыстар: медициналық химия және ауыл шаруашылығында синтезделуі мен қолданылуы» Қазақстан Республикасы Білім және Ғылым Министрлігінің ғылыми зерттеулерді гранттық қаржыландыру шеңбері (2020-2022 ж.ж.) аясында, Пастер атындағы Санкт-Петербургтің эпидемиология және микробиология ғылыми-зерттеу институтының «молекулалық иммунология» лабораториясында (шетелдік ғылыми жетекшісі, б.ғ.д., профессор Беляев Н.Н) сондай-ақ, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология және биотехнология факультетінің биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасында (отандық жетекшісі, б.ғ.к., доцент Бактыбаева Л.К.) орындалды.

Зерттеу нәтижелерін сынақтан өткізу және енгізу. Зерттеу нәтижелері төмендегідей халықаралық және республикалық конференцияларда баяндалып, жарияланды:

- «Science and education in the modern world: challenges of the XXI century» атты VII халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясы. (Нур-Султан, Қазақстан, 20-22 қазан 2020);

- «Science, Education, Innovation: Topical Issues and Modern Aspects» халықаралық ғылыми практикалық конференциясы. (Таллин, Эстония, 16-18 желтоқсан 2020);

- «Жаһандану жағдайындағы ғылым мен білімнің даму тенденциялары мен перспективалары» атты халықаралық ғылыми-практикалық интернет-конференциясы. (Переяслав, Украина, 30 сәуір 2020);

- Биология ғылымдарының докторы, профессор, Қазақстан Республикасы Ұлттық Ғылым Академиясының корреспондент-мүшесі Төлеуханов Сұлтан Төлеуханұлының 70 жас мерейтойына арналған «Заманау биология және биотехнологияның мәселелері» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы. (Алматы, Қазақстан, 27 мамыр 2021);

- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» халықаралық ғылыми конференциясы. (Алматы, Қазақстан, 6-9 сәуір 2020);

- «Жаһандану жағдайындағы ғылым мен білімнің даму тенденциялары мен перспективалары» атты халықаралық ғылыми-практикалық интернет-конференциясы. (Переяслав, Украина, 29 қаңтар 2021);

- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» халықаралық ғылыми конференциясы. (Алматы, Қазақстан, 6-8 сәуір 2021);

- «2nd Advanced Chemistry World Congress» халықаралық ғылыми конференциясы (Берлин, Германия, 14-15 маусым 2021);

- «RW Research World» Research world халықаралық конференциясы. (Гумбург, Германия, 3-4 желтоқсан 2023);

- «Asfen.Forum, жаңа ұрпақ – 2023» 1-ші Халықаралық форум. (Алматы, Қазақстан, 5-6 маусым 2023).

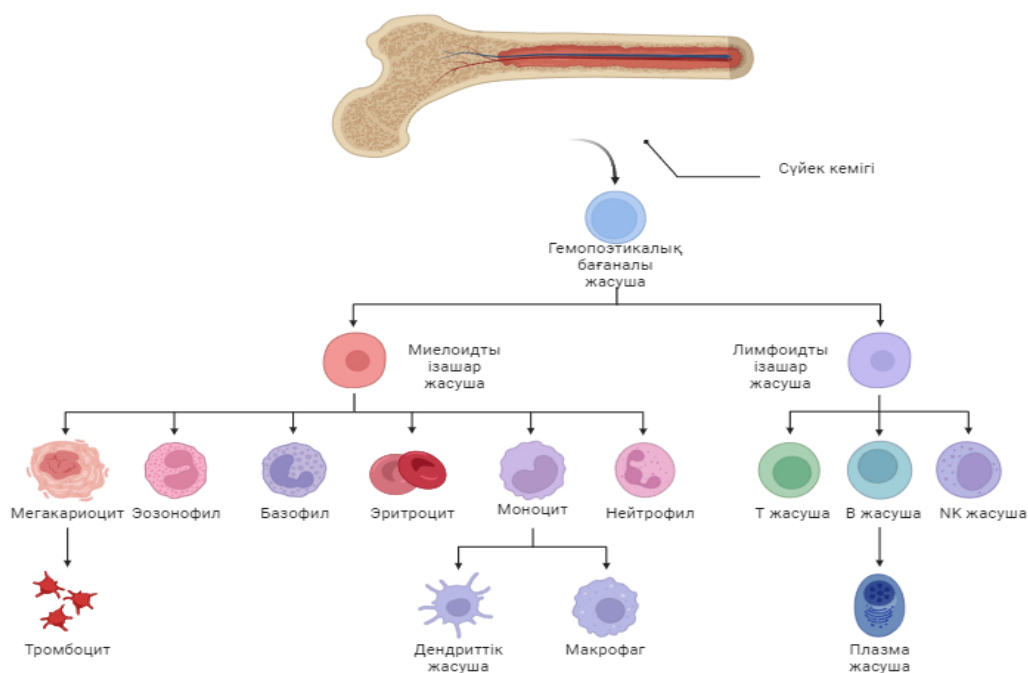
Басылымдар. Зерттеу жұмысының нәтижелері бойынша 24 ғылыми еңбек жарияланды. Соның ішінде 1 мақала Халықаралық ғылыми *Molecules* журналында, *Clarivate Analytics* (ISI Web of Science) компаниясының базасы мәліметі бойынша импакт-факторы = 7.143, Scopus базасы мәліметтері бойынша процентиль = 0,74, 1 (Q1); 1 мақала Scopus халықаралық ғылыми базасында цитирленетін: «Modern Trends in Sustainable Development of Biological Sciences» халықаралық форумы; 2 мақала Web of Science индекстелген; 7 мақала Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету Комитеті ұсынған журналдарда; Отандық және шетелдік халықаралық конференция материалдарында 13 ғылыми жариялым жарыққа шыққан. ҚР Әділет Министрлігі Ұлттық Зияткерлік меншік институтынан 6 патент алынған.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 148 мәтіндік беттен тұрады және нормативтік сілтемелер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, 316 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады, құрамында 36 сурет, 26 кесте және 6 қосымша бар.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Постнаталды даму кезеңіндегі қан түзілу физиологиясы

Қан жасушаларының қалыпты деңгейі мен оның иммундық қызметін сақтау үшін эритроциттер, лейкоциттер және тромбоциттер сүйек кемігінде тіршілік бойы өндірілуі керек (сурет 1). ГБЖ қамтамасыз етеді, олар мультипотентті және коммитирленген гемопоэтикалық ізашар қатарын туғызады [20-23]. Тәулігіне адамның сүйек кемігінде 100 миллиардтан астам жаңа гемопоэтикалық жасушалардың пролиферациясы жүреді. ГБЖ арнайы микроорталарда немесе тауашаларында, гемопоэтикалық ұлпаларда орналасқан, оларды сақтауға ықпал етеді, гемопоэтикалық жасушалардың дамуын және пролиферациясын реттейді [24]. ГБЖ нишалары перисинусоидты [25-31] болып табылады, сондай-ақ мезенхималық стромалық жасушалар лептин⁺ рецепторларымен (LepR⁺) және эндотелий жасушаларымен бірге сүйек кемігіндегі ГБЖ-ды қалыпты ұстап тұру үшін қажетті факторларды синтездейді [32-34].



Сурет 1 – Ересек адамның гемопоэзінің схемалық көрінісі

Коммитирленген ізашарлар қан түзетін ұлпалардың мамандандырылған тауашасында да кездеседі. ГБЖ сияқты, сүйек кемігіндегі көптеген коммитирленген ізашарлар қолдау факторларын LepR⁺ жасушаларынан алады [35]. Дегенмен, кейбір коммитирленген ізашарлар остеобластар сияқты басқа жасуша түрлерінен қолдау факторларын алады. Кейбір коммитирленген гемопоэтикалық ізашарлар, ГБЖ сияқты синус тауашаларының маңында орналасса [36], ал басқалары артериолалардың [37], немесе эндоста маңында [33, 228 б.] кездеседі және соған байланысты ГБЖ тауашаларымен кеңістікте ерекшеленеді. Перисинусоидты тауашалардағы коммитирленген ізашарлар

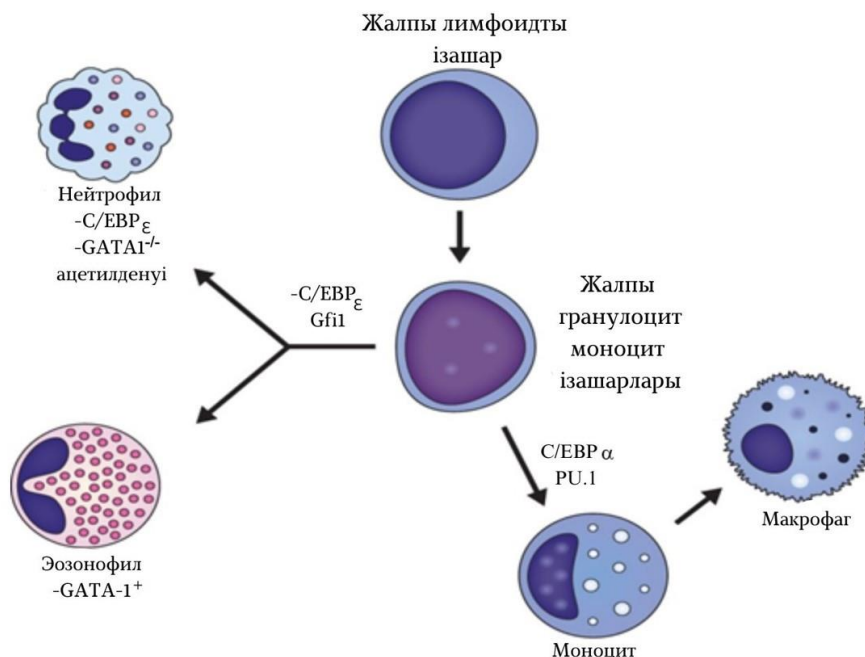
перисинусоидты ГБЖ-дан кеңістіктік тұрғыдан ерекшеленуі мүмкін, дегенмен екеуі де $LerR^+$ жасушаларына қызмет көрсету үшін тәуелді. Бұл синусоидтардың айналасында әр түрлі типтегі бағаналы және ізашар жасушалардың сақталуын реттейтін әртүрлі домендердің болу мүмкіндігін арттырады.

1.2 Гемопозтикалық бағаналы жасушалардың дифференциация бағыты

Қазіргі уақытта ГБЖ-ң миелоидты немесе лимфоидты ізашар жасушаға дифференциацияланатынын анықтайтын инициаторлық факторлар әлі толық зерттелмеген. Әртүрлі үлгілер жалпы ГБЖ ізашарларынан қан жасушаларының генерациясын сипаттау үшін пайдаланылды. «Классикалық үлгіде» немесе «иерархиялық үлгіде» мультилиниялы праймирлеу деп аталатын нәрсе функционалды түрде жасушаның бір линияға және дифференциацияға дейін өз тағдырын анықтау қабілетімен байланысты, содан кейін оның кез-келген басқа жасуша түріне дифференциациялану қабілеті жоғалады [38-40]. Бұл үлгіде сүйек кемігіндегі ГБЖ-р жалпы миелоидты ізашарларға (CMP) немесе жалпы лимфоидты ізашарларға (CLP) бастама береді. CMP гранулоцитарлы-моноциттердің ізашарларына (GMP) немесе мегакариоцитарлы эритроидты ізашарға (MEP) дифференциацияланады, ал CLP-р не Т-жасушалары, не В-жасушалары немесе NK-жасушалары болады [41]. Бұл классикалық/иерархиялық үлгіде барлық ГБЖ мультилиниялы дифференциация үшін бірдей потенциалға ие. Керісінше, «баламалы үлгіде» жалпы миелоидты және лимфоидты ізашар жасушалардың транскрипциялық және функционалдық гетерогенділігімен аралас шығу маңызына ие екенін айтады [38, 232 б.]. Жасушаның тағдыры тірі қалу және дифференциация факторларының болуымен анықталады [42]. Жақында жүргізілген зерттеулер, бұл үлгіні ГБЖ-дың CMP, MEP және мегакариоциттерге тікелей дифференциациялай алатындығын көрсету арқылы растады. ГБЖ-р сондай-ақ CLP немесе GMP бастама беретін, бірақ мегакариоциттерге немесе эритроциттерге айналу потенциалы жоқ лимфоидты праймерленген мультипотентті ізашарларға дифференциациялануы мүмкін [43]. Сонымен қатар, сүйек кемігіндегі монолиниялы ізашарлармен бірте-бірте шектелген олигопотентті аралық өнімдердің болмауы ГБЖ дифференциациясының классикалық/иерархиялық үлгісімен үйлестіріле алынбайды, бұл баламалы үлгінің ықтималдығын арттырады [41, 212 б.]

Плюрипотентті жалпы миелоидты ізашарлар жасушадан мегакариоцитарлы-эритроидты және гранулоцитарлы-макрофагтық линиялар дамуына әкелуде ГБЖ реттеуші процесске түседі (сурет 2). Тандалған жол бірнеше транскрипция факторларына байланысты, соның ішінде CCAAT/enhancer-байланыстырушы белоктар (C/EBPs), GATA-1 және PU.1 [44, 45]. C/EBP алты транскрипция факторларының (C/EBPs- $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$) тобын құрайды [46, 47]. C/EBPs көптеген биологиялық процестерді, соның ішінде жасушалардың дифференциациясын, қозғалғыштығын, өсуін тоқтатуды, пролиферацияны және сүйек кемігін, май ұлпаларын, орталық жүйке жүйесін және өкпені қоса алғанда, әртүрлі ұлапаларда жасуша өлімін ынталандыра алады

[48]. C/EBP- α , - β және - ϵ нейтрофилдердің дамуында маңызды реттеуші бақылауға ие және C/EBP- α және - β мутациялары әртүрлі лимфоцитарлық және миелоидты лейкоздарға әкелуі мүмкін [49-51].



Сурет 2 – Миелоидты ізашар-жасушалардың дифференциациясы (сурет Лауренс және басқалары, 2018 алынған) [52]

C/EBP- α нейтрофилдер дамуының ең ерте кезеңдеріндегі ажырамас факторы болып табылады, сонымен бірге C/EBP-*null* тышқандар моноциттерді өндіру қабілетін сақтай отырып [53], гранулоциттердің дифференциациясында ерте бұғатталуды көрсетеді. C/EBP- α СМР дифференциациясы бағытқа түсу үшін ерте миелоидты ізашарларды ықпалдандырады. Ол уақытта, C/EBP- α , PU.1 және Irf8 СМР-ың моноциттер мен макрофагтарға дифференциациясын ықпаландырса, C/EBP- ϵ және Gfi-1 нейтрофилдер мен эозинофилдерді өндіреді [54-57]. Алайда, бұл C/EBP- ϵ спецификалық лизиндердің ацетилденуі (K121 және K198) және GATA-1 экспрессиясының болмауын, бұл ерте СМР-дың ақырында эозинофилдердің орнына нейтрофилдерге дифференциациялануына әкеледі [58]. Атап айтқанда, C/EBP- ϵ әлсіз болуы нейтрофилдердің ізашарларына қарай бастапқы дифференциацияны болдырмайды, керісінше нейтрофилдердің ізашар-компартаменттерінен дифференциациясын және жетілуін бұғаттайды [45, 1785 б.]. Осылайша, нейтрофилдердің дифференциациясы миелобластың промиелоцитке даму сатысында басталады және транскрипция факторлары мен өзара C/EBP- ϵ , PU.1, CCAAT алмастырушы белок, Gfi-1 және ретин қышқылы рецепторы (RAR) сияқты модуляторлар арасындағы күрделі өзара әрекеттесуді қамтиды [59]. Адамдарда постмитоздадық пул арқылы өту уақыты 4-тен 6 тәулікке дейінгі уақытты құрайды, содан кейін нейтрофилдер қанға шығады [60, 61]. Сүйек кемігінен шығу үшін бұл жасушалар сүйек кемігінің эндотелийінен трансжасушалық

миграция процесінде тығыз орналасқан қуыс арқылы өтуі керек, нәтижесінде нейтрофилдер жасушааралық қосылыстар арқылы емес, эндотелийдің жасушалық денелері арқылы өтеді [62]. Нейтрофилдер алғаш рет адамның эмбрионында бұғана сүйек кемігінде ұрықтанудың 10-11 аптасынан кейін пайда болады [63]. Бірінші триместрдің соңында нейтрофилдердің ізашарлары перифериялық қанда анықталуы мүмкін, ал жетілген жасушалар жүктіліктің 14-16 аптасында пайда болады [64]. Нейтрофилдерді генерациялайтын ГБЖ-р эндостаға жақын ұзын сүйектердің трабекулалық аймақтарында немесе сүйек пен сүйек кемігі арасындағы бөлім аймағында, сүйек түзетін остеобласттарға жақын арнайы тауашаларда орналасқан [65, 66]. Периваскулярлық жасушалар мен остеобласттар сүйек кемігінде нейтрофилдердің сақталуы үшін маңызды болып табылатын CXCR4 нейтрофилді жасуша мембранасының хемокиндік рецепторы үшін лиганд болып табылатын CXCL12 хемокинін экспрессиялайды [67]. Сонымен қатар, остеобласттар мен периваскулярлық жасушалары ГБЖ-ды реттеу, генерациялау және сақтау үшін маңызды болып табылатын ангиопоэтин, тромбопоэтин және бағаналы жасуша факторы сияқты белоктарды өндіреді [68, 69]. Нейтрофилдер жетілген сайын жасуша мембранасындағы хемокин CXCL2 және оның рецепторы CXCR2 мөлшері артады, ал CXCR4 деңгейі төмендейді, нәтижесінде нейтрофил сүйек кемігінен босап шығады, өйткені нейтрофил CXCL12-ге сезімталдығы төмендейді [55, 7 б.]. Сондай-ақ, кәдімгі дендриттік жасушалар нейтрофилдердің гомеостазына қатысады және гранулоциттік колониестимуляциялық фактордың (G-CSF) және CXCL1, CCL2 және CXCL10 хемокиндерінің бақыланатын өндірісі арқылы сүйек кемігі, перифериялық қан және мүшелер арасында нейтрофилдердің таралуын реттейді, дегенмен бұл процесс механизмі белгісіз болып қалады [70]. Алайда, ДЖ-ың қатысуы тышқан үлгілерінде расталды, онда олардың сарқылуы нейтрофилдердің көбеюіне әкеледі, ал ДЖ көбеюі нейтропенияны, сүйек кемігіндегі нейтрофилдердің азаюын тудырады [71].

1.3 Гранулоцитопозз физиологиясы

Гранулопозз немесе дамып келе жатқан нейтрофилде түйіршіктердің түзілуі миелобласт пен промиелоциттердің дамуы арасында басталып, келесі 4-6-шы тәулікте жалғасады [72-74]. Нейтрофильді жасушалардың гранулопоззін екі кезеңге бөлуге болады, біріншісі нейтрофильді жасушалардың шығу тегін анықтаумен, екіншісі тіркелген гранулопоззмен байланысты [75]. Миелобласт - ГБЖ-дан дифференциацияланатын алғашқы танылған нейтрофильдік жасуша [76]. Миелобластарда PU.1 төмен концентрациясы және C/EBP-α жоғары деңгейлері моноцитарлық дифференциациядан гөрі гранулоцитарлық дифференциацияға ықпал етеді [77]. Runx1 және C/EBP-нейтрофилді жасушалардың гранулопоззін реттейтін негізгі транскрипция факторлары болып табылады [75, 184 б.]. Тышқан үлгісіндегі ұрықта Runx1 өте аз болуы миелоидты гемопоэздің жоғалуына әкеледі, ал ересек тышқандарда бұл геннің делециясы гранулопозз есебінен бастапқы монопоэзге әкеледі [77, 79]. Gfi-1 делециясы промиелоцитарлық сатыда нейтрофилдердің жетілуін бұғаттайды, жасушалар

желатиназа түйіршіктері мен секреторлық көпіршіктердің дамуында бұзылыстарды көрсетеді [54, 644 б., 80]. С/ЕВР-Е гранулоциттерде промиелоциттердің миелоциттерге өтуін бақылайды және спецификалық және желатиназалық түйіршіктердің түзілуі үшін қажет [81, 82]. С/ЕВР-Е тежелуі бастапқы нейтрофилдердің даму бағытына әсер етпейді, бірақ терминалдық дифференциация мен жетілуді бұзады [83].

ЛПИИ деп аталатын нейтрофилді эластазаның табиғи тежегішінің сарқылуы нейтрофилді гранулопозді де нашарлатады және Костман синдромы деп аталатын нейтропения АТН деп аталатын клиникалық жағдайға әкеледі. С/ЕВР- α жойылса, нейтрофилдер дамымайды және дифференциацияланбайды [84].

1.4 Моноцитарлы-макрофагалды жасуша миелопоэзінің физиологиясы

Өзін-өзі жаңартатын бағаналы жасушалар ұрықтың бауырына барған соң ғана ұрықтың қан айналымында моноциттер пайда болады. БЖ-р дамуы арқылы әртүрлі ізашарлардың мультипотентті кезеңдерінен моноцитарлы/макрофагты және дендритті жасуша ізашарларына (MDP) айналады. MDP-ы гранулоциттерді өндіру қабілетінен айырылған және/немесе моноциттермен шектелген және олардың ары қарайғы дамуы немесе жалпы ДЖ ізашарларымен байланыса «жалпы моноцит ізашарларына» бастама береді [85, 86]. PU.1 транскрипциялық фактор монопоэздің әртүрлі кезеңдерінде маңызды рөл атқарады. CD115 және оның IL-34 лигандары тірі қалудың, пролиферацияның, дифференциацияның негізгі реттеушілері болып табылады, сонымен қатар моноциттердің дамуы үшін маңызды. Ұзақ уақыт бойы моноциттер сүйек кемігі ізашарлары және ұлпалық макрофаг дамуының арасындағы аралық буын ретінде қарастырылған. Алайда, соңғы жылдардағы жаңа қызығушылық туындады, яғни моноциттер қабыну кезінде арнайы эффекторлық қызмет атқаратындығын көрсетті [87]. Моноциттерді фенотипі мен қызметіне қарай екі негізгі топқа бөлуге болады. Адамның классикалық моноциттері CD14⁺⁺ CD16⁻ немесе адамның аралық моноциттері CD14⁺⁺CD16⁺ тышқандардағы қабынуға қарсы GR1⁺/Ly6C^{high} моноциттеріне сәйкес келеді және CCR2⁺Cx3CR1^{low} болып табылады. Адамдардағы классикалық емес моноциттер CD14^{dim}CD16⁺ тышқандардағы GR1⁻/Ly6C^{low} моноциттерге сәйкес CCR2⁻ болып табылады және көп мөлшерде CX3CR экспресстейді. CD14⁺⁺CD16⁺ аналогтары инфекция немесе жарақат алған жерлерге тез тартылады және қабынуға қарсы макрофагтарына немесе моноцитарлы ДЖ-а дифференциалдануы мүмкін. Адамдардағы CD14^{dim}CD16⁺ классикалық емес моноциттер және олардың тышқандардағы Ly6C^{low} эквиваленттері қантамырларын қорғайды және insultқа қарсы ерте реакцияларды жүргізеді [88-91]. Бұл жасушалар жарақаттардың жазылауына және атеросклероз үлгісіндегі ангиогенезге, миокард инфарктісіне ықпал ететіндігі дәлелденген.

Алайда, нақты дәлелдер әлі де жоқ болса да, жинақталған зерттеулер саны моноциттердің сүйек кемігінен GR1⁺/Ly6C^{high} моноциты ретінде шығып, аралық кезең арқылы GR1⁻/Ly6C^{low} моноциттеріне дамиды. Алайда, бұл дәлелдердің көпшілігі тышқандардың ересек үлгілерінде туындайды. Шынында да, жақында

жүргізілген зерттеуде, адамның моноциттік эквиваленттері, адамның эмбрионалды бағаналы жасушаларынан және ұрық бауырынан алынған моноциттік жасушалар $CD14^{-}CD16^{-}$ ізашарларынан $CD14^{++}CD16^{+}$ жасушаларына $CD14^{++}CD16^{-}$ популяциясын өндімей-ақ дифференциациялануы мүмкін, ол ересек адамның перифериялық қанында басым болатын жасушалар екендігін көрсетті [92]. Ересектердің қан моноциттерімен салыстырғанда эмбрионалды $CD14^{++}CD16^{+}$ моноциттер ұлпалардың қалпына келуіне және ангиогенезге әсер ететін ақуыздардың көп мөлшерін бөледі, олардың көпшілігі ангиопоэтин-1 рецепторын экспресстейді. Бұл эмбрионалды және фетальды моноцитарлы жасушалар ересек жасушалардың дифференциалдану жолынан өзгеше және арнайы функцияларға әкелетін дифференциалдану жолымен жүре алады дегенді білдіреді.

1.5 Эмбрионалды және постнаталды даму кезеңіндегі Т-лимфопоэздің реттелуі

Иммундық реакцияны, гомеостазды және жадты орнату және қамтамасыз ету Т-жасушаларына байланысты. Т-лимфоциттер жетілу, іріктеу және кейіннен перифериялық аймақтарға шығу үшін тимусқа миграцияланатын сүйек кемігінің ізашарларынан пайда болады. Перифериялық Т-жасушалар субпопуляцияларына жаңа антигендерге жауап беру қабілеті бар әртүрлі аңғал Т-жасушалар, антигеннің алдыңғы белсенуінен пайда болатын және ұзақ мерзімді иммунитетті сақтайтын Т-жад жасушалары және иммундық реакцияларды басқаратын реттеуші Т-жасушалар (Treg) кіреді. Иммундық реакциялар, аңғал Т-жасушалары антигенді презентациялайтын дендриттік жасушалар (ДЖ) мен костимулдаушы лигандтармен соқтығысқан кезде басталады, нәтижесінде интерлейкин 2 (IL-2) өндіріледі, эффекторлық жасушаларда пролиферация және дифференциация пайда болады, содан кейін олар әр түрлі аймақтарға миграцияланып, ол өз кезегінде эффекторлық цитокиндер мен цитотоксикалық медиаторларды өндіру арқылы патогеннің шығарылуына ықпал етеді. Белсендірілген эффектор жасушалары қысқа өмір сүреді, дегенмен олардың кейбіреулері миграцияға, ұлпалардың орналасуына және өзін-өзі жаңарту қабілетіне негізделген гетерогенді субпопуляциялар түрінде сақталатын Т-жад жасушалары ретінде тіршілік етеді. Жад субпопуляциялары ұзақ мерзімді иммунитетті сақтауға қатыса алады және қорғаныс реакциясын тудыруы мүмкін, дегенмен олардың шығу тегі мен байланысы соңына дейін белгісіз болып қала береді.

Т-жасушаларының көпшілігі ерте жаста (нәрестелік және ерте балалық шақ) тимустан жаңадан ғана миграцияланған аңғал Т-жасушалары болып табылады, дегенмен Treg-жасушалары да айтарлықтай бар. Қалыптасудың осы кезеңінде, жаңа антигендердің көп мөлшері пайда болған кезде, Т-жасушалары патогендермен күресте негізгі қорғаныс ролін атқарады, Treg жасушалары зиянсыз және өзінің антигендеріне толеранттылықты дамыту үшін өте маңызды және Т-жад жасушаларының ұзақ мерзімді қорлары өндіріледі. Т-жад жасушалары антигенмен әсер ету нәтижесінде пайда болады және балалық шақта

жинақтала бастайды; Т-жад жасушаларының жинақталу деңгейі ересектерде төмендейді және ондаған жылдар бойы сақталады [93]. Балалық шақтан кейін аңғал Т-жасушаларының жад жасушаларына өзгеруі және ересек шақтың ондаған жылдар бойына иммунитеттің салыстырмалы тұрақтылығы, балалардағы Т-жасушаларға қарағанда ересектердегі Т- жасушалардың басқаша ролін көрсетеді. Ересек жаста жаңа антигендер азырақ кездеседі және толеранаттылықтың орнығуы аз болуы мүмкін, сондықтан Т-жасушаларының ролі қайталанатын және созылмалы кездесетін антигендер жағдайында гомеостазды және иммунореттелуді сақтауға ауысады. Тіршіліктің кейінгі кезеңдерінде иммунитеттің өзгерістері [94], оның ішінде қабынудың жоғарылауы және Т-жасушаларының функционалдығының төмендеуі иммундық реттеудің бұзылуына және онымен байланысты патологияға ықпал етеді.

1.5.1 Тимустағы Т-лимфопоэздің арнайылығы

Тимус, ізашарлары ВМ-да $CD4^+$ и $CD8^+$ корецепторларынан айырылған, $CD4^+ CD8^+$ қос позитивті (DP) тимоциттердің генерациясы үшін Т-жасушалары (TCR) рецепторларын қайта құруға ұшырайтын Т-жасушалары дамитын негізгі орын болып табылады. DP жасушалары $CD4^+$ немесе $CD8^+$ (SP) тимоциттердің түзілуіне әкелетін іріктеуден өтеді, олар сайып келгенде, $CD45RA^+ CCR7^+$ фенотипін көрсететін аңғал Т-жасушалары ретінде периферияға шығады. Foxp3 транскрипция факторын экспресстейтін $CD4^+ CD25^+$ жасушалары ретінде Treg-жасушалары [95], адамның $CD4^+$ SP тимоциттерінің 9-10% құрайды [96] және аңғал $CD45RA^+ CCR7^+$ фенотипін экспресстейді [97].

Перифериядағы лимфоциттер саны төмен лимфопениямен туылған тышқандардан айырмашылығы, адамдар Т-жасушаларының толық жиынтығымен туылады [98]. Адамның Т-жасушалары жатырда ұрықтың тимусында жүктіліктің 9-аптасында анықталады, ал жетілген Т-жасушалары тимуста 12-13 аптада, көкбауырда және лимфа түйіндерінде (LN) жүктіліктің 24-аптасында пайда болады [99]. Адамның Treg-жасушалары да ұрық тірішілігінің басында дамиды және тимуста жүктіліктің 12 аптасында және 14 аптасында LN-де кездеседі. Біраз уақыт бұрын, тышқандардағы неонатальды тимэктомия сәйкесінше аңғал Т-жасушалары мен Treg-жасушаларының дамуындағы ақаулар нәтижесінде терең иммунтапшылыққа және мультимүшелі лимфоцитарлық инфильтрацияға [100, 101] әкелетінін көрсетті [102]. Керісінше, туа біткен аномалияларды түзету үшін жүрекке ота жасау кезінде орындалатын адамдардағы неонатальды тимэктомия өмір сүруді нашарлатпайды немесе зиянды нәтижелерге әкелмейді. Неонатальды тимэктомиядан өткен ересектер (олардың көпшілігі қазір өмірдің үшінші-төртінші онжылдығында) инфекция жиілігінің көбеюін бастан кешпейді [103, 104] және олар сау адамдарға қарағанда жасына қарай аңғал Т -жасушалары жиілігінің едәуір төмендеуіне қарамастан сау болып қалады [105, 106]. Сонымен қатар, неонатальды тимэктомиядан өткен ересектер жасына сәйкес келетін бақылау тобымен салыстырған кезде аутоиммундық немесе аллергия жағдайлары жоғарыламайды, бұл олардың

қандағы Treg-жасушаларының қалыпты жиілігі мен санын сақтауға сәйкес келеді [107]. Алайда, Foxp3 транскрипция факторының делециясы немесе мутациясы нәтижесінде, Treg жасушаларының туа біткен ақауларымен туылған нәрестелерде иммундық реттеудің бұзылуы, полиэндокринопатия, энтеропатия, олар жүйелік аутоиммунды және мультиағзалы инфильтраттармен көрінеді [108]. Демек, адамдарда Т-жасушаларының дамуындағы маңызды жағдайлар туылғанға дейін басталады және адамдар кем дегенде, дамыған елдерде антипатогендік иммунитет пен иммунореттеу үшін жеткілікті Т-жасушалық құраммен туылады.

1.5.2 Аңғал Treg-жасушаларының пролиферация, дифференциациясы мен функционалды жүктемесі

Тимус өндірісі белсенділігінің жасқа сай төмендеуіне байланысты ересек ағзада жаңа антигендерге жауап беру үшін аңғал Т-жасушалары әртүрлі функционалды күйін қалайша сақтайды деген сұрақ туындайды?

Адамның аңғал Т-жасушалары 100 миллионға дейін әр түрлі арнайылықтарды қамтитын түрлі Т-жасушалық рецепторын TCR-ді көрсетеді. Егде жастағы адамдардың қанындағы аңғал Т-жасушалары (70-85 жас) әлі де бірегей TCR β аминқышқылдарының тізбегінің репертуарының жоғары әртүрлілігін сақтайды, ол жастармен салыстырғанда төмендегенімен [109], тіпті қартайған кезде де жаңа антигендерге жауап беруге мүмкіндік береді [110, 111]. Аңғал Т-жасушалар тимус өндірісі тоқтатылғаннан кейін онжылдықтар ішінде бірнеше лимфа түйіндеріндегі Т-жасушалардың жалпы санының едәуір бөлігін (20-50%) құрайды. Аңғал Т-жасушалары жеке тұлғалардың жасына қарай функционалдығын сақтайды; тимустың белсенді дамуы бар жас адамдар мен тимустың өндірісі жоқ қарт адамдар арасындағы аңғал Т-жасушалары арасында айқын функционалды айырмашылықтар жоқ. Лимфоидты TCR репертуарын, аңғал және Т-жад жасушаларын CDR3 секвенирлеу көмегі арқылы талдау көптеген көкбауырдағы Т-жад және көптеген LN-дегі субпопуляцияларымен сәйкес салыстырғанда CD4⁺ және CD8⁺ аңғал Т-жасушаларының жоғары әртүрлілігін (және сәйкес төмен клоналдылықты) көрсетті [112], бұл ұлпалардағы аңғал Т-жасушалары әртүрлі антигендерге жауап беру қабілетін сақтайды.

Treg-жасушалары да тимустан шығады және ерте жаста ұлпаларда жоғары жиілікте пайда болады; дегенмен, олардың тұрақтылығы мен жиілігі аңғал Т-жасушаларынан ерекшеленеді. Жатырда Treg-жасушаларының ерте қалыптасуы ерте жаста олардың деңгейінің жоғарылауымен бірге жүреді, бұл кезде қандағы, лимфоидты ұлпалардың және шырышты қабаттардың барлық CD4⁺ Т-жасушаларының 10-30% Treg жасушалары болса, ал 5%-дан азы ересектердегі Treg жасушалар болып табылады [113]. Жиіліктегі айырмашылықтарға қарамастан, балалар мен ересектердегі Treg жасушалары ұқсас сипаттамаларға ие. Treg жасушалары өздерінің Treg емес жасушаларының популяцияларынан толығымен ерекше TCR репертуарын сақтайды және кіндік қаны мен ересек перифериялық қандағы осы субпопуляциялар арасында минималды TCR β

реттілігі бар [114]. Ересектерде де, балаларда да қан мен лимфоидты ұлпалардағы Treg жасушалары CD45RA⁺ CCR7⁺ болып табылады, бұл аңғал фенотипті көрсетеді, ал әдеттегі Т-жад жасушалары сияқты, шырышты кабаттарда Treg жасушалары CD45RA болып табылады және CD45RO-ны экспресстейді. Функционалды түрде, балалардағы LN-дегі Treg жасушалары ересектердегі LN-ің Treg жасушаларына қарағанда FoxP3 жоғары деңгейін экспресстеуі мүмкін [110, 74 б.]; дегенмен, ерте жастағы Treg жасушаларының ересек жастағы жасушалардан қаншалықты ерекшеленетінін бағалау үшін қосымша зерттеулер қажет.

Адамдарда Treg жасушаларының жиілігінің төмендеуі қалыпты жергілікті популяциялардың төмендеуіне қарағанда, балалық шақта ерте басталады, бұған тимикалық және перифериялық механизмдердің де қатысы бар деген болжам жасауға мүмкіндік береді. Тышқандарға зерттеулер, адамдардағы қосымша зерттеулермен қатар, жасқа байланысты Treg-жасушалары өндірісінің төмендеуі, тимус өндірісі, перифериялық индукция және сақтау арасындағы өзара әрекеттесу нәтижесінде пайда болатынын көрсетеді. Тышқандарда жетілген Treg-жасушалары тимусқа қайта миграцияланады және де қалыпты аңғал Т-жасушаларын емес, тимустағы Treg-жасушаларының өндірісін тежейді. Жетілген Treg-жасушалары балалардың тимусында да табылды [115], бұл ұқсас механизм адамдардағы Treg өндірісін басқарады деп болжайды. Аңғал Т-жасушаларымен салыстырғанда, адамның Treg жасушалары Ki67 экспрессиясы бойынша өлшенетін жоғары өтімділікті көрсетеді [116], бұл олардың жасына байланысты жиілігінің төмендеуіне ықпал етуі мүмкін. Treg жасушаларының жиілігіне ДЖ популяцияларындағы өзгерістер де әсер етуі мүмкін. Жақында жүргізілген зерттеулер көрсеткендей, адам ұрығының ДЖ-ы ересек ДЖ-ға қарағанда Treg жасушаларының индукциясына ықпал етеді [117].

1.5.3 Эффекторлы Т-жасушалардың, Т-жад жасушалардың пролиферация, дифференциациясы мен функционалды жүктемесі

Перифериялық Т-жасушаларының дифференциациясы инфекциялы тышқан үлгілерінде кеңінен сипатталған және үш фазада жүреді: белсендірілген патогенге тән – арнайы Т-жасушалары көбейеді және эффекторлық Т-жасушаларына дифференциацияланатын клондық экспансия; санының қысқаруы, онда эффекторлық Т-жасушаларының көпшілігі инфекциядан кейін апоптоз нәтижесінде өледі; және жад фазасы, осы бастапқы Т-жасушаларының бір бөлігі келесі инфекциядан қорғайтын ұзақ мерзімді Т-жад жасушалары ретінде сақталады [118, 119].

Тірі аттенуация сары безгегі вирусына қарсы вакцинациясын қолданған Elegant зерттеулері қанда 2-3 тәулік бойы анықталатын CD38 және HLA-DR бірге экспрессияланатын, белсенген CD4⁺ және CD8⁺ Т-жасушаларын анықталды; Тірі аттенуация CD8⁺ Т жасушалары кейіннен қанда анықталады және 14-21 тәуліктен кейін ең жоғарғы реакцияларды көрсетеді [120-123]. Тышқандардағы жұқтыру үлгілеріндегі сияқты, адамдарда CD8⁺ эффекторлық Т-жасуша реакциясының шамасы бастапқы вирустық жүктемеге сәйкес келеді

және тез төмендейді; 30 тәуліктен кейін ол бастапқы деңгейге жақын деңгейге оралады [124]. Вирусқа тән Т-жад жасушалары эффекторлық реакциямен (5-6%) салыстырғанда төмен жиілікпен сақталады [125] және вакцинациядан 25 жыл өткен соң анықталады [126]. Ұқсас эффекторлардың экспансия кинетикасы мен жаддың дамуы шешек (осповакциналар) және тұмауға қарсы вакцинациядан кейін байқалды; вакцинаға тән Т-жад жасушалары да ондаған жылдардан кейін табылды [127]. Біріктірілген бұл зерттеулер, өткір вирустық инфекциядан кейінгі адамның эффекторлық Т-жасушаларының экспансиясы, қысқаруы және жадының қалыптасуы тышқандардағы зерттелген көптеген жедел вирустық инфекция кинетикасы мен аумағы жағынан ұқсас екенін көрсетеді.

Алайда, эффекторлық Т-жасушаларының көпшілік популяциясы тез азайғанымен және тұрақты күйде айтарлықтай мөлшерде болмаса да, CD45RA⁺CCR7 фенотиптерін көрсететін терминалды эффекторлық жасушалардың (Temra) популяциясы айналымда ұзақ сақталуы мүмкін. Temra жасушалары негізінен CD8⁺ Т-жасушалар линияларында болады және жоғары IFN γ өндірісін және төмен пролиферативті қабілетін көрсетеді және олардың қандағы жиілігі ұзақ сақталатын цитомегаловирус инфекциясымен сәйкес келеді [128]. Қан мен сүйек кемігіндегі CD8⁺ Temra жасушаларының үлесі жасына қарай артады [129, 130]. CD4⁺ Temra жасушалары сирек кездеседі, бірақ цитотоксикалық функциясы бар CD4⁺ Temra жасушаларының экспансиясы Dengue вирусын жұқтырған адамдарда кездеседі және қорғаныспен байланысты [131]. Бұл мәліметтер, кейбір вирустар антигендік жүктемеге немесе төзімділікке байланысты болуы мүмкін терминалды эффекторлардың дифференциациясын және Temra жасушаларының түзілуін тудырады деп болжайды.

1.6 Эмбрионалды және постэмбрионалды даму кезеңіндегі В-лимфопоэздің дамуы

В-лимфоциттердің түзілуі эмбрионалды даму кезінде басталады және ағзаның бүкіл тіршілігі бойында жалғасады. Эмбрионалды кезеңде бұл процесс бауыр мен сүйек кемігінде, ал ересек сүтқоректілерде тек сүйек кемігінде болады. В-лимфоциттердің дифференциациясы бірнеше сатыда жүреді және олардың әрқайсысы белгілі-бір акуыз маркерлерінің болуымен және иммуноглобулиндер гендерінің генетикалық қайта құрылу дәрежесімен сипатталады. В-лимфоцит қан түзуші жасушалардың негізгі линияларына тән беткі линиялы маркерлері жоқ жалпы лимфоидты ізашарға (CLP) келесі дифференциалдау арқылы бағаналық жасушадан бастау алады. Бағаналы жасушалар сияқты, CLP CD34 молекуласын, сондай-ақ CD45RA панлейкоциттік маркерін (CD45 изоформа) экспрессиялайды. Жетілу процесінде CD10 бетінде орналасқан CLP-р интерлейкин-7 (ИЛ-7) (IL-7R α /CD127) рецепторын қосымша экспрессиялай бастайды және В-лимфоциттерге бастама береді [132]. Әрі қарай, сүйек кемігінің стромалық жасушаларынан алынған сигналдардың әсерінен В-жасушалары келесі кезеңдерден өтеді:

1) про-В-лимфоциттер, олар ерте (pro-B-I) және кеш (pro-B-II) болып бөлінеді;

2) pre-B-I-жасушалар және pre-B-II-жасушалар, сондай-ақ үлкен пре-B және кіші пре-B деп аталады;

3) жетілмеген В-жасушалары;

4) транзиторлы В-жасушалар;

5) жетілген аңғал В-жасушалары.

Соңғы 2 кезең В-лимфоциттер сүйек кемігінен шыққаннан кейін, периферияда: көкбауырда немесе аймақтық лимфа түйіндерінде өтуі мүмкін. Аталған кезеңдердегі В-лимфоциттердің дамуында жүретін негізгі процесс – иммуноглобулиндердің вариабельді гендерін (V-гендерін) қайта құру есебінен жүретін - BCR қалыптастыру. Ерте pro-B-I лимфоциттерінде BCR компоненті болып табылатын Igα (CD79a) жасушаішілік секрециясы басталады. CD19 молекуласы – лимфоцитті В-жасуша қатарына жатқызуға мүмкіндік беретін ең алғашқы беттік маркерлердің бірі. CD19 – молекуласы В-лимфоциттердің бетінде Pro-B-II сатысында пайда болады және кейіннен бір липидті рафтта В-жасушалық рецептормен колокализацияланады. Зерттеу жұмыстарында CD19 экспрессиясының CD81-мен бірге басталуы, кейіннен CD21 В-лимфоцитарлық корецептор кешені молекуласымен бірге пайда болуы туралы айтылады [133]. Сонымен қатар, pro-B-II сатысы иммуноглобулиндердің ауыр (H) тізбектерінің V-гендерін қайта құрудың басталуымен сипатталады. Қайта құрудың сәтті нәтижесі-ауыр μ-тізбегі және суррогатты жеңіл (L) тізбегінен (VpreB және λ5 гендік өнімдерінен) тұратын пре-B жасуша рецепторының (pre-BCR) қалыптасуы. Pre-BCR-дің жасуша мембранасында дұрыс түзілуі және оның қалыптасқан Igα және Igβ корецепторлы молекулаларымен түзілуі Bcl-2 антиапоптоикалық фактордың экспрессиясының жоғарылауына және В-лимфоциттің пре-B-I сатысына өтуіне әкеледі.

PreB-I сатысы белсенді бөлінетін жасушалардың мөлшерінің ұлғаюына және бірдей pre-BCR тұратын клондардың пайда болуына байланысты үлкен пре-B деп те аталады. Пролиферация аяқталғаннан кейін В-лимфоциттер кіші пре-B-жасушалар (pre-B-II) сатысына өтеді, оның барысында иммуноглобулиндердің L-тізбектерінің V-гендері қайта құрылады. Бұл кезеңде пре-BCR экспрессиясын тоқтатады, ауыр μ-тізбек қалыптасқан λ-тізбекке қосылады (суррогатты L-тізбегі жоғалады) және жетілген иммуноглобулин молекуласы В-лимфоциттің үстіне жеткізіледі. BCR (Igα және Igβ) басқа компоненттерімен сәтті байланысқаннан кейін В-жасушасы М (IgM) класындағы беттік иммуноглобулиндерді экспрессиялай бастайды және жетілмеген В-лимфоцитіне айналады.

Жетілмеген В-лимфоциттер сүйек кемігінен шығып, транзиторлы В-жасушаларының бірнеше аралық сатыларынан өтеді (шартты түрде T1, T2 және T3 болып бөлінеді). T1-лимфоциттердің бетінде CD24 молекуласы (сүйек кемігінен шығу маркері) пайда болады және IgM-ден басқа IgD мембраналық түрі экспрессиялана бастайды. В-лимфоциттердің барлық транзиторлық кезеңдері лектинді трансмембраналық рецептор CD93 (AA4) экспрессиясымен сипатталатыны көрсетілген [134]. T1-лимфоциттердің молекулалық фенотипі: IgM^{high}IgD^{-/low}CD23^{low}CD24^{high}CD93⁺. Транзиторлы В-жасушалары антигенге-тәуелсіз оң селекциядан өтеді, оның барысында BCR арқылы

калыпты, тоникалық сигналдар клондардың өміршеңдігін қамтамасыз етеді. Сондай-ақ, транзиторлы В-жасушалары аутореактивтілікке немесе антигенге-тәуелсіз теріс селекция іріктеуінен өтеді, олардың BCR-ы жоғары аффинділігі бар өзіндік аутоантигендермен байланысатын В-жасуша клондарын жоюға бағытталған. Жетілген В-лимфоциттердің активтелген BCR антигенмен байланысуына жауап ретіндегі айырмашылығы, Т2 жасушалары BAFF (В-жасушалық белсендіру факторы) үшін рецепторлардың төмен экспрессиясымен сипатталады, сондықтан BCR-ді аутоантигенмен байланыстыру арқылы бұл жасушалар активтенбейді, бірақ BCR гендерін өңдеуге сигнал алады. Бұл процесс алдыңғы қайта құруда жетілген BCR құрастыруға қатыспаған сегменттерді қамтитын V-гендерін қайта құрудан тұрады. Сәтті өңделу кезінде аутореактивтілік жоғалады [135]. Егер жаңа BCR өз жасушаларының бетінде экспрессияланған антигендерді байланыстыру қабілетін сақтаса, онда клондық делеция процесі іске қосылады, оның барысында аутореактивті клондар апоптозға ұшырайды. Жағдайдың үшінші даму жолы бар – аутоантигендермен (әдетте еритіндер) байланысуға жауап ретінде клондардың анергия күйіне ауысуы. Т3 пулында анергиялық В-жасушалары басым болатыны, тек Т1 және Т2-лимфоциттері В-лимфоциттерінің жетілген популяциясының бастамасын береді (ұрық орталықтарының В-жасушалары немесе көкбауырдың маргинальды аймағының В-лимфоциттері) [136, 137]. Т2 кезеңіндегі В жасушаларының фенотиптері: $IgM^{high}IgD^{high}CD21^{int}CD23^{+}CD93^{+}$ және Т3: $IgM^{low}IgD^{high}CD21^{int}CD23^{+}CD93^{+}$ [138]. Транзиторлы В-жасушаларының тіршілік ету ұзақтығы 1 тәуліктен 5 тәулікке дейін, содан кейін олар жетілген аңғал В-лимфоциттеріне айналады және CXCR5 хемокиндік рецептордың экспрессиясының басталуына байланысты біріншілік фолликулдың В-аймағын құрай, аймақтық лимфа түйіндеріне миграцияланады. Сонымен қатар, BAFF/APRIL (пролиферацияны ықпалдандыратын лиганд) рецепторларының қалыпты экспрессиясы жетілген аңғал В-лимфоцитте орын алады және антигенмен BCR байланысуына жауап ретінде олар өлмейді, керісінше активтенеді. Антигенмен праймерленген В-лимфоциттер фолликулаға тереңдеп Т-аймақтың шекарасына қарай жылжи отырып, ұрық орталығының немесе герментативті орталықтың (GC) ізашар жасушаларына айналады. Одан әрі олар ұрық орталығының жасушаларына – центробласттарға дифференциялана алады. Герминтаивті орталықтың В-жасушалары CD38 жоғары экспрессиясымен сипатталады ($IgD^{low}CD38^{high}$). Гендердің Ig-вариабельді аймақтарында соматикалық гипермутацияға ұшыраған центробласттар жоғары аффинді антиденелерді экспрессиялайтын центроциттерге айналады [139]. Сипатталған дифференциация кезеңдері, сондай-ақ әрбір кезеңдегі мембраналық фенотиптер негізінен В2-лимфоциттердің (кейде оларды қарапайым В-жасушалары деп те атайды) субпопуляциясына тән. Бұл жасушалар адамның айналымдағы В-лимфоциттерінің басым көпшілігін құрайды және гуморальдық иммундық жауапта маңызды рөл атқарады.

1.6.1 В-лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі

В-лимфоциттердің субпопуляциялары деп функциясы бойынша тұрақты айырмашылықтардың болуымен және онымен байланысты молекулалық маркерлермен сипатталатын белгілі-бір типтегі жасушалардың түрлерін айтады. В-жасушалық субпопуляциялар бойынша зерттеулердің көпшілігі тышқандарда жасалды, ал адамның В-жасушалық субпопуляциялары нақтылануын жалғастыруда. Бүгінгі күні В-жасушаларының 3 негізгі субпопуляциясы бар: В-1 жасушалары, В-маргинальды аймағының жасушалары (МЗВ) және қалыпты В-жасушалары (В-2). Айта кету керек, В-лимфоциттердің барлық субпопуляциялары гетерогенді және олар көбінесе анатомиялық орналасуы, дифференциация дәрежесі, молекулалық фенотипі және атқаратын қызметтерінің айырмашылықтары негізінде топтарға бөлінеді.

1.6.1.1 В-2 лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі

Тәжірибеде В-2 жасушаларына көкбауыр мен лимфа түйіндерін мекендейтін В-лимфоциттердің көпшілігі, сондай-ақ рециркуляциялық В-қан жасушаларының пулы жатады. Тіршілік бойы В-2 жасушалары сүйек кемігінің ізашарларынан түзіледі. Дәл В-2 жасушалары біріншілік лимфоидты фолликуланың В-зоначасын [фолликулярлық (ФО-В) В-жасушалары] құрайды, Т-лимфоциттермен әрекеттесуге қатысады және екіншілік фолликулалардағы ұрық орталықтарының В-жасушаларын құрайды [герментативті орталық (ГО) В-жасушалар]. В-2-лимфоциттер иммуноглобулиндердің изотипін (класын) М/Д-ден А, Е және G-ге ауыстыруға, сондай-ақ В-жад жасушаларына және плазмалық жасушаларға дифференциациялауға, содан кейін спецификалық антиденелердің секрециясына қабілетті [140]. В-2 жасушалары МНС-I және МНС-II молекулаларын, костимулдаушы CD40, CD86 молекулаларын тасымалдайды және активтену кезінде CD80-ді қоса ынталандырады, бұл оларға «кәсіби» АПЖ рөлін атқаруға мүмкіндік береді [141]. В-2 жасушалары адгезия молекулаларын (VLA-2 β 1-интегриндері және VLA-4, β 2-интегрин LFA-1, L-селектин CD62L және т.б.) экспрессиялайды, бұл олардың тамырлардан миграцияланып, ұлпаларда қозғалуына мүмкіндік береді. В-2-лимфоциттердің мембранасында Fc рецепторларының (Fc γ RIIB – CD32) және комплемент рецепторларының (CR2) болуы эффекторлық функцияларды орындаудан гөрі олардың активтілігін реттеу үшін қажет екені дәлелденді. Жасуша санын тұрақты деңгейде ұстау үшін TNF тұқымдасы цитокиндік рецепторлар В-2 лимфоциттерінің мембранасында экспрессияланады: BAFF - BAFF-R, BCMS, TAC-1 және APRIL - HSPG, олар жетілген В-2 жасушаларын апоптоздан қорғайды. Сонымен қатар, В2-жасушалары цитокиндердің көптеген рецепторларының (IL-4R, IL-5R, IL-6R, IL-2R, IL-1R, IL-10R) және химокиндердің (CXCR4, CXCR5, CCR3, CCR6) экспрессиясымен сипатталады. В-2 жасушаларының мембраналық фенотипі: CD10⁻ CD19⁺ CD20⁺ CD21⁺ CD22⁺ CD23⁺ CD24^{low} CD27⁻ CD38^{low}. Ұсынылған фенотип орташа алынған, өйткені белгілі-бір молекулалық маркерлердің

экспрессиясы жетілу дәрежесіне, антигенмен байланысына, В-2 жасушасының локализациясына және оның микроортасына байланысты.

1.6.1.2 MZB-лимфоцит субпопуляцияларының шығу тегі және функционалды жүктемесі

MZB жасушалары маргинальды аймақ В-жасушалары (MZB) көкбауырдың шеткі аймағында локализацияланған, ол ақ пульпаны қызыл пульпадан бөледі (көкбауырдағы барлық В жасушаларының шамамен 15% құрайды) [142]. MZB лимфоциттері сүйек кемігіндегі транзиторлы В-жасушалар сатысында бөлек субпопуляцияға бөлінеді. Транзиторлы В-жасушасының FO-B-лимфоцитке немесе MZB-лимфоцитке дифференциациялану жолын таңдау жасушаға BCR арқылы түсетін сигналдар жиынтығымен, сондай-ақ BAFF және Noth-2 (Neurogenic locus notch homolog protein 2) дифференциация факторларының рецепторларымен анықталады. Кеміргіштерге жүргізілген тәжірибелерде BCR-ді аутоантигенмен байланыстыру кезінде пайда болатын тоникалық сигналдар Noth-2 рецепторы арқылы сигнал беруді бұғаттайтыны және T2-B-лимфоциттері 2-типті фолликулалық В-жасушасына (FO-II) дифференциацияланатыны көрсетілген. Өз кезегінде, әлсіз BCR-сигналлинг Noth2-ші сигнал беру жолының пайда болуына кедергі келтірмейді, осылайша В-жасушасының MZB-лимфоцитіне дифференциациясын іске қосады. FO-II жасушаларының пулы MZB-лимфоциттерге бастама беруі мүмкін екендігі, осылайша MZB-субпопуляциясы үшін резервтік резервуардың бір түрі болатыны көрсетілген. Сонымен қатар, NF-κB (ядролық фактор κB сигналдық жолы) канондық емес активтендіру FO-B жасушасының 2-типті (FO-II) субпопуляциясының қалыптасуына әкеледі, ал классикалық жол бойымен NF-κB активтендірілуі T2-жасушаларының MZB-лимфоциттерге немесе MZB жасушаларына дифференциациялану қабілеті жоқ 1-ші типті фолликулярлық В-жасушаларының (FO-I) дамуына ықпал етеді [143]. Жетілген MZB лимфоциттері мембранасында CXCR5 хемокинді рецепторын экспрессиялайды, сондықтан олар В-2 жасушаларына ұқсас лимфоидты фолликулаларға енбейді, бірақ көкбауырға қанмен түсетін антигендер туралы ақпарат ала, фолликулаларға дейін және керісінше "шөрмек" миграцияны жүзеге асырады. MZB жасушалары фенотипі бойынша активтендірілген В-2 лимфоциттеріне ұқсас. Жуырдағы антигенмен байланысын көрсететін маркер, MZB лимфоциттерінің бетінде экспрессияланатын CD27 молекуласы болып табылады. MZB жасушаларының V-гендеріне мутациялар сирек әсер етеді, бұл олардың ұрық орталықтарынан тыс дамуымен түсіндіріледі. Бұл жасушалар иммуноглобулиндер кластарын ауыстырмайды, тіпті MZB-жад жасушалары бетінде IgG емес, IgM тасымалдайды. MZB жасушаларының негізгі мембраналық иммуноглобулині IgM, В-2 жасушаларына қарағанда күштірек экспрессияланады, ал IgD мембранада аз мөлшерде болады. MZB лимфоциттеріне тән қасиет олардың Т-тәуелді де, Т-тәуелсіз антигендерге де (Т1-2) иммундық жауапқа қатысу қабілеті болып табылады. Бұл MZB лимфоциттерін туа біткен және адаптивті иммунитет арасындағы аралық жасушалық байланыс ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

В-2 жасушалары сияқты, МЗВ жасушалары МНС-II молекулаларын және CD80 және CD86 костимулдаушы молекулаларын экспрессиялайды, соның арқасында олар антигенді байланыстыра алады (көбінесе маргинальды аймақтың дендритті жасушаларымен ұсынылған), көкбауырдағы Т-тәуелді аймаққа миграцияланады және оны Т-хелпер жасушаларына презентациялайды. МЗВ-лимфоциттеріне тағы бір тән ерекшелік липидті антигендерді инвариантты табиғи Т-киллер жасушаларына (invariant natural killer T-cells iNKT) презентациялауға қатысатын CD1d молекуласының экспрессиясы болып табылады [144]. В-1 жасушалары сияқты, МЗВ лимфоциттері де TI-2-антиген эпитоптарының полимерлі қайталануларымен (мысалы, бактериялық полисахаридтермен) әрекеттесуге қабілетті. Бұл процесте CD21 маркері өте маңызды, оның экспрессиясы МЗВ жасушаларының бетінде айқын. Комплементтің C3d-компонентінің рецепторы болып табылатын CD21 антигенді байланыстыратын BCR-ның CD19 корецепторымен байланысын қамтамасыз етеді. Мұндай үштік кешеннің түзілуі төмен аффинді антигендермен активтендіру шегін айтарлықтай төмендетеді және Т-жасушалық көмек болмаған жағдайда МЗВ жасушаларының активтенуіне мүмкіндік береді [145]. МЗВ-жасушаларының мембрандық фенотипі: CD27^{var}CD25⁺ CD38⁺ CD23^{low}CD21^{high}CD1⁺CD20⁺ [146, 147].

1.6.2 В-жад жасушаларының жетілуі және функционалды жүктемесі

В жад жасушалары (Вm) сигналдардың (антигенге-тәуелді және антигенге-тәуелсіз) комбинациясына байланысты SLPC немесе LLPC-ге дифференциациялану қабілеті үшін иммундық жадтың орталық буыны (орталық жад жасушалары) деп аталады [148]. Негізгі сигнал, әдетте, осы жасушаларға тән антигеннің бірнеше рет келіп түсуі. Вm-нің ерекшелігі – олар пайда болған иммундық жауапқа қатыспайды (мысалы, бастапқы иммундық жауапта), алайда екіншілік иммундық жауап кезінде олардың реакциясы аңғал лимфоциттердің жауабына қарағанда анағұрлым жылдам, күшті және тиімді болады. Вm-де бір жағынан Т-жасушаның көмегінсіз және олардың пайда болуына себеп болған антиген болмаған кезде ағзада ұзақ уақыт өмір сүруге мүмкіндік беретін арнайы транскрипциялық бағдарлама бар, ал екінші жағынан антигенді тез тануға және оның қайта енуінде жауап беруге мүмкіндік береді [149-151]. Вm локализациясы, әдетте, біріншілік иммундық жауап кезінде өндірілген орнына байланысты. Көбінесе олар лимфа түйінінің мантия бөлігін толтырады немесе жалпы қан айналымына миграцияланады. Сонымен қатар, кейбір Вm саны MALT-та анықталады. Морфологиялық жағынан Вm аңғал В-жасушаларына ұқсайды, бірақ оларда костимуляциялау және активациялау маркерлері көбірек экспрессияланады (CD80, CD86, CD93). Адамның Вm жасушалары CD27 маркерінің болуымен сипатталады [152]. Сонымен бірге кейбір Вm оны эспресстемейді. Қазіргі уақытта Вm антигенмен алдын-ала байланысқаннан кейін ұрық орталығынан пайда болатын классикалық жолдан басқа, ұрық орталықтарынан тыс және тіпті Т-тәуелсіз антигендерге жауап ретінде Вm түзілуінің альтернативті нұсқалары бар екені белгілі. Тышқандарға жүргізілген зерттеулерде ұрық орталықтарынан тыс Вm дамуы Т-хелпер жасушаларының

жеке субпопуляциясымен реттелетінін көрсетті [153]. Шығу тегінің айырмашылығынан басқа, Vm CD38, CD21, CD24, CD19, CD25 және CD45 беттік маркерлерінің экспрессия деңгейлерімен, сондай-ақ басқа сипаттамалармен (аутоиммундық аурулардың дамуына ықпалы, тіршілік ету ұзақтығы, *in vivo* тәжірибелерде және т.б. бөліну жылдамдығы және саны) ерекшеленеді. Цитометрияда жиі қолданылатын мембраналық маркерлерге негізделген Vm-нің ең көп таралған екі классификациясы бар. Бірінші классификация – Vm1-Vm5 - хронологиялық деп саналады, өйткені ол жетілген аңғал В-лимфоциттен бастап дифференциацияның әртүрлі кезеңдерінде Vm молекулалық фенотипін көрсетеді. Vm1-Vm5 классификациясы IgD және CD38 беттік экспрессиясына негізделген. Бұл классификацияның бірқатар маңызды кемшіліктері бар. Мысалы, Vm1 және Vm2 субпопуляцияларында экспресстелетін иммуноглобулиндердің ауыстырылған және ауыстырылмаған изотиптері бар В жасушалары болуы мүмкін, ал Vm2'-субпопуляциясында транзиторлы В-жасушалары болуы мүмкін. Vm IgD және CD27 экспрессиясына негізделген екінші классификация бойынша келесі субпопуляциялар ажыратылады:

1. Иммуноглобулиндік изотипі ауыстырылмаған В-жад жасушалары (CD27⁺IgD⁻/IgM^{+/+}). Бұл субпопуляциядағы жасушалар экстрафолликулярлық жолымен дифференциацияланатын В-жасушаларынан алынған (олардың ізашарларына MZB жасушалары да жатады), сондықтан селекциядан, Ig класының ауысуынан және аффинділіктің жетілуінен өтпейді. Көптеген unswVm IgM-ді экспрессиялай алады. Мұндай IgM⁺-unswVm TI-2 антигендеріне Т-тәуелсіз иммундық жауап кезінде түзіледі деп есептеледі.

2. Иммуноглобулиндердің ауыстырылған изотипі бар В-жад жасушалары (CD27⁺IgD⁻/IgG⁺IgA⁺) ұрық орталықтарындағы плазмабласттардан бастау алады, оларға Ig кластарының ауысуымен және Ig V-гендерінде бірнеше соматикалық мутациялардың болуымен сипатталады. Сондай-ақ, swVm қайталама инфекция кезінде плазмабласт өндірушілері болып табылады. Осылайша, зерттеу инфекция/вакцинациядан кейінгі 6-7-ші күні қанда пайда болатын активтендірілген плазмабласттар (CD19^{low}CD20⁺CD27^{high}CD38^{high}CD138^{+/+}) Ig изотиптерін ауыстырып, соматикалық гипермутагенезден өткен В-жад жасушаларының ұрпақтары екенін көрсетті. Бәлкім, swBM және unswBM бар болуының биологиялық мәні мынада болуы мүмкін: біріншісі, ең спецификалық бола отырып, патогеннің белгілі-бір қоздырғыш түрін қайта жұқтырған кезде инфекциямен күресу үшін қажет, ал екіншісі, патоген туыстас типтердің өзара байланысын қамтамасыз етеді [154].

3. Қос теріс В-жад жасушалары (DN) барлық перифериялық қандағы В-жасушаларының шамамен 5% құрайды және CD27-IgD-жасушалары ретінде сипатталады. Бұл субпопуляция ең аз зерттелген және гетерогенді. Ол IgM⁺-сияқты, IgG⁺/IgA⁺-Vm де кіруі мүмкін. DN CD27⁺-Vm ұрпақтары деп болжанады. Бұл субпопуляцияның айрықша ерекшелігі плазмалық жасушаларға дифференциациялану қабілетінің әлсіреуі болып табылады [148, 73 б].

1.6.3 В-реттеуші жасушалардың жетілуі және функционалды жүктемесі

Салыстырмалы түрде реттеуші В-жасушаларының (B regulatory cell, Breg) субпопуляциясын бөліп алу жақында болды. Бұл термин алғаш рет ТАЭ клиникалық көріністерін төмендете алатын IL-10 өндіретін В-жасушаларын сипаттау үшін қолданылды [155]. Қазіргі уақытта Breg дифференциациясына жауап беретін нақты транскрипция факторы анықталған жоқ. Breg нақты шығу тегі белгісіз болып қала береді; зерттеушілер арасында Breg субпопуляциясы әрқашан ағзада бола ма, әлде оның дамуы сыртқы сигналдармен ықпалдандырылған ба деген сұраққа әлі күнге дейін нақты жауап жоқ. Дегенмен, Breg жасушалық микроортамен анықталған факторлардың әсерінен (CD40 арқылы активтендіру, липополисахаридтермен ықпалдандыру және ИЛ-5, ИЛ-4 әрекеті) дами алатыны тәжірибелік түрде анықталды. Қазіргі таңда, Breg кезкелген В-жасушаларынан (жетілмеген және жетілген В-жасушалары, плазмабластар, Bm, плазмалық жасушалар және т.б.) дифференциациялана алады деген болжам басым. Бұл гипотеза әртүрлі аутоиммунды ауруларда оқшауланған Breg-ң фенотиптік әртүрлілігімен көрінеді. Breg-ң көкбауырда ғана емес, сонымен қатар аймақтық лимфа түйіндерінде де локализациялануы Breg-ң әртүрлі ізашарлардан шығу мүмкіндігін көрсетеді. Көптеген зерттеулерге сәйкес, Breg-ң дамуына қабыну реакциялары кезінде пайда болатын жасушалық сигналдар ықпал етеді. Айқын иммуносупрессиялық функциялардың көрінісіне байланысты аутоиммунды патологияларға қарсы тұрудағы Breg-ң оң рөлі көрсетілген. Соңғысын жүзеге асыру моноциттер мен дендритті жасушалардың қабынуға қарсы цитокиндердің өндірісін тежейтін, сондай-ақ CD28 арқылы Т-жасушаларының костимуляциясын бұғаттайтын IL-10 секрециясы арқылы жүзеге асырылады. Сонымен қатар, Breg жасушалық иммундық жауапты олар шығаратын басқа қабынуға қарсы цитокиндер арқылы модуляциялай алады (ИЛ-1 β , ИЛ-35, ИЛ-21, ТФР β): Т-жасушалардың дифференциациясына әсер етіп, оны реттеуші фенотипке қарай жылжытады, iNKT функциясын қолдайды, Tfh, Th1 және Th17 дифференциациясын тежейді. Сыртқы тітіркендіргіштердің әсерінен аутореактивті В-жасушалары өздерінің фенотипін өзгерте алады, Breg–ке айналады, бұл өз кезегінде қалған аутореактивті клондарды жояды деген болжам бар. Бірқатар жұмыстар активтендірілген CD4⁺ Т-жасушаларының апоптозын туғызатын бетінде Fas-лигандын экспрессиялайтын Breg (FasL⁺ IL5RA⁺ CD40⁺ PD-1⁺ CD38⁺) киллер популяциясының бар екендігін көрсетеді. Breg киллердің кейбір бактериялық және паразиттік инфекцияларға қарсы иммундық жауапқа қатысуы да көрсетілген. Бір қызығы, бактериялық және вирустық инфекцияларды жұқтырғаннан кейін дәстүрлі Breg популяциясының болуы, керісінше, аурудың ағымын нашарлатты және толыққанды иммундық жауаптың дисфункциясымен байланысты болды. Көптеген зерттеулер Breg болуы мен ісік ауруларының дамуы арасындағы байланысты көрсетеді [156]. Breg туралы қазіргі уақытта жинақталған білімді қорытындылай келе, лимфоциттердің осы субпопуляциясының жұмысын олардың микроортасындағы қабыну сигналдарын қабылдаудан бастап, олардың дифференциалдануы мен дамуына дейін ағза қатаң бақылауы керек деп қорытынды жасауға болады.

2 Миело- және лимфоцитопоздепрессиялық жағдай және ынталандырушылар мен модуляторларды қолдану

2.1 Миело- және лимфоцитопозді ынталандыратын препараттар: түрлері, оң және теріс фармакологиялық қасиеттері

Шығу тегі лейкопоз ынталандырушылар шартты түрде үш буынға бөлуге болады. Бірінші буын микробтық препараттарына бактерия текті полисахаридтер болып табылатын пирогенал және продигиозан сияқты препараттар жатады. Олар бактерияға қарсы иммунитетті ынталандыру үшін клиникалық тәжірибеде кеңінен қолданылды. Қазіргі уақытта пирогенал және продигиозан жоғары пирогенділікке және басқа да жанама әсерлерге байланысты сирек қолданылады.

Екінші буынның микробтық препараттарына негізінен респираторлық инфекциялардың қоздырғыштары болып табылатын бактериялардың лизаттары (бронхо-муналь*, бронхо-ваксом*, ИПС-19*, имудон*) және рибосомалары (рибомунил*) жатады: *Kl.pneumoniae*, *Str.pneumoniae*, *Str.pyogenes*, *H.influezae* және т.б. Бұл препараттардың екі жақты мақсаты бар: спецификалық (вакцинациялау) және бейспецификалық (лейкопозді ынталандырушы).

Ликопидті үшінші микробтық препараттың үшінші буынына жатқызуға болады. Ол табиғи дисахаридтен: глюкозаминилмурамилден және оған қосылған синтетикалық дипептидтен: L-аланил-D-изоглутаминнен тұрады. Мұндай құрылымдар барлық белгілі грам-оң және грам-теріс бактериялардың пептидогликанында болады. Мурамилпептидті препараттар бірқатар шетелдерде де жасалуда. Жапонияда ромуртид медицинада қолдану үшін мақұлданған, ол стеарин қышқылы амин қышқылы лизин арқылы қосылатын МДП болып табылады. Ромуртидтің негізгі мақсаты - онкологиялық науқастарда радио- және химиотерапиядан кейін лейкопозді және иммунитетті қалпына келтіру болып табылады [157].

Шығу тегі эндогендік иммуномодуляторларды иммунорегуляторлық пептидтер мен цитокиндерге бөлуге болады. Белгілі болғандай, иммунитеттің орталық мүшесінде сәйкесінше жасушалық және гуморальды иммундық жауаптың дамуын реттейтін тимус пен сүйек кемігі болып табылады. Академик Р.В. Петровтың жетекшілігімен бір топ ресейлік ғалымдар бұл мүшелерді жасушалық және гуморальдық иммунитетті қалпына келтіретін дәрілік препараттарды жасау үшін иммунорегуляторлық пептидтерді оқшаулау үшін қолданды. Мұндай препараттардың пайда болуына биологиялық белсенді қосылыстардың жаңа класы - тимустың пептидті гормондары, оның ішінде тимозиндер, тимопоэтиндер және сарысулық тимикалық фактор - тимулиннің ашылуы түрткі болды. Бұл пептидтер қанға түскен кезде бүкіл перифериялық иммундық жүйеге әсер етіп, лимфоидты жасушалардың өсуі мен көбеюін ынталандырады.

Ресейдегі бірінші буынның тимикалық препараттарының негізін қалаушы-ірі қара тимусынан алынған пептидтер кешені тактивин болып табылады. Құрамында тимикалық пептидтер кешені бар препараттарға тималин, тимоптин және т.б., тимус сығындыларын бар препараттар - тимостимулин*, вилозен

жатады. Тактивиннің артықшылығы-онда тимикалық гормон $\alpha 1$ -тимозиннің болуы. Тимустың пептидті сығындылары болып табылатын иммуномодуляторларға Батыс Еуропаның бірқатар елдерінде медициналық қолдануға рұқсат етілген: тимостимулин, тимомодулин, тим-уровак.

Бірінші тимикалық препараттардың буынында клиникалық тиімділігіне күмән келтірілмейді, бірақ олардың бір кемшілігі бар: олар биологиялық белсенді пептидтердің бөлінбеген қоспасы бар және оларды стандарттау қиын. Тимикалық дәрі-дәрмектер саласындағы прогресс табиғи тимус гормондарының синтетикалық аналогтары болып табылатын 2-ші және 3-ші буын препараттарын: $\alpha 1$ -тимозин мен тимопозтин немесе осы биологиялық белсенділігі бар гормондардың фрагменттерін жасау жолымен жүрді. Соңғы бағыт, әсіресе тимопозтинге қатысты ең нәтижелі болды. Тимопозтиннің белсенді орталығының аминқышқылдары қалдықтарын қамтитын фрагменттердің бірінің негізінде батыста медициналық қолдануға рұқсат алған тимопентин және Ресейде медициналық қолдануға рұқсат алған синтетикалық гексапептид – тимопозтиннің 32-36 учаскесінің аналогы болып табылатын иммунофан препараты жасалды.

Синтетикалық тимикалық препараттарды жасаудағы тағы бір бағыт тимустың пептидтері кешенінің белсенді бастаулары мен сығындыларын талдау болды. Синтетикалық препарат тимоген, ол L-глутамил-L-триптофан. Тимогенге ұқсайтын синтетикалық препарат - бірдей аминқышқылдарынан тұратын бестим.

Сүйек кемігінен шыққан препараттардың арғы тегі миелопид болып табылады, ол биореттеуші пептидті медиаторлар кешені – миелопептидтер (МП), молекулалық салмағы 500-3000 D, шошқадағы сүйек кемігінің жасушалары өндіреді [158]. Қазір оның құрамында 6 миелопептид бар екені анықталды, олардың әрқайсысы белгілі бір биологиялық әсер етеді. Бастапқыда гуморальдық иммунитеттің дамуына сүйек кемігінің препараттары басым әсер етеді деп болжанған. Кейіннен әртүрлі МП иммундық жүйенің әртүрлі бөліктеріне әсер ететіні анықталды. Сонымен, МП-1 Т-хелперлердің функционалдық белсенділігін арттырады, МП-2 қатерлі жасушалардың пролиферациясын басу және ісік жасушаларының улы заттар шығару қабілетін айтарлықтай төмендетеді, МП-3 лейкоциттердің фагоцитарлық белсенділігін ынталандырады, МП-4 бағаналы жасушаларының дифференциациясына әсер етіп, олардың тезірек жетілуіне ықпал етеді. МП аминқышқылдарының құрамы толығымен ашылған, бұл сүйек кемігінен шыққан жаңа синтетикалық препараттарды жасауға негіз болды. Бактерияға қарсы әсері бар МП-3 негізіндегі Серамил препараты және ісікке қарсы әсері бар МП-2 негізіндегі Бивален препараты жасалды.

Медицинада сүйек кемігі жасушаларын белсендіру және лейкопоздті ынталандыру үшін натрий нуклеинатын қолдануға рұқсат етілді. Бұл препарат гидролиз және ашытқыдан ары қарай тазарту арқылы алынған нуклеин қышқылының натрий тұзы болып табылады. Кейіннен натрий нуклеинатының туа біткен және жүре пайда болған иммунитет факторларын ынталандыру қабілеті бар екені анықталды. Бұл табиғи болып табылады, өйткені иммундық

жауаптың дамуы Т- және В-лимфоциттердің белсенді пролиферациясымен байланысты. Кейіннен натрий нуклеинатының туа біткен және жүре пайда болған иммунитет факторларын ынталандыру қабілеті бар екені анықталды. Бұл табиғи болып табылады, өйткені иммундық жауаптың дамуы Т- және В-лимфоциттердің белсенді пролиферациясымен байланысты. Натрий нуклеинаты – лейкопозді ынталандырғыш ретінде ғана емес, сонымен қатар иммундық ынталандырушы ретінде де медициналық қолдануға рұқсат етілген өз тобындағы бірінші препарат. Бірақ кейінірек препарат барлық дерлік бөлінетін жасушалардың, соның ішінде бактериялық және қатерлі ісіктердің өсуіне және көбеюіне ықпал ететіні анықталды, сондықтан оны Европа мен Солтүстік Американың барлық елдерінде клиникалық қолдануға тыйым салынды. Нуклеин қышқылдарының негізінде бірқатар синтетикалық препараттар жасалды, мысалы, полудан, полиаденил-уридил қышқылының кешені. Шартты түрде бұл препараттар тобына инозин пранобекс* (изопринозин) - ацетиламидобензой қышқылымен инозин кешені, метилурацил және рибоксин - гипоксантин-рибозидтен тұратын күрделі қосылыс кіреді. Шетелде нуклеин қышқылдарының кейбір синтетикалық препараттары иммуноынталандырушылар ретінде медициналық қолдануға рұқсаты бар: бұрын айтылған инозин пранобекс және поли-Ау (аденил және уридил қышқылдарының қос тізбекті полинуклеотиді). Нуклеин қышқылдары тобының барлық препараттары интерферонның айқын индукторлары болып табылады.

Қазіргі уақытта иммунитетті ынталандыру үшін шөптік препараттар, атап айтқанда, эхинацея пурпуреясының әртүрлі туындылары шетелде кеңінен қолданылады. Бұл препараттардың кейбірі Ресейде иммуноынталандырушы ретінде тіркелген: иммунал*, эхинацин ликвидум*, эхинацея композитум С*, эхинацея вилар.

Бұл түрдегі препараттарды тағамдық қоспаларға немесе женьшень тамыры, элеуторок, пантокрин және т.б. сияқты адаптогендерге жатқызу орындырақ деп есептейміз. Бұл қосылыстардың барлығында белгілі бір дәрежеде лейкопоз және иммуноынталандырушы әсерлері бар, бірақ оларды дәрілік заттарға жатқызуға болмайды, адамның иммундық жүйесіне селективті әсері бар.

Химиялық таза иммуномодуляторлар тобын екі кіші топқа бөлуге болады: төмен молекулалық және жоғары молекулалық тобы. Біріншісіне қосымша иммунотропты белсенділікке ие бірқатар белгілі препараттар кіреді. Мұндай препараттардың тегі левамизол (декарис) - фенилимидазоль, белгілі антигельминтикалық зат, кейіннен айқын лейкопозді және иммуноынталандырушылық қасиеттерді анықтады. Левамизол БЦЖ сияқты иммуноынталандырушы ретінде АҚШ және Батыс Европада медициналық қолдануға рұқсат етілген алғашқы препараттардың бірі болып табылады. Химиялық құрылымы бойынша левамизолға ұқсас дибазол (имидазол туындысы), оның біршама иммуноынталандырушылық қасиеттері бар [159].

Бұл кейбір зерттеушілер үшін дибазолды тұмау мен басқа тыныс жолдарының инфекцияларына қарсы профилактика ретінде ұсынуға негіз болып табылады. Алайда, бұл препаратты профилактикалық қолдану негізсіз, өйткені

дибазолдың респираторлық инфекциялардың пайда болу қаупін азайту қабілетін зерттеу үшін плацебо-бақыланатын зерттеулер жүргізілмеген.

Бұл кіші топтың препараты – диуцифон, бастапқыда туберкулезге қарсы агент ретінде жасалған. Осы препараттың негізі болып табылатын сульфон қышқылының туындылары айқын антимикобактериялық қасиеттерге ие. Бұл қышқылға метилурацилді қосу оның бактерияға қарсы әсерін төмендетпеді, бірақ препаратта иммуносынталандырушы белсенділіктің пайда болуына әкелді. Микробқа қарсы және иммуносынталандыру қасиеттерін біріктіретін препараттарды жасау иммуномодуляторларды зерттеудің өте перспективты бағыты болып табылады.

Соңғы буынның кейбір антибиотиктері (ровомидин, рулид және т.б.) фагоцитозды ынталандыру және белгілі-бір цитокиндердің синтезін ықпалдандыру қабілетіне ие. Төмен молекулалық иммуномодуляторлар тобының тағы бір перспективалы препараты - фтальгидразид туындысы галавит. Бұл препараттың ерекшелігі - иммуномодуляциядан басқа, айқын қабынуға қарсы қасиеттердің болуы.

Төмен молекулалық иммуномодуляторлардың тобына үш синтетикалық олигопептидтер кіреді: гепон, глутоксим және аллоферон. Гепон – 14 аминқышқылынан тұратын олигопептид: Thr-Glu-Lys-Lys-Arg-Arg-Glu-Thr-Val-Glu-Arg-Glu-Lys-Glu. Бұл препараттың ерекшелігі-иммуномодуляциядан басқа, айқын вирусқа қарсы қасиеттердің болуы.

Полиоксидоний – химиялық синтез арқылы алынған жоғары молекулалық химиялық таза иммуномодулятор. Бұл молекулалық салмағы шамамен 100 kD болатын полиэтиленпиперазиннің N-тотықтырылған туындысы [160]. Химиялық құрылымы бойынша полиоксидоний шығу тегі табиғи заттарға жақын. Препараттың негізі болып табылатын N-оксид топтары адам ағзасында кеңінен кездеседі, өйткені азотты қосылыстар N-оксидтерінің түзілуі арқылы азоттық қосылыстардың метоболизмы жүреді.

Ағзаға препараттың фармакологиялық әсері кең спектрге ие: иммуномодуляциялық, детоксикациялау, антиоксиданттық және мембранопротекторлы. Бірақ, қазір бұл препараттың плацебо сынақтары үшін хаттаманың болмауына байланысты тиімділігі дау туғызады.

2.2 Эритропоэзынталандырушылар: түрлері, оң және теріс фармакологиялық қасиеттері

Анемия – ісік процесінің нәтижесінде де, жүргізіліп жатқан цитостатикалық терапия нәтижесінде де дамиды онкогематологиялық аурулардың жиі асқынуы. Қазіргі уақытта анемия бүкіл әлемде кең таралған аурулардың бірі болып табылады. ДДҰ мәліметі бойынша, бұл 2 миллиардқа жуық адамда симптом ретінде анықталған. Егде жастағы науқастар арасында кең таралған анемия, осылайша, аурудың жас құрылымында 65-74 жас аралығындағы адамдардың үлесі 25%, ал 75 жастан асқан науқастардың үлесі қазірдің өзінде 43% құрайды. Жалпы, егде жастағы адамдар мен қарттар арасында анемияның таралуы амбулаториялық жағдайда 12-ден 20%-ға дейін ауытқиды, ал стационарлық

жағдайда 50-80%-ға жетеді. Сонымен қатар, ТТА гериатриялық науқастар арасында анемияның ең көп тараған түрі болып саналады, анемияның барлық жағдайларының 85%-ға дейін құрайды [161]. Айта кету керек, темір тапшылығы анемиясы науқастың өмір сүру сапасын өзінің клиникалық көріністеріне байланысты ғана емес, сонымен қатар басқа соматикалық патологиялардың (әсіресе егде жастағы адамдар тобында кең таралған жүрек-тамыр жүйесі аурулары) ағымын нашарлатады, сонымен қатар науқастың мезгілсіз қайтыс болу қаупін арттырады. Сонымен, бірқатар зерттеулерде науқасатардың бес жылдық өмір сүру көрсеткіші мен гемоглобин деңгейі арасындағы байланыс анықталды-анемиямен ауыратын науқастарда ол қалыпты гемоглобин деңгейі бар адамдармен салыстырғанда едәуір төмен болды, гематокриттің 1% төмендеуі өлім қаупінің 2% жоғарылауымен қатар жүрді [162-171]. Бұл ТТА-ны емдеуге, әсіресе егде жастағы топтардағы науқастарда әдіс-тәсілді қажет етеді. ТТА емдеудің негізі темір препараттарын тағайындау болып табылатыны белгілі [172].

Эритропоэзынталандырушы препараттар сүйек кемігіндегі қызыл қан жасушаларының өндірісін ынталандыру арқылы жұмыс істейді, нәтижесінде бірнеше аптадан кейін гемоглобин деңгейінің жоғарылауына әкеледі. Терапиялық мақсат - қан құюды қажет етпейтін гемоглобин деңгейіне қол жеткізу және оны сақтау. Эритропоэзынталандырушы агенттер құрамы адамдардағы рекомбинантты эритропоэтинді камтиды және олар 1990-шы жылдардың басынан бастап қатерлі ісікте анемияны емдеуге рұқсат етілген. Эпоэтин- α , эпоэтин- β және дарбепоедин- α модификацияланған рекомбинантты ЭПО да клиникалық қолдану үшін қол жетімді. Бұл препараттар клиникалық зерттеулерде ұқсас тиімділікті көрсетеді, бірақ кейбір фармакокинетикалық айырмашылықтары бар. Дарбепоедин- α шығарылу кезеңі ұзағырақ, бұл оны әр 2 немесе 3 апта сайын енгізуге мүмкіндік береді, дегенмен гемоглобиннің қажетті шамасына жету уақыты эпоэтинге қарағанда ұзағырақ болуы мүмкін; жартылай шығарылу кезеңі қысқарақ препараттар апта сайын енгізуді қажет етеді. ЭПО препараттарының түпнұсқасы қымбат, бұл олардың көптеген жағдайда қолдануын шектейді [173].

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу материалдары

2.1.1 Жануарлар

Қазіргі таңда жануарлардағы екіншілік миелодепрессивті жағдайдың танымал үлгісі циклофосфамидті енгізу арқылы миело- және лимфоцитопозді тежеу болып табылады [174-177].

Зерттеу материалы ретінде әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология клиникасынан ақ тұқымды альбинос егеуқұйрықтар және АҚШ-ғы Charles River зертханасынан сатып алынған М. Айкымбаев атындағы Қазақ карантиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығының виварийінде көбейтілген *C57BL6/J* линиялы тышқандар қолданылды.

Зерттеу жұмыстары үшін жыныстық жағынан жетілген (аңғал) салмақтары 210-280 г. 12-15 апталық 600 аналық егеуқұйрықтар және 18-23 г. 5-7 апталық 30 аналық тышқандар тандап алынды (сурет 3). Жануарларды зерттеуге пайдалану әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің этикалық комитеті жағынан мақұлданды (Зерттеу Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау Министрінің 2020 жылғы 4 қарашадағы №ҚР ДСМ-181/2020 бұйрығына және әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің жергілікті этикалық комиссиясының 2022 жылғы 9 маусымдағы №470 хаттамасына сәйкес жүргізілді, қолданылу мерзімі – 2023 жылғы 8 тамызға дейін ұзартылған) және халықаралық этикалық талаптарға сай орындалды.

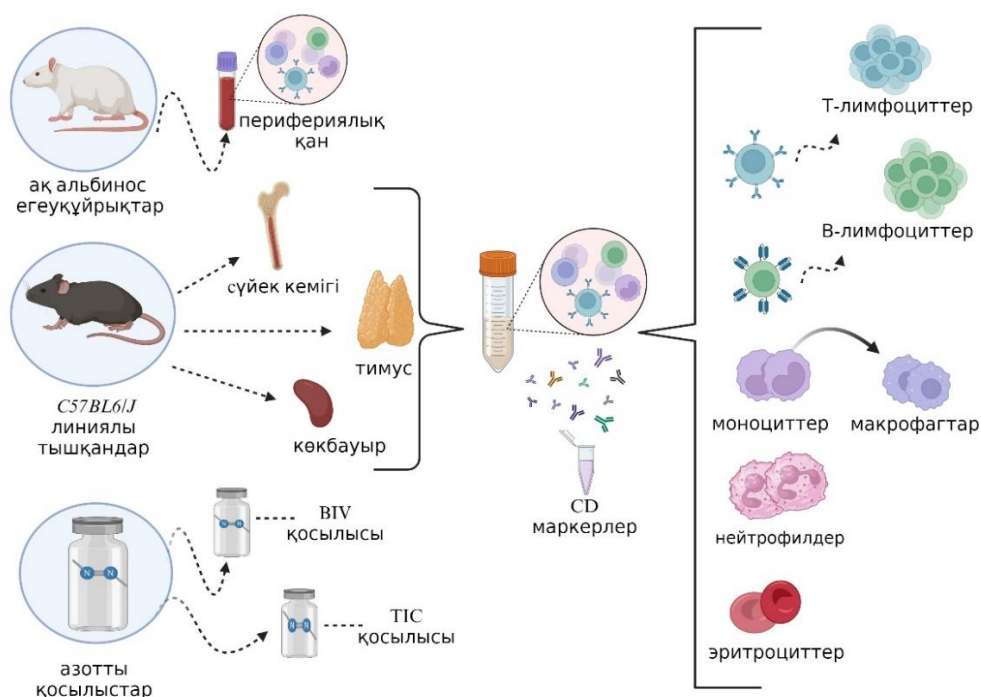
Жануарлар ауру қоздырғыштары жоқ тосқауыл қоймасында ұсталды. Барлық жануарлар 21-24°C стандартты полипропилен торларында ұсталды және стандартты азық пен су қабылдады. Барлық жануарлар бірдей жағдайда ұсталды, полипропилен торлары, таза үгінділерден жасалған ағаш қоқысы (60 минут бойы ультракүлгін кварцпен өңделген), бөлме температурасы 22-24°C, терезелерден табиғи жарық түсіп тұрды, стандартты жем рационмен (зертханалық егеуқұйрықтар мен тышқандарға арналған Delta Feeds жем толық түйіршікті адаптогенді (SPF), артикул С-19, 2500 ккал/кг, ақуыз мөлшері 19%) тамақтандырылды.

2.1.2 Зерттелетін қосылыстар

Зерттеуге 32 қосылыс А.Б. Бектуров атындағы химия ғылымдары ғылыми-зерттеу институтында «синтетикалық және табиғи дәрілік заттар химиясы» лабораториясында х.ғ.д, профессор Ю В.К. басшылығымен және 8 тримекаинды иондық қосылыс Қазақ-Британ техникалық университетінің базасында, «химиялық инженерия» мектебінде PhD, профессор Забыбин А.Г. басшылығымен синтезделген. Зерттеуге жалпы саны БИВ-шифрымен 40 қосылыс алынды: 32 қосылыс құрылымы биспидинді, диенонды, пиразолопиридинді, пиперазинді, пиперидинді ядромен болды: Биспидиндер: БИВ-135 (3-метил-7-фенилэтил-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені), БИВ-136 (3-[3-(1H-имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-

метоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені), БИВ-137 (3-(3-метоксипропил)-7-[2-(пиридин-2-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені), БИВ-138 (3-[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-метоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β-циклодекстринмен кешені), БИВ-139 (3-(3-метоксипропил)-7-(2-(пиридин-2-ил)этил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β-циклодекстринмен кешені), БИВ-156 (3-[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-бутоксипропил)-3,7-диазабицикло [3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені), БИВ-158 (3-[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-бутоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β-циклодекстринмен кешені), Диенондар: БИВ-206 (1-(2-этоксиэтил)-3,5-бис(2-фторбензилиден)пиперидин-4-онның β-циклодекстринмен кешені), БИВ-207 (1-(2-этоксетил)-3,5-бис[2-(трифторметил)бензилиден] пиперидин-4-онның β-циклодекстринмен кешені). Пиразолопиридиндер: БИВ-152 ((5-(2-этоксиэтил)-7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-2-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H* пиразоло[4,3*c*]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені), БИВ-153 (7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-5-(3-метоксипропил)-2-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H*-пиразоло [4,3-*c*]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені), БИВ-154 (7-(3-фторбензилиден)-3-(3-фторфенил)-5-(3-метоксипропил)-2-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H*-пиразоло[4,3-*c*]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені), БИВ-190 (5-бензил-7-(о-фторбензилиден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H*-пиразоло [4,3-*c*]пиридиннің β-циклодекстринмен кешені). Пиперазиндер: БИВ-131 (диметил[(2-фторфенил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метил]фосфонаттың β-циклодекстринмен кешені), БИВ-134 (диметил[(4-фторфенил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метил]фосфонаттың β-циклодекстринмен кешені), БИВ-140 (1-метил-4-[4-(нафталин-1-илокси)бут-2-ин-1-ил]пиперазин гидрохлориді), БИВ-141 (1-метил-4-[4-(нафталин-1-илокси)-1-фенилбут-2-ин-1-ил]пиперазин гидрохлориді), БИВ-143 (1,5-Бис[(4-(4-метилпиперазин-1-ил)бут-2-ин-1-ил)окси]нафталин гидрохлориді), БИВ-144 (4-бенгидрилпиперазин-1-калий карбодитионаты), БИВ-145 (4-метилпиперазин-1-калий карбодитионаты), БИВ-171 (3-феноксипропил-4-бензимгидрилпиперазин-1-карбодитионат гидрохлориді), БИВ-175 (3*R*,5*R*)-адамантан-1-ил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метанонның β-циклодекстринмен кешені). Пиперидиндер: БИВ-111 (1-[3-(1*H*-имидазол-1-ил)пропил]пиперидиннің β-циклодекстринмен кешені), БИВ-121 (1-(2-этоксиэтил)-4-(2-циклопропилэтил)-4-бензоилоксипиперидиннің β-циклодекстринмен кешені), БИВ-123 (1-(3-этоксипропил)-4-(пент-1-ин-1-ил)пиперидин-4-илбензоаттың β-циклодекстринмен кешені), БИВ-124 (1-(3-этоксипропил)-4-пентилпиперидин-4-илбензоаттың β-циклодекстринмен кешені), БИВ-125 (1-бензилпиперидин-4-он О-циклопропанкарбонилоксимнің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені), БИВ-126 (1-(3-этоксипропил)-4-((6-метилпиридин-3-ил)этинил)пиперидин-4-илциклопропанкарбоксилаттың β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені), БИВ-151 (1-(3-этоксипропил)-4-(нон-1-ин-1-ил)пиперидин-4-илпропионаттың β-циклодекстринмен кешені), БИВ-172

(1-бензилпиперидин-4-он О-(2,6-дифторбензоил)оксимнің гидрохлориді), БИВ-176 (1-пропилпиперидин-4-ил 2-фторбензоат гидрохлориді). 8 иондық тримекаин қосылыстары (Қазақ-Британ техникалық университетінде синтезделген): БИВ-117 (N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-оксоэтанамоний йодиді), БИВ-118 (N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-этил-оксоэтанамоний йодиді), БИВ-119 (бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний), БИВ-150 (N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-бензил-оксоэтанамоний хлориді), БИВ-165 (N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-бутил-оксоэтанамоний йодиді), БИВ-166 (N¹,N¹,N³,N³-тетраэтил-2-гидрокси-N¹,N³-бис-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1,3-диамин дихлориді), БИВ-201 (N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропинил-оксоэтанамоний бромиді), БИВ-202 (N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-ацетил-оксоэтанамоний йодиді).



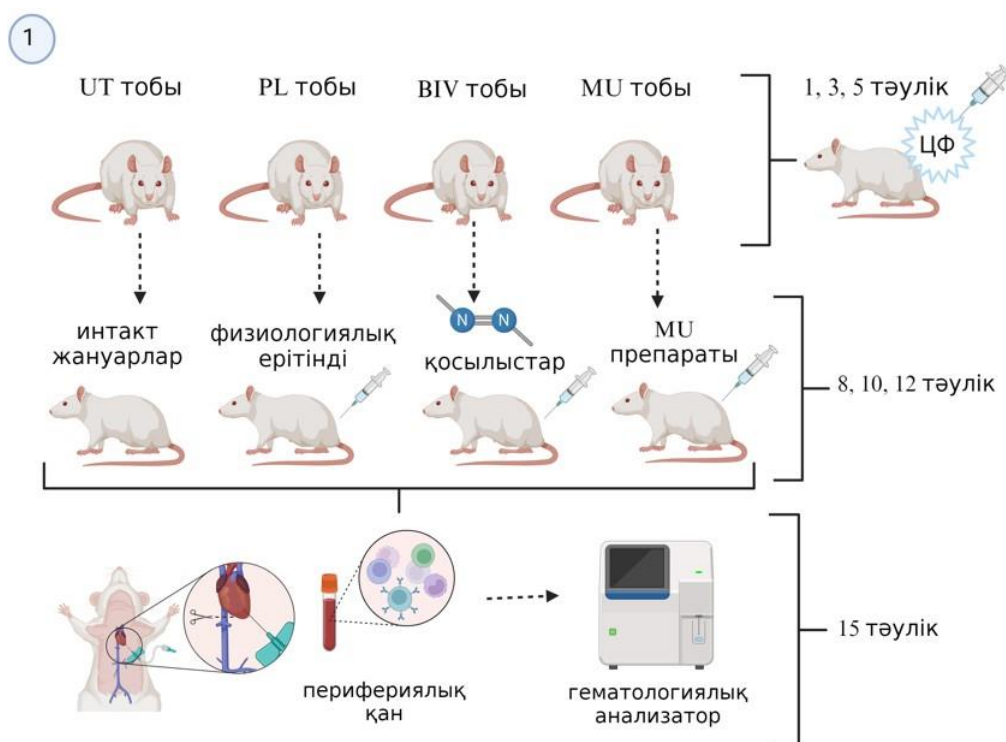
Сурет 3 – Зерттеу материалдары

2.2.1 Егеуқұйрықтардың перифериялық қанындағы гемоинталандырушы белсенділікті зерттеуге арналған тәжірибелік дизайн

Жаңа қосылыстардың гемоинталандырушы белсенділігін зерттеуге арналған тәжірибелерде ересек зертханалық ақ егеуқұйрықтар пайдаланылды және келесі топтарға бөлінді: интакт (UT), плацебо (PL), 40 топ зерттелетін қосылыстарды енгізу (BIV-NN), бақылау (MU). Әрбір эксперименттік топ 6 егеуқұйрықтан тұрды.

Миелодепрессия цитостатикалық циклофосфамидті енгізу (Бакстер Онкология ГмбХ) Кантштрассе, 2, Д-33790, Халле/Вестфаллен, Германия, тіркелген нөмірі П№014446/02-2002, серия 8G166D) арқылы туындады. Тәжірибенің 1-ші, 3-ші, 5-ші тәуліктерінде PL, MU, BIV-1-ден BIV-40-шы тобына 30 мг/кг дозада натрий циклофосфамидінің 3% ерітіндісі (еріткіш –

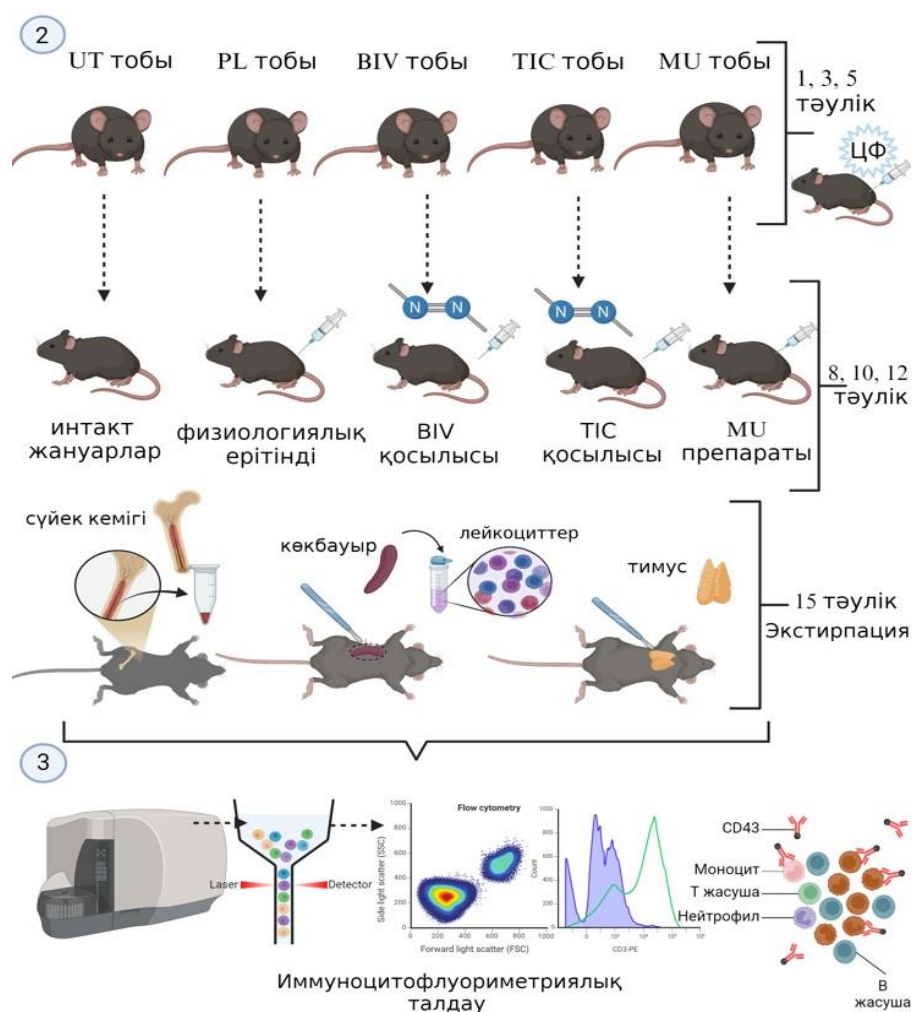
натрий хлоридінің изотониялық ерітіндісі, физиологиялық ерітінді) бұлшықет ішіне енгізілді. Орташа енгізу көлемі 0,2-0,24 мл құрады. Содан кейін тәжірибенің 6, 7 және 8-ші тәуліктері таңғы сағат 9.00-де: тәжірибелік топтағы жануарларға BIV препараттары (BIV-NN) (қосылыстар физиологиялық ерітіндіде ерітілді және бұлшықет ішіне 10 мг/кг дозада, 0,2-0,25 мл (1% ерітінді) көлемінде енгізілді, бақылау тобы жануарларына (MU) салыстырмалы препарат ретінде 6-Метилурацил (6-метилурацилды физиологиялық ерітіндіде ерітіп және бұлшықет ішіне 10 мг/кг дозада, 0,2-0,25 мл көлемінде (1% ерітінді)) енгізілді және плацебо тобындағы жануарларға (PL) ұқсас көлемде (0,2-0,25 мл) физиологиялық ерітінді енгізілді. Жануарлардың интакт тобына (UT) ешқандай қосылыстар енгізілмеді. Тәжірибенің 15-ші тәулігінде (соңғы инъекциядан кейін 7 тәулік өткен соң) қан сағат 09.00-де егеуқұйрықтардың орбиталық синусынан (кетамин/ксилазинмен жеңіл анестезиямен (91,0 мг/кг кетамин/ 9,1 мг/кг ксилазин) VF-052SDK (2 мл) ЭДТА (K2) стерильді гематологиялық пробиркаларға қан алынды [178, 179, 133 б.]. Қоректері қан сынамасынан 12 сағат бұрын қоректендіргіштерден алынып тасталынды. Қан талдауы «MicroCC-20 Plus» (Қытай) жануарлардың гематологиялық қан анализаторында жүргізілді (сурет 4). Құрылғы жасушалардың келесі санаттарын анықтауға жабдықталған: WBC – жалпы лейкоциттер саны; LYM – лимфоциттердің абсолютті саны; MON – моноциттердің абсолютті саны; NEU – нейтрофилдердің абсолютті саны; EO – эозинофилдердің абсолютті саны; BAS – базофилдердің абсолютті саны; LYM – салыстырмалы лимфоцитарлық көрсеткіш; MON – моноциттердің салыстырмалы көрсеткіші; NEU – нейтрофилдердің салыстырмалы көрсеткіші; ЭО – эозинофилдердің салыстырмалы көрсеткіші; BAS – базофильдердің салыстырмалы көрсеткіші, RBC – эритроциттердің жалпы мәні; HGB – гемоглобин; HCT – гематокрит; MCV – эритроциттердің орташа көлемі; MCH – орташа HGB/RBC гемоглобин мәні; MCHC – HGB/HCT эритроциттердегі гемоглобиннің орташа концентрациясы; RDW-cv – көлем бойынша эритроциттердің салыстырмалы таралу кеңдігі (вариация коэффициенті); RDW-sd – көлем бойынша эритроциттердің салыстырмалы таралу кеңдігі; PLT – тромбоциттердің жалпы көлемі; PCT – тромбокрит; MPV – тромбоциттердің орташа көлемі. Қосарланған цитологиялық бақылау үшін қанның лейкограммасын есептеу үшін қан жағындылары алынды. Қан жағындыларын Гимза әдісі бойынша боялды және Микромед МП-3 иммерсионды микроскопында (7x100 үлкейту), әрбір жағынды үлгісінде 100 жасушадан саналды, содан кейін әрбір типтегі жасушалардың салыстырмалы саны абсолютті мәнге айналдырылды [180].



Сурет 4 – Тәжірибелік дизайн

2.2.2 Миело- және лимфоцитопоэз ынталандырушы белсенділікті зерттеуге арналған тәжірибелік дизайн

Миелоынталандырушы белсенділікті зерттеу үшін *C57BL6/J* линиялы тышқандары қолданылды және келесі топтарға бөлінді: интакт (UT), плацебо (PL), екі топ BIV, TIC қосылыстарын енгізу тобы, бақылау (MU) тобы. Әр топ алты тышқаннан тұрды. Цитостатикалық препарат циклофосфамид (Бакстер Онкология ГмбХ) Кантштрассе, 2, Д-33790, Халле/Вестфаллен, Германия, тіркелген нөмірі П№ 014446/02-2002, серия 8G166D) физиологиялық ерітіндіде ерітілді және тышқандарға бұлшықет ішіне 100 мг/кг дозада 0,05 мл көлемінде (4% ерітінді), сағат 9:00-де күнара сайын (тәжірибенің 1, 3, 5 тәулігі) үш инъекция енгізілді. Содан кейін тәжірибенің 8, 10 және 12-ші тәулігі, таңғы сағат 9-да: BIV, TIC топтарының тәжірибелік жануарларына BIV-190 (BIV) және BIV-119 (TIC) енгізілді (BIV және TIC қосылыстары физиологиялық ерітіндіде ерітілді және бұлшықет ішіне енгізіледі). 10 мг/кг дозада 0,05 мл көлемінде (0,4% ерітінді) бақылау тобының MU жануарларына салыстырмалы препарат ретінде 6-Метилурацил (6-метилурацил физиологиялық ерітіндіде ерітілген) және плацебо тобындағы жануарларға (PL) ұқсас көлемдегі (0,05 мл) физиологиялық ерітінді енгізілді, интакт топқа (UT) ешқандай қосылыс енгізілген жоқ. Тәжірибенің 15-ші тәулігінде (соңғы инъекциядан кейін 3 тәуліктен соң) жансыздандырылған жануарлардың (кетамин 87,5 мг/кг/ксилазин 12,5 мг/кг жеңіл анестезиямен) мойын омыртқалары үзілді (сурет 5).



Сурет 5 – Тәжірибелік дизайн

2.2 Зерттеу әдістері

2.2.1 Фосфатты-тұзды буферін (PBS) және колонка буферін дайындау әдісі

PBS, жасушаларды жуу және колонка буферінің ерітіндісін дайындау үшін пайдаланылды. PBS ерітіндісін дайындау үшін тазартылған суда NaH_2PO_4 (0,005 M) және NaCl (0,15 M) ерітілді, pH 7,4 мәнге жету үшін 0,1 N ерітіндіді NaOH пайдаланылды. Колонка буферін дайындау үшін PBS ерітіндісіне 0,5% FBS және 0,002 M EDTA қосылды. Барлық алынған ерітінділер диаметрі 0,22 мкм стерилді мембраналық сүзгіден өткізіліп қолданғанға дейін 4-8°C тоңазтқышта сақталды.

2.2.2 Сүйек кемігінің жасушалығын бағалау

Бақылау және тәжірибелік топтағы тышқандардан этикалық ережелерге сәйкес хирургиялық жолмен экстирпация жүргізе артқы аяқ сүйектері алынды. Оларды қайшымен бұлшық еттерден тазартып, эпифиздерін кесіп, сүйектің ішкі кемік майы 10 миллилитрлік шприцтің көмегімен PBS ерітіндісімен жуылды. Алынған жасушалар суспензиясы диаметрі 30 мкм (Miltenyi Biotec) болатын мембрана арқылы сүзіліп, центрифугалау әдісімен 10 минут бойы екі қайталанып жуылды. Эритроциттер лизисі үшін pH 7,2-7,4 болатын лизис буфер (ЛБ) (0,83% NH_4Cl , 0,1% KHCO_3 , 0,003% EDTA, pH 7,2–7,4) қолданылды. Алынған

жасушалар саны Горяев камерасында анықталды. Жасушаларды санап, олардың өміршеңдігі трипан көк көмегімен анықталынды.

2.2.3 Көкбауырдың жасушалығын бағалау

Әр тышқан тобының эвтаназиясынан кейін этикалық ережеге сай, хирургиялық жолмен көкбауыр экстирпациясы жүргізілді. Көкбауырды өлшегеннен кейін шыны гомогенизатор көмегімен PBS ерітіндісінде жасуша суспензиясы дайындалды [181]. Эритроциттердің лизісі, жасушалар фильтрациясы мен жасушаларды санау 2.2.2. п. бойынша жүргізілді. Нәтижелер формула бойынша мүше салмағының бір мг салмаққа бөлгендегі жасушалардың салыстырмалы құрамы анықталды (2):

$$C=L/M \text{ [кл./мг]} \quad (2)$$

Мұндағы: С – жасушалылығы; L – мүшедегі жасуша саны; M – мүше салмағы.

2.2.4 Тимустың жасушалығын бағалау

Тышқандардың әр тобының эвтаназиясынан этикалық ережеге сай хирургиялық жолмен тимустың экстирпациясы жүргізілді. Тимустағы жасуша суспензиясын алу 2.2.2. п. және тимустың жасушалығын бағалау 2.2.3. п. бойынша жүзеге асырылды.

2.2.5 Ағынды иммуноцитофлуориметрия әдісін жүргізу

Цитофлуориметриялық талдау Алматы қаласы, ТОО «Ұлттық биотехнология орталығы» филиалы, «иммунология және иммунобиотехнология» лабораториясында FACSCalibur ағынды цитометрінде (BD Biosciences, АҚШ) жасалынды. Жасушаларды фенотиптеу CD-маркерлері арқылы ағынды иммуноцитофлуориметрия көмегімен жасалды. Бұл үшін жасушалар беткі және жасушаішілік бояу үшін фикоэритрин (PE), флуоресцеин-изотиоцианат (FITS), аллофикоцианинмен (APC) немесе перидинин-хлорофилл белок (PerCP) таңбаларымен белгіленген CD-маркерлерге қарсы моноклонды антиденелермен (АД) өндіруші фирмалар (BD Biosciences, АҚШ немесе Milenyi Biotec, Германия) нұсқаулығына сәйкес инкубацияланады. Кейін Fixation/Permeabilization ерітіндісімен фиксацияланып, пермабилизацияланып және араластырылып бөлме температурасында 20 мин. инкубацияланады. Жасушалар Perm/Wash буфер ерітіндісімен жуылды және жасушаішілік молекулаларға тән антиденемен боялды. Жасушалар PBS ерітіндісімен жуылып, цитометрияға арналған ерітіндіде суспензияланып, CellQuest Pro бағдарламасын (BD Biosciences, АҚШ) пайдалана отырып FACSCalibur ағынды цитометрінде талдау жасалынды.

Тышқан жасушаларындағы FcR рецепторларын бұғаттайтын реагент (Milenyi Biotec, Германия) жасушаларға антиденемен боялғанға дейін спецификалық емес байланысуды тежеу үшін қолданылды. Жасуша беттік бояу үшін келесі антиденелер қолданылды: APC-CD11b, PE-Ly6C, PE-Ly-6C, PE-CD43, PerCP-CD19, PE-CD3e, PerCP-TER-119, FITC-CD4, PerCP-CD8, PerCP-

CD25, PerCP-CD8a, PE-FoxP3, PerCP-CD28, FITC-CD44, PE-MHCII, PE-CD40, APC-CD45R (B220), APC-CD117. Цитометриялық талдауды жүргізудің репрезентативті мәліметтері көрсетілді.

Келесі жасуша субпопуляциялары есептелді:

1. APC-CD117⁺ – сүйек кемігінің гемопоэтикалық бағаналы жасушалары;
2. APC-CD11b⁺ PE-Ly-6C⁺ PE-Ly6G⁺ – гранулоцитарлы лейкоциттер (нейтрофилдер, эозинофилдер және базофилдер) және моноцитарлық лейкоциттер қатарының жасушалары;
3. PerCP-Ter119⁺/CD71⁺ – дифференциацияның эритроидты бағытының жасушалары;
4. APC-B220/CD45R⁺ PE-CD43⁺ PerCP-CD19⁺ – ерте Pro- B-I- және Pro-B-II- лимфоциттер;
5. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ – жетілген B-лимфоциттер;
6. APC-B220/CD45R⁺ PE-CD43⁻ PerCP-CD19⁺ – Pre-B-I- және Pre-B-II- лимфоциттер және транзиторлы B-лимфоциттер (T1, T2, T3);
7. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19^{+/mid} – маргиналды аймақтың B-лимфоциттері (MZB-лимфоциттер) мен фолликулярлы аймақтың B-лимфоциттері (FO-B-лимфоциттер);
8. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ PE-MHCII⁺ – герментативті орталықтың белсендірілген B-лимфоциттері;
9. APC-B220/CD45R⁺ PerCP-CD19⁺ PE-CD40⁺ – B_{mem}-жад лимфоциттері;
10. PE-CD3e⁺ PerCP-CD19⁻ – ерте пре-T-лимфоциттер;
11. PE-CD43⁺ PE-CD3e⁺CD4⁺ – тимуста селекциядан өткен Th-лимфоциттер;
12. PE-CD43⁺ PE-CD3e⁺ PerCP-CD8a⁺ – тимуста селекциядан өткен цитотоксикалық T-лимфоциттер;
13. FITC-CD4⁺ PerCP-CD25⁺ – белсендірілген клондаушы Th_{act}-лимфоциттер;
14. FITC-CD4⁺ PerCP-CD25⁺ PE-FoxP3⁺ – T-реттеуші лимфоциттер;
15. PerCP-CD28⁺ PerCP-CD8a⁺ FITC-CD44⁺ – костимулденген T_{mem}-жад лимфоциттер.

2.3 Статистикалық талдау

Алынған мәліметтер статистикалық маңызды айырмашылықты анықтау үшін қолданбалы Microsoft Excel 2010, «Statistica 6.0» бағдарламалық қамтамасыз ету, бір факторлы ANOVA бағдарламалық қамтамасыз ету (дисперсионды талдау) арқылы дербес компьютерде математикалық статистика әдістерімен өңделді және $p < 0,05$ және $F > F_{crit}$ мәндер маңызды деп есептелді. Арифметикалық орта (M)± және орташа ауытқу (SD) бір жақты ANOVA талдауы арқылы алынды. Егер нөлдік болжамның ықтималдығы 5% ($p \leq 0,05$) асса, айырмашылықтар жарамсыз деп танылды.

Қосылыстардың бірегей химиялық құрылымдарын жүзеге асыру үшін Perkin Elmer Informatics компаниясының химиктер мен ғалымдарға арналған Chemdraw бағдарламасы пайдаланылды. Графиктерді өңдеу Graph Pad Software Prism 9.2.0, Origin және суреттер үшін BioRender бағдарламасы пайдаланылды.

3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Циклофосфамид әсерінен кейінгі лимфо-миелоидты мүшелердегі субпопуляцияларының өзгерістері

3.1.1 Циклофосфамидтің Т- лимфоцитопоззге әсері

Стресстің қарқындылығы мен ұзақтығына байланысты сүйек кемігінің қан түзу қызметі мобилизация мен төзімділіктен сарқылу мен патологияға дейінгі кезеңдерден дәйекті түрде өтетіні белгілі [182]. Циклофосфамидті енгізуге тән реакция – ол тимоциттердің апоптозына байланысты тимус атрофиясы. Тимус – иммундық жүйенің орталық мүшесі және токсиндер мен цитостатиктерге біршама сезімтал болып келеді [183, 184]. Т-лимфоциттердің цитостатиктердің әсеріне жоғары сезімталдығы олардың қарқынды пролиферациясына байланысты [185]. Т-лимфопоззде 2 механизм ажыратылады: тимопозз және гомеостатикалық пролиферация. 1-ші механизм аңғал тимус Т-лимфоциттерінің келуін, 2-механизм – лимфо-миелоидты мүшелердегі пролиферация есебінен [186, 187] жүруін қамтамасыз етеді.

Сонымен қатар, қазіргі таңда циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессиялық күйдегі сүйек кемігі, тимус және көкбауырдағы Т-лимфопозздің кейбір жақтары жеткілікті түрде зерттелмеген. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған лимфоцитопозздепрессивті жағдайында сүйек кемігінің, тимустың, спленоцитарлы Т-жасушаларының: T_{naiv} , T_h , T_{hact} , T_{reg} , CTL және T_{mem} — сандық таралуы зерттелмеген. Циклофосфамидтің бастапқы және гомеостатикалық Т-лимфопозздің тежелу деңгейіне әсеріне баға берілмеген [188-191]. Циклофосфамидтің Т-лимфопозздің әртүрлі кезеңдеріндегі лимфо-миелоидтық кешеннің Т-жасушалық сатыларына әсерінің маңыздылығын зерттеу осы процестердің патогенезін түсіну үшін де, оларды түзетудің қолайлы әдістерін табу үшін де маңызды [192, 193].

Сүтқоректілердің Т-жасушаларының дамуы мен жетілу процесі ұрық бауырындағы қан түзетін гемопоэтикалық жасушаларынан (ГБЖ) басталады, содан кейін сүйек кемігінде, онда ГБЖ-р мультипотентті ізашарларға бөлінеді. Арнайы дифференциация аяқталатын, дифференцияның белгілі-бір сатысында Т-лимфоциттердің коммитирленген ізашарлары (пре-Т-лимфоциттер) тимусқа миграцияланады. Біз, циклофосфамидтің (ЦФ) ГБЖ ($CD117^+$), сонымен қатар сүйек кемігіндегі Т-жасушаларына әсерін талдадық. 1-кестеден көріп отырғанымыздай, циклофосфамид сүйек кемігіндегі (c-kit) ГБЖ жасушалар деңгейінің 1,67 есе төмендеуіне әкелді. Сүйек кемігіндегі Т-лимфоцитарлы бағыт бойынша пролиферация пре-Т-лимфоцитке дейін дифференцияның толықтай жүрмеуімен шекетеледі. Сүйек кемігіндегі циклофосфамидті интоксикация $CD3e^+$ Т-лимфоциттердің 1,82 есе ($P=0,000001$) төмендеуіне әкелді. Сүйек кемігінде екіншілік лимфо-миелоидты мүшелерден миграцияланатын жасушалар бар, оның ішінде бұл рециркуляциялық $CD3e^+CD44^+$ T_{mem} -жад жасушалары жоғары пайызды құрайды және екіншілік иммундық жауапқа белсенді қатысады [194-197]. Рециркуляцияланатын

CD3e⁺CD44⁺T_{mem} жад жасушаларының төмендеу деңгейі де 1,58 есе едәуір маңызды болды (кесте 1).

Сонымен, сүйек кемігінде циклофосфамид ГБЖ (CD117⁺) жасушалары мен CD3e⁺ Т-лимфоциттер деңгейі, тиісінше 40,03%-ға және 45,20%-ға айқын төмендеуіне әкелді. Дәл сол деңгейде дерлік, рециркуляцияланатын CD3e⁺CD44⁺T_{mem} - жад жасушалары 36,91%-ға төмендеді.

Кесте 1 – ЦФ әсерінен кейінгі сүйек кемігіндегі ГБЖ және Т-лимфоцит субпопуляциялары

№	Сүйек кемігіндегі жасушалар мәні (M±SD), %			
	Жануарлар тобы	CD117 ⁺ ГБЖ	Белсендірілмеген CD43 ⁺ CD3e ⁺ Т-лимфоциттер	CD3e ⁺ CD44 ⁺ T _{mem} -жад лимфоциттер
1	UT	7,62±1,33	22,01±1,06	16,58±2,15
2	PL	4,57±0,6	12,06±1,87	10,46±1,21
	P	P ₁₋₂ =0,00002	P ₁₋₂ =0,0000001	P ₁₋₂ =0,000005

Ары қарай, тимустағы CD3e⁺CD19⁺ тимоциттерінің, (SP) CD3e⁺CD4⁺ және CD3e⁺CD8a⁺ тимоциттерінің, белсендірілген CD4⁺CD25⁺ Th_{act} хелперлерінің және рециркуляцияланатын FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ T_{reg}-жасушаларының жалпы деңгейі бағаланды (кесте 2).

Циклофосфамидті интоксикация CD3e⁺CD19⁺ жалпы тимоциттер популяциясы деңгейінің (2,45 есе), SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттер фракциясының (2,78 есе) (P=0,00008 F>F_{crit}, 11229,95>18,51) төмендеуін туғызды. SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттердің деңгейі айқын төмендеді (5,88 есе) (P=0,000008 F>F_{crit}, 1244962>18,51). Сонымен қатар, SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттер деңгейінің 2,78 есеге (P=0,0000005 F>F_{crit}, 1690960>18,51) төмендегіні байқалды.

Рециркуляцияланатын FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ Treg-жасушаларының деңгейі 1,24 есе (P=0,00003 F>F_{crit}, 32512,5>18,51) төмендеді. Сондай-ақ, рециркуленетін CD4⁺CD25⁺Th_{act}-жасушалардың деңгейінің (P=0,00002 F>F_{crit}, 47740,5>15,81) біршама артуы байқалды.

Кесте 2 – ЦФ әсерінен кейінгі Т-лимфоциттердің субпопуляциялары

№ p/c	Тимустағы Т-лимфоцит субпопуляцияларының мәні (M±SD), %					
	Жануарлар тобы	CD3e ⁺ CD19 ⁺ Т-лимфоциттер	CD3e ⁺ CD4 ⁺ Т-хелперлер	CD3e ⁺ CD8a ⁺ ЦТЛ	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Белсендірілген Т-хелперлер	FoxP3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ Т-реттеуші лимфоциттер
1	UT	17,95±0,85	42,76±3,01	28,41±0,47	2,34±0,21	12,07±0,67
2	PL	7,3±1,11	7,27±0,26	10,2±0,57	5,43±0,57	9,76±0,57
	P	P ₁₋₂ =0,00008	P ₁₋₂ =0,000008	P ₁₋₂ =0,0000005	P ₁₋₂ =0,00002	P ₁₋₂ =0,00003

Осылайша, циклофосфамид тимустағы SP CD3e⁺CD4⁺ және CD3e⁺CD8a⁺ тимоциттерінің сарқылуын (тиісінше, 82,99% және 61,09%), рециркуляцияланатын FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ T_{reg}-жасушаларының (19,13%) айқын төмендеуін және рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-жасушалары деңгейінің күрт артуын (132,05%) туғызды.

Көкбауырда бұл басқаша болды, сүйек кемігіндегідей, тимустағыдай ЦФ Т-лимфоцит субпопуляцияларының деңгейін айқын төмендетпеді. Көкбауырда CD3e⁺CD19⁻ Т-лимфоциттердің 1,31 есе төмендегені байқалды (P=0,000001 F>F_{crit}, 535612,5>18,51) (кесте 3).

ЦФ белсендірілмеген CD43⁺CD3e⁺CD4⁺ Th-лимфоциттер деңгейіне әсер етпеді, ал белсендірілген CD4⁺CD25⁺Th_{act}-хелперлердің 1,36 есе төмендеуіне әкелді (P=0,006 F>F_{crit}, 142,1>18,51).

CD4⁺CD25⁺ Th_{act} гейтінде CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T_{reg}-жасушалардың айқын (1,92 есеге) (P=0,0000004 F>F_{crit}, 2016032>18,51) төмендеуі байқалды.

CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem}-жад жасушаларының деңгейі 1,38 есе (P=0,00003 F>F_{crit}, 30012,5>18,51) төмендеді. Ал, CD43⁺ CD3e⁺CD8a⁺ цитотоксикалық Т-лимфоциттер 1,32 есе (P=0,000005 F>F_{crit}, 189112,5>18,51) төмендеді.

Кесте 3 – ЦФ әсерінен кейінгі көкбауырдағы Т-лимфоциттердің субпопуляциялары

Т-лимфоцит субпопуляцияларының мәні (M±SD), %							
№ р/с	Жануа рлар тобы	CD3e ⁺ CD19 ⁻ Т-лим- фоцит- тер	CD43 ⁺ CD3e ⁺ CD4 ⁺ Т-хелперлер	CD43 ⁺ CD3e ⁺ CD8a ⁺ ЦТЛ	CD4 ⁺ CD25 ⁺ белсендірілген Т-хелперлер	CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺ Т- реттеуші лимфоцитте р	CD28 ⁺ CD8a ⁺ CD44 ⁺ Т _{mem} -жад лимфоциттер
1	UT	43,06±1, 84	25,21±0,52	18,71±1,15	8,26±0,31	41,76±2,17	8,75±1,15
2	PL	32,71±0, 84	25,25±0, 54	24,86±3,75	6,05±0,25	21,68±0,98	6,3±0,77
P		P ₁₋₂ = 0,000001	P ₁₋₂ = ш.а.	P ₁₋₂ = 0,000005	P ₁₋₂ = 0,006	P ₁₋₂ = 0,0000004	P ₁₋₂ = 0,00003
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы							

Осылайша, көкбауырда циклофосфамид CD3e⁺CD19⁻ Т-лимфоциттердің (24,03%-ға), CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-белсендірілген хелперлердің (26,75%-ға) қалыпты төмендеуін, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің (48,08%-ға) және CD28⁺CD44⁺CD8a⁺ T_{mem}-жад жасушаларының (28,0%-ға) айтарлықтай төмендеуін туғызды. CD43⁺CD3e⁺CD4⁺-Th-лимфоциттердің деңгейі өзгерген жоқ және CD43⁺CD3e⁺CD8a⁺ цитотоксикалық Т-лимфоциттердің деңгейі айқын жоғарылады (32,87%-ға).

Осылайша, ЦФ-ң Т-лимфопоэзге әсері келесідей болды:

Гомеостатикалық спленоцитарлыға (24-28%) қарағанда біріншілік Т-лимфопоэз белсенділігі айқын төмендеді (сүйек кемігінде 45,20%-ға және тимуста 82,99%-ға).

Рециркуляцияланатын жасушалар арқылы тимустың компенсаторлық шоғырлануы рециркуляцияланатын $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -лимфоциттері деңгейінің күрт жоғарылауын туғызды (132,05%).

Біріншілік лимфо-миелоидты мүше – тимуска қарағанда, екіншілік лимфо-миелоидты мүше-көкбауырдағы $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ T_{reg} -реттеуші лимфоциттердің деңгейі 2 есе төмендеді.

ЦФ көкбауырдағы $CD43^+CD3e^+CD4^+Th$ -хелперлер деңгейіне әсер еткен жоқ.

Сүйек кемігіндегі (36,91%-ға) және көкбауырдағы (28%-ға) біріншілік және рециркуляцияланатын $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад жасушалар деңгейінің айқын төмендеуіне әкелді.

$CD4^+CD25^+FoxP3^+$ T_{reg} -реттеуші жасушалар деңгейі (48,08%-ға) айқын төмендеді, бұл көкбауырдағы $CD43^+CD3e^+CD8a^+$ цитотоксикалық Т-лимфоциттер деңгейінің (32,87%-ға) айтарлықтай жоғарылауын туғызды.

3.1.2 Циклофосфамидтің В-лимфопоэзге әсері

Иммунологияның дамуына және гемопоэз механизмін неғұрлым егжей-тегжейлі зерттеуге байланысты лимфоцитарлық жасушалардың пролиферация, жетілу және дифференциация кезеңдері туралы пікірлер өзгереді. Сондай-ақ цитостатикалық препараттардың иммунокомпетентті жасушалардың жетілу процестеріне әсер ету механизмдері туралы ұғымдар өзгеруде [59, 199 б.].

Қазіргі таңда циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессиялық жағдайларда сүйек кемігі мен көкбауырдағы В-лимфопоэздің кейбір қырлары жеткілікті түрде зерттелмеген. Циклофосфамидпен ықпалдандырылған лимфоцитопоэздепрессивті жағдайда сүйек кемігінің, спленоцитарлы В-жасушаларының сандық таралуы: Pro-B-I- және Pro-B-II-, pre-B-I-, pre-B-II-, T1, T2-, T3-, жетілмеген В-, FO-B-, MZB-, MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттердің және V_{mem} -жад жасушалары зерттелмеген. Циклофосфамидтің біріншілік және гомеостатикалық В-лимфопоэзді тежелу деңгейіне әсерін бағалау туралы мәліметтер жоқтың қасы. Циклофосфамидтің лимфо-миелоидтық кешен В-лимфопоэздің әртүрлі кезеңдерінде В-жасушалық сатыларына әсерінің маңызын зерттеу осы процестердің патогенезін түсіну үшін де, оларды түзетудің қолайлы әдістерін табу үшін де маңызды [198-200].

Сүтқоректілердегі В-жасушаларының даму және жетілу процесі ұрық бауырындағы гемопоэтикалық бағаналы жасушаларынан (ГБЖ) басталады, содан кейін сүйек кемігінде, ГБЖ мультипотентті ізашарларға дифференциацияланады. Сүйек кемігінде дифференциацияның осы сатысында ($CD117^+$) ГБЖ жасушаларында тирозинкиназа бағыты белсендіріледі; яғни, жасушалар гемопоэзге қатысады.

Сүйек кемігінде циклофосфамид интоксикацияның әсерінен ($CD117^+$) ГБЖ жасушалары санының төмендеуі айқын (1,67 есе) болды: UT тобында ($7,62 \pm 1,33$) %-дан ($4,57 \pm 0,6$) %-ға дейін, PL тобында ($P=0,00002$ $F > F_{crit}$, $46512,5 > 18,51$).

Сүтқоректілердің сүйек кемігіндегі В-лимфопоэз гемопоэтикалық бағаналы жасушалардың кезекті дифференциациясы, беткейлік линиялы маркерлері жоқ,

қан түзетін негізгі линияларға тән жалпы лимфоидты ізашарларынан (CLP) бастау алады. Бағаналы жасушалар сияқты, CLP CD34 молекуласын, сондай-ақ CD45R панлейкоциттік маркерін (тышқандарда, CD45 изоформасы) экспрессиялайды. Жетілудің бес сатысынан (А, В, С, D және E) өте отырып, А сатысында CLP-2 жасушалары CD19⁻ экспрессиясының болмауымен сипатталады, содан кейін барлық кейінгі Pro-B-I- және Pro-B-II сатыларында лимфоциттерде CD19⁺ CD43⁺ молекулалары болады.

Біздің зерттеу жұмыстарымызда, бұл сатыда ЦФ-ң CD19⁺ CD43⁺ Pro- B-I-, Pro-B-II-лимфоциттерінің 2,19 есе ($P=0,0005$ $F>F_{crit}$, 1729,94>18,51) төмендегенін көрсетті (кесте 4).

D сатысында pre-B-I-жасушалар мен pre-B-II-ге жасушалар B220⁺/CD45R⁺CD19⁺CD24⁺CD25⁺ экспрессиялай, CD43⁻ молекуласын жоғалтады. E сатысында жетілмеген В-жасушалары CD43⁻ B220⁺/CD45R⁺CD19⁺CD24⁺IgM⁺ экспрессиясымен сүйек кемігінен шығып, екіншілік лимфоидты мүшелерге (көкбауыр, лимфа түйіндері, пейер шытырасы, бадамша бездер және шырышты қабық ұлпалары) өтіп, олардың В-жасушаларына (1 типті және 2 типті) дифференциациясын жалғастырады. Осылайша, pre-B-I-жасушаларды, pre-B-II-жасушаларды және жетілмеген В-лимфоциттерді CD19⁺ беттік ерте маркерімен және B220⁺/CD45R⁺ панлейкоциттік маркерімен біріктіру арқылы біз Pre-B-I-, Pre-B жасушаларының деңгейін есептедік. Циклофосфамид B220⁺/CD45R⁺CD19⁺ Pre-B-I-, Pre-B-II-және жетілмеген В-лимфоциттер деңгейінің 1,83 есе ($P=0,000004$ $F>F_{crit}$, 203521,99>18,51) төмендеуіне әкелді.

Әрі қарай CD19⁺ беттік маркерлері және B220⁺/CD45R⁺ панлейкоцитарлы маркері бар транзиторлы В-лимфоциттер саналды, онда ЦФ әсер ету нәтижесінде көкбауырдағы B220⁺/CD45R⁺ деңгейі 1,51 есе ($P=0,04$ $F>F_{crit}$, 19,16>18,51) төмендеді.

ЦФ B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттер мен көкбауырдағы MZB-лимфоциттер деңгейін 1,93 есе ($P=0,00004$ $F>F_{crit}$, 24467,16>18,51) төмендетті.

Көкбауырдың герментативті орталығындағы антигенмен белсендірілген В-лимфоциттер B220/CD45R⁺CD19⁺MHC class II⁺ фенотипімен сипатталады. Антидене түзетін жасушалар В-лимфоциттердің туындылары болып табылады. MZB жасушалары мен В-1в-жасушаларына тимусқа тәуелсіз жауап (TI-антигендер) қалыптастыру үшін Т-жасушалармен өзара әрекеттесуді айнала өтіп, IgM және IgG3 антиденелерін синтездеу үшін бірнеше сағат/тәулік қажет. Соңында, мерзімі ұзағырақ (бірнеше тәулік/апта), бірақ едәуір қолайлы иммундық жауапты туғызатын плазматилық жасушалардан алынған арнайы антиденелермен (IgG, IgA, IgE) ұсынылады. Бұндай, көкбауырдағы герментативті орталықтағы B220/CD45R⁺CD19⁺ MHC class II белсендірілген В-лимфоциттердің деңгейі ЦФ әсерінен кейін жойқын, 3,97 есе ($P=0,000000009$ $F>F_{crit}$, 10301260,50>18,51) төмендеді.

Кесте 4 – ЦФ әсерінен кейінгі сүйек кемігі және көкбауырдағы В-лимфоциттердің субпопуляциялары

№ р/с	В-лимфоциттер субпопуляцияларының мәні (M±SD), %						
	Жану арлар тобы	Сүйек кемігіндегі D43 ⁺ CD19 ⁺ Pro- B-I, Pro-B-II- лимфоцитте р	Сүйек кемігіндегі CD43 ⁺ CD19 ⁺ CD45R ⁺ Pre-B-I-, Pre-B- II- жетілмеген В-лимфоциттер	Көкбауырдағы CD45R ⁺ CD43 ⁺ CD19 ⁺ T1, T2, T3 – транзиторлы лимфоциттер	Көкбауырдағы CD45R ⁺ CD19 ^{+/mid} MZB -, FO-B- лимфоциттер	Көкбауырдағы герментативті орталықтағы белсендірілген CD45R ⁺ CD19 ⁺ MHCII ⁺ В-лимфоциттер	Көкбауыр дағы CD45R ⁺ CD19 ⁺ CD40 ⁺ В _{mem} -жад лимфоцит тер
1	UT	7,62±1,33	14,04±4,59	1,3±0,25	32,6±3,88	60,65±2,41	24,60±2,02
2	PL	4,57±0,60	7,66±0,41	0,86±0,07	16,88±0,93	15,26±1,54	7,86±1,05
P		P ₁₋₂ = 0,00002	P ₁₋₂ = 0,000001	P ₁₋₂ = 0,01	P ₁₋₂ = 0,01	P ₁₋₂ = 0,00000009	P ₁₋₂ = 0,00003

Әрі қарай, егер байланысты тану В және Th2 жасушаларының өзара әрекеттесу кезінде орын алса, В-жасушасының мембранасында экспрессияланатын, Th2 жасушаларының бетінде CD40L-CD40 рецептор молекуласы пайда болады. Мұндай қосымша костимуляция В-лимфоциттермен цитокиндік рецепторлардың экспрессиясына бастама және В-Т-конъюгатының біріншілік фолликул аймағына миграциясына серпін береді. CD40 рецепторы жад жасушаларына, реттеуші және киллерлі В-лимфоциттерге тән.

Біздің зерттеуімізде, ЦФ әсерінен B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В_{mem}-лимфоциттерінің саны 3,1 есе (P=0,00003 F>F_{crit}, 27745,30>18,51) төмендеді.

Осылайша, ЦФ В-лимфопоэзге әсері келесідей болды. ЦФ сүйек кемігі мен көкбауырдағы белсенді пролиферацияланатын В-лимфоциттер деңгейінің едәуір төмендеуін (33,85 - 54,42%-ға) тудырды: CD19⁺CD43⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II-лимфоциттер; B220⁺/CD45R⁺CD19⁺ Pre-B-I-, Pre-B-II- және жетілмеген В-лимфоциттер; B220⁺/CD45R⁺CD43⁺CD19⁺ транзиторлы В-лимфоциттер; B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁺ FO-B-лимфоциттер және MZB-лимфоциттер.

ЦФ белсенді пролиферацияланатын және иммуноглобулиндердің барлық кластарын синтездейтін деңгейінің (68,05 - 74,83%-ға) күрт төмендеуіне әкелді: B220/CD45R⁺CD19⁺MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттері, B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В_{mem}-лимфоциттері.

3.2 Циклофосфамид негізіндегі қанның гематологиялық көрсеткіштерінің өзгерістері бойынша қосылыстардың скринингі

3.2.1 Биспидин қосылыстарының гемоинтандырушы белсенділігін зерттеу

Бұл бөлімде ЦФ әсеріне ұшыраған жаңадан синтезделген химиялық препараттардың жануарлардың гематологиялық көрсеткіштеріне әсері ұсынылған.

3,7-диазабицикло[3.3.1] нонанның (биспидин) қосылысы тәжірибелік қолданылуындағы үлкен маңызына байланысты сұранысқа ие болып қала береді [201, 202]. Биспидиндердің азот алмастырғыштардың табиғатын өзгерту арқылы реттеуге болатын антиаритмиялық белсенділігін ерекше атап өтуге болады [203]. Олардың өлімге әкелетін аритмияларды емдеу және кенеттен жүректің тоқтап қалуының алдын алу үшін әрекет ететіні көрсетілген.

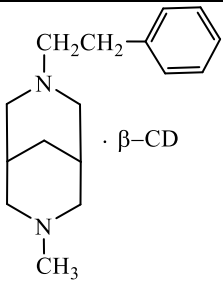
3-(3-метоксипропил)-7-(3-имидазол-пропил) 3,7-диазабицикло[3.3.1] нонанның β -циклодекстринмен кешені қолданылатын лидокаин мен тримекаин анестетиктеріне қарағанда ұзаққа созылатын терең инфльтрациялық анестезияны тудырады [204].

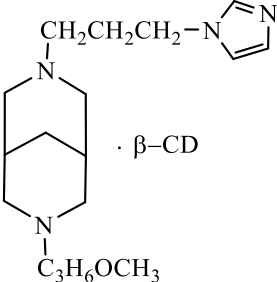
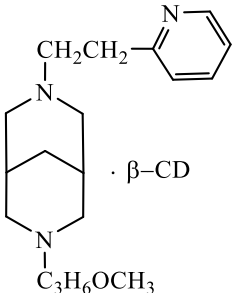
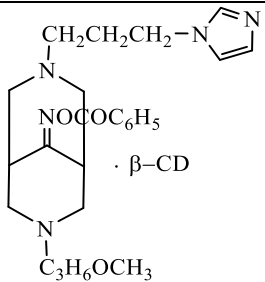
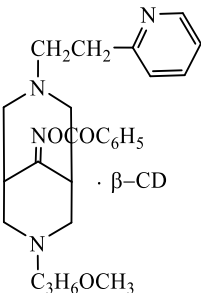
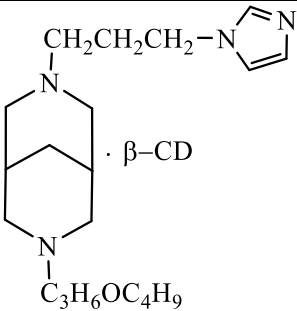
Біздің зерттеуімізге гемоынталандырғыш белсенділік потенциалы бар 7 жаңа синтезделген биспидинді қосылыстар алынды.

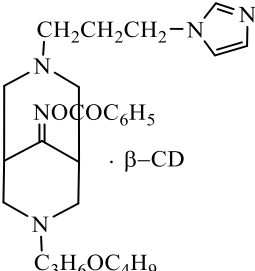
Жаңа БИВ-135, БИВ-136, БИВ-137, БИВ-156, БИВ-178 қосылыстарына 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан радикалдарының ядросының полярлы азот иондарына 3-ші орнында жалғанған: метил (БИВ-135), [[3-(1Н-имидазол-1-ил)пропил]] (БИВ-136, БИВ-156, БИВ-138, БИВ-158), (БИВ-137, БИВ-139)(3-метоксипропил), ВОС (БИВ-178). 7-ші орнында жалғанған радикалдар: фенилэтил (БИВ-135), 3-метоксипропил (БИВ-136, БИВ-138), [2-(пиридин-2-ил)этил] (БИВ-137, БИВ-139), (3-бутоксипропил) (БИВ-156, БИВ-158). Ал БИВ-138, БИВ-158 қосылыстарында 9-шы орнында 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның ядросына үшінші радикал О-бензоилоксим қосылды. Барлық қосылыстар β -циклодекстриннің кешенді қосылыстары болып табылады.

Тек БИВ-137 және БИВ-139 қосылыстары радикалдың 3-ші орнында 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан ядросының полярлы азот иондарына қосылуымен орташа гемопоэзді ынталандыратын белсенділікті көрсетті: (3-метоксипропил); және радикалдың 7-ші орнында: [2-(пиридин-2-ил)этил]. БИВ-139 қосылысында 9-шы орнында үшінші радикал -О-бензоилоксим де болды. Барлық қосылыстар β -циклодекстринмен кешенде болды (кесте 5).

Кесте 5 – Биспидин қосылыстарының химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Биспидиндер			
1	БИВ-135		3-метил-7-фенилэтил-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β -циклодекстринмен кешені

5-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Биспидиндер			
2	БИН-136		3-[3-(1 <i>H</i> -имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-метоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені
3	БИН-137		3-(3-метоксипропил)-7-[2-(пиридин-2-ил)этил]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені
4	БИН-138		3-[3-(1 <i>H</i> -имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-метоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β-циклодекстринмен кешені
5	БИН-139		3-(3-метоксипропил)-7-(2-(пиридин-2-ил)этил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β-циклодекстринмен кешені
6	БИН-156		3-[3-(1 <i>H</i> -имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-бутоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанның β-циклодекстринмен кешені

5-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Биспидиндер			
7	БИВ-158		3-[3-(1 <i>H</i> -имидазол-1-ил)пропил]-7-(3-бутоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он О-бензоилоксимнің β -циклодекстринмен кешені

Метилурацилдың салыстырмалы препарат деңгейіндегі гемопоэтикалық белсенділігі БИВ-139 қосылысында басым айқындалса, БИВ-137-де 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана радикалдың 3-ші орынында -(3-метоксипропил), ал радикалдың 7-ші орында -[2-(пиридин-2-ил)этил] байланысқан, біршама төмен деңгейде айқындалды. 3-ші, 7-ші орындарындағы екі радикалының азот ядросы полярлы иондарымен жалғануы бар БИВ-137 қосылысының белсенділігі біршама төмен болды. БИВ-139 қосылысының 9-шы орындағы үшінші радикал –О-бензоилоксиммен бірлескен белсенділігі арта түсті.

6-кестеде биспидиндердің гемопоэтикалық белсенділігінің зерттеу нәтижелері көрсетілген.

ЦФ (PL тобы) сүйек кемігіндегі жасушалардың барлық дерлік түрлеріне жалпы токсикалық әсер етті. Осы негізде эритропоэз көрсеткіштерінде келесідей өзгерістер байқалды. БИВ-139 тобындағы гемоглобин деңгейі ($148,5 \pm 4,5$) г/л, БИВ-137 тобының ($143,0 \pm 2,0$) г/л көрсеткішімен бір деңгейде болды. Бұл МУ ($139,5 \pm 12,1$) г/л тобының деңгейіне сәйкес келді де, УТ тобындағы гемоглобин деңгейіне дерлік жетті ($158,5 \pm 16,5$) г/л.

БИВ-139 тобындағы эритроциттердің саны $(8,1 \pm 0,1) \cdot 10^{12}/л$ құрады, бұл МУ $(7,4 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/л$, УТ $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/л$ топтарының деңгейінен аса ерекшеленбейді. БИВ-137, БИВ-139 тотарының эритроциттеріндегі (МСН) гемоглобиннің орташа мөлшері (18,0-18,4) пг, бұл УТ тобының көрсеткішіне ($19,45 \pm 1,6$) пг сәйкес келді. БИВ-137, БИВ-139 топтарының эритроциттеріндегі (МСНС) гемоглобиннің орташа мөлшері деңгейі (433,5-438,0) г/л болды, бұл УТ тобының деңгейіне ($446,5 \pm 16,5$) г/л сәйкес келді. Жоғары, төмен ығысулар байқалмады, бұл гемоглобин деңгейінің нормахромды қалпына келуін көрсетеді. БИВ-137 және БИВ-139 топтарындағы (MCV) эритроциттердің орташа көлемі (41,1 - 42,4) фл болды, бұл УТ тобы ($43,5 \pm 2,3$) фл және МУ тобы ($40,8 \pm 1,0$) фл сәйкес келеді. Эритроциттердің (RDWsd) көлем бойынша таралу ауқымының көрсеткіші де қалыпты мөлшерде және МУ тобына қарағанда жоғары болды. БИВ-139 тобындағы нейтрофилдердің абсолютті саны $(3,5 \pm 1,1) \cdot 10^9/л$ құрады және УТ тобы деңгейінде болды, PL тобына қарағанда $(1,6 \pm 0,1) \cdot 10^9/л$ – 2,18 есе ($P=0,005$ $F>F_{crit}$, $180,5>18,51$), яғни біршама жоғары, МУ тобынан $(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^9/л$ - 1,6 есе ($P=0,005$ $F>F_{crit}$, $196>18,51$) қарағанда жоғары болды.

Кесте 6 – Биспидиндердің гемопозынталандырушы белсенділігі																						
№	Гемогра- мма көрсет- кіштері	WBC, $\cdot 10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $\cdot 10^9/L$	MON, $\cdot 10^9/L$	EO, $\cdot 10^9/L$	BAS, $\cdot 10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDWsd, фл	RDWcv, %	PLT, $\cdot 10^9/L$	MPV, фл
1	БИВ-135	5,3 ± 0,3	2,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	0,2 ± 0,05	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	39,3 ± 0,7	53,5 ± 0,4	5,2 ± 1,2	1,9 ± 0,1	0,2 ± 0,0	7,1 ± 0,0	133,5 ± 3,5	29,5 ± 0,5	42,3 ± 0,7	18,8 ± 0,5	444,5 ± 4,0	13,1 ± 0,2	17,5 ± 0,5	300 ± 17,2	4,4 ± 1,3
2	БИВ-136	5,4 ± 0,3	3,8 ± 0,3	1,2 ± 0,04	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	71,4 ± 2,4	23,2 ± 2,05	3,0 ± 0,4	2,0 ± 0,0	0,2 ± 0,1	8,2 ± 0,5	149,5 ± 14,5	35,05 ± 2,7	42,7 ± 0,7	18,1 ± 0,65	424,5 ± 7,5	16,9 ± 2,0	18,4 ± 0,2	291,5 ± 74,5	7,0 ± 2,2
3	БИВ-137	6,6 ± 0,4	3,8 ± 0,4	2,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0	59,0 ± 3,6	36,2 ± 3,1	1,0 ± 0,0	1,2 ± 1,6	1,0 ± 0,0	7,9 ± 0,0	143,0 ± 2,0	32,6 ± 0,7	41,1 ± 1,4	18,0 ± 0,5	438 ± 12,4	14,3 ± 0,8	19,2 ± 0,5	243 ± 64,5	3,4 ± 0,4
4	БИВ-138	5,1 ± 0,3	3,5 ± 0,71	1,3 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	69,0 ± 3,5	25,4 ± 3,2	3,6 ± 0,0	2,0 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,6 ± 0,6	135,8 ± 15,6	32,3 ± 0,6	42,2 ± 2,3	17,5 ± 0,8	417 ± 18,5	18,9 ± 1,5	18,6 ± 1,6	366,2 ± 19,5	9,3 ± 0,8
5	БИВ-139	9,6 ± 2,8	5,7 ± 1,7	3,5 ± 1,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	59,9 ± 0,0	36,7 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	8,1 ± 0,1	148,5 ± 4,5	34,2 ± 0,9	42,4 ± 0,6	18,4 ± 0,0	433,5 ± 15,1	18,2 ± 0,7	20,5 ± 0,2	204,2 ± 3,5	5,5 ± 1,8
6	БИВ-156	6,03 ± 0,5	5,08 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	82,8 ± 15,4	2,6 ± 0,0	14,6 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,3 ± 0,1	93,0 ± 5,8	23,4 ± 2,1	54,00 ± 11,2	21,9 ± 7,3	407 ± 16,7	29,5 ± 8,6	16,3 ± 1,2	375,5 ± 14,6	7,6 ± 0,1
7	БИВ-158	4,8 ± 0,1	4,6 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	95,6 ± 4,5	1,8 ± 0,0	2,5 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,7 ± 0,1	74,5 ± 4,8	19,5 ± 0,9	52,8 ± 8,4	20,1 ± 1,1	382 ± 18,9	28,2 ± 1,2	15,2 ± 0,9	372,0 ± 19,2	7,4 ± 0,1
8	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0
9	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0
10	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3
11	P, F	*	**	***				*****					*****	*****			*****				*****	
* (P ₅₋₈ =0,003 F>F _{crit} , 288>18,51), (P ₅₋₉ =0,0005 F>F _{crit} , 1682>18,51); ** (P ₅₋₉ =0,001 F>F _{crit} , 882>18,51), (P ₅₋₈ =0,01 F>F _{crit} , 72>18,51), (P ₅₋₁₀ =0,01 F>F _{crit} , 50>18,51); *** (P ₅₋₉ =0,005 F>F _{crit} , 180,5>18,51), (P ₅₋₈ =0,005 F>F _{crit} , 196>18,51); **** (P ₅₋₉ =0,04, F>F _{crit} , 19>18,51), (P ₅₋₈ =0,04, F>F _{crit} , 19>18,51); ***** (P ₅₋₈ =0,03 F>F _{crit} , 24,5>18,51), (P ₅₋₉ =0,0006 F>F _{crit} , 1592,08>18,51); ***** (P ₅₋₈ =0,0002 F>F _{crit} , 4050>18,51), (P ₅₋₉ =0,0001 F>F _{crit} , 5946,7>18,51); ***** (P ₅₋₈ =0,16 F>F _{crit} , 4,5>18,51), (P ₅₋₉ =0,01 F>F _{crit} , 50>18,51); ***** (P ₅₋₈ =0,000001 F>F _{crit} , 924800>18,51), (P ₅₋₉ =0,0000003, F>F _{crit} , 2504904>18,51).																						

БИВ-137 және БИВ-139 топтарындағы қан жағындысын бақылау перифериялық қанға жолақты нейтрофилдердің жоғары көрсеткіштері бар миелобласттардың бөлінуін көрсетті. Ядролық регенеративті солға ығысуы бар нейтрофилияның жоғары деңгейі қандағы лейкоциттердің компенсаторлық қалпына келуін көрсетті.

Лимфоциттердің көрсеткіштері ұқсас өзгерістерге ұшырады. Мысалы, БИВ-137 және БИВ-139 топтарындағы лимфоциттердің деңгейі (59,0 – 59,9) % құрады, бірақ PL тобының көрсеткішінен жоғары бола тұра, MU және UT топтарының деңгейіне жеткен жоқ.

БИВ-139 тобындағы лимфоциттердің абсолютті саны $(5,7 \pm 1,7) \cdot 10^9/\text{л}$ БИВ-137 тобының көрсеткішінен жоғары болды, бұл PL тобының деңгейінен $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 3,8 есеге ($P=0,001$ $F > F_{\text{crit}}$, $882 > 18,51$) жоғары, MU тобының деңгейінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,2 есе ($P=0,01$ $F > F_{\text{crit}}$, $72 > 18,51$) жоғары болды, бірақ UT тобының деңгейінен $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ 0,8 есеге төмен ($P=0,01$ $F > F_{\text{crit}}$, $50 > 18,51$) болды.

Сонымен, циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия жағдайында зерттелетін БИВ-137 және БИВ-139 қосылыстарын енгізгеннен кейінгі 7-ші тәулікте сүйек кемігіндегі жасушалардың пролиферациясының біркелкі ынталануы байқалды. Перифериялық қанда эритроцитарлық көрсеткіштерінің қалыпты мөлшерге дейін нормацитарлы және нормохромды қалпына келуімен сипатталатын ретикулоцитоз; лейкоциттердің қан лейкограммасының бұзылуынсыз біркелкі қалпына келуі байқалды. Нейтрофилия солға регенеративті ығысуымен айқындалды. Тромбопения ЦФ әсері негізінде күрделенді. Барлық тромбоцитарлы көрсеткіштер UT топтың көрсеткіштерінен төмен болды. БИВ-139 қосылысының гемопоэз ынталандырушы белсенділігі БИВ-137 қосылысының белсенділігінен асып түсті [205].

3.2.2 Диенон қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу

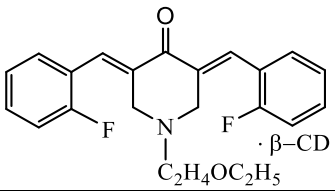
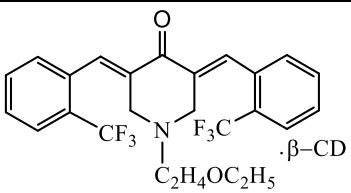
Циклді кетондардың бис(арилметилиденин) (диениондардың) туындылары органикалық синтез үшін үлкен қызығушылық тудыруы мүмкін. Бұл қосылыстар қос байланыстардың конъюгацияланған жүйесінің болуымен, сондай-ақ қосарланған және үштік байланыстардың түйісуімен сипатталады. Айқас-түйіскен диенондары жоғары биологиялық белсенділікті танытады және биологиялық белсенді қасиеттердің кең ауқымына ие. Олар медицинада және экология саласында қолданыс табады. Диениондар көптеген биологиялық белсенділік қасиеттеріне ие. Мысалы, андрогенді [206], микробқа қарсы, гипохолестеролеми [207, 208], қабынуға қарсы, ісікке қарсы [209], қызуды басатын [210]. Гидроксидис(арилметилиден)цикланондардың гомологиялық қатары антиоксиданттар, инсектицидтер, акарицидтер, нематодцидтер және гербицидтер ретінде қолданылатыны зерттелді [211-213].

Біздің зерттеуімізге гемоынталандырғыш белсенділігі бар 2 жаңа синтезделген азоттық қосылыстар алынды.

Жаңа БИВ-206, БИВ-207 қосылыстарының синтезі α,β -қанықпаған алициклды кетондарға (пиперидин сақинасы қосылған диенондар) әртүрлі радикалдардың жалғануына негізделген. α,β -қанықпаған алициклді кетондар куркуминнің синтетикалық аналогтары болып табылады.

БИВ-206 қосылысы 1-(2-этоксиэтил)-3,5-бис радикалға жалғану жолымен алынды. БИВ-207 қосылысы БИВ-206 қосылысынан келесі қасиетімен ерекшеленді: ядрода (2-фторбензилиден) пиперидин-4-онаның (БИВ-206) орына 2-(трифторметил)бензилиден]пиперидин-4-он болды (БИВ-207). БИВ-206, БИВ-207 екі қосылыста да – 1-(2-этоксиэтил)-3,5-бис радикалы болды. Тап осы БИВ-207 [2-(трифторметил)бензилиден]пиперидин-4-онның ядролы қосылысы БИВ-206 қосылысына қарағанда жоғары гемопоэз ынталадырушы белсенділік көрсетті. Барлығы β -циклодекстринді кешенді қосылыстар болды. Диенон қосылыстардың химиялық құрылымы туралы мәліметтер 7-кестеде келтірілген.

Кесте 7 – Диенонды қосылыстардың химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Диенондар			
1	БИВ-206		1-(2-этоксиэтил)-3,5-бис(2-фторбензилиден)пиперидин-4-онның β -циклодекстринмен кешені
2	БИВ-207		1-(2-этоксетил)-3,5-бис[2-(трифторметил)бензилиден]пиперидин-4-онның β -циклодекстринмен кешені

α,β -қанықпаған алициклді кетондары бар қосылыстардың гемопоэтикалық белсенділігі (пиперидин негізі бар диенондар). Метилурацил салыстырмалы препаратының деңгейіндегі гемопоэтикалық белсенділік БИВ-207 қосылысында пиперидин негізі бар диондарға -2-(трифторметил) радикалының жалғануымен айқындала бастады.

Эритропоэзді бағалау. БИВ-207 тобы қанындағы гемоглобин деңгейі ($145,5 \pm 6,2$) г/л, бұл МУ тобының ($139,5 \pm 12,1$) г/л деңгейінде болды және УТ топтың қанындағы гемоглобиннің деңгейіне ($158, 5 \pm 16,5$) г/л дерлік жетті. БИВ-207 тобындағы қанның жалпы эритроцитарлы көрсеткіші $(9,1 \pm 0,9) \cdot 10^{12}/л$ болды, бұл қанның МУ және УТ топтарының $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/л$ көрсеткіштеріне сәйкес келді. БИВ-207 тобының эритроциттеріндегі (МСН) гемоглобиннің орташа мөлшері ($16,0 \pm 5,8$) пг болды, бұл УТ тобынан көрсеткішінен ($19,45 \pm 1,6$) төмен. БИВ-207 тобының эритроцитіндегі (МСНС) гемоглобиннің орташа мөлшері $294,5 \pm 14,2$ г/л болды, бұл УТ топтың деңгейінен ($446,5 \pm 16,5$) г/л 1,5 есе төмен болды. БИВ-207 тобындағы эритроциттердің (МСV) орташа көлемі ($54,4 \pm 0,5$) фл құрады, бұл УТ тобына ($43,5 \pm 2,3$) фл және МУ топтарының көрсеткіштерінен

(40,8±1,0) жоғары (кесте 8). Эритроциттердің көлем бойынша таралу ауқымының көрсеткіші де (RDWsd) қалыпты мөлшерге сай болды және МУ тобының көрсеткішінен жоғары болды. Сонымен, БИВ-207 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроцитарлы көрсеткіштер мен гемоглобиннің нормохромды және нормоцитарлық қалпына келуі байқалды. Қан жағындысын бақылау БИВ-207 тобындағы жануарлардың қанында перифериялық қанға нормобластар мен ретикулоциттердің бөлінуімен жүретін регенеративті процесті көрсетті. Ретикулоцитарлы көрсеткіші (4,9-6,8) % және жеке нормобластар болды.

Лейкопозді қалпына келуі де БИВ-207 тобында біршама тиімді жүрді. БИВ-207 тобындағы қанның жалпы лейкоцитаритарлы көрсеткіші $(9,6 \pm 3,2) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады, бұл МУ тобындағы көрсеткіштен $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,33 есе жоғары ($P=0,03$, $F > F_{\text{crit}}$, $288 > 18,51$) болды, УТ топтың деңгейіне $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/\text{л}$ дерлік жетті, РЛ тобының көрсеткішінен $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,5 есе ($P=0,0005$ $F > F_{\text{crit}}$, $1682 > 18,51$) жоғары болды.

БИВ-207 тобындағы нейтрофилдердің салыстырмалы көрсеткіші $(3,3 \pm 0,0)$ %, бұл РЛ тобының көрсеткішінен $(44,4 \pm 1,61)$ % 0,7 есеге төмен болды. БИВ-207 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(85,8 \pm 9,8)$ % МУ, УТ және РЛ топтарының көрсеткіштерінен жоғары болды. БИВ-207 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш құрады $(8,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ болды және РЛ тобының көрсеткішінен $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 5,46 есеге ($P=0,0004$ $F > F_{\text{crit}}$, $2244,5 > 18,51$), МУ тобының көрсеткіштерінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,82 есеге ($P=0,001$ $F > F_{\text{crit}}$, $684,5 > 18,51$) және УТ топтың көрсеткішінен $(6,7 \pm 1,9/\text{л}) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,22 есеге ($P=0,02$, $F > F_{\text{crit}}$, $33,10 > 18,51$) жоғары болды. Лимфоцитарлық көрсеткіштердің қарқынды қалпына келуі БИВ-207 қосылысын оң сипаттама береді, өйткені иммунокомпетентті жасушаларды уақтылы қалпына келтіру ағзағының адаптивті иммунитет қызметінің тез қалпына келуіне мүмкіндік береді. Қалпына келу процесі лимфоцитарлы көрсеткіштің айқын қалпына келуімен жүрді, бұл кеміргіштер тобы жануарларының қанының лейкограммасын бұзбай жүрді.

БИВ-207 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткіші бар миелобласттардың шығуын көрсетті. Ядролық регенеративті солға ығысуы бар нейтрофилездің жоғары деңгейі қандағы лейкоциттердің компенсаторлық қалпына келуін көрсетті.

БИВ-207 тобының тромбоциттер деңгейінің қалпына келуі тиімді жүрді. жалпы тромбоцитарлы көрсеткіші $(697,5 \pm 52,1) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады, бұл МУ тобының көрсеткішінен $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$ ($P=0,00000009$ $F > F_{\text{crit}}$, $10221640 > 18,51$), УТ тобының көрсеткішінен $(561,2 \pm 12,2) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,05 есе жоғары және РЛ тобының көрсеткішінен $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,8 есе жоғары ($P=0,00001$ $F > F_{\text{crit}}$, $100017,2 > 18,51$) болды [214].

α, β -қанықпаған алициклді кетондары бар қосылыстардың гемопоэтикалық белсенділігі салыстырмалы препараты-Метилурацил деңгейіндегі болды. Олардың ішінде БИВ-207 қосылысының -2-(трифторметил) пиперидинді негіздің жалғануында белсенділігі салыстырмалы түрде жоғары болғандығын көрсетті.

Кесте 8 –Диенондардың гемопозынталандырушы белсенділігі																							
№	Гемограмма көрсеткіштері	WBC, $10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $10^9/L$	MON, $10^9/L$	EO, $10^9/L$	BAS, $10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDWsd, фл	RDWcv, %	PLT, $10^9/L$	MPV, фл	
1	БИВ - 206	4,3 ± 0,9	3,5 ± 0,4	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	80,8 ± 8,9	8,4 ± 0,9	10,8 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	10,9 ± 1,2	175,5 ± 4,8	60,4 ± 3,0	55,1 ± 0,6	16,0 ± 4,6	290,5 ± 12,2	32,7 ± 8,1	15,6 ± 1,1	630,5 ± 56,2	5,8 ± 0,9	
2	БИВ - 207	9,6 ± 3,2	8,2 ± 1,2	0,3 ± 0,0	1,0 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	85,8 ± 9,8	3,3 ± 0,0	10,9 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	9,1 ± 0,9	145,5 ± 6,2	49,5 ± 1,5	54,4 ± 0,5	16,0 ± 5,8	294,5 ± 14,2	30,1 ± 7,2	14,9 ± 1,1	697,5 ± 52,1	5,8 ± 0,8	
3	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0	
4	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0	
5	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3	
6	P, F	*	**	***				*****	*****	*****			*****	*****							*****	*****	
* ($P_{2-3}=0,03 F>F_{crit}$, $288>18,51$), ($P_{2-4}=0,0005 F>F_{crit}$, $1682>18,51$); ** ($P_{2-3}=0,0004 F>F_{crit}$, $2244,5>18,51$), ($P_{2-3}=0,001 F>F_{crit}$, $684,5>18,51$), ($P_{2-5}=0,02 F>F_{crit}$, $33,1>18,51$); *** ($P_{2-3}=0,00002 F>F_{crit}$, $135112,5>18,51$), ($P_{2-4}=0,00001 F>F_{crit}$, $84460,5>18,51$); **** ($P_{2-3}=0,00003 F>F_{crit}$, $26450>18,51$), ($P_{2-4}=0,000009 F>F_{crit}$, $102152>18,51$); ***** ($P_{2-3}=0,00002 F>F_{crit}$, $35112,5>18,51$), ($P_{2-4}=0,00001 F>F_{crit}$, $84460,5>18,51$); ***** ($P_{2-3}=0,0002 F>F_{crit}$, $4489>18,51$), ($P_{2-4}=0,005 F>F_{crit}$, $169>18,51$); ***** ($P_{2-3}=0,003 F>F_{crit}$, $289>18,51$), ($P_{2-4}=0,0003 F>F_{crit}$, $2500>18,51$); ***** ($P_{2-3}=0,0005 F>F_{crit}$, $1800>18,51$), ($P_{2-4}=0,0001 F>F_{crit}$, $5495,2>18,51$); ***** ($P_{2-3}=0,00000009 F>F_{crit}$, $10221640>18,51$), ($P_{2-4}=0,00001 F>F_{crit}$, $100017,2>18,51$).																							

3.2.3 Пиразолопиридин қосылыстарының гемоинталандырушы белсенділігін зерттеу

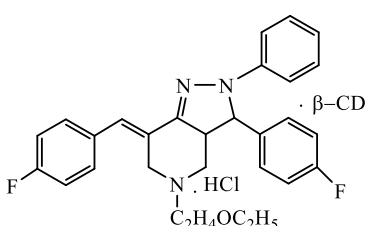
El-Gohary және оның серіктестерінің ғылыми еңбектерінде пиразолопиридиндермен бірлестірілген жаңа сериялары дайындалып, олардың антимикробты, ісікке қарсы белсенділігі бағаланды. Жекелей грам-оң бактерияларға, грам-теріс бактерияларға және саңырауқұлақтарға қатысты жүргізілген антимикробты бағалау көрстекендей 5-фенилпиразолопириidotриазинон 4a радикалы кең ауқымды антимикробты белсенділікке ие [215].

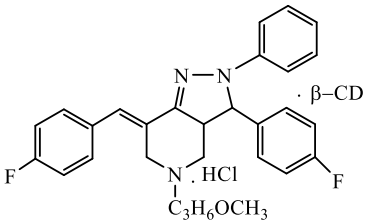
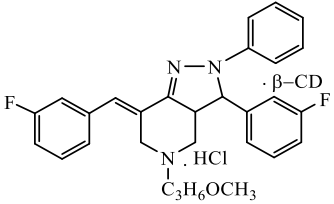
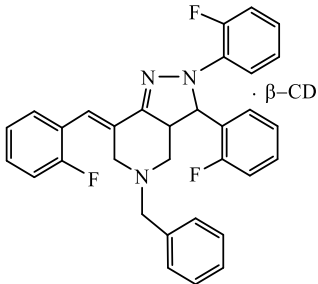
Зерттеуге гемоинталандырғыш белсенділігі 4 жаңа синтезделген азоттық қосылыстар алынды.

БИВ-152, БИВ-153, БИВ-154, БИВ-190 қосылыстары оларды түрлі радикалды пиразолопиридин сақинаға қосу жолымен алынды. Пиразолопиридинді қосылыстар тобына БИВ-152, БИВ-153, БИВ-154 және БИВ-190 қосылыстары жатады (кесте 9).

Пиразолопиридиндердің гемоинталадырушы белсенділігі. 2-фенил-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридин ядросына 5-(2-этоксиэтил)-7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил) – радикалын жалғау (БИВ-152) нәтиже бермеді, ал 7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-5-(3-метоксипропил) – радикалын жалғау (БИВ-153) гемоинталдандырушы белсенділіктің айқындалуын көрсетті. 2-фенил-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридин ядросына 7-(3-фторбензилиден)-3-(3-фторфенил)-5-(3-метоксипропил) – радикалын жалғау (БИВ-154), фторфенилдің 4-ші орыннан 3-ші орынға ығысуы белсенділікті төмендетті. Белсенді 5-бензил-7-(o-фторбензилиден)-2,3-бис топтарының ядросына фторды қосу арқылы алынған (БИВ-190 (BIV)) ядросының (o-фторфенил)-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридинді сәтті алуынуы гемопозтикалық белсенділіктің күшеюіне алып келді. Күрделі радикалдардың қосылыстар ядросының құрылымын күрделендіру процесі байқалды. Барлық қосылыстар β-циклодекстринмен кешенді қосылыс ретінде болды. 2-фенил-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридин ядросына 7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-5-(3-метоксипропил) – (БИВ-153) радикалын жалғау гемоинталандырушы белсенділікті айқындалуына әкеліп соқты.

Кесте 9 – Пиразолопиридин қосылыстарының химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиразолопиридиндер			
1	БИВ-152		(5-(2-этоксиэтил)-7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-2-фенил-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4, 3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені)

9-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиразолопиридиндер			
2	БИВ-153		7-(4-фторбензилиден)-3-(4-фторфенил)-5-(3-метоксипропил)-2-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4, 3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені
3	БИВ-154		7-(3-фторбензилиден)-3-(3-фторфенил)-5-(3-метоксипропил)-2-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен гидрохлоридті кешені
4	БИВ-190		5-бензил-7-(о-фторбензилиден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен кешені

Эритропозді бағалау. БИВ-153 қосылысы эритропозді ынталандырушы белсенділік көрсетпеді. БИВ-153 тобындағы қандағы гемоглобин деңгейі ($98,5 \pm 5,6$) г/л болғанына қарамастан, жалпы эритроцитарлы көрсеткіші төмен болды ($4,9 \pm 0,5$) $\cdot 10^{12}/л$, бұл PL тобы көрсеткішіне сәйкес келді. Барлық басқа эритроциттер көрсеткіштері де төмен болды. Сонымен, БИВ-153 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылудан кейін эритроцитарлы көрсеткіштердің қалпына келуі байқалмады. Қан жағындыларын бақылау төмен ретикулоцитарлы көрсеткішті ($19-6,8$) % және жекелей нормобластарды көрсетті (кесте 10).

Лейкопоздің қалпына келуі БИВ-153 тобында бірашама тиімді жүрді. БИВ-153 тобы қанындағы жалпы лейкоцитарлы көрсеткіші ($8,5 \pm 0,6$) $\cdot 10^9/л$ болды, бұл MU тобы көрсеткішінен ($7,2 \pm 1,2$) $\cdot 10^9/л$ қан 1,18 есе жоғары ($P=0,01$ $F > F_{crit}$, $84,5 > 18,51$) болып, UT топтың көрсеткіші ($10,7 \pm 1,1$) $\cdot 10^9/л$ дерлік жетіп, PL тобы қанының көрсеткішінен ($3,8 \pm 0,9$) $\cdot 10^9/л$ 2,2 есе ($P=0,0009$ $F > F_{crit}$, $1104,5 > 18,51$) жоғары болды. Нейтрофилдердің салыстырмалы көрсеткіші ($2,2 \pm 0,0$) % құрады және PL тобы көрсеткішінен ($44,4 \pm 1,61$) %-дан 0,04 есе төмен болды. БИВ-153 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші ($96,8 \pm 13,2$) % құрады және MU, UT, PL топтарының көрсеткіштерінен 1,54, 1,58, 1,58 есе жоғары болды. БИВ-153 тобындағы қанның абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіші ($8,2 \pm 0,1$) $\cdot 10^9/л$ құрады және PL тобының көрсеткішінен ($1,5 \pm 0,1$) $\cdot 10^9/л$ айтарлықтай 5,46 есе ($P=0,0004$ $F > F_{crit}$, $2244,5 > 18,51$), MU тобының

көрсеткіштерінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,82 есе ($P=0,001$ $F > F_{\text{crit}}$, $684,5 > 18,51$), UT топтан $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,22 есе ($P=0,008$ $F > F_{\text{crit}}$, $112,5 > 18,51$) жоғары болды. Қан лейкограммасының жоғары салыстырмалы және абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіштерінің оңға ығысуы байқалды. Лимфоциттердің шамадан тыс жоғары көрсеткіштері гранулоцитарлы лейкоциттердің минималды көрсеткіштеріне әкелді. Гаркави индексінің бұзылуы орын алды, бұл лейкоциттердің қан лейкограммасының бұзылуымен және лейкограмманың оңға ығысуымен біркелкі емес қалпына келуін көрсетті. БИВ-153 тобындағы жағынды бақылау миелобласттардың, лимфобласттардың перифериялық қанына шыққандығын көрсетті [216].

БИВ-153 тобындағы тромбоциттер деңгейін қалпына келуі жеткілікті дәрежеде тиімді жүрді. Қанның жалпы тромбоцитарлы көрсеткіші $(477,5 \pm 21,5) \cdot 10^9/\text{л}$ болды, бұл МУ тобының көрсеткішінен $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,4 есе ($P=0,000001$ $F > F_{\text{crit}}$, $942564,5 > 18,51$), PL тобының көрсеткішінен $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,25 есе ($P=0,0001$ $F > F_{\text{crit}}$, $9220,05 > 18,51$) жоғары болды. Тромбоцит деңгейі де БИВ-153 тобында тезірек қалпына келді.

5-бензил-7-(*о*-фторбензилиден)-2,3-бис белсенді топтарының фтор ядросына(*о*-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2*H*-пиразоло[4,3-с]пиридинді қосылуымен алынған (БИВ-190 (BIV)) яросының сәтті үйлесімділігі гемопоэтикалық белсенділіктің күшеюіне алып келді.

Эритропоэзді бағалау. БИВ-190 (BIV) тобы қанындағы гемоглобин деңгейі $(125,5 \pm 3,0)$ г/л, МУ тобы деңгейінде $(139,5 \pm 12,1)$ г/л болды және UT тобы гемоглобин деңгейіне $(158,5 \pm 16,5)$ г/л дерлік жетті. БИВ-190 (BIV) тобындағы жалпы эритроциттердің көрсеткіші $(6,0 \pm 0,3) \cdot 10^{12}/\text{л}$ болды, бұл МУ және UT топтарының қан көрсеткіштерінен $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/\text{л}$ аздап төмен болды. BIV тобындағы эритроциттердегі (MCH) гемоглобиннің орташа мөлшері $(20,8 \pm 0,6)$ пг, ол UT топ деңгейіне сай $(19,45 \pm 1,6)$ пг болды.

БИВ-190 (BIV) тобындағы эритроциттердегі (MCHC) гемоглобиннің орташа мөлшері $(394,0 \pm 5,3)$ г/л болды, ол UT тобының деңгейінен $(446,5 \pm 16,5)$ г/л 0,8 есе айтарлықтай аздап төмен екендігін көрсетеді. БИВ-190 (BIV) тобындағы эритроциттердің орташа көлемі (MCV) $(52,8 \pm 0,8)$ фл болды, бұл UT тобына $(43,5 \pm 2,3)$ фл және МУ тобына $(40,8 \pm 1,0)$ фл қарағанда жоғары болды. Эритроциттердің көлем бойынша таралуы да (RDWsd) қалыпқа сәйкес келді және МУ тобына қарағанда жоғары болды. Осылайша, BIV тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің және гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромды, нормоцитарлы қалпына келуі байқалды. Қан жағындысын бақылау БИВ-190 (BIV) тобындағы жануарлардың қанындағы нормобластар мен ретикулоциттердің перифериялық қанға бөлінуімен анықталатын регенеративті процесті көрсетті. Ретикулоциттердің көрсеткіші $(4,9-6,8) \%$ және жеке нормобластар болды.

Лейкопоэздің қалпына келуі БИВ-190 (BIV) тобында қан лейкограммасы мен Гаркави индексін бұзбай, біркелкі жүрді.

Кесте 10 – Пиразолопиридиндердің гемопозынталандырушы белсенділігі																						
№	Гемограмма көрсеткіші	WBC, $10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $10^9/L$	MON, $10^9/L$	EO, $10^9/L$	BAS, $10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDWsd, фл	RDWcv, %	PLT, $10^9/L$	MPV, фл
1	БИВ - 152	7,6 ± 0,7	7,1 ± 0,6	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	93,9 ± 1,9	2,7 ± 0,1	3,4 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,4 ± 0,1	118,5 ± 6,5	35,6 ± 0,9	55,6 ± 1,6	18,4 ± 0,8	332,5 ± 24,5	29,1 ± 3,1	15,8 ± 0,8	548,0 ± 32,4	7,4 ± 0,1
2	БИВ - 153	8,5 ± 0,6	8,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	96,8 ± 13,2	2,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,9 ± 0,5	98,5 ± 5,6	27,1 ± 1,8	54,0 ± 5,4	19,8 ± 1,1	365,5 ± 53,6	29,1 ± 3,2	15,9 ± 0,9	477,5 ± 21,5	7,5 ± 0,4
3	БИВ - 154	4,9 ± 0,1	4,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	84,6 ± 4,5	5,2 ± 0,1	10,2 ± 0,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,2 ± 0,2	65,0 ± 2,5	17,0 ± 0,5	52,6 ± 11,2	20,3 ± 3,2	384,5 ± 18,4	28,2 ± 2,3	15,2 ± 0,8	198,0 ± 6,4	8,3 ± 0,1
4	БИВ - 190	8,1 ± 1,5	5,4 ± 0,1	2,6 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	66,2 ± 3,2	32,2 ± 5,3	1,6 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,0 ± 0,3	125,5 ± 3,0	31,9 ± 1,2	52,8 ± 0,8	20,8 ± 0,6	394 ± 5,33	24,7 ± 0,4	12,8 ± 0,03	850 ± 22,0	5,4 ± 0,0
5	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0
6	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0
7	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2,0	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3
8	P, F	*	**	***				****	*****	*****	**		*****	*****							*****	*****
* ($P_{4-5}=0,02 F>F_{crit}$, 40,5>18,51), ($P_{4-6}=0,001 F>F_{crit}$, 924,5>18,51); ** ($P_{4-6}=0,0006 F>F_{crit}$, 1521>18,51), ($P_{2-6}=0,006 F>F_{crit}$, 145,8>18,51); *** ($P_{2-5}=0,002, F>F_{crit}$, 361>18,51), ($P_{2-6}=0,01 F>F_{crit}$, 98>18,51), ($P_{4-5}= ш.а.$), ($P_{4-6}=0,01 F>F_{crit}$, 50>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,00001, F>F_{crit}$, 57800>18,51), ($P_{2-6}=0,000006 F>F_{crit}$, 157922>18,51), ($P_{4-5}=0,001 F>F_{crit}$, 578>18,51), ($P_{4-6}=0,00003 F>F_{crit}$, 32768>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,00002, F>F_{crit}$, 38088>18,51), ($P_{2-6}=0,00001 F>F_{crit}$, 89042>18,51), ($P_{4-5}=0,003 F>F_{crit}$, 288>18,51), ($P_{4-6}=0,0001 F>F_{crit}$, 7442>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,002 F>F_{crit}$, 480,5>18,51), ($P_{2-6}=0,0001 F>F_{crit}$, 6160,5>18,51), ($P_{4-5}=0,002 F>F_{crit}$, 338>18,51), ($P_{4-6}=0,0001 F>F_{crit}$, 5618>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,001 F>F_{crit}$, 625>18,51), ($P_{2-6}=0,015 F>F_{crit}$, 64>18,51), ($P_{4-5}=0,01 F>F_{crit}$, 98>18,51), ($P_{4-6}=0,02 F>F_{crit}$, 361>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,00001, F>F_{crit}$, 84050>18,51), ($P_{2-6}=0,001 F>F_{crit}$, 748,7>18,51), ($P_{4-5}=0,0001 F>F_{crit}$, 9800>18,51), ($P_{4-6}=0,0003 F>F_{crit}$, 2940,8>18,51); ***** ($P_{2-5}=0,000001 F>F_{crit}$, 942564,5>18,51), ($P_{2-6}=0,0001 F>F_{crit}$, 9220,05>18,51), ($P_{4-5}=0,00000007 F>F_{crit}$, 13020304>18,51), ($P_{4-6}=0,000004 F>F_{crit}$, 218247,8>18,51); Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы																						

Қанда жалпы лейкоцитарлы көрсеткіш $(8,1 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады, бұл MU тобы $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ көрсеткішінен 1,12 есе жоғары ($P=0,02$ $F > F_{\text{crit}}$, $40,5 > 18,51$), UT тобының көрсеткішіне $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/\text{л}$ дерлік жетіп, PL тобының көрсеткішінен $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,1 есе ($P=0,001$ $F > F_{\text{crit}}$, $924,5 > 18,51$) жоғары болды. Салыстырмалы нейтрофилдер саны $(32,2 \pm 5,3) \%$ құрады, бұл PL тобынан $(44,4 \pm 1,61) \%$ 0,72 есе төмен болды. BIV тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(66,2 \pm 3,2) \%$ құрады және MU, UT, PL топтарының көрсеткіштерінен 1,08, 1,04, 1,16 есе жоғары болды. BIV тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш $(5,4 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады және PL тобынан $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 3,6 есе ($P=0,0006$ $F > F_{\text{crit}}$, $1521 > 18,51$), MU тобының көрсеткіштерінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,2 есе ($P=0,02$ $F > F_{\text{crit}}$, $40,5 > 18,51$) жоғары және UT топтың $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ мәніне жақындады. BIV қосылысы қан лейкограммасында гранулоцитарлы және агрулоцитарлы көрсеткіштердің біркелкі қалпына келуіне себепші болды. Қан лейкограммасында Гаркави индексінің бұзылуымен ығысу байқалмады. БИВ-190 (BIV) тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткіші бар миелобласттардың шығуын көрсетті.

БИВ-190 (BIV) тобы тромбоциттер деңгейінің қалпына келуі айтарлықтай тиімді болды. Жалпы тромбоциттердің көрсеткіші $(850,5 \pm 22,0) \cdot 10^9/\text{л}$, ал UT топтың көрсеткіші $(561,2 \pm 12,2) \cdot 10^9/\text{л}$ болса, BIV, MU тобындағы көрсеткішінен $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,5 есе асып түсті ($P=0,00000007$ $F > F_{\text{crit}}$, $13020304 > 18,51$) және PL тобынан $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,23 есе жоғары ($P=0,000004$ $F > F_{\text{crit}}$, $218247,8 > 18,51$) екендігін көрсетті. BIV тобында тромбокрит деңгейі де тез қалпына келді.

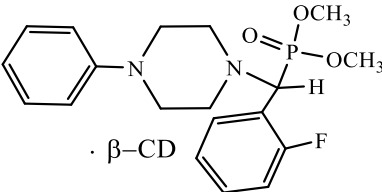
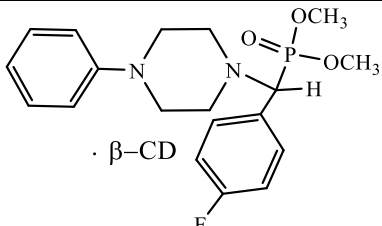
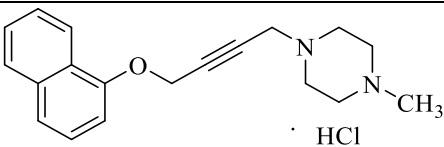
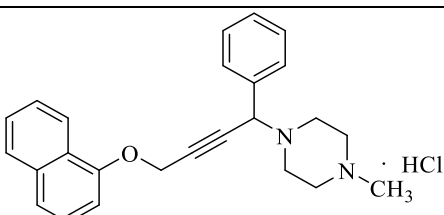
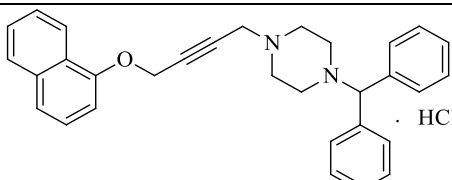
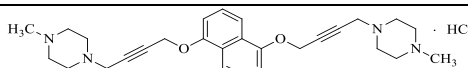
БИВ-190 (BIV) пиразолопиридин туындыларының арасында жоғары гемоынталандырушы белсенділікті көрсеткен қосылыс. БИВ-190 (BIV) барлық қосылыстардың ішінде гемоынталандырушы белсенділік көрсеткен ең перспективалы қосылыс болып табылады, ол қанның барлық лейкограмма көрсеткіштерін біркелкі қалпына келтірді. БИВ-190 (BIV) қосылысы құрамында (o-фторфенил)-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-пиразоло[4,3-c] пиридинді ядросына 5-бензил-7-(o-фторбензилиден)-2,3-бис радикалы жалғанған.

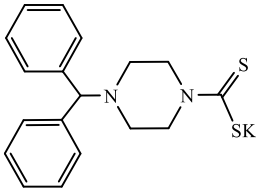
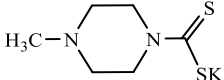
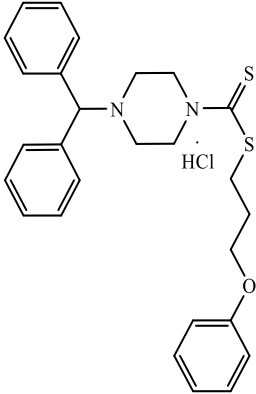
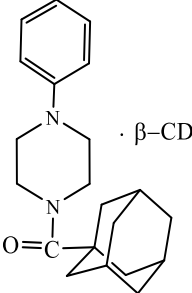
3.2.4 Пиперазин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу

XX-ғасырдың 80-жылдарында пиперазин препаратының лейкопозді ынталандырушы белсенділігі алғаш рет педиатриялық және терапевтік клиникалық тәжірибеде тіркелді. XX-ғасырдың 90-жылдарында Ресей Федерациясының иммунология институтында полиоксидоний препараты синтезделді. Полиоксидоний – молекулалық салмағы 80 kD болатын N-окси 1,4 – этиленпиперазин және (N-карбоксиэтил) – 1,4 – этиленпиперазиния бромидінің сополимері болып табылады. Полиоксидоний лейкопоз ынталандырушы, иммуномодуляциялы, антиоксидантты және мембранастабиллизаторлы әсерге ие [217, 218].

Біздің зерттеу жұмыстарымызға гемейнталандырғыш белсенділігі бар 10 жаңа синтезделген азоттық қосылыстар алынды (кесте 11).

Кесте 11 – Пиперазиндердің химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиперазиндер			
1	БИН-131		β-циклодекстринмен диметил[(2-фторфенил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метил]фосфонат кешені
2	БИН-134		β-циклодекстринмен диметил[(4-фторфенил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метил]фосфонат кешені
3	БИН-140		1-метил-4-[4-(нафталин-1-илокси)бут-2-ин-1-ил]пиперазин гидрохлориді
4	БИН-141		1-метил-4-[4-(нафталин-1-илокси)-1-фенилбут-2-ин-1-ил]пиперазин гидрохлориді
5	БИН-142		1-бенгидрил-4-[4-(нафталин-1-илокси)-1-фенилбут-2-ин-1-ил]пиперазин гидрохлориді
6	БИН-143		1,5-Бис[(4-(4-метилпиперазин-1-ил)бут-2-ин-1-ил)окси]нафталин гидрохлориді

11-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиперазиндер			
7	БИВ-144		4-бенгидрилпиперазин-1-калий карбодитионаты
8	БИВ-145		4-метилпиперазин-1-калий карбодитионаты
9	БИВ-171		3-феноксипропил-4-бензимгидрилпиперазин-1-карбодитионат гидрохлориді
10	БИВ-175		(3R,5R)-адамантан-1-ил)(4-фенилпиперазин-1-ил)метанонның β -циклодекстринмен кешені

Пиперазинді қосылыстардың гемоинтандырушы белсенділігі. Эритропозді бағалау. БИВ-134 тобындағы гемоглобин көрсеткіші ($149,0 \pm 8,01$) г/л, МУ тобының көрсеткіші ($139,5 \pm 12,1$) г/л деңгейінде болды және УТ топтағы гемоглобин көрсеткішіне ($158,5 \pm 16,5$) г/л дерлік жетті. БИВ-134 тобындағы жалпы эритроцит көрсеткіші ($8,24 \pm 0,59$) $\cdot 10^{12}$ /л қанды құрады, бұл МУ және УТ ($7,1 \pm 1,1$) $\cdot 10^{12}$ /л топтары көрсеткіштерінен жоғары болды. БИВ-134 тобындағы эритроциттердегі (МСН) гемоглобиннің орташа мөлшері ($18,1 \pm 0,3$) пг, ол УТ топ деңгейінде ($19,45 \pm 1,6$) болды. БИВ-134 тобындағы эритроциттегі гемоглобиннің (МСНС) орташа мөлшері ($430,5 \pm 12,5$) г/л, ол УТ топ көрсеткішінен ($446,5 \pm 16,5$) г/л 1,5 есеге ($P=0,00007$, $F > F_{crit}$, $12800 > 18,51$) жоғары болды. БИВ-134 тобындағы эритроциттердің орташа көлемі (MCV) ($42,0 \pm 0,5$) фл болды, ол УТ тобы ($43,5 \pm 2,3$) фл және МУ тобы ($40,8 \pm 1,0$) фл деңгейінде болды. Эритроциттердің көлем бойынша таралуы да (RDWsd) қалыпқа сәйкес келді және МУ тобына қарағанда жоғары болды (кесте 12). Осылайша, БИВ-134 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің және гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромды, нормоцитарлық қалпына келуі байқалды. Қан жағындысын бақылау БИВ-134 тобындағы жануарлардың

канында перифериялық қанға нормобластар мен ретикулоциттердің бөлінуімен жүретін регенеративті процесті көрсетті. Ретикулоциттердің көрсеткіші (5,9-9,9) % және жеке нормобластар болды.

Лейкопоздің қалпына келуі лимфоцитарлы көрсеткішті тиімсіз қалпына келуімен көрініс тапты. Жалпы лейкоциттердің көрсеткіші $(7,3 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ қанды құрады, ол MU тобы көрсеткіші $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ құраса, UT тобынан $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,01 есе төмен және PL тобынан $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,92 есе ($P=0,001$ $F > F_{\text{crit}}$, $612,5 > 18,51$) жоғары болды. Нейтрофилдердің салыстырмалы саны $(53,9 \pm 0,2) \%$ құрады және 1,21 есеге PL $(44,4 \pm 1,61) \%$ деңгейінде болды. БИВ-134 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(41,2 \pm 0,8) \%$ құрады және MU, UT, PL топтарының көрсеткіштерінен 1,08; 1,11; 1,17 есе төмен болды. БИВ-134 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш $(2,9 \pm 0,5) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады, PL тобы көрсеткіштері деңгейінде $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ бола, MU тобындағы көрсеткіштерден $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,9 есе ($P=0,007$ $F > F_{\text{crit}}$, $128 > 18,51$) және UT тобының мәнінен төмен $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ болды. БИВ-134 қосылысы лимфоцитарлы көрсеткіштің қалпына келуін әлсіз, сондай-ақ гранулоцитарлы көрсеткіштердің де қалпына келуін ынталандыруы әлсіз болды. БИВ-134 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткіші бар миелобласттардың шығуын көрсетті.

БИВ-134 қосылысы тромбоциттерді ынталандыруы әлсіз болды. Жалпы тромбоциттер саны $(441,5 \pm 91,5) \cdot 10^9/\text{л}$ болды, бұл MU тобындағы $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$, PL тобындағы көрсеткіші $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ дерлік сәйкес келеді және UT тобының көрсеткішінен $(56,5 \pm 91,5) \cdot 10^9/\text{л}$ төмен болды [219].

БИВ-134 қосылысы айтарлықтай айқын лейкопозді ынталандыратын белсенділікпен, лимфоцитарлы және гранулоцитарлы көрсеткіштердің қалыпты қалпына келуімен ерекшеленді. Эритроциттер мен тромбоциттер көрсеткіштерінің қалпына келуін ынталандыруы орташа жүрді.

Эритроциттерді бағалау. БИВ-143 тобындағы гемоглобин деңгейі $(154,5 \pm 16,5)$ г/л, MU тобы деңгейінен $(139,5 \pm 12,1)$ г/л жоғары және UT топтағы гемоглобин деңгейіне жетті $(158,5 \pm 16,5)$ г/л. БИВ-143 тобындағы жалпы эритроциттердің көрсеткіші $(8,7 \pm 1,3) \cdot 10^{12}/\text{л}$ болды, бұл MU, UT $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/\text{л}$ қан тобының көрсеткіштерінен шамалы жоғары болды.

БИВ-143 тобындағы эритроциттердегі (MCH) гемоглобиннің орташа мөлшері $(17,6 \pm 0,8)$ пг құрады, бұл UT топ деңгейінен $(19,45 \pm 1,6)$ пг төмен болды. БИВ-143 тобындағы эритроциттегі гемоглобиннің (MCHC) орташа мөлшері $(417,5 \pm 13,5)$ г/л, ол UT топ деңгейінде $(446,5 \pm 16,5)$ г/л болды. БИВ-143 тобындағы эритроциттердің орташа көлемі (MCV) $(42,1 \pm 0,3)$ фл болды, ол UT тобының $(43,5 \pm 2,3)$ фл және MU тобының $(40,8 \pm 1,0)$ фл деңгейінде болды. Эритроциттердің (RDWsd) көлем бойынша таралуы да қалыпқа сәйкес келді және MU тобына қарағанда жоғары болды. Осылайша, БИВ-143 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің және гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромдық, нормоцитарлық қалпына келуі байқалды. БИВ-143 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткіші бар миелобласттардың

Кесте 12 –Пиперазиндердің гемопоэзынталандырушы белсенділігі																							
№	Гемогра мма көрсет кіштер і	WBC, ·10 ⁹ /L	LYM, 10 ⁹ /L	NEU, ·10 ⁹ /L	MON, ·10 ⁹ /L	EO, ·10 ⁹ /L	BAS, ·10 ⁹ /L	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, 10 ¹² /L	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDW _{sd} , фл	RDW _{cv} , %	PLT, ·10 ⁹ /L	MPV, фл	
1	БИБ-131	2,4 ± 0,4	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	53,4 ± 1,6	36,6 ± 4,0	7,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	0,4 ± 0,0	8,4 ± 0,3	149 ± 12,4	35,7 ± 1,2	42,1 ± 1,4	17,6 ± 1,6	417 ± 13,4	15,8 ± 1,2	16,8 ± 1,4	330 ± 13,5	5,2 ± 1,4	
2	БИБ-134	7,3 ± 1,5	2,9 ± 0,5	3,9 ± 0,8	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	41,2 ± 0,8	53,9 ± 0,2	3,4 ± 0,0	1,1 ± 0,7	0,3 ± 0,05	8,2 ± 0,5	149,0 ± 8,01	34,6 ± 2,1	42,05 ± 0,5	18,1 ± 0,3	430,5 ± 12,5	14,05 ± 0,45	18,6 ± 0,55	441,5 ± 91,5	4,1 ± 0,5	
3	БИБ-140	4,1 ± 0,6	2,4 ± 0,0	1,5 ± 0,6	0,1 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,0 ± 0,0	59,6 ± 1,3	36,4 ± 4,2	3,7 ± 0,5	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	8,3 ± 0,2	162,3 ± 2,5	37,8 ± 2,8	45,5 ± 5,6	19,6 ± 0,9	430,2 ± 23,2	19,1 ± 0,5	18,8 ± 0,5	362,2 ± 23,3	3,6 ± 0,65	
4	БИБ-141	5,9 ± 1,9	3,6 ± 0,7	2,07 ± 0,7	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,03 ± 0,0	61,2 ± 4,3	34,8 ± 1,34	2,2 ± 0,0	1,7 ± 0,0	0,05 ± 0,0	8,7 ± 1,0	162,2 ± 12,4	37,4 ± 1,4	42,6 ± 2,2	18,4 ± 1,9	433,5 ± 14,4	16,9 ± 2,2	18,7 ± 0,7	331,3 ± 16,2	3,7 ± 1,2	
5	БИБ-142	5,3 ± 1,3	3,09 ± 0,04	1,9 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,07 ± 0,0	58,4 ± 2,45	36,7 ± 4,3	3,4 ± 1,5	0,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0	8,7 ± 1,3	164,5 ± 16,4	38,1 ± 2,1	43,8 ± 7,1	18,8 ± 2,1	430,0 ± 16,8	17,1 ± 3,1	18,8 ± 2,2	390,5 ± 26,7	3,9 ± 0,9	
6	БИБ-143	10,9 ± 1,9	6,4 ± 1,07	3,9 ± 0,7	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,05 ± 0,0	59,2 ± 1,1	36,6 ± 0,5	2,6 ± 0,5	1,3 ± 0,6	0,01 ± 0,0	8,7 ± 1,3	154,5 ± 16,5	36,9 ± 4,1	42,1 ± 0,3	17,6 ± 0,8	417,5 ± 13,5	16,05 ± 2,2	19,5 ± 0,2	395,8 ± 17,1	4,7 ± 0,1	
7	БИБ-144	5,5 ± 1,7	3,3 ± 0,1	1,9 ± 0,1	0,1 ± 0,06	0,09 ± 0,00	0,03 ± 0,0	60,7 ± 1,7	35,1 ± 1,3	2,4 ± 0,05	1,7 ± 0,0	0,01 ± 0,0	9,3 ± 2,1	168 ± 12,2	39,6 ± 1,4	42,3 ± 1,2	18,0 ± 0,4	424,2 ± 16,4	16,7 ± 1,3	19,9 ± 0,13	313,3 ± 14,4	4,5 ± 0,5	
8	БИБ-145	5,3 ± 1,1	3,1 ± 0,06	1,7 ± 0,7	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,03 ± 0,0	59,05 ± 0,05	32,8 ± 0,7	4,6 ± 0,4	3,1 ± 0,0	0,6 ± 0,0	7,6 ± 1,2	139,2 ± 29,6	31,3 ± 5,1	40,8 ± 2,1	18,0 ± 0,1	441,5 ± 27,4	12,5 ± 2,3	18,2 ± 0,2	520,2 ± 12,4	4,1 ± 0,4	
9	БИБ - 171	6,8 ± 0,3	6,2 ± 0,5	0,1 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	90,6 ± 14,4	1,61 ± 0,1	7,8 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,4 ± 0,2	58,5 ± 1,2	18,9 ± 1,8	54,2 ± 12,5	19,7 ± 0,9	362,5 ± 18,9	29,5 ± 12,1	14,7 ± 1,9	374,5 ± 13,9	7,1 ± 0,6	
10	БИБ - 175	2,7 ± 0,0	2,3 ± 0,1	0,05 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	57,5 ± 1,5	15,8 ± 0,1	52,8 ± 2,8	19,2 ± 1,2	363,0 ± 13,6	27,8 ± 0,9	15,3 ± 0,8	325,0 ± 12,5	7,8 ± 0,1	
11	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0	
12	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0	

12-кестенің жалғасы																						
№	Гемограмма көрсеткіштері	WBC, $\cdot 10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $\cdot 10^9/L$	MON, $\cdot 10^9/L$	EO, $\cdot 10^9/L$	BAS, $\cdot 10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDWsd, фл	RDWcv, %	PLT, $\cdot 10^9/L$	MPV, фл
13	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3
14	P, F	*	**	***				*****	***** *				***** **	***** ***				***** *****			***** ***** *	
* ($P_{2-11}=\text{ш.а.}$), ($P_{2-12}=0,001$ $F>F_{\text{crit}}$, $612,5>18,51$), ($P_{2-13}=0,001$, $F>F_{\text{crit}}$, $578>18,51$), ($P_{6-11}=0,001$, $F>F_{\text{crit}}$, $684,5>18,51$), ($P_{6-12}=0,0003$, $F>F_{\text{crit}}$, $2520,5>18,51$); **($P_{2-11}=0,007$, $F>F_{\text{crit}}$, $128>18,51$), ($P_{2-12}=0,01$, $F>F_{\text{crit}}$, $98>18,51$) ($P_{2-13}=0,001$, $F>F_{\text{crit}}$, $722>18,51$), ($P_{6-11}=0,005$, $F>F_{\text{crit}}$, $180>18,51$), ($P_{6-12}=0,01$, $F>F_{\text{crit}}$, $98>18,51$); *** ($P_{2-11}=0,003$, $F>F_{\text{crit}}$, $324>18,51$), ($P_{2-12}=0,0001$, $F>F_{\text{crit}}$, $529>18,51$), ($P_{2-13}=\text{ш.а.}$), ($P_{6-11}=0,003$, $F>F_{\text{crit}}$, $324>18,51$), ($P_{6-12}=0,001$, $F>F_{\text{crit}}$, $529>18,51$); **** ($P_{2-11}=0,00004$, $F>F_{\text{crit}}$, $23328>18,51$) ($P_{2-12}=\text{ш.а.}$) ($P_{2-13}=0,00004$, $F>F_{\text{crit}}$, $22472>18,51$) ($P_{6-11}=0,001$, $F>F_{\text{crit}}$, $648>18,51$) ($P_{6-12}=0,00005$, $F>F_{\text{crit}}$, $17298>18,51$); ***** ($P_{2-11}=0,000003$, $F>F_{\text{crit}}$, $29040,5>18,51$), ($P_{2-12}=0,0002$, $F>F_{\text{crit}}$, $4512,5>18,51$), ($P_{2-13}=0,00003$, $F>F_{\text{crit}}$, $30258>18,51$), ($P_{6-11}=0,0004$, $F>F_{\text{crit}}$, $2312>18,51$), ($P_{6-12}=0,0003$, $F>F_{\text{crit}}$, $3042>18,51$); ***** ($P_{2-11}=\text{ш.а.}$) ($P_{2-12}=0,0005$, $F>F_{\text{crit}}$, $1689,21>18,51$), ($P_{2-13}=\text{ш.а.}$) ($P_{6-11}=\text{ш.а.}$), ($P_{6-12}=0,0004$, $F>F_{\text{crit}}$, $2125,21>18,51$); ***** ($P_{2-11}=\text{ш.а.}$) ($P_{2-12}=0,0003$, $F>F_{\text{crit}}$, $3042>18,51$), ($P_{2-13}=\text{ш.а.}$) ($P_{6-11}=0,00008$, $F>F_{\text{crit}}$, $11250>18,51$), ($P_{6-12}=0,0001$, $F>F_{\text{crit}}$, $6903,218>18,51$); ***** ($P_{2-13}=0,00007$, $F>F_{\text{crit}}$, $12800>18,51$); ***** ($P_{2-11}=0,000001$, $F>F_{\text{crit}}$, $513084,5>18,51$), ($P_{2-12}=0,0002$, $F>F_{\text{crit}}$, $3624,01>18,51$), ($P_{2-13}=0,000001$ $F>F_{\text{crit}}$, $716404,5>18,51$), ($P_{6-11}=0,004$, $F>F_{\text{crit}}$, $216,8713>18,51$) ($P_{6-12}=0,004$, $F>F_{\text{crit}}$, $216,87>18,51$). Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы																						

шығуын көрсетті. Ретикулоциттердің көрсеткіші (7,9-13,2) % және жеке нормобластар болды.

Лейкопоздін қалпына келуі қанның лейкограммасын бұзбай, лимфоцитарлы және нейтрофильді көрсеткіштің қалыпты қалпына келуімен жүрді. Жалпы лейкоциттердің көрсеткіші $(10,9 \pm 1,9) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады, бұл МУ тобы көрсеткішінен $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,51 есе ($P=0,001 F > F_{\text{crit}}, 684,5 > 18,51$) жоғары және РЛ тобы көрсеткішінен $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ 2,86 есе ($P=0,0003 F > F_{\text{crit}}, 2520,5 > 18,51$) асып түсе, УТ тобы $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/\text{л}$ деңгейінде болды. Салыстырмалы нейтрофилдер саны $(36,6 \pm 0,5) \%$ құрады және РЛ $(44,4 \pm 1,61) \%$ деңгейінде болды. БИВ-143 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(59,2 \pm 1,1) \%$ құрады және МУ, УТ, РЛ топтарының көрсеткіштері деңгейінде болды. БИВ-143 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш $(6,4 \pm 1,0) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады және РЛ тобынан $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 4,2 есе ($P=0,0008 F > F_{\text{crit}}, 1200,5 > 18,51$), МУ тобы көрсеткішінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,4 есе ($P=0,005 F > F_{\text{crit}}, 180 > 18,51$) жоғары және УТ тобы көрсеткіші $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ деңгейінде болды. БИВ-143 қосылысы нейтрофильді көрсеткіштердің, гранулоциттер мен агранулоциттердің қалыпты қалпына келуін және лейкограммасындағы Гаркави индексін бұзбай, бірқалыпты қалпына келуін қамтамасыз ете олтырып, ынталандырды. БИВ-143 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткіші бар миелобласттардың шығуын көрсетті [220].

БИВ-143 қосылысы тромбоцитопоздін әлсіз ынталадырды. Жалпы тромбоциттердің көрсеткіші $(395,5 \pm 26,7) \cdot 10^9/\text{л}$ қанды құрады, бұл МУ тобы көрсеткішіне $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$, РЛ тобы көрсеткішіне $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ дерлік сәйкес келеді және УТ тобының көрсеткішінен $(59,5 \pm 26,7) 0,7$ есе төмен болды.

БИВ-134 пиперазинді қосылыстар арасынан лимфоцитарлы көрсеткіштер, гранулоцитарлы көрсеткіштерді қалпына келтіруде жеткілікті түрде айқын лейкопоз ынталандырушы қосылыс ретінде белсенділігімен ерекшеленді. Эритроцитарлы және тромбоцитарлы көрсеткіштердің қалпына келуін біркелкі ынталандырды.

3.2.5 Пиперидин қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу

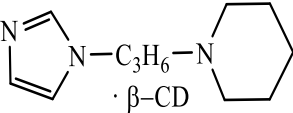
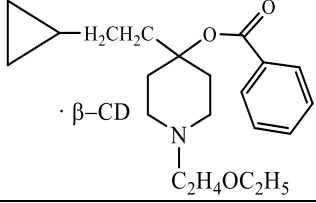
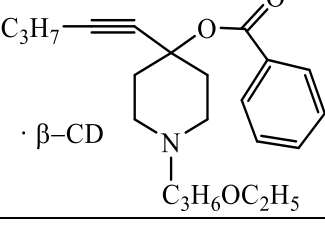
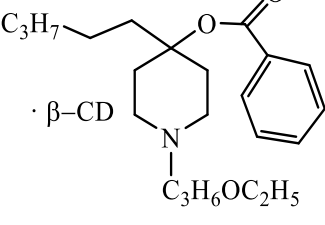
Қазіргі таңда медицинада белсенді түрде қолданылатын көптеген пиперидин туындылары синтезделді және зерттелді. Олардың ішінде орталық және перифериялық нейротропты әсер ететін препараттар (анксиолитиктер [221, 222], антидепрессанттар [223, 224], жүрек-қан тамыр жүйесіне әсер ететін препараттар [225] (тәждік тамырларды кеңейтетін, аритмияға қарсы, гипертензияға қарсы препараттар), жараға қарсы препараттар [226, 227]. Пиперидин туындыларының болуы қант диабетіне қарсы [228, 229], туберкулезге қарсы [230, 231], бактерияға қарсы [232], ісікке қарсы [233-235], антиоксидантты [236, 237], ісікке қарсы [238-240] белсенділігі бар екендігі дәлелденді. Дегенмен, анальгетик белсенділігі бар пиперидин туындыларының тобы үлкен қызығушылық тудырады. Пиперидин қатарындағы бірінші

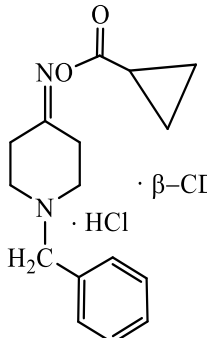
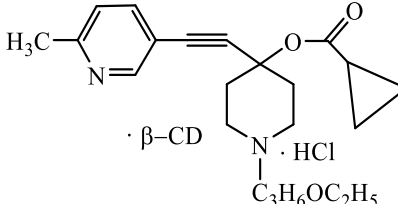
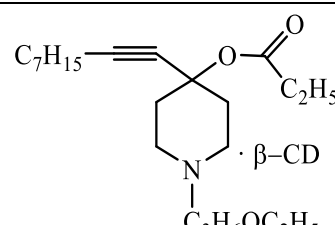
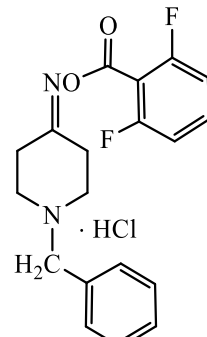
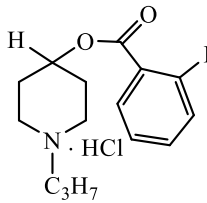
анальгетик 1932 жылы жасалған меперидин (петидин) болды, бұл 1940 жылдары осы топтағы препараттардың дамуына бастама берді. Қазір, медициналық практикада жергілікті анестезиялық қасиетке ие, 30-ға жуық пиперидиннің туындылары қолданылады [241].

Зерттеуге гемоынталандырғыш белсенділігі бар 9 қосылыс алынды. Пиперидин қосылыстарының ішінде циклопропанкарбоксилат радикалы бар қосылыстар гемоынталандырушы белсенділікті көрсетті. Бұл БИВ-125 және БИВ-126 қосылыстары болды (кесте 13).

БИВ-125 қосылысы орташа гемопоэзді ынталандыратын белсенділікті көрсетті. Ол эритропоэзді іс жүзінде ынталандырмады. Лейкопоэзді орташа ынталандырды. Гранулоцито- және агранулоцитопоэзді қалпына келтіруде біркелкі ынталандырды. Тромбоцитопоэзге мүлдем әсер етпеді.

Кесте 13 – Пиперидиндердің химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиперидиндер			
1	БИВ-111		1-[3-(1 <i>H</i> -имидазол-1-ил)пропил]пиперидиннің β -циклодекстринмен кешені
2	БИВ-121		1-(2-этоксипропил)-4-(2-циклопропилэтил)-4-бензоилокси-пиперидиннің β -циклодекстринмен кешені
3	БИВ-123		1-(3-этоксипропил)-4-(пент-1-ин-1-ил)пиперидин-4-илбензоаттың β -циклодекстринмен кешені
4	БИВ-124		1-(3-этоксипропил)-4-пентилпиперидин-4-илбензоаттың β -циклодекстринмен кешені

13-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Пиперидиндер			
5	БИВ-125		1-бензилпиперидин-4-он О-циклопропанкарбонил оксимнің β -циклодекстринмен гидрохлорид кешені
6	БИВ-126		1-(3-этоксипропил)-4-((6-метилпиридин-3-ил)этинил)пиперидин-4-илциклопропанкарбоксилаттың β -циклодекстринмен гидрохлорид кешені
7	БИВ-151		1-(3-этоксипропил)-4-(нон-1-ин-1-ил)пиперидин-4-илпропионаттың β -циклодекстринмен кешені
8	БИВ-172		1-бензилпиперидин-4-он О-(2,6-дифторбензоил) оксимнің гидрохлориді
9	БИВ-176		1-пропилпиперидин-4-ил 2-фторбензоат гидрохлориді

Эритропозді бағалау. БИВ-125 тобы қанынының гемоглобин деңгейі (148,5±4,5) г/л, МУ тобы деңгейінде (139,5±12,1) г/л болып, УТ топтағы гемоглобин деңгейіне дерлік (158,5±16,5) г/л жетті. БИВ-125 тобындағы жалпы эритроциттердің көрсеткіші (8,0±0,0)·10¹²/л қанды құрады, ол МУ және УТ қан топтары деңгейінде (7,1±1,1)·10¹²/л болды. БИВ-125 тобындағы эритроциттердегі (МСН) гемоглобиннің орташа мөлшері (18,4±0,0) пг, ол УТ топ деңгейінде (19,45±1,6) пг болды. БИВ-125 тобындағы эритроциттегі (МСНС)

гемоглобиннің орташа мөлшері ($433,5 \pm 15,1$) г/л, ол УТ топтың ($446,5 \pm 16,5$) г/л көрсеткіші деңгейінде болды. БИВ-125 тобындағы эритроциттердің (MCV) орташа көлемі ($34,2 \pm 0,9$) фл болды, бұл УТ тобы ($43,5 \pm 2,3$) фл және МУ тобындағы ($40,8 \pm 1,0$) фл қарағанда шамалы төмен болды (кесте 14).

Эритроциттердің көлем бойынша таралуы да (RDWsd) қалыпқа сәйкес келді және МУ тобына қарағанда жоғары болды. Осылайша, БИВ-125 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің және гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромды, нормоцитарлы қалпына келуі байқалды. Қан жағындыларын бақылау БИВ-125 тобындағы жануарлардың қанында перифериялық қанға нормобластар мен ретикулоциттердің шығуымен регенеративті процесті көрсетті. Ретикулоциттердің көрсеткіші (4,9-6,8) % және жеке нормобластар болды.

БИВ-125 тобында лейкопоздің қалпына келуі қанның лейкограммасы мен Гаркави индексі бұзылуынсыз, біркелкі өтті. Жалпы лейкоциттердің көрсеткіші ($9,6 \pm 2,9$) $\cdot 10^9$ /л болды, МУ тобы көрсеткішінен ($7,2 \pm 1,2$) $\cdot 10^9$ /л 1,33 есе ($P=0,003$ $F > F_{crit}$, $288 > 18,51$), PL тобынан ($3,8 \pm 0,9$) $\cdot 10^9$ /л 2,52 есе ($P=0,0005$ $F > F_{crit}$, $1682 > 18,51$) жоғары болды. Нейтрофилдердің салыстырмалы саны ($36,7 \pm 0,3$) % құрады және PL тобынан ($44,4 \pm 1,61$)% 0,8 есе шамалы ғана төмен болды. БИВ-125 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші ($59,9 \pm 0,0$) % құрады және МУ, УТ, PL топтарының көрсеткішінен 0,91, 0,98, 0,88 есе төмен болды. БИВ-125 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш ($5,7 \pm 1,7$) $\cdot 10^9$ /л құрады және PL тобынан ($1,5 \pm 0,1$) $\cdot 10^9$ /л 3,8 есе ($P=0,001$, $F > F_{crit}$, $882 > 18,51$), МУ тобынан ($4,5 \pm 0,1$) $\cdot 10^9$ /л 1,2 есе ($P=0,01$ $F > F_{crit}$, $72 > 18,51$) жоғары болып, УТ тобы көрсеткішіне ($6,7 \pm 1,5$) $\cdot 10^9$ /л жақындады. БИВ-125 қосылысы қан лейкограммасында гранулоцитарлы және агранулоцитарлы көрсеткіштердің біркелкі қалпына келуіне себепші болды. Гаркави индексінің бұзылуымен қанның лейкограммасында ығысу байқалмады. БИВ-125 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға миелобласттардың таяқша тәрізді нейтрофилдерінің жоғары көрсеткішімен шығуын көрсетті.

БИВ-125 қосылысы тромбоциттер көрсеткішінің қалпына келуін ынталандырмады.

БИВ-126 қосылысы айқын лейкопозді ынталандыратын белсенділікпен, лимфоцитарлы көрсеткіштің қалпына келуімен және гранулоцитарлы көрсеткіштердің қалыпты қалпына келуімен ерекшеленді.

Эритроциттер мен тромбоциттер көрсеткіштерінің қалпына келуін ынталандырды.

Эритропозді бағалау. БИВ-126 тобындағы гемоглобин деңгейі ($122,2 \pm 12,2$) г/л құрады, ол МУ тобы деңгейінде ($139,5 \pm 12,1$) г/л болды және УТ топтағы гемоглобин деңгейіне дерлік ($158,5 \pm 16,5$) г/л жетті. БИВ-126 тобындағы жалпы эритроциттердің көрсеткіші ($6,23 \pm 0,1$) $\cdot 10^{12}$ /л құрады, бұл МУ және УТ топтары көрсеткіштерінен ($7,1 \pm 1,1$) $\cdot 10^{12}$ /л шамалы ғана төмен болды. БИВ-126 тобындағы эритроциттердегі гемоглобиннің орташа мөлшері (MCH) ($19,6 \pm 0,9$) пг құрады, ол УТ топ деңгейінде ($19,45 \pm 1,6$) пг болды. Эритроциттердің көлем

Кесте 14 –Пиперидиндердің гемопозынталандырушы белсенділігі																							
№	Гемогра мма көрсет кіштер і	WBC, ·10 ⁹ /L	LYM, 10 ⁹ /L	NEU, ·10 ⁹ /L	MON, ·10 ⁹ /L	EO, ·10 ⁹ /L	BAS, ·10 ⁹ /L	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, 10 ¹² /L	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDW _{sd} , фл	RDW _{cv} , %	PLT, ·10 ⁹ /L	MPV, фл	
1	БИБ-111	5,3 ± 0,3	2,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	39,3 ± 0,7	53,5 ± 0,4	5,0 ± 1,2	1,9 ± 0,1	0,2 ± 0,0	7,07 ± 0,0	133,5 ± 3,5	29,5 ± 0,5	42,3 ± 0,7	18,8 ± 0,5	444,5 ± 4,0	13,1 ± 0,2	17,5 ± 0,5	300,0 ± 17,2	4,4 ± 1,3	
2	БИБ-121	5,4 ± 0,3	3,8 ± 0,3	1,2 ± 0,04	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	71,4 ± 2,4	23,2 ± 2,05	3,05 ± 0,4	2,0 ± 0,0	0,2 ± 0,1	8,2 ± 0,5	149,5 ± 14,5	35,0 ± 2,7	42,7 ± 0,7	18,1 ± 0,6	424,5 ± 7,5	16,9 ± 2,0	18,4 ± 0,2	291,5 ± 74,5	7,05 ± 2,2	
3	БИБ-123	5,6 ± 0,4	3,3 ± 0,4	2,04 ± 0,04	0,06 ± 0,04	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	59,0 ± 3,6	36,2 ± 3,1	1,0 ± 0,6	3,6 ± 1,6	0,2 ± 0,5	7,9 ± 0,09	143,0 ± 2,0	32,6 ± 0,7	41,1 ± 1,4	18,0 ± 0,5	438 ± 12,4	14,3 ± 0,8	19,2 ± 0,5	243 ± 64,5	3,4 ± 0,4	
4	БИБ-124	5,1 ± 0,3	3,2 ± 0,7	1,3 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1± 0,0	0,2 ± 0,0	69,0 ± 3,5	25,4 ± 3,2	3,6 ± 0,0	2,0 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,6 ± 0,6	135,8 ± 15,6	32,3 ± 0,6	42,2 ± 2,3	17,5 ± 0,8	417,0 ± 18,5	18,9 ± 1,5	18,6 ± 1,6	366,2 ± 19,5	9,3 ± 0,8	
5	БИБ-125	9,6 ± 2,8	5,7 ± 1,7	3,5 ± 1,08	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0	59,9 ± 0,05	36,7 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	8,07 ± 0,09	148,5 ± 4,5	34,2 ± 0,9	42,4 ± 0,6	18,4 ± 0,04	433,5 ± 15,1	18,2 ± 0,7	20,5 ± 0,2	204,2 ± 3,5	5,5 ± 1,8	
6	БИБ-126	11,6 ± 0,8	8,3 ± 0,9	2,5 ± 1,2	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,0	72,2 ± 1,1	22,4 ± 3,2	3,6 ± 0,0	2,0 ± 0,0	0,4 ± 0,0	6,2 ± 0,1	122 ± 12,2	31,3 ± 0,8	50,2 ± 1,1	19,6 ± 0,9	390 ± 13,3	26,2 ± 0,1	0,1 ± 0,01	651 ± 21,2	6,9 ± 0,1	
7	БИБ-151	5,9 ± 0,6	4,3 ± 0,1	0,08 ± 0,0	1,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	63,1 ± 1,9	1,3 ± 0,0	4,05 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,9 ± 0,5	130,0 ± 12,6	38,0 ± 0,7	54,6 ± 4,8	18,7 ± 0,8	342,0 ± 33,6	28,6 ± 2,1	16,5 ± 1,7	823,5 ± 63,5	8,3 ± 0,1	
8	БИБ-172	4,5 ± 0,1	3,9 ± 0,1	0,06 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	87,5 ± 4,8	1,3 ± 0,0	11,3 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,9 ± 0,1	56,5 ± 1,6	15,7 ± 1,5	53,1 ± 13,4	19,2 ± 0,1	363,0 ± 41,1	28,7 ± 0,7	15,05 ± 0,5	496,5 ± 16,7	8,1 ± 0,1	
9	БИБ-176	3,5 ± 0,0	3,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	86,1 ± 6,1	3,05 ± 0,0	10,9 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,7 ± 0,0	73,0 ± 1,1	20,2 ± 1,2	54,6 ± 4,5	19,6 ± 1,6	360,0 ± 15,4	29,5 ± 2,9	14,6 ± 0,9	242,5 ± 14,5	7,7 ± 0,1	
10	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0	
11	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0	

14-кестенің жалғасы																						
№	Гемогр амма көрсет кіштер і	WBC, $\cdot 10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $\cdot 10^9/L$	MON, $10^9/L$	EO, $\cdot 10^9/L$	BAS, $\cdot 10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDW _{sd} , фл	RDW _{cv} , %	PLT, $\cdot 10^9/L$	MPV, фл
12	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3
13	P, F	*	**	***				****	**** *				***** *	***** **				***** ***			***** ****	
* ($P_{5-10}=0,003 F>F_{crit}$, 288>18,51), ($P_{5-11}=0,0005 F>F_{crit}$, 1682>18,51), ($P_{6-10}=0,001 F>F_{crit}$, 968>18,51), ($P_{6-11}=0,0003 F>F_{crit}$, 3042>18,51); ** ($P_{5-11}=0,001 F>F_{crit}$, 882>18,51), ($P_{5-10}=III.a.$), ($P_{6-11}=0,0004 F>F_{crit}$, 2312>18,51), ($P_{6-10}=0,001 F>F_{crit}$, 722>18,51); *** ($P_{5-10}=0,002 F>F_{crit}$, 420,5>18,51), ($P_{5-11}=0,00005 F>F_{crit}$, 18624,5>18,51), ($P_{6-10}=0,0002 F>F_{crit}$, 4418>18,51), ($P_{6-11}=0,00002 F>F_{crit}$, 49928>18,51); **** ($P_{5-10}=0,0004 F>F_{crit}$, 2380,5>18,51), ($P_{5-11}=0,0003 F>F_{crit}$, 2964,5>18,51), ($P_{6-10}=0,0003 F>F_{crit}$, 2738>18,51), ($P_{6-11}=0,00004 F>F_{crit}$, 24200>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,0004 F>F_{crit}$, 2112,5>18,51), ($P_{5-11}=0,000006 F>F_{crit}$, 158404>18,51), ($P_{6-10}=0,00001 F>F_{crit}$, 95640,24>18,51), ($P_{6-11}=0,00002 F>F_{crit}$, 36450>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,0002 F>F_{crit}$, 4050>18,51), ($P_{5-11}=0,000001 F>F_{crit}$, 600625>18,51), ($P_{6-10}=0,003 F>F_{crit}$, 303,21>18,51), ($P_{6-11}=0,0003 F>F_{crit}$, 2601>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,000001 F>F_{crit}$, 924800>18,51), ($P_{5-11}=0,0000003 F>F_{crit}$, 3125824>18,51), ($P_{6-10}=0,000002 F>F_{crit}$, 375120,3>18,51), ($P_{6-11}=0,00001 F>F_{crit}$, 58969,8>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,0004 F>F_{crit}$, 2112,5>18,51), ($P_{5-11}=0,000006 F>F_{crit}$, 158404>18,51), ($P_{6-10}=0,00001 F>F_{crit}$, 95640,24>18,51), ($P_{6-11}=0,00002 F>F_{crit}$, 36450>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,0002 F>F_{crit}$, 4050>18,51), ($P_{5-11}=0,000001 F>F_{crit}$, 600625>18,51), ($P_{6-10}=0,003 F>F_{crit}$, 303,21>18,51), ($P_{6-11}=0,0003 F>F_{crit}$, 2601>18,51); ***** ($P_{5-10}=0,000001 F>F_{crit}$, 924800>18,51), ($P_{5-11}=0,0000003 F>F_{crit}$, 3125824>18,51), ($P_{6-10}=0,000002 F>F_{crit}$, 375120,3>18,51), ($P_{6-11}=0,00001 F>F_{crit}$, 58969,8>18,51). Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы																						

бойынша таралуы да (RDWsd) қалыпты мөлшерге сәйкес келді және MU тобына қарағанда жоғары болды. Сонымен, БИВ-126 тобында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің және гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромдық және нормоцитарлық қалпына келуі байқалды. БИВ-126 тобындағы жануарлардың қанында перифериялық қанға нормобластар мен ретикулоциттердің бөлінуімен жүретін регенеративті процесті көрсетті. Ретикулоциттердің көрсеткіші (4,9-6,8) % және жеке нормобластар болды.

Лейкопоздың қалпына келуі лимфоцитарлы көрсеткіштің айқын тиімді қалпына келуімен жүрді, бірақ қан лейкограммасында ешқандай бұзылу байқалмады, өйткені кеміргіштер лимфоциттердің жоғары санымен сипатталады. Лейкоциттердің жалпы көрсеткіші $(11,6 \pm 0,8) \cdot 10^9/\text{л}$ қанды, интакт тобы $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/\text{л}$ қанды құрады, бұл MU тобының $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/\text{л}$ қан көрсеткішінен 1,61 есеге ($P=0,001 F > F_{\text{crit}}, 968 > 18,51$), PL тобынан $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ қан 3,5 есе ($P=0,0003 F > F_{\text{crit}}, 3042 > 18,51$) асып түсті. Нейтрофилдердің салыстырмалы саны $(22,4 \pm 3,2) \%$ құрады және PL тобынан $(44,4 \pm 1,61) \%$ 0,5 есе төмен болды. БИВ-126 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(72,2 \pm 1,1) \%$ құрады және MU, UT, PL топтарының көрсеткіштерінен 1,02, 0,9, 1,05 есе жоғары болды. БИВ-126 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш $(8,3 \pm 0,9) \cdot 10^9/\text{л}$ құрады және PL тобындағы көрсеткіштен $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 5,6 есе ($P=0,0004 F > F_{\text{crit}}, 2312 > 18,51$), MU тобы көрсеткішінен $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,8 есе ($P=0,001 F > F_{\text{crit}}, 722 > 18,51$) жоғары және UT тобы көрсеткішінен $(6,7 \pm 1,5) \cdot 10^9/\text{л}$ жоғары болды. БИВ-126 қосылысы қан лейкограммасында гранулоцитарлы және агранулоцитарлы көрсеткіштердің біркелкі қалпына келуіне себепші болды. Гаркави индексінің бұзылуымен қанның лейкограммасында ығысу байқалмады. БИВ-126 тобындағы жағындыларды бақылау перифериялық қанға миелобласттардың таяқша тәрізді нейтрофилдерінің көп мөлшерде шығуын көрсетті [242].

БИВ-126 тобы тромбоциттер деңгейінің қалпына келуі тиімді болды. Тромбоциттердің жалпы көрсеткіші $(651,0 \pm 21,2) \cdot 10^9/\text{л}$ болды, бұл UT тобы көрсеткіші $(561,2 \pm 12,2) \cdot 10^9/\text{л}$, MU тобы көрсеткішінен $(340,2 \pm 26,1) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,9 есе ($P=0,00001 F > F_{\text{crit}}, 95640,24 > 18,51$) және PL тобының көрсеткішінен $(381,0 \pm 19,6) \cdot 10^9/\text{л}$ 1,16 есе ($P=0,00002 F > F_{\text{crit}}, 36450 > 18,51$) жоғары болды. БИВ-126 тобында тромбоцит деңгейі де тез қалпына келді [243].

Пиперидинді қосылыстар арасынан циклопропанкарбоксилатты радикалы бар қосылыстың гемоынталандырушы белсенділігін көрсетті. Ол БИВ қосылыстары, БИВ-125 және БИВ-126 болды.

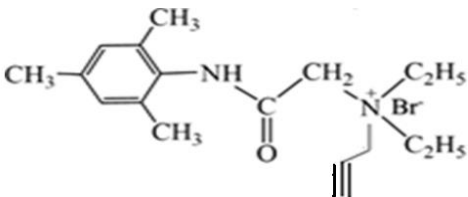
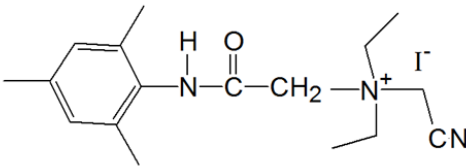
3.2.6 Тримакаин иондық қосылыстарының гемоынталандырушы белсенділігін зерттеу

Тримакаин гидрохлориді – офтальмологияда және эндоскопияда ауырсынуды басу үшін қолданылатын жергілікті анестетикалық, антиаритмиялық белсенділігі бар препарат; ол қарыншалық аритмия, жедел миокард инфарктісі үшін тағайындалады. Синтезделген тримакаин туындылары да құмай тұқымдарында өсуді ынталандыратын белсенділікті көрсетті (мысалы,

тримекаин CH_2ICN зертханалық тұқымның өнуін 30%-ға дейін арттырды) [244]. Біздің зерттеуімізге гемоинталандырғыш белсенділігі бойынша маңызы бар 8 жаңа синтезделген иондық қосылыстар алынды (кесте 15).

Кесте 15 – Иондық сұйық қосылыстардың химиялық құрылымы

№	Шифры	Формуласы	Атауы
Иондық қосылыстардың өкілдері			
1	БИН-117		N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-оксоэтанамоний йодиді
2	БИН-118		N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-этил-оксоэтанамоний йодиді
3	БИН-119		Бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний
4	БИН-150		N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-бензил-оксоэтанамоний хлориді
5	БИН-165		N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-бутил-оксоэтанамоний йодиді
6	БИН-166		N ¹ ,N ¹ ,N ³ ,N ³ -тетраэтил-2-гидрокси-N ¹ ,N ³ -бис-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1,3-диамин дихлориді

15-кестенің жалғасы			
№	Шифры	Формуласы	Атауы
Иондық қосылыстардың өкілдері			
7	БИВ-201		N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропинил-оксоэтанамоний бромиді
8	БИВ-202		N,N-Диэтил-2-(мезитиламино)-N-ацетил-оксоэтанамоний йодиді

Гемопозтикалық белсенділік деңгейі. Қандағы гемоглобин деңгейі БИВ-117 тобында ($116,5 \pm 12,2$) г/л, БИВ-119 (ТІС) тобында ($107 \pm 12,1$) г/л құрап, МУ тобы көрсеткішіне ($139,5 \pm 12,1$) г/л және УТ тобы көрсеткішіне ($158,5 \pm 16,5$) г/л жетпеді және МУ тобынан 0,83, 1,36 есе төмен, УТ тобынан 0,07 және 0,67 есе төмен болды (кесте 16).

Жалпы эритроциттер көрсеткіші қалыпты жағдайда болды. БИВ-117 тобында $(5,81 \pm 0,5) \cdot 10^{12}/л$ қан, ал БИВ-119 (ТІС) тобында $(5,02 \pm 0,5) \cdot 10^{12}/л$ құрады, РL тобы көрсеткішінен $(4,09 \pm 0,5) \cdot 10^{12}/л$ 1,42 есе, 1,22 есе жоғары болса, МУ көрсеткішінен $(7,42 \pm 1,12) \cdot 10^{12}/л$ және УТ тобынан $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/л$ 0,78 және 0,67 есе төмен болды. БИВ-117, БИВ-119 екі топтағы эритроциттердегі (МСН) гемоглобиннің орташа мөлшері (20,0-19,0) пг, бұл УТ топтың көрсеткішіне ($19,45 \pm 1,6$) пг және қалыпқа сәйкес келді. БИВ-117, БИВ-119 (ТІС) екі топтағы эритроциттердегі гемоглобиннің (МСНС) орташа мөлшері (382,0-391,5) г/л болды, бұл МУ тобы көрсеткішінен ($459 \pm 22,5$) г/л 0,83 және 0,85 есе төмен және УТ топ көрсеткішіне ($446,5 \pm 16,5$) г/л сәйкес келмеді. БИВ-117 және БИВ-119 (ТІС) екі топтағы эритроциттердің (МСV) орташа көлемі (52,3-54,5) фл болды және МУ тобы көрсеткішінен ($40,8 \pm 1,0$) фл 1,28 есе, УТ тобы көрсеткішінен ($43,5 \pm 2,3$) фл 1,33 есе жоғары болды.

Эритроциттердің таралу (RDWsd) аумағы бойынша БИВ-117 тобында ($28,1 \pm 0,9$) фл, ал БИВ-119 (ТІС) тобында ($29,95 \pm 1$) фл құрады, бұл МУ тобынан ($10,1 \pm 0,0$) фл, 2,78, 2,99 есе, ал УТ тобынан ($19,8 \pm 4,6$) фл 1,41 есе, 1,51 есе жоғары болды.

Осылайша, БИВ-117 және БИВ-119 (ТІС) топтарында сүйек кемігінің циклофосфамидті сарқылуынан кейін эритроциттердің қалыпты қалпына келуі байқалды. Қан эритропоэзінің барлық көрсеткіштері салыстырмалы препарат Метилурацилмен салыстырғанда төмен болды және УТ топтың мәніне жете алмады, бірақ РL тобының мәндерінен асып түсті. БИВ-117 және БИВ-119 (ТІС) топтары эритропоэзді ынталандырды.

Кесте 16 – Иондық қосылыстардың гемопозынталандырушы белсенділігі																						
№	Гемограмма көрсеткіштері	WBC, $10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $10^9/L$	MON, $10^9/L$	EO, $10^9/L$	BAS, $10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDW _{sd} , фл	RDW _{cv} , %	PLT, $10^9/L$	MPV, фл
1	БИБ-117	8,9 ± 0,8	7,1 ± 0,4	1,8 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	79,3 ± 0,8	20,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,8 ± 0,5	116 ± 12,2	30,4 ± 1,2	52,3 ± 2,2	20 ± 0,8	382 ± 23,2	28,1 ± 0,9	0,1 ± 0,03	543 ± 25,5	7,0 ± 0,8
2	БИБ-118	4,8 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	55,1 ± 2,1	44,9 ± 12,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	7,2 ± 0,9	137 ± 12,2	39,2 ± 2,1	54,5 ± 2,2	19 ± 1,2	349 ± 18,8	30,3 ± 1,1	0,1 ± 0,1	639 ± 13,3	6,8 ± 0,8
3	БИБ-119	10,9 ± 0,7	8,6 ± 0,2	2,3 ± 1,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	78,5 ± 2,1	21,4 ± 1,02	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,02 ± 0,5	107 ± 12,1	27,4 ± 2,1	54,5 ± 2,1	21,3 ± 1,2	391,5 ± 16,5	29,9 ± 1	0,1 ± 0,01	503,5 ± 23,1	7,1 ± 0,5
4	БИБ-150	5,1 ± 1,8	2,4 ± 0,7	2,5 ± 0,9	0,1 ± 0,0	0,03 ± 0,0	0,0 ± 0,0	47,3 ± 2,1	50,0 ± 1,5	2,1 ± 0,01	0,6 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,5 ± 1,4	128,0 ± 12,1	28,3 ± 1,71	43,2 ± 1,8	19,6 ± 0,6	454,4 ± 16,29	19,0 ± 0,7	20,2 ± 0,9	209,0 ± 21,6	4,5 ± 0,0
5	БИБ-165	4,4 ± 0,4	73,0 ± 12,3	3,6 ± 0,5	19,6 ± 1,1	53,7 ± 5,6	0,0 ± 0,0	291 ± 25,6	377 ± 23,2	0,0 ± 0,0	0,15 ± 0,0	0,09 ± 0,0	94,7 ± 5,3	3,44 ± 0,1	2,00 ± 0,0	16,3 ± 2,1	29,1 ± 5,3	8,61 ± 1,1	8,6 ± 0,9	7,2 ± 0,9	0,4 ± 0,0	80,5 ± 5,6
6	БИБ-166	5,9 ± 0,4	74,5 ± 6,4	3,8 ± 0,1	21,3 ± 3,3	55,9 ± 4,6	19,6 ± 0,9	407,0 ± 24,5	350 ± 23,5	5,5 ± 0,1	0,27 ± 0,0	0,1 ± 0,0	93,3 ± 3,3	4,5 ± 0,1	2,3 ± 0,0	16,2 ± 1,2	30,3 ± 1,3	9,56 ± 0,9	8,1 ± 0,9	16,1 ± 2,1	0,3 ± 0,0	64,5 ± 6,6
7	БИБ-201	11,9 ± 3,2	10,7 ± 1,5	0,4 ± 0,0	0,8 ± ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	90 ± 4,5	3,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,7 ± 0,7	124,5 ± 4,5	32,3 ± 1,6	56,8 ± 0,8	23,5 ± 8,5	411,5 ± 17,5	30,5 ± 5,0	14,6 ± 0,9	743,5 ± 85,4	4,5 ± 0,6
8	БИБ-202	5,5 ± 1,02	5,2 ± 1,2	0,07 ± 0,0	0,2 ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	94,8 ± 7,5	1,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	8,5 ± 1,0	141,5 ± 4,2	0,0 ± 0,0	59,3 ± 0,7	16,5 ± 4,6	303,5 ± 15,5	27,9 ± 4,6	13,7 ± 0,9	770,5 ± 78,2	6,1 ± 0,2
9	MU	7,2 ± 1,2	4,5 ± 0,1	2,1 ± 0,6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,03 ± 0,0	62,8 ± 1,7	29,8 ± 0,6	4,2 ± 0,7	2,8 ± 0,0	0,4 ± 0,0	7,4 ± 1,1	139,5 ± 12,1	30,2 ± 2,3	40,8 ± 1,0	18,7 ± 1,0	459 ± 22,5	10,1 ± 0,0	17 ± 1,0	340,2 ± 26,1	4,1 ± 0,0
10	PL	3,8 ± 0,9	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	40,6 ± 1,4	44,4 ± 1,6	12,2 ± 0,9	2,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	4,09 ± 1,6	71,0 ± 6,04	11,0 ± 0,3	26,9 ± 1,6	17,4 ± 0,02	647 ± 28,8	11,5 ± 0,0	31,2 ± 0,3	381,0 ± 19,6	3,5 ± 0,0
11	UT	10,7 ± 1,1	6,7 ± 1,5	3,1 ± 0,7	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	62,4 ± 3,1	29,3 ± 1,0	2,7 ± 0,07	3,5 ± 0,8	3,0 ± 0,0	7,1 ± 1,1	158,5 ± 16,5	36,9 ± 3,2	43,5 ± 2,3	19,4 ± 1,6	446,5 ± 16,5	19,8 ± 4,6	20,9 ± 2	561,2 ± 12,2	3,9 ± 0,3

16-кестенің жалғасы																						
№	Гемогр амма көрсет кіштері	WBC, $\cdot 10^9/L$	LYM, $10^9/L$	NEU, $\cdot 10^9/L$	MON, $\cdot 10^9/L$	EO, $\cdot 10^9/L$	BAS, $\cdot 10^9/L$	LYM, %	NEU, %	MON, %	EO, %	BAS, %	RBC, $10^{12}/L$	HGB, г/л	HCT, %	MCV, фл	MCH, пг	MCHC, г/л	RDWsd, фл	RDWcv, %	PLT, $\cdot 10^9/L$	MPV, фл
12	P, F	*	**					***	****				*****	***** *							*** *****	
*($P_{1-9}=0,003 F > F_{crit}$, $310,1 > 18,51$), ($0,0003 F > F_{crit}$, $2646,43 > 18,51$), ($P_{2-9}=0,003 F > F_{crit}$, $288 > 18,51$), ($P_{2-10}=0,01 F > F_{crit}$, $50 > 18,51$), ($P_{3-9}=0,0007 F > F_{crit}$, $1369 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,0001 F > F_{crit}$, $5041 > 18,51$); **($P_{1-9}=0,002 F > F_{crit}$, $338 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,0006 F > F_{crit}$, $1568 > 18,51$), ($P_{2-9}=0,005 F > F_{crit}$, $180,5 > 18,51$), ($P_{2-10}=0,01 F > F_{crit}$, $60,5 > 18,51$), ($P_{3-9}=0,001 F > F_{crit}$, $840,5 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,0003 F > F_{crit}$, $2520,5 > 18,51$), ($P_{1-11}=ш.а.$), ($P_{3-11}=0,005 F > F_{crit}$, $180,5 > 18,51$); ***($P_{1-9}=0,00007 F > F_{crit}$, $13612,5 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,00001 F > F_{crit}$, $74884,5 > 18,51$), ($P_{1-11}=0,00007 F > F_{crit}$, $14280,5 > 18,51$), ($P_{2-9}=0,003 F > F_{crit}$, $2964,5 > 18,51$), ($P_{2-10}=0,00009 F > F_{crit}$, $10512,5 > 18,51$), ($P_{3-9}=0,00008 F > F_{crit}$, $12324,5 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,00001 F > F_{crit}$, $71820,5 > 18,51$), ($P_{3-11}=0,000003 F > F_{crit}$, $25824,01 > 18,51$); 5 ($P_{1-10}=ш.а.$) ($P_{3-10}=ш.а.$); ****($P_{1-9}=0,0002 F > F_{crit}$, $4140,5 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,00002 F > F_{crit}$, $44700,5 > 18,51$), ($P=0,00003 F > F_{crit}$, $33282 > 18,51$), ($P_{2-9}=0,00004 F > F_{crit}$, $22801 > 18,51$), ($P_{2-10}=ш.а.$), ($P_{3-9}=0,00004 F > F_{crit}$, $22801 > 18,51$), ($P_{3-10}=ш.а.$); *****($P_{1-9}=0,007 F > F_{crit}$, $128 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,003 F > F_{crit}$, $292,41 > 18,51$), ($P_{2-9}=ш.а.$), ($P_{2-10}=0,001 F > F_{crit}$, $967,7 > 18,51$), ($P_{3-9}=0,00003 F > F_{crit}$, $28800 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,0001 F > F_{crit}$, $8649 > 18,51$); *****($P_{1-9}=0,001 F > F_{crit}$, $546,7 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,0009 F > F_{crit}$, $1012,5 > 18,51$), ($P_{2-9}=ш.а.$), ($P_{2-10}=0,0004 F > F_{crit}$, $2178 > 18,51$), ($P_{3-9}=0,0009 F > F_{crit}$, $1045,7 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,001 F > F_{crit}$, $648 > 18,51$); *****($P_{1-9}=0,00004 F > F_{crit}$, $20604,5 > 18,51$), ($P_{1-10}=0,00007 F > F_{crit}$, $13122 > 18,51$), ($P_{2-9}=0,00002 F > F_{crit}$, $44700,5 > 18,51$), ($P=0,00003 F > F_{crit}$, $33282 > 18,51$), ($P_{3-9}=P=0,00003 F > F_{crit}$, $26467,57 > 18,51$), ($P_{3-10}=0,0001 F > F_{crit}$, $7442 > 18,51$). Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы																						

БИВ-118 тобында эритроциттердің жалпы көрсеткіші $(7,2 \pm 0,9) \cdot 10^{12}/л$ құрады, ол МУ және УТ тобының көрсеткіштерінің $(7,1 \pm 1,1) \cdot 10^{12}/л$ деңгейіне дерлік жетті. БИВ-118 тобындағы эритроциттердегі (MCH) гемоглобиннің орташа мөлшері $(19 \pm 1,2)$ пг, ол УТ топ деңгейінде $(19,45 \pm 1,6)$ пг болды. БИВ-119 (TIC) тобындағы эритроциттегі (MCHC) гемоглобиннің орташа мөлшері $(349,0 \pm 5,3)$ г/л болды, бұл УТ топ деңгейінен $(446,5 \pm 16,5)$ г/л 0,7 есеге төмен. БИВ-118 тобындағы эритроциттердің (MCV) орташа көлемі $(54,5 \pm 2,2)$ фл болды, бұл МУ тобындағыдан $(40,8 \pm 1,0)$ фл 1,33 есе ($P=0,00011 F > F_{crit}$, $9384,5 > 18,51$) жоғары және УТ тобынан 1,25 есе ($P=0,00017 F > F_{crit}$, $6050 > 18,51$) жоғары болды. БИВ-118 тобындағы эритроциттердің (RDWsd) аумақ бойынша таралу көрсеткіші $(30,3 \pm 1,1)$ фл болды, сонымен қатар ол МУ тобынан $(10,1 \pm 0,0)$ фл 3,03 есе, УТ тобынан $(19,8 \pm 4,6)$ фл 1,53 есеге айтарлықтай жоғары болды. Осылайша, БИВ-118 тобында эритроциттер мен гемоглобин көрсеткіштерінің нормохромды және нормоцитарлық қалпына келуі байқалды. Эритропоэзді бағалау, гемоглобин деңгейінің және жалпы эритроциттер көрсеткіштерінің салыстырмалы препарат метилурацил және интакт тобы деңгейінде болуымен сипатталады.

БИВ-117, БИВ-119 (TIC) екі топта да лейкопоэздің қалпына келуі ұқсас жүрді. БИВ-119 (TIC) тобындағы жалпы лейкоцит көрсеткіші $(10,9 \pm 0,7) \cdot 10^9/л$ құрады, бұл МУ тобы көрсеткіші $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/л$ 1,51 есе ($P=0,0007 F > F_{crit}$, $1369 > 18,51$), УТ тобы көрсеткішіне $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/л$ айтарлықтай жетті және PL тобының көрсеткішінен $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/л$ 2,86 есе ($P=0,0002$, $F > F_{crit}$, $5041 > 18,51$) жоғары болды.

БИВ-117 тобында жалпы лейкоцит көрсеткіші $(8,97 \pm 0,8) \cdot 10^9/л$ құрады, бұл МУ тобы көрсеткішінен $(7,2 \pm 1,2) \cdot 10^9/л$ 1,24 есе ($P=0,003 F > F_{crit}$, $310,188 > 18,51$) жоғары болса, УТ тобы көрсеткішіне $(10,7 \pm 1,1) \cdot 10^9/л$ жете, PL тобы көрсеткішінен $(3,8 \pm 0,9) \cdot 10^9/л$ 2,36 есе ($P=0,0003 F > F_{crit}$, $2646,43 > 18,51$) жоғары болды. БИВ-117 және БИВ-119 (TIC) топтарында салыстырмалы қан лейкограммасының көрсеткіштері ұқсас болды.

Нейтрофилдердің салыстырмалы көрсеткіші $(20,7-21,45)$ % PL тобындағы көрсеткіштен $(44,4 \pm 1,61)\%$ төмен болды. БИВ-117 және БИВ-119 (TIC) топтарындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(79,3-78,55)$ % болды және МУ тобынан сәйкесінше $(29,8 \pm 0,65)$ % 2,66 есе ($P=8,162 F > F_{crit}$, $122512 > 18,51$), 2,63 есе ($P=0,00042 F > F_{crit}$, $2353,03 > 18,51$) және УТ тобынан $(29,3 \pm 1,0)$ % 2,70 есе ($P=7,9999 F > F_{crit}$, $125000 > 18,51$), 2,68 есе ($P=0,00042 F > F_{crit}$, $2401,55 > 18,51$) және PL тобы көрсеткішінен $(40,6 \pm 1,44)$ % 1,95 есе ($P=8,4111 F > F_{crit}$, $118888 > 18,51$), 1,93 есе ($P=0,0007 F > F_{crit}$, $1425,8 > 18,51$) жоғары болды.

БИВ-117, БИВ-119 (TIC) топтарындағы қан лейкограммасының бірдей салыстырмалы көрсеткіштеріне қарамастан, БИВ-119 (TIC) тобындағы лейкоциттердің абсолютті көрсеткіштері БИВ-117 тобына қарағанда жоғары болды. БИВ-119 (TIC) тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіші $(8,6 \pm 0,2) \cdot 10^9/л$, БИВ-117 тобындағы көрсеткішінен $(7,1 \pm 0,4) \cdot 10^9/л$ жоғары болды және екеуі де PL тобы көрсеткішінен $(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/л$ 5,7 есе ($P=0,0006 F > F_{crit}$, $1568 > 18,51$), 4,7 есе ($P=0,0003 F > F_{crit}$, $2520,5 > 18,51$) МУ тобынан $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^9/л$

1,9 есе ($P=0,002$ $F>F_{crit}$, $338>18,51$), 1,5 есе ($P=0,001$, $F>F_{crit}$, $840,5>18,51$), УТ тобынан $(6,7\pm1,5)\cdot10^9/\text{л}$ 1,2 есе ($P=0,1$ $F>F_{crit}$, $8<18,51$), 1,0 есе ($P=0,005$ $F>F_{crit}$, $180,5>18,51$) жоғары болды. БИВ-117 тобындағы абсолютты нейтрофильді көрсеткіш $(1,85\pm1,1)\cdot10^9/\text{л}$ құрады, УТ тобы көрсеткішіне $(4,13\pm0,5)$, МУ тобы көрсеткішіне $(2,1\pm0,6)\cdot10^9/\text{л}$ жетпеді. Келесі БИВ-119 (ТІС) тәжірибелік тобындағы абсолютті нейтрофиль көрсеткіші $(2,33\pm1,3)\cdot10^9/\text{л}$ құрады, УТ топтың көрсеткішіне жеткен жоқ, бірақ салыстырмалы препарат МУ деңгейінде болды. БИВ-117 тобы РЛ тобы деңгейінде $(1,6\pm0,1)\cdot10^9/\text{л}$, ал БИВ-119 (ТІС) тобы 1,45 есе ($P=0,01843$, $F>F_{crit}$, $52,7624>18,51$) жоғары болды. БИВ-119 (ТІС) тобындағы қан жағындысын бақылау перифериялық қаннан таяқша тәрізді нейтрофилдердің жоғары көрсеткішпен шығуын көрсетті. Нейтрофилездің ядролық регенеративті солға ығысуының жоғары деңгейі қандағы лейкоциттердің компенсаторлық қалпына келуін көрсетті.

БИВ-117, БИВ-119 (ТІС) топтарында тромбоциттер деңгейінің қалпына келуі тиімді жүрді. БИВ-117 тобындағы жалпы тромбоцитарлы көрсеткіш $(543\pm25,5)\cdot10^9/\text{л}$, БИВ-119 (ТІС) тобындағы көрсеткіш $(503,5\pm23,1)\cdot10^9/\text{л}$ болды, ол МУ тобынан $(340,2\pm26,1)\cdot10^9/\text{л}$ 1,59 есе ($P=0,00004$ $F>F_{crit}$, $20604,5>18,51$), 1,47 есе ($P=0,00003$ $F>F_{crit}$, $26467,57>18,51$) және РЛ тобы көрсеткішінен $(381,0\pm19,6)\cdot10^9/\text{л}$ 1,42 есе ($P=0,00007$ $F>F_{crit}$, $13122>18,51$) және 1,32 есе ($P=0,0001$ $F>F_{crit}$, $7442>18,51$) жоғары болды.

БИВ-118 тобындағы лейкоциттердің жалпы көрсеткіші $(4,8\pm0,1)\cdot10^9/\text{л}$ құрады, бұл МУ тобынан $(7,2\pm1,2)\cdot10^9/\text{л}$ 0,66 есе және УТ тобынан $(10,7\pm1,1)\cdot10^9/\text{л}$ 0,44 есе төмен болса, РЛ тобынан $(3,8\pm0,9)\cdot10^9/\text{л}$ 1,2 есе ($P=0,01$ $F>F_{crit}$, $50>18,51$) жоғары екендігін көрсетті. Салыстырмалы нейтрофилдер саны $(44,9\pm0,3)\%$ құрады және РЛ тобы деңгейінде $(44,4\pm1,61)\%$ болды. БИВ-118 тобындағы лимфоциттердің салыстырмалы көрсеткіші $(55,1\pm2,1)\%$ құрады және МУ және РЛ топтарының көрсеткіштерінен 0,92, 0,87 есе төмен болды. БИВ-118 тобындағы абсолютті лимфоцитарлы көрсеткіш $(2,6\pm0,1)\cdot10^9/\text{л}$ құрады, бұл РЛ тобы көрсеткішінен $(1,5\pm0,1)\cdot10^9/\text{л}$ 1,73 есе ($P=0,01$ $F>F_{crit}$, $60,5>18,51$), МУ тобы көрсеткішінен $(4,5\pm0,1)\cdot10^9/\text{л}$ 0,5 есе, УТ тобы көрсеткішінен $(6,7\pm1,5)\cdot10^9/\text{л}$ 0,3 есе жоғары болды. БИВ-118 қосылысы қан лейкограммасында гранулоцитарлы және агранулоцитарлы көрсеткіштердің біркелкі қалпына келмеді.

БИВ-118 тобындағы жалпы тромбоциттер көрсеткіші $(639\pm13,3)\cdot10^9/\text{л}$ құрады, бұл МУ тобы, РЛ тобы көрсеткішінен 1,8 есе ($P=0,00002$ $F>F_{crit}$, $44700,5>18,51$), 1,6 есе ($P=0,00003$ $F>F_{crit}$, $33282>18,51$) жоғары болғандығын көрсетті. БИВ-117, 118, БИВ-119 (ТІС) тобындағы тромбокрит деңгейі де тез қалпына келді.

Осылайша, циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия жағдайында зерттелетін БИВ-117 және БИВ-119 (ТІС) қосылыстарды енгізгеннен кейінгі 7-ші тәулікте сүйек кемігі жасушалары қалпына келуінің біркелкі ынталандырылуы байқалды. Бұл қосылыстар эритропозді ынталандырады және БИВ-117, БИВ-119 (ТІС) топтарының барлық көрсеткіштері РЛ тобының көрсеткіштерінен асып түсті. Эритроциттердің орташа көлемі қалыпты шекте болды. Ал, БИВ-118 тобы эритропозді

айтарлықтай ынталандырып, МУ, УТ топтарының көрсеткіштеріне дерлік жетті. БИВ-117, 118, БИВ-119 (ТІС) тобындағы тромбоцитоз қарқынды болды және тромбоциттердің барлық көрсеткіштері МУ тобы мен УТ тобының көрсеткіштерінен жоғары болды. Лейкопозді ынталандыру белсенділігі бойынша БИВ-119 (ТІС) қосылысы, БИВ-117 қосылысынан және МУ, УТ тобының белсенділігінен асып түсті. БИВ-118 қосылысы МУ мен УТ тобының мәніне жетпей, лейкопоз белсенділігін ынталандырмады, бірақ PL тобының белсенділігінен жоғары болды.

БИВ-190 (ВІВ) және БИВ-119 (ТІС) қосылыстары гемоынталандырушы белсенділік көрсетті. Олар салыстырмалы түрде барлық зерттелген қосылыстар ішінен ең жоғары лимфоынталандырушы белсенділікті көрсетті, яғни зерттеу жұмысының мақсатына байланысты лимфоцит деңгейін қалпына келтіретін қосылысты табу болғандықтан БИВ-190 (ВІВ) және БИВ-119 (ТІС) қосылыстары келешектегі терең скрининг зерттеулері үшін таңдап алынды.

3.3 Сүйек кемігі, тимус және көкбауырдың жасушалығын бағалау

3.3.1 Сүйек кемігінің, тимустың және көкбауырдың салмағын, жалпы жасуша саны мен жасушалығын талдау

Циклофосфамидті енгізуден туындаған екіншілік имунтапшылығы моделінің өміршендігінің негізгі көрсеткіші, клиникалық қан талдауынан басқа, жануарлардың сүйек кемігі, тимусын, көкбауырын морфологиялық зерттеу болып табылады. Мүшелердің күйін айқындайтын көрсеткіштердің ішінен жануардың салмағын, мүшенің салмағын және оның жасушалылығын есептеуді бөліп көрсету керек. Бұл көрсеткіштер мүше салмағының азаюымен байланысты ЦФ супрессорлық әсерін егжей-тегжейлі бағалауға мүмкіндік береді [245, 117 б.].

Тышқанның орташа өмір сүру ұзақтығы 1,5-2,0-3,0 жыл. 16-18 айлық тышқандардың жасы адамның 60-70 жасына сәйкес келеді. C57BL6/J линиялы тышқандарының өмір сүру ұзақтығы аталықтар үшін $580 \pm 35,8$ күн, аналықтар үшін $645 \pm 34,2$ күн [246]. Тышқандардың тірі салмағы жасына байланысты туғаннан 70 күнге дейін аталықтарда 21,0 (22,6-19,4), аналықтарда 18,9 (20,2-17,6) г., аталықтарда 90 күнге дейін 23,8 (24,6-23,2) г., аналықтарда 21,5 (22,8-17,6) г, 140 күнге дейін аталықтарда 26,3 (27,2-25,4) г, аналықтарда 25,0 (26,2-23,8) г. [247].

Тәжірибе 4-4,5 айлық аналық жануарларға жүргізілді. Тәжірибенің 15-ші тәулігінде лабораториялық жануарлармен жұмыс жүргізудің этика ережесіне сәйкес жүргізілді. Жануарлардың тимусы, көкбауыры алынып, салмағы өлшенді.

3.3.1.1 Тимустың салмағы, жалпы жасуша саны және жасушалығы

Тимустың салыстырмалы салмағы жануардың мүшесінің абсолютті салмағының оның денесінің жалпы салмағына қатысы ретінде анықталды. Қолданылған модельдің сәйкестігін бағалау үшін біз тимустың абсолютті салмағы мен жасушалық қасиетін интактілі (УТ) және тәжірибелік топтарын:

метилурацил (MU), плацебо (PL), БИВ-190 (BIV), БИВ-119 (TIC) салыстырдық. Зерттеу нәтижелері 17-кестеде берілген.

Кесте 17 – Тимустың салмағы, жасушалық көрсеткіштері

№	Топтар	Жануарлардың салмағы, (мг)	Тимустың салмағы, мг	Мүшедегі жасушалардың жалпы саны, млн.кл	Жасушалық (мүше салмағына шаққандағы жасушалар саны), млн. кл./мг
1	UT	18630,0±1153,2	75,0±3,0	142,1±18,9	1,9±0,2
2	PL	16825,0±1998,2	35,0±4,8	58,1±21,5	1,5±0,2
3	BIV	18300,0±1224,6	65,0±6,5	194,1±29,6	2,9±0,3
4	TIC	18567,0±1689,0	56,6±4,8	144,2±28,9	2,5±0,1
5	MU	19267,0±1568,9	46,6±6,2	93,6±35,2	2,1±0,5
P			P ₅₋₁ = 0,04 P ₃₋₅ =0,0001 P ₄₋₅ = 0,000004	P ₅₋₁ = 0,002 P ₄₋₅ =0,0002 P ₂₋₄ =0,002 P ₂₋₃ =0,002 P ₂₋₄ =0,002 P ₂₋₅ =0,01	P ₃₋₅ =0,000001 P ₄₋₅ =0,00000003 P ₂₋₅ =0,001

17-кестеде көрсетілгендей, ЦФ тобындағы жануар салмағы және тимус салмағының айтарлықтай төмендеуіне әкелді, бұл әдебиеттегі келтірілген деректерімен сәйкес келеді [248]. Анықталған [249-251] циклофосфамидті интоксикация кезінде жасушалардың 80-95% өлуі, апоптоз бен некроздың салдарынан болады, бұл гомеостаздың өзгеруіне, тимус жасушалылығының төмендеуіне, патологиялық өзгерістерге, иммундық жүйедегі ағзадағы әртүрлі патологиялық жағдайлардың дамуына әкеп соғатын тимус жасушаларының төмендеуіне әкеледі.

BIV (тобы), TIC (тобы) қосылыстары жануарлардың дене салмағын қалыпты деңгейге (UT тобы) қалпына келтірді және PL тобымен салыстырғанда тимус салмағын айқын арттырды (тиісінше 3,3 және 2,5 есе).

Тимустағы жасушалардың жалпы санының өзгеруі осы мүше салмағының өзгеруімен толығымен сәйкес келеді. Дегенмен, меншікті шамасын көрсететін (тимус салмағына жасуша санының қатынасы) тимустың жасушалығын ең ақпаратты көрсеткіш ретінде санауға болады. 17-кестеге сәйкес, тимустың жасушалылығы BIV және TIC әсерінен қалпына келтірілді, PL тобына қатысты сәйкесінше 1,9 және 1,7 есе жоғары болды. Метилурацил, салыстыру препараты ретінде тимустың салмағын, тимустағы жасушалардың санын және оның жасушалық қасиетін тиісінше 1,3, 1,6 және 1,4 есе арттыра отырып, ЦФ әсерінен кейін тимусты шамалы ғана қалпына келтірді.

Т-лимфоциттердің цитостатиктердің, атап айтқанда ЦФ әсеріне жоғары сезімталдығы олардың қарқынды пролиферациясына байланысты. Т-жасушаларының санын қалпына келтіруге 2 механизм қатысады: тимопоэз және гомеостатикалық пролиферация. 1-ші механизм тимустың аңғал Т-лимфоциттерінің ағынын қамтамасыз етеді, 2-ші – шамадан тыс пролиферация арқылы Т-жад жасушаларының жиналуына әкеледі [246, 351 б.]. Ағзаға жағымсыз сыртқы әсерлер кезінде иммундық жүйенің Т-жасушалық байланысын қалпына келтіруге әрбір механизмнің қосқан үлесін бағалау осы процестердің патогенезін түсіну үшін де, оларды түзетудің қолайлы әдістерін табу үшін де маңызды [192, 1718 б.]. Алынған мәліметтерді талдай отырып, циклофосфамидті интоксикация мүшедегі жалпы жасушалардың саны мен салмағын 2,14, 2,44 есе азаюына әкелді деп айта аламыз. Лимфо-миелоидты кешеннің барлық мүшелерінің ішінде тимус цитостатиктердің әсеріне ең сезімтал екені белгілі. Басқа зерттеулердің авторлары тимоциттердің ең жас субпопуляциясы, DN-тимоциттердің санының көбеюі ЦФ енгізгеннен кейін 20-шы тәулікте ғана шарықтау шегіне жететінін байқаған [252]. Біздің зерттеулерімізде, салмақтың, мүшелердегі жасушалардың жалпы санының қалпына келуі ВІV қосылыстарын енгізу басталғаннан кейінгі жетінші тәулікте тіркелді. ВІV және ТІС топтары бақылаудың бірінші аптасында мүше салмағының ұлғаюын және мүшедегі жасушаларының жалпы санының қалпына келуін көрсетті. Әдеби деректерге сәйкес, перепараттарды қолданбай, тимус жасушаларының санының толық қалпына келуі, 60 тәулікке дейін жүреді [253, 254].

3.3.1.2 Көкбауырдың салмағы, жалпы жасуша саны және жасушалығы

Көкбауырдың орташа салмағы $59,5 (45 \pm 72,5)$ мг ауқымында болды. Көкбауырдың максималды салмағы УТ тобында – 72,5 мг және бақылау тобындағы салыстырмалы препарат МУ тобында – 70,0 мг құрады.

УТ топтағы жануарлардың абсолютті салмағы $18630 (18630,0 \pm 1153,2)$ мг және көкбауырдың салыстырмалы салмағы $72,5 (72,5 \pm 5,6)$ мг, МУ тобындағы абсолюттік салмақ $19267 (19267,0 \pm 1568,9)$ мг шегінде болды, ал көкбауырдың салыстырмалы салмағы $70 (70,0 \pm 8,7)$ мг болып, УТ тобы мәніне жеткені анықталды. ВІV енгізген тәжірибелік топта абсолютті салмақ $18300 (18300,0 \pm 1224,6)$ мг болды, ал көкбауырдың салыстырмалы салмағы $60 (60,0 \pm 8,5)$ мг болып, салыстырмалы препарат МУ енгізілген топтан 1,16 есеге ($P=0,01 F > F_{crit}, 50 > 18,51$) төмендеді (кесте 18).

ТІС енгізілген топта абсолютті салмақ $18567 (18567,0 \pm 1689,0)$ мг, көкбауырдың салыстырмалы салмағы $50 (50,0 \pm 5,6)$ мг құрады, ол салыстырмалы препарат МУ тобынан 1,2 есеге ($P=0,004 F > F_{crit}, 200 > 18,51$) төмен болғандығын көрсетті. Екі тәжірибелік топ ВІV және ТІС абсолюттік салмақ бойынша УТ және МУ тобының мәніне жетпеді. РL тобындағы көкбауырдың салыстырмалы салмағы $45 (45,0 \pm 6,9)$ мг болды, бұл барлық топтардан, ВІV топтарынан 1,33 есе ($P=0,008 F > F_{crit}, 112,5 > 18,51$) және ТІС топтарынан 1,11 есе ($P=0,07 F < F_{crit}, 12,5 < 18,51$) төмен болды.

Кесте 18 – Көкбауырдың салмағы, жасушалық көрсеткіштері

№	Топ тар	Жануарлардың салмағы, (мг)	Көкбауыр салмағы, мг	Мүшедегі жасушалардың жалпы саны, кл · 10 ⁶	Жасушалық (мүше салмағына шаққандағы жасушалар саны), млн кл/мг
1	UT	18630,0±1153,2	72,5±5,6	92,1±5,9	1,3±0,2
2	PL	16825,0±1998,2	45,0±6,9	60,6±6,9	0,8±0,01
3	BIV	18300,0±1224,6	60,0±8,5	118,7±12,5	2,3±0,2
4	TIC	18567,0±1689,0	50,0±5,6	73,7±9,8	1,6±0,2
5	MU	19267,0±1568,9	70,0±8,7	66,4±8,9	1,1±0,01
	P		P ₃₋₅ =0,01 P ₄₋₅ =0,004 P ₃₋₂ =0,008 P ₄₋₂ =ш.а.	P ₃₋₁ =0,00002 P ₃₋₅ =0,000003 P ₄₋₅ =0,000001 P ₂₋₃ =0,000002 P ₂₋₄ =0,0000005	P ₃₋₁ =0,006
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы					

Көкбауыр салмағының төмендеуі, мобилизацияның жоғарылауын көрсетуі мүмкін, нәтижесінде көптеген қолайсыз факторлар – инфекциялар, физикалық жүктеменің жоғарылауымен аурулар, стресс, оның функциясының төмендеуіне әкеледі [255]. Циклофосфамидті интоксикация екі себеп бойынша көкбауыр салмағының күрт төмендеуіне әкелді. Көкбауырда цитостатиктердің әсеріне ең сезімтал лимфоциттердің гомеостатикалық пролиферациясы жүреді. Екінші себеп - көкбауырда қызыл пульпа 80%-ға дейін болады, онда қанның эритроциттері, тромбоциттері және гранулоциттері орналасады. Олар да цитостатиктердің әсеріне өте сезімтал келеді. Бірақ цитостатик белсенді пролиферацияланатын жасушаларға әсер етеді. Қызыл пульпада жасушалардың санының азаюының себебі – сүйек кемігінен жасушалардың көкбауырдың қызыл пульпасына дер кезінде орналасуының бұзылуынан болады. ЦФ, ең алдымен, сүйек кемігінің жасушалық бұзылуын тудырды, бұл екінші лимфомиелоидты мүше – көкбауыр жасушаларының популяциясының төмендеуіне әкелді.

Тышқандарға BIV енгізгенде, бұл тәжірибелік тобындағы көкбауыр жасушаларының жалпы саны (118,7±12,5) млн болды, ол UT топқа қарағанда 1,28 есе (P=0,00002 F>F_{crit}, 35378>18,51), бақылау тобы салыстырмалы препарат MU тобынан 1,78 есе (P=0,000003 F>F_{crit}, 272801,3>18,51) жоғары болды.

TIC тәжірибелік тобында жасушалардың жалпы саны (73,7±9,8) млн болды, ол бақылау тобы MU 1,10 есе (P=0,000001 F>F_{crit}, 525169,2>18,51) жоғары болса, ал UT тобы мәніне (92,1±5,9) млн жетпеді. Жасушалардың жалпы саны (60,6±6,9) млн болатын PL тобы BIV, TIC тәжірибелік топтарынан да төмен

болды және екі топта 1,95, 1,21 есе ($P=0,000002$ $F>F_{crit}$, $336563,6>18,51$), ($P=0,0000005$ $F>F_{crit}$, $1690559>18,51$) жоғары болды. Сонымен қатар, BIV және TIS қосылыстарының әсерінен көкбауыр жасушалылығының жоғарылауы орын алды. Көкбауыр жасушаларының жалпы санының жоғары болуы BIV және TIS қосылыстарының циклофосфамидті миелодепрессиядан кейінгі екіншілік лимфо-миелоидты мүшелерде миело- және лимфоцитопоэз процестерін ынталандырудағы тиімділігін көрсетеді.

Жасушалық санның жоғары көрсеткішін BIV ($2,3\pm 0,2$) млн/мг және TIS ($1,6\pm 0,2$) млн/мг құрады. BIV салыстырмалы препарат MU тобынан ($1,1\pm 0,01$) млн/мг құрап, 2,09 есе ($P=0,006$ $F>F_{crit}$, $144>18,51$) жоғары және TIS тобынан 0,7 есе ғана жоғары болды. Ал PL тобында көкбауырдың ең минималды жасушалығы ($0,8\pm 0,01$) млн/мг байқалды.

Осылайша, біз алған тәжірибелік деректер екіншілік иммунтапшылығы жағдайларын емдеуде цитостатиктердің токсикалық әсерін азайту үшін BIV және TIS қосылыстары лимфо-миелоидты мүшелердегі миело- және лимфоцитарлық жасуша популяцияларының деңгейін қалпына келтіруде қолдану перспективасын көрсетеді.

3.3.1.3 Сүйек кемігінің жалпы жасуша саны және жасушалығы

Сүйек кемігіндегі гемопоэз тек зертханалық жануарларда егжей-тегжейлі зерттелген. Сүйек кемігінің гемопоэтикалық қызметі стресс әсерінің қарқындылығы мен ұзақтығына байланысты мобилизация мен төзімділіктен бастап сарқылу мен патологияға дейінгі кезеңдерден дәйекті түрде өтетіні белгілі. Дегенмен, сүйек кемігі, перифериялық қан, көкбауыр және тимус арасындағы қан түзетін жасушалардың айналым процестері, атап айтқанда, стресс кезінде әлі толық аныталмаған. Табиғаттағы тышқан тәрізді кеміргіштердегі сүйек кемігі туралы ешбір мәлімет жоқ және бұл туралы нақты деректер үзінді түрінде ғана кездеседі [256-258].

Сүйек кемігінің жасушалығын жастық нормаға қатысты бағалануы қажет. Сүйек кемігін норма-, гипер- немесе гипожасушалық деп сипаттауға болады. Зерттелген жануарлар сүйек кемігінің жасушалық деңгейінің жоғары деңгейіне сәйкес келетін жас кезеңінде болды. Жануарлар тәуліктік белсенділік ырғақтарын сақтай отырып, балансты диетада болды.

Сүйек кемігінің жалпы жасуша санын UT тобымен үш тәжірибелік BIV, TIS, MU, тобын салыстырғанда 3,95, 2,38, 2,80 есе ($P=0,000003$ $F>F_{crit}$, $256036>18,51$), ($P=0,000007$ $F>F_{crit}$, $137812,5>18,51$), ($P=0,000006$ $F>F_{crit}$, $148823,1>18,51$) жоғары болғандығын көрсетті. Тәжірибелік топтардағы сүйек кемігі жасушаларының жалпы санының жоғары көрсеткішін циклофосфамидті миелодепрессиядан кейін жасуша популяциясының компенсаторлық пролиферациясымен түсіндіруге болады. Сүйек кемігінің жасушалық көрсеткіші сүйек кемігі жасушаларының мүшедегі жалпы санымен байланысты болды. BIV қосылысын енгізу тобындағы сүйек кемігінің жоғары жасушалық көрсеткіші ($4,05\pm 0,3$) млн/мг құрады. Ол сүйек кемігінің жасушалығы бойынша MU тобынан 1,41 есе ($P=0,006$ $F>F_{crit}$, $154,703>18,51$) жоғары болды. TIS тобындағы

көрсеткіш MU тобынан сәл ғана жоғары болды. Ең төменгі жасушалық көрсеткіштер UT топта ($1,02 \pm 0,01$) және PL тобында ($1,6 \pm 0,1$) болды (кесте 19).

Кесте 19 – Сүйек кемігінің жасушалығы

№	Топтар	Мүшедегі жалпы жасуша саны, кл · 10 ⁶	Жасушалығы (мүше салмағына жалпы жасуша саны), кл · 10 ⁶ /мг
1	UT	23,3±4,5	1,02±0,01
2	PL	17,2±5,2	1,6±0,1
3	BIV	73,9±9,5	4,05±0,3
4	TIC	75,8±9,8	2,9±0,1
5	MU	62,07±6,8	2,8±0,1
P		P ₃₋₁ =0,000003 P ₄₋₁ =0,000007 P ₅₋₁ =0,000006	P ₃₋₅ =0,006

Осылайша, сүйек кемігінің ең жоғары жасушалық қасиеті BIV тобында болды. TIC тобы аралық мәнде болды. Ең төменгі жасушалық көрсеткіш UT тобында және PL тобында болды. Бірақ қосылыстардың тиімділігін тек мүшелердің салмағымен ғана бағалау мүмкін емес, өйткені сүйек кемігінің жасушаларының ынталандырылған пролиферациясы бір бағытты сипатты болуы мүмкін. Қандағы жетілген жасушалардың тапшылығымен жүретін бір немесе бірнеше қан түзілу көлемімен кеңеюімен байланысты - сүйек кемігінің гипержасушалығы қан түзілудің тиімсіздігін немесе бір типті өсу факторларының шамадан тыс мөлшерінің көбеюін көрсетеді. Сүйек кемігіндегі гипержасушалық миелопоэзге бір немесе бірнеше жасушалық линияларының таралуы, дифференциалды диагностикаға лейкемоидты реакцияларды, анемиялық синдромдарды, ең алдымен гранулоциттік және мегакариоциттердің пролиферациясы бар бастапқы миелофиброз, созылмалы миелолейкоз, миелодепрессивті аурулары жатады. Сонымен, анемиялық синдромы кезінде эритроидты көбеюдің кеңеюі, миелобластоидты белгілер байқалады. Иммундық тромбоцитопения кезінде мегакариоциттер санының күрт өсуі байқалады, бұл жағдайда жасушалардың көлемі кіші, жетілмеген морфологиялы, ал цитологиялық зерттеулерде - гипергранулярлы цитоплазмасы болады [259].

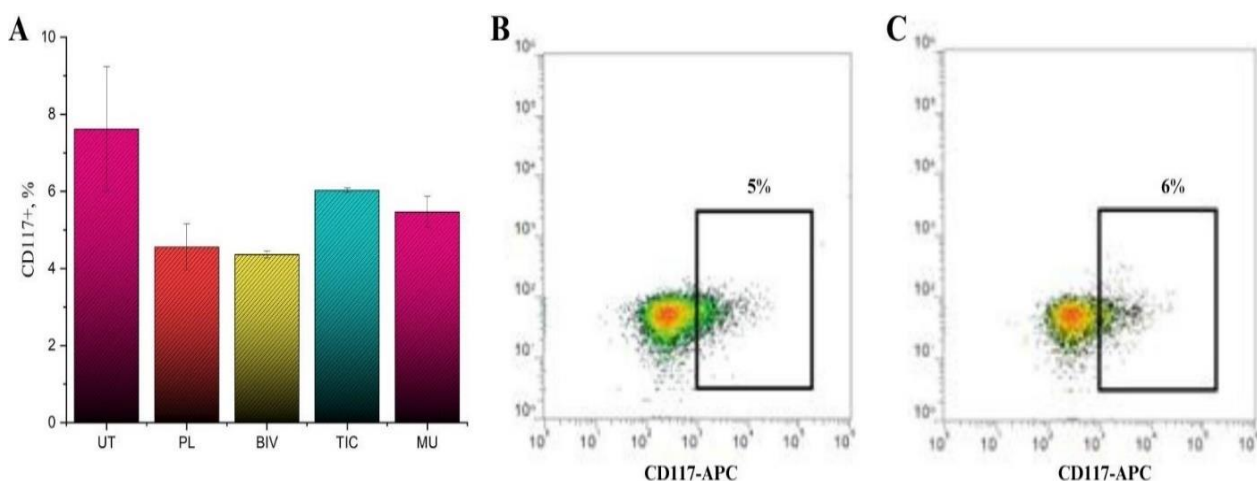
Әрі қарай, ЦФ ықпалдандырылған депрессияда сүйек кемігі, тимикалық және гомеостатикалық спленоцитарлы Т-лимфопоэз және жаңа синтезделген қосылыстар BIV, TIC қосылысы сүйек кемігіндегі, тимустағы және көкбауырдағы Т-лимфоциттердің қалпына келу белсенділігіне талдау жүргізілді.

3.4 BIV және TIS әсерінен лимфо-миелоидты мүшелердегі (ГБЖ, Т-, В-лимфоциттер) субпопуляцияларының қайта қалпына келуі

Жаңа синтезделген қосылыстардың ЦФ әсеріне ұшыраған жануарлардың гематологиялық көрсеткіштеріне әсерін зерттеу, гемопоэтикалық белсенділігі ең жоғары екі қосылысты таңдап алуға мүмкіндік берді: пиразолопиридин қосылыстары тобынан – BIV деп аталынатын БИВ-190 қосылысы, сұйық иондық қосылыс тобынан – TIS деп аталынатын, БИВ-119 қосылысы. Бұл қосылыстар, ЦФ әсерінен кейін сүйек кемігі, тимус, көкбауырдың жасушалығының қайта қалпына келуінде тиімді болып табылды. Ары қарай, ЦФ әсерінен кейін, ағынды цитофлуориметриялық әдісті қолдана отырып, BIV және TIS қосылыстарының әсерін ГБЖ, Т-жасуша субпопуляцияларының әртүрлі фенотиптерінің қайта қалпына келуін тереңірек зерттедік.

3.4.1 Жаңа синтезделген BIV және TIS қосылыстарының сүйек кемігіндегі ГБЖ, Т-лимфоциттер деңгейінің қайта қалпына келуіндегі белсенділігі

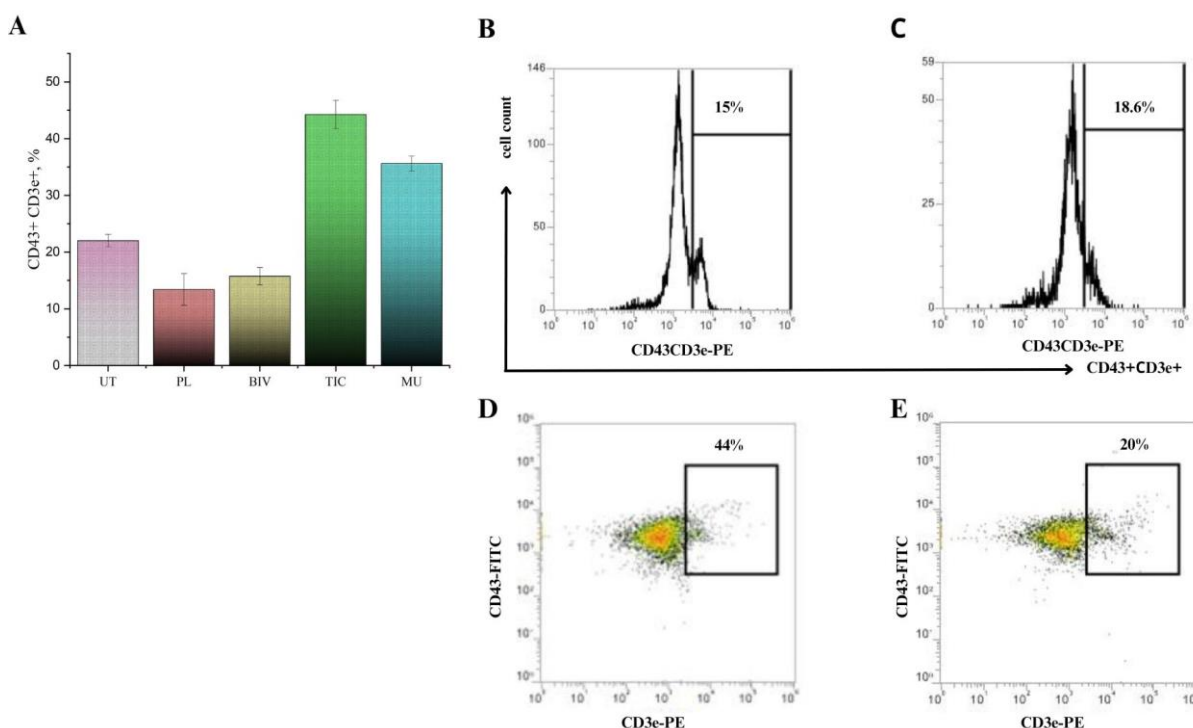
BIV қосылысы гемопоэтикалық бағаналы жасушаларға қатысты төмен миелоинтандырушы белсенділікті көрсетті. Сүйек кемігіндегі ГБЖ CD117⁺ BIV тобындағы (4,36±0,10) % деңгейі PL тобындағы (4,57±0,6) % деңгейден ерекшеленбеді, ал MU тобы және TIS тобында ГБЖ деңгейі сәйкесінше 1,25 есе, 1,38 есе ($P=0,004$ $F>F_{crit}$, 220,5>18,51; ($P=0,00007$ $F>F_{crit}$, 13944,5>18,51) жоғарылады, бірақ UT тобы деңгейіне 7,62±1,61) % ($P=0,00007$ $F>F_{crit}$, 13944,5>18,51) жеткен жоқ (сурет 6).



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIS – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы ГБЖ мәні (5,0%).
С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIS тобындағы ГБЖ мәні (6,0%).

Сурет 6 – Тышқандардың әртүрлі тобының сүйек кемігіндегі CD117⁺ гемопоэтикалық бағаналы жасушалардың үлесі

TIC қосылысы жетілген, белсендірілмеген Т-лимфоциттердің деңгейін қалпына келтіруде айқын ынталандырушы белсенділікті көрсетті (сурет 5). Мысалы, TIC тобындағы $CD43^+ CD3e^+$ Т-лимфоциттердің деңгейі ($44,25 \pm 2,5$) % PL тобынан ($12,06 \pm 1,87$) % 3,66 есе ($P=0,0000001 F > F_{crit}, 5180981 > 18,51$), тіпті UT тобынан 2,01 есе ($P=0,0000004 F > F_{crit}, 2473088 > 18,51$) жоғары болды [260]. TIC қосылысы белсенділігі MU тобынан ($35,6 \pm 1,34$) % 1,24 есе ($P=0,0001 F > F_{crit}, 7408,16 > 18,51$), BIV қосылсынан ($15,73 \pm 1,54$) % 2,81 есе ($P=0,0000002 F > F_{crit}, 4066952 > 18,51$) жоғары болды (сурет 7).



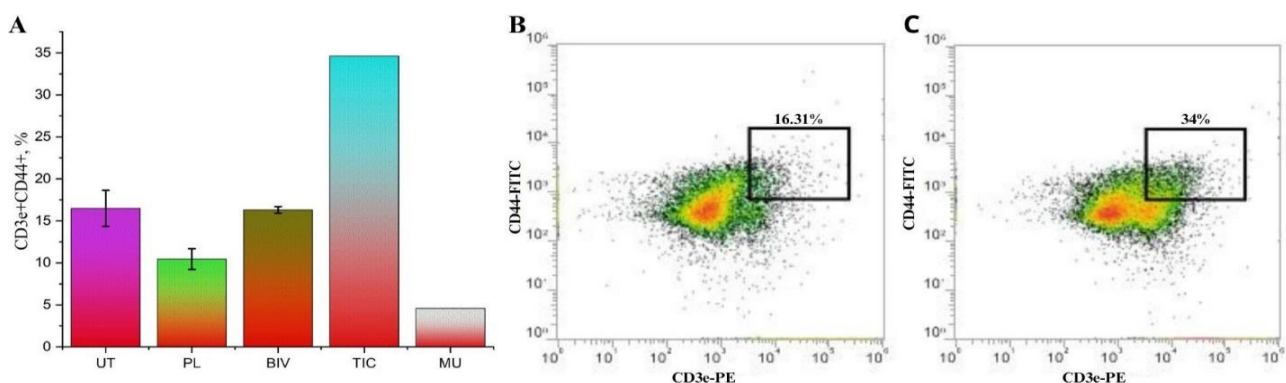
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-жасушалар мәні (15,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-жасушалардың мәні (18,6%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-лимфоциттердің мәні (44,0%). Е. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-лимфоциттердің мәні (20,0%).

Сурет 7 – Тышқандардың әртүрлі тобындағы сүйек кемігіндегі $CD3e^+CD43^+$ Т-лимфоциттердің үлесі

ЦФ әсерінен кейін $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ деңгейінің төмендеуі (1,58 есе, $P=0,00005 F > F_{crit}, 187272 > 18,51$) едәуір болмады. Осылайша, пре-Т-лимфоциттер деңгейінің төмендеуі, рециркуляцияланатын Т-жад лимфоциттерінің санының төмендеуіне қарағанда айқынырақ болды (сурет 8).

Пре-Т-лимфоциттер тимусқа және олардың селекциясы мен дифференциациясы жүретін тимопозз мүшесіне миграцияланады. Сондықтан, Т-лимфоциттердің лимфо-миелоидты кешендегі соңғы деңгейі туралы Т-

лимфоциттердің тимустан шығуы және аймақтық лимфо-миелоидты мүшелердегі Т-лимфоциттердің мәні бойынша бағалауға болады.



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-жад лимфоциттердің мәні (16,31%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-жад лимфоциттердің мәні (34,0%).

Сурет 8 – Тышқандардың әртүрлі тобының сүйек кемігіндегі рециркуляцияланатын $CD3e^+CD44^+ T_{mem}$ -лимфоциттердің үлесі

3.4.2 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде тимикалық Т-лимфоцитопоз және жаңа синтезделген BIV, TIC қосылыстарымен тимустағы Т-лимфоциттер деңгейінің қалпына келу белсенділігі

Тимустағы Т-лимфоцитарлы жасушалардың деңгейін тимопоз нәтижесіндегі жасушалардың шығуы бойынша бағаланды: тимоциттердің жалпы деңгейі $CD3e^+CD19^-$, (SP) $CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8a^+$ тимоциттер деңгейі, белсендіріліген клондаушы $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -хелпер деңгейі, $FoxP3^+CD4^+CD25^+$ T_{reg} жасуша деңгейі (кесте 20).

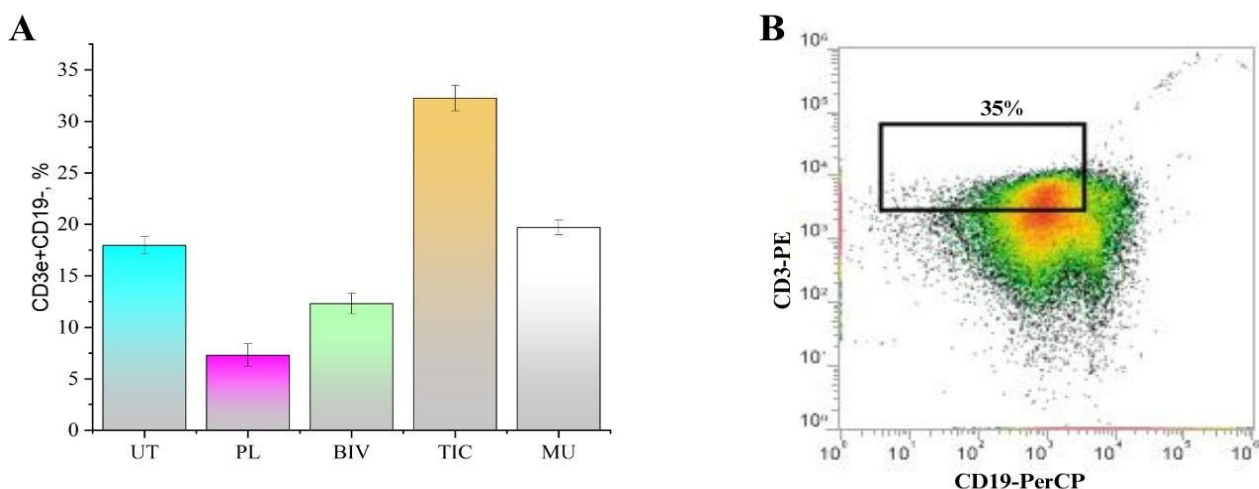
C57BL/6/J линиялы сау тышқандардағы жалпы $CD3e^+CD19^-$ тимоциттердің деңгейі ($17,95 \pm 0,85$) % құрады. Циклофосфамидті интоксикация $CD3e^+CD19^-$ тимоциттердің бастапқы мәннен 59,33%, 2,45 есе ($P=0,00008$ $F > F_{crit}$, $11229,95 > 18,51$) төмендеуіне әкелді (сурет 9).

UT жануарлардағы $CD3e^+$ тимоцит популяциясынан SP $CD3e^+CD4^+$ тимоциттер ($42,76 \pm 3,01$) %, $CD3e^+CD8a^+$ ($28,41 \pm 0,47$) % құрады.

Кесте 20 – Тимустағы Т-лимфоциттер субпопуляцияларының көрсеткіштері

№	Тимус $M \pm SD$, % (n=6)					
	Топтар	$CD3e^+CD19^-$ Т- лимфоциттер	$CD3e^+CD4^+$ Т- хелперлер	$CD3e^+CD8a^+$ ЦТЛ- лимфоциттер	$CD4^+CD25^+$ белсендірілген Th_{act} -хелперлер	$FoxP3^+CD4^+CD25^+$ T_{reg} -реттеуші Т- лимфоциттер
1	UT	$17,95 \pm 0,85$	$42,76 \pm 3,01$	$28,41 \pm 0,47$	$2,34 \pm 0,21$	$12,07 \pm 0,67$
2	PL	$7,3 \pm 1,11$	$7,27 \pm 0,26$	$10,2 \pm 0,57$	$5,43 \pm 0,57$	$9,76 \pm 0,57$

20-кестенің жалғасы						
Тимус M±SD, % (n=6)						
№	Топтар	CD3e ⁺ CD19 ⁺ Т-лимфоциттер	CD3e ⁺ CD4 ⁺ Т-хелперлер	CD3e ⁺ CD8a ⁺ ЦТЛ-лимфоциттер	CD4 ⁺ CD25 ⁺ белсендірілген Th _{act} -хелперлер	FoxP3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ T _{reg} -реттеуші Т-лимфоциттер
3	BIV	12,3±1,0	20,75±0,48	12,26±0,2	2,88±0,21	7,21±0,7
4	TIC	35,25±1,24	22,75±1,5	11,46±0,68	1,20±0,06	11,76±0,46
5	MU	19,7±0,71	11,5±0,48	11,5±0,48	7,46±1,57	3,86±1,85
P		P ₁₋₂ = 0,00008 P ₁₋₄ = 0,0000004	P ₁₋₂ = 0,000008 P ₂₋₃ = 0,0000001 P ₂₋₄ = 0,0000008 P ₃₋₅ = 0,0001 P ₄₋₅ = 0,0000007	P ₁₋₂ = 0,0000005 P ₁₋₃ = 0,0000007 P ₁₋₄ = 0,0000006 P ₃₋₄ = ш.а. P ₃₋₅ = ш.а.	P ₁₋₂ = 0,00002 P ₁₋₅ = 0,000007	P ₁₋₅ = 0,000002 P ₂₋₃ = 0,00003 P ₃₋₅ = 0,00001 P ₄₋₅ = 0,000003
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы						

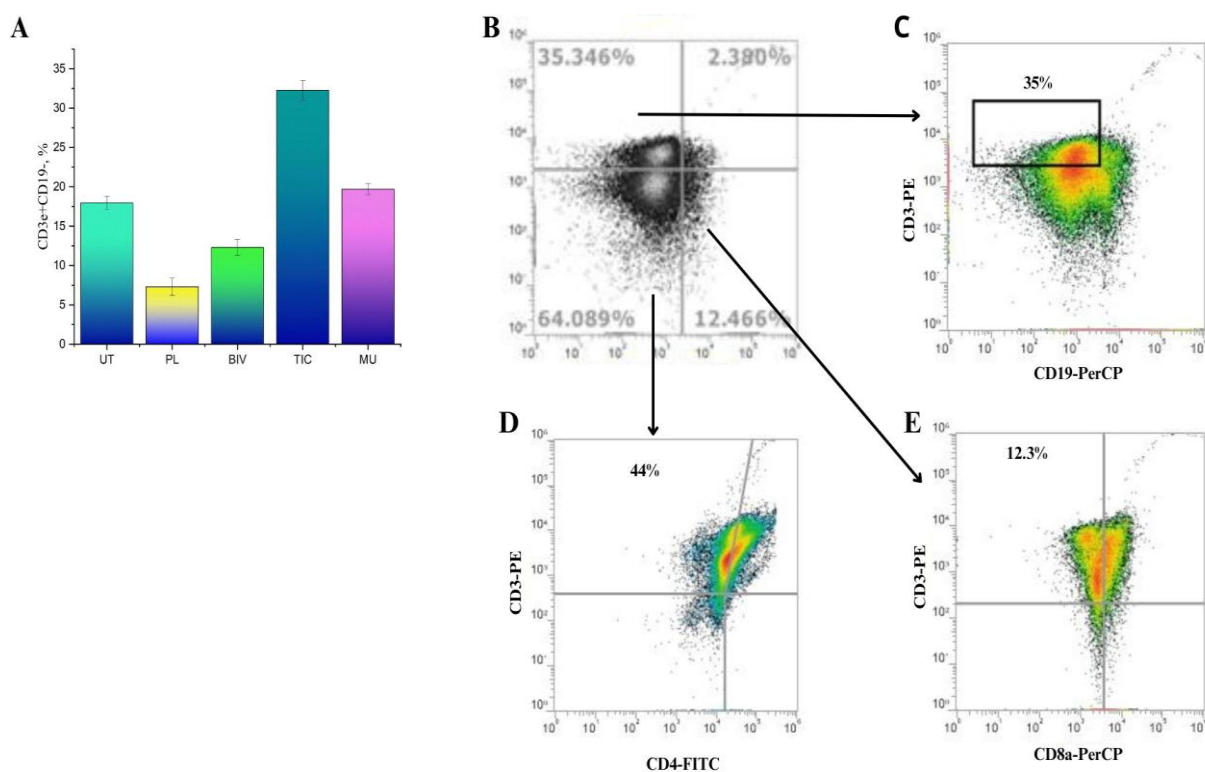


А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш (M± SD): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы жалпы Т-лимфоциттердің мәні (35,0%).

Сурет 9 – Тышқандардың әртүрлі тобының тимусындағы CD3e⁺CD19⁺ Т-лимфоциттердің үлесі

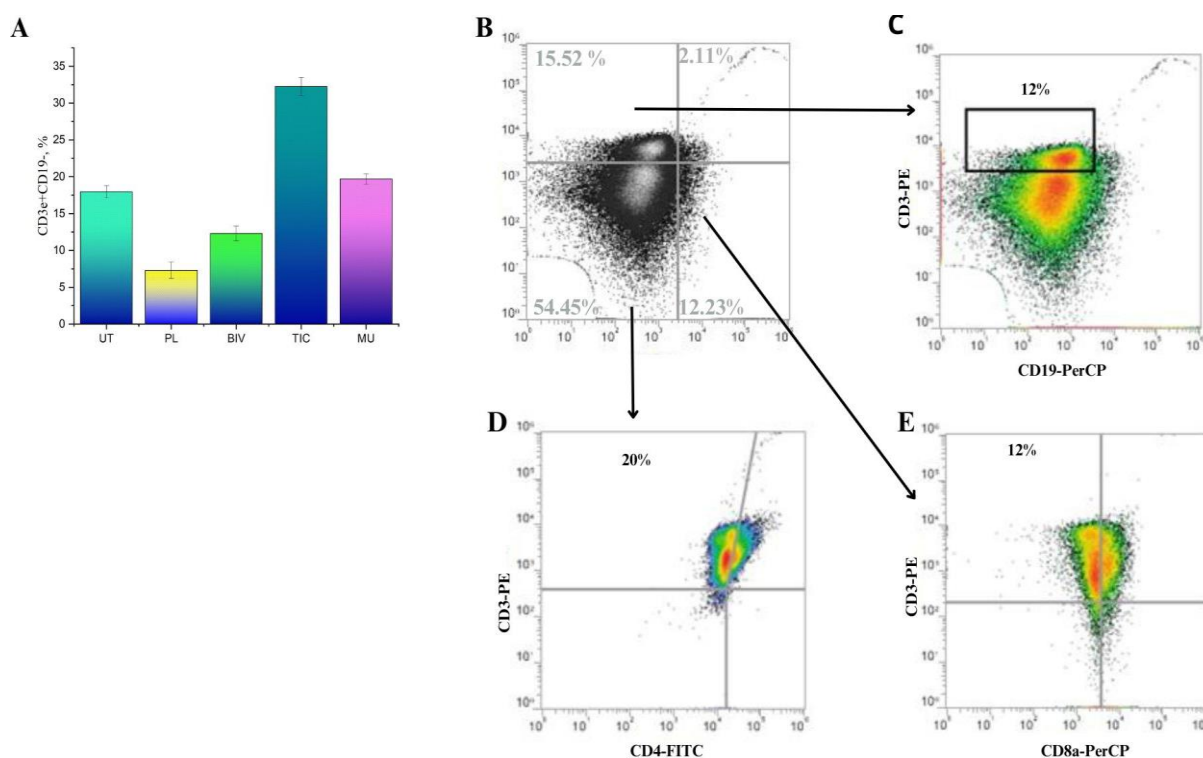
Циклофосфамид SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттер деңгейінің 5,88 есе (P=0,000008 F>F_{crit}, 124496,2>18,51), 82,99% - дан астам айқын төмендеуіне әкелді (сурет 10, 11). SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттердің деңгейі (7,27±0,26) %-ға дейін төмендеді, сондықтан тимуста хелпер жасушалары популяциясының сарқылуы жүрді. Сондай-ақ, SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттерде (28,41±0,47) %-дан (10,2±0,57) %-ға дейін 2,78 есе (P=0,0000005 F>F_{crit}, 1690960>18,51), 64,09 %-ға дейін айқын төмендегені байқалса, бірақ SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттердегідей күрт төмендемеді. Бір қызығы, циклофосфамид рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺Th_{act}-жасушаларының деңгейін төмендетпей, керісінше жоғарылатты. UT жануарларда CD4⁺CD25⁺ Th_{act} деңгейі (2,34±0,21) %-дан (5,43±0,57) %-ға дейін, 2,32 есе (P=0,00002 F>F_{crit}, 47740,5>15,81),

интоксикациядан кейін 132,05%-ға өсті. Рециркуляцияланатын FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ T_{reg} жасушаларының деңгейі 19,13%-ға ($P=0,00003$ $F>F_{crit}$, $32512,5>18,51$), яғни UT жануарлардың ($12,07\pm0,67$)% деңгейінен PL тобы ($9,76\pm0,57$) % деңгейіне дейін төмендеді.



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M\pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-лимфоциттер CD3e – 35,3%, CD19 – 2,38%, CD3CD8 – 12,4%, CD3CD4 – 64,0%. С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3e жалпы Т-лимфоциттердің мәні (35,3%). Д. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3CD4 Т-хелперлердің мәні (44,0%). Е. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3CD8 CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (12,3%).

Сурет 10 – Тышқандардың әртүрлі тобына TIC енгізгеннен кейінгі тимустағы жалпы Т-лимфоцит және Т-лимфоцит субпопуляцияларының үлесі



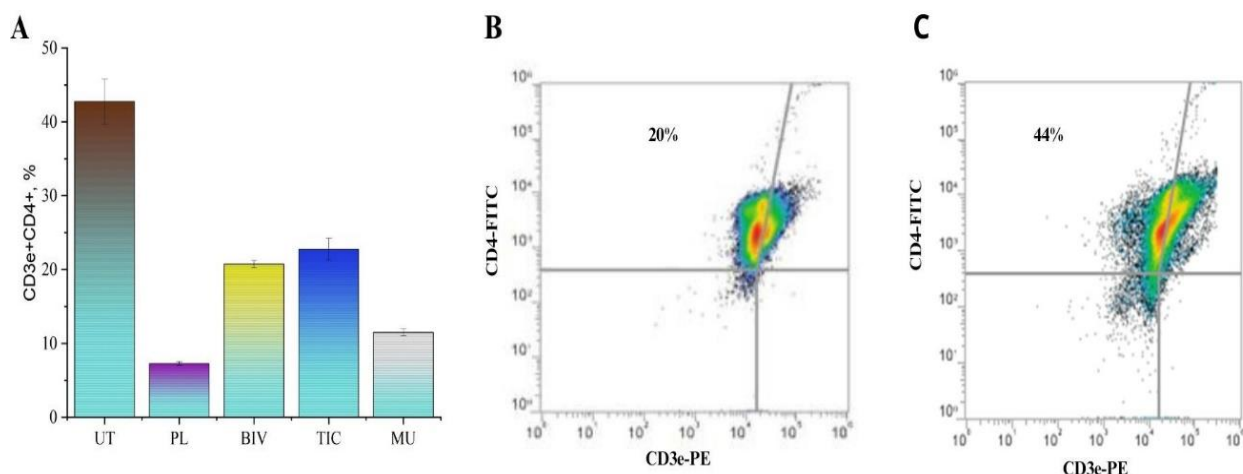
А. Топ бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).

В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-лимфоциттер CD3e – 15,52%, CD19 – 2,11%, CD3CD8 – 12,46%, CD3CD4 – 20,0%. С.

Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3e жалпы Т-лимфоциттердің мәні (12,0%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3CD4 Т-хелпер лимфоциттердің мәні (44,0%). E. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CD3CD8 CTL- цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (12,46%).

Сурет 11 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV енгізгеннен кейінгі тимустағы жалпы Т-лимфоцит және Т-лимфоцит субпопуляцияларының үлесі

BIV қосылысы SP CD3e⁺CD4⁺ және CD3e⁺CD8a⁺ тимоциттердің қалпына келуіне қатысты бірдей белсенділік көрсетті. BIV және TIC қосылыстары SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттерінің деңгейін қалпына келтіруге байланысты бірдей ынталандырушы белсенділікке ие болды (сурет 12). BIV, TIC қосылыстары SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттерінің деңгейін 2,85, 3,12 есе ($P=0,0000001$ $F > F_{crit}$, $908552 > 18,51$), ($P=0,0000008$ $F > F_{crit}$, $1198152 > 18,51$), сәйкесінше $(20,75 \pm 0,48)$ %-ға және $(22,75 \pm 1,5)$ %-ға қалпына келуін ынталандырды. BIV, TIC қосылыстары MU белсенділігіне сәйкес 1,8 және 1,97 есе ($P=0,0001$ $F > F_{crit}$, $8471,53 > 18,51$), ($P=0,0000007$ $F > F_{crit}$, $12530,94 > 18,51$), жоғары болды, бірақта UT жануарлар жасушаларының деңгейіне сәйкесінше 2,06 және 1,87 есе айтарлықтай ($P=0,0000007$ $F > F_{crit}$, $1304112 > 18,51$) жеткен жоқ. Бірақ BIV және TIC қосылыстары SP CD3e⁺CD4⁺ тимоциттер деңгейін қалпына келтіру белсенділігі бойынша MU тобынан едәуір асып түсті.



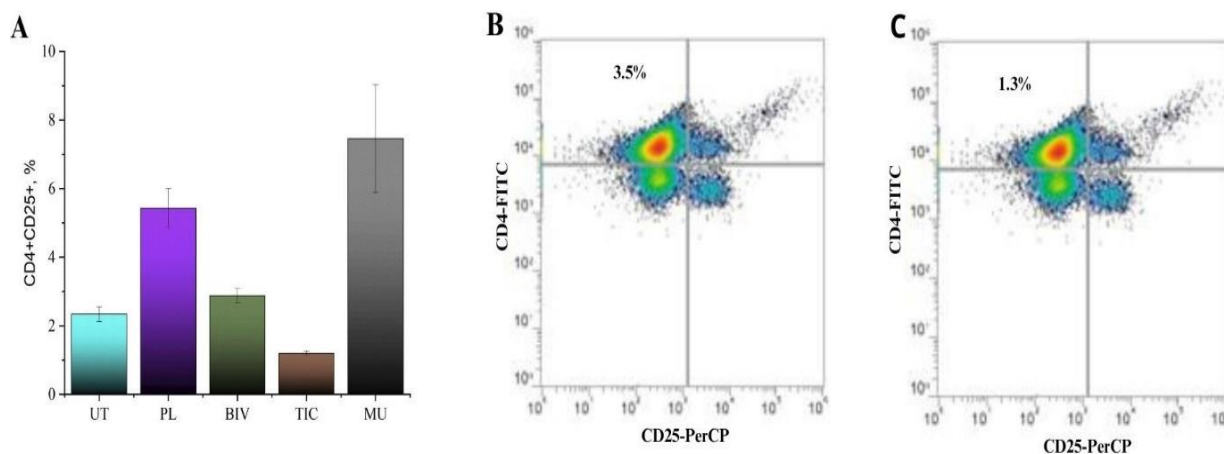
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИБ-190 қосылысы; TIC – БИБ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Th-хелпер лимфоциттердің мәні (20,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Th-хелпер лимфоциттердің мәні (44,0%).

Сурет 12 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV енгізгеннен кейінгі тимустағы жалпы Т-лимфоцит және Т-лимфоцит субпопуляцияларының үлесі

BIV, TIC қосылыстары SP $CD3e^+CD8^+$ тимоциттер деңгейі қалпына келуіндегі ынталандыруға қатысты MU тең белсенділік көрсетті. SP $CD3e^+CD8^+$ тимоциттер деңгейінің мәні UT жануарлардың, сәйкесінше 2,31 және 2,47 есе мәніне ($P=0,00007 F > F_{crit}$, $1304112 > 18,51$), ($P=0,00006 F > F_{crit}$, $1436512 > 18,51$) жеткен жоқ.

Егер, SP $CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8^+$ тимоциттерге қатысты жасушаларды қалпына келтіру алгоритмі озық болса, онда $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -ке қатысты қалпына келтіру үлгісі синусоидты сипатқа ие болды.

ЦФ $CD4^+CD25^+$ Th_{act} тимоциттердің деңгейі UT жануарлар деңгейінен ($2,34 \pm 0,21$) %-дан ($5,43 \pm 0,57$) %-ға дейін, PL тобынан 2,32 есе ($P=0,00002 F > F_{crit}$, $47740,5 > 18,51$) жоғарылауын тудырды, ал BIV, TIC қосылыстары жасуша деңгейін қалыпты деңгейге, UT жануарлар деңгейіне ($2,88 \pm 0,21$) % ($1,20 \pm 0,06$) % дейін қалпына келтірді. Бірақ MU $CD4^+CD25^+$ Th_{act} тимоциттердің деңгейі ($7,46 \pm 1,57$)-ға дейін шамадан тыс жоғарылауын тудырды, бұл UT жануарлар жасушаларының Th_{act} деңгейінен 3,18 есе ($P=0,00007 F > F_{crit}$, $131072 > 18,51$) асып түсті (сурет 13).



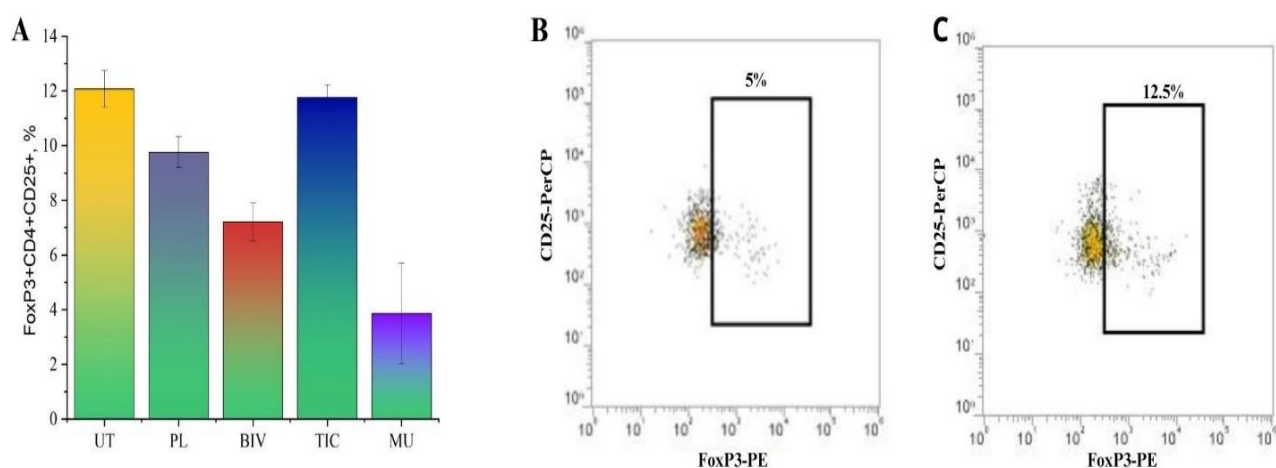
- A. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы.
- B. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-белсендірілген лимфоциттердің мәні (3,5%).
- C. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-белсендірілген лимфоциттердің мәні (1,3%).

Сурет 13 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV, TIC енгізгеннен кейінгі тимустағы Th_{act}-белсендірілген лимфоциттердің үлесі

Циклофосфамидті интоксикациядан кейін CD4⁺CD25⁺ Th_{act} жасушаларының гейтінде FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg} жасушаларының деңгейі төмендеді. Төмендеу UT жануарлардың ($12,07 \pm 0,67$) % деңгейінен PL тобының ($9,76 \pm 0,57$) % дейін болды.

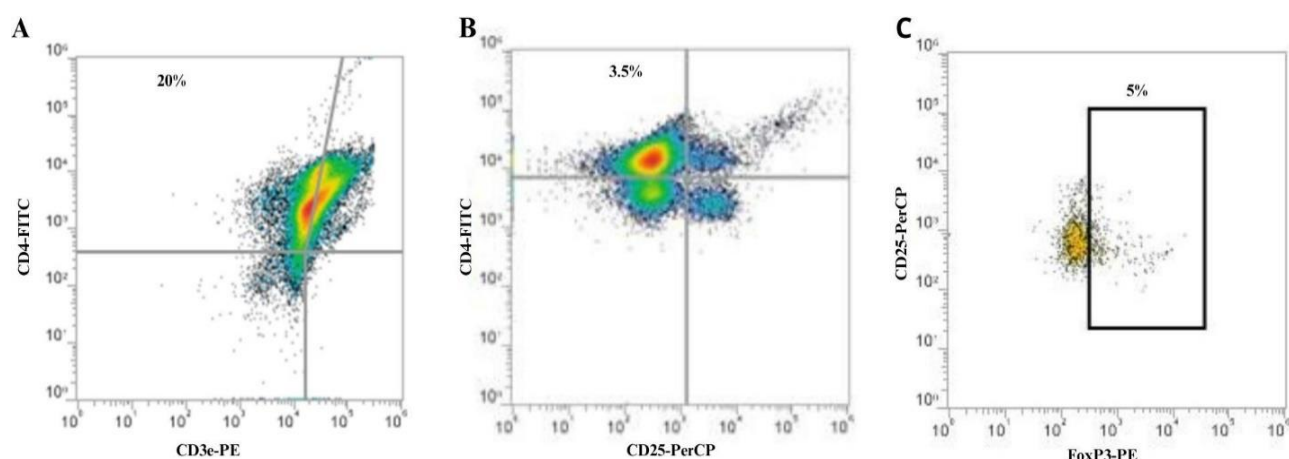
BIV қосылысы FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg} жасушаларының деңгейін одан әрі ($7,21 \pm 0,7$) % 1,35 есе ($P=0,00003$ $F > F_{crit}$, $32512,5 > 18,51$) төмендетті. Ал, TIC қосылысы FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg} жасушаларын 1,2 есе ($11,76 \pm 0,46$) % дейін жоғарылауын тудырды. MU тобындағы CD4⁺CD25⁺ Th_{act} жасушалары, UT топ деңгейінен 3,18 есе асып түсе, шамадан тыс жоғарылауын тудырды, бірақ бұл гейтте FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg} жасушаларының деңгейі, UT, BIV, TIC топ деңгейінен сәйкесінше 3,12; 3,04, 1,86 есе ($P=0,000002$ $F > F_{crit}$, $337020,5 > 18,51$), ($P=0,000003$ $F > F_{crit}$, $312050 > 18,51$), ($P=0,00001$, $F > F_{crit}$, $56112,5 > 18,51$) өте төмен болды (сурет 14, 15, 16).

TIC қосылысы CD4⁺CD25⁺ Th_{act} жасушалары және FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg} жасушалары деңгейін UT жануарлар тобы деңгейіне дейін қалпына келтірді. BIV қосылысы CD4⁺CD25⁺ Th_{act} жасушаларының деңгейін UT жануарлар деңгейіне дейін қалпына келтірді, ал, FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺T_{reg}-жасушаларының деңгейі UT тобы мәніне жетпей, орташа қалпына келтірді.



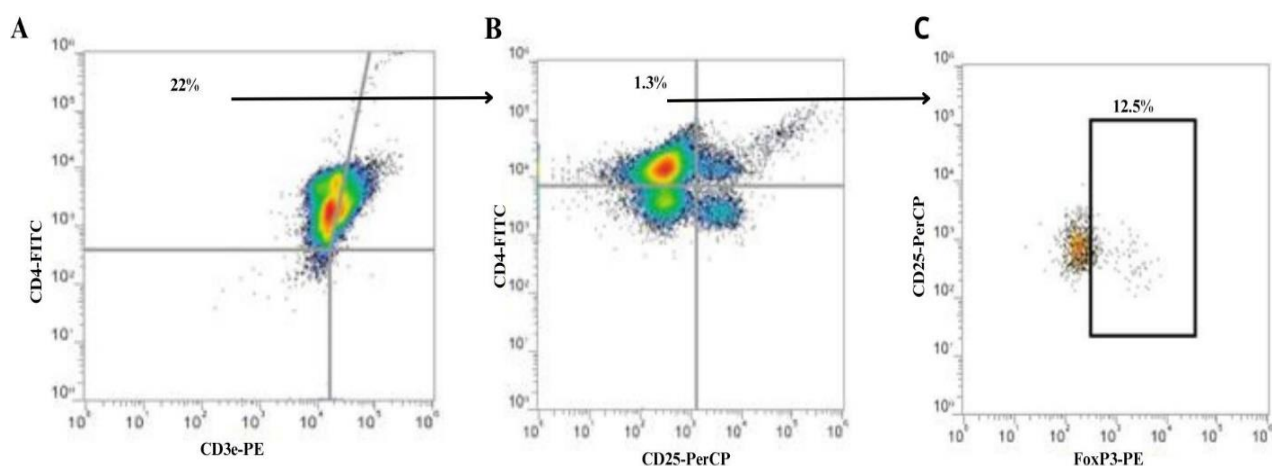
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы $\text{FoxP3}^+ \text{T}_{\text{reg}}$ -реттеуші лимфоциттердің мәні (5,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы $\text{FoxP3}^+ \text{T}_{\text{reg}}$ -реттеуші лимфоциттердің мәні (12,5%).

Сурет 14 – Тышқандардың әртүрлі тобына TIC және BIV енгізгеннен кейінгі тимустағы $\text{FoxP3}^+ \text{T}_{\text{reg}}$ -реттеуші лимфоциттердің үлесі



А. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th-хелпер лимфоциттер мәні (20,0%). В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ Th_{act} -белсендірілген лимфоциттер мәні (3,5%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, $\text{FoxP3}^+ \text{T}_{\text{reg}}$ -реттеуші лимфоциттер мәні (5,0%).

Сурет 15 - Тышқандардың әртүрлі тобына BIV енгізгеннен кейінгі Т-лимфоциттердің үлесі



А. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th-хелпер лимфоциттердің мәні (22,0%). В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, $CD4^+CD25^+$ Th_{act}-белсендірілген лимфоциттердің мәні (1,3%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, FoxP3⁺T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің мәні (12,5%).

Сурет 16 - Тышқандардың әртүрлі тобына ТІС енгізгеннен кейінгі Т-лимфоциттердің үлесі

Осылайша, SP $CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8a^+$ тимоциттерге қатысты жасушаларды қалпына келу алгоритмі дәйекті түрде озық болды. ЦФ SP $CD3e^+CD4^+$, $CD3e^+CD8a^+$ деңгейінің төмендеуіне себеп болды. BIV, ТІС қосылысы SP $CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8a^+$ тимоциттер деңгейін қалпына келтірді, MU тобы белсенділігімен тең болды. Ал, ЦФ $CD4^+CD25^+$ Th_{act} жасушаларына қатысты, жасуша деңгейінің жоғарылауына себеп болды, ал BIV, ТІС қосылыстары $CD4^+CD25^+$ Th_{act}-жасушаларының деңгейін төмендетіп, UT жануарлар деңгейіне дейін жеткізіп, қалпына келтірді. ТІС қосылысы $CD4^+CD25^+$ Th_{act}-жасушаларының деңгейін төмендетіп, қалпына келтірді және FoxP3⁺ $CD4^+CD25^+$ T_{reg}-жасушаларының деңгейін UT жануарлар деңгейіне дейін көтерді және қалпына келтірді. BIV қосылысы $CD4^+CD25^+$ Th_{act} жасушаларын UT жануарлар деңгейіне дейін қалпына келтірді, бірақ FoxP3⁺ $CD4^+CD25^+$ T_{reg}-жасушалары UT топ мәндеріне жетпей, орташа қалпына келтірді.

Бірақ, MU $CD4^+CD25^+$ Th_{act}-жасушаларының деңгейін төмендетпей, одан әрі жоғарылатты. MU $CD4^+CD25^+$ Th_{act}-жасушалары UT топ деңгейінен 3,18 есе асыптұсе, шамадан тыс жоғарылауын тудырды, бірақ бұл гейтте FoxP3⁺ $CD4^+CD25^+$ T_{reg}-жасушаларының деңгейі өте төмен болды, ол UT, ТІС, BIV топтары деңгейінен сәйкесінше 3,12; 3,04; 1,86 есе төмен болды.

3.4.3 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде гомеостатикалық спленоцитарлы Т-лимфопоэз және жаңа синтезделген BIV, ТІС қосылыстарымен қайта қалпына келу белсенділігі

Спленоциттер арасынан Т-лимфоциттердің, ($CD3e^+CD19^-$), Т-хелперді (Th) ($CD43^+ CD3e^+CD4^+$), цитотоксикалық Т-лимфоциттерді (CTL), ($CD43^+$

CD3e⁺CD8a⁺), белсендірілген клондаушы Т-хелперді (Th_{act}) (CD4⁺CD25⁺), Т-реттеушіні (T_{reg}) (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺), Т-жадты (T_{mem}), (орталық және эффекторлы), (CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺) үлесін бағаладық (кесте 21).

ЦФ көкбауырдағы Т-лимфоцит жасушаларының субпопуляциясы деңгейін, тимус пен сүйек кемігіне қарағанда айқын төмендеуін тудырмады. ЦФ сүйек кемігі мен тимустың белсенді бөлінетін митоздық жасушаларының күрт төмендеуіне әкелді.

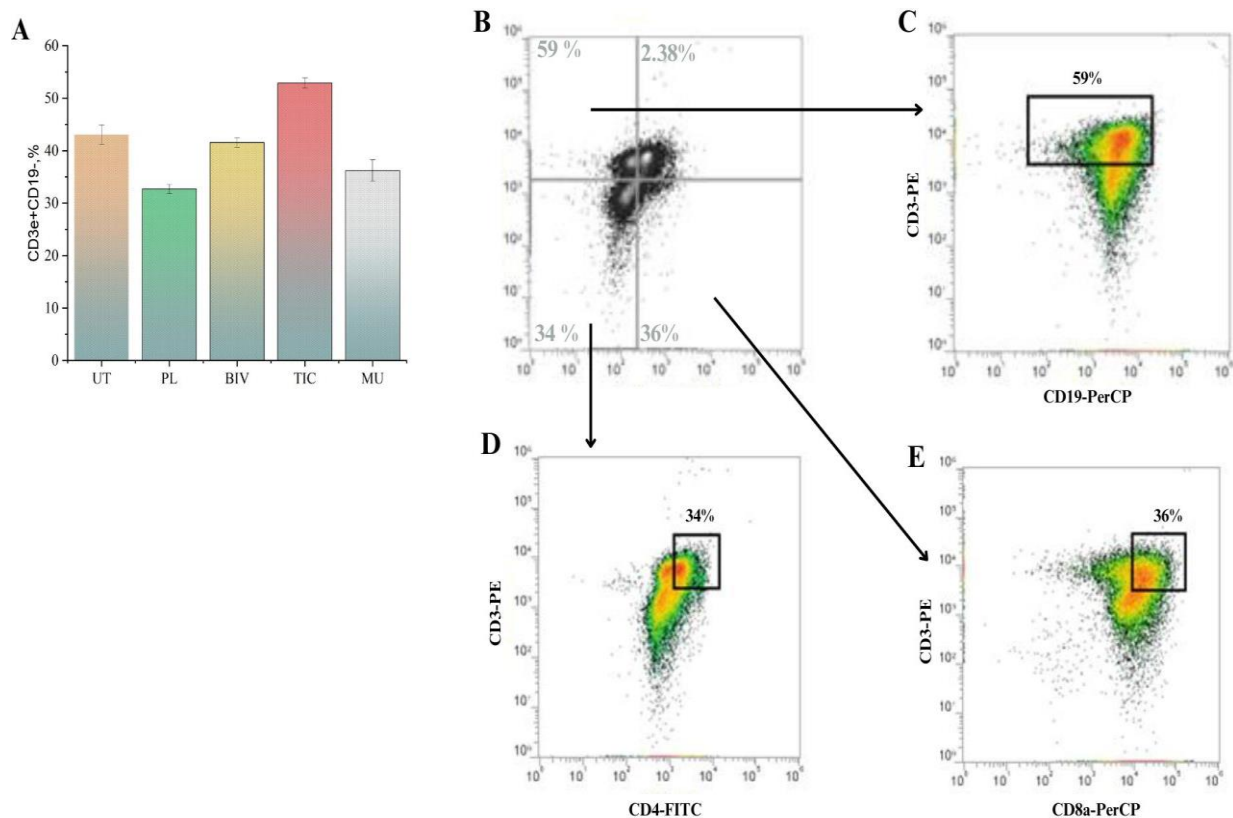
Көкбауырда CD3e⁺CD19⁻ Т-лимфоциттер деңгейі 1,31 есе, (43,06±1,84) %-дан (32,71±0,84) %-ға, 24,03% дейін (P=0,000001 F>F_{crit}, 535612,5>18,51) төмендеуі байқалды ТІС қосылысы Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін тиімдірек қалпына келтірді (сурет 17).

ТІС қосылысымен ынталандырылу кезінде Т-лимфоциттерінің CD3e⁺CD19⁻ деңгейі (52,91±0,95) % 1,61 есе (P=0,0000004 F>F_{crit}, 2040200>18,51) артып, BIV тобынан (41,55±0,91) % 1,27 есе (P=0,000001 F>F_{crit}, 645248>18,51), MU (36,2±2,05) % 1,46 есе (P=0,00003 F>F_{crit}, 27645,95>18,51), тіпті UT тобынан 1,22 есе (P=0,000002 F>F_{crit}, 485112,5>18,51) жоғары болды.

BIV тобының қайта қалпына келуі біркелкі жүрді және UT тобы деңгейіне жетті (сурет 18).

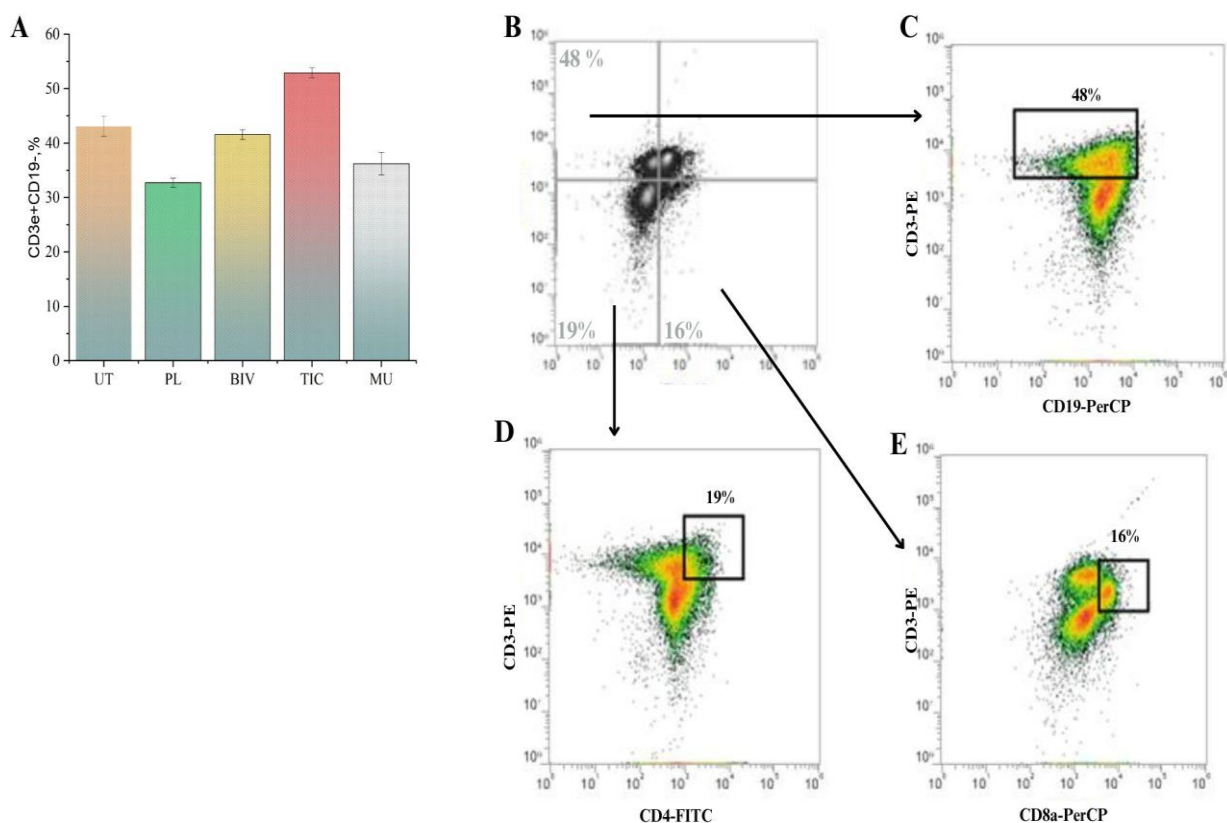
Кесте 21 – Көкбауырдағы Т-жасушалардың көрсеткіштері

Көкбауыр M±SD, % (n=6)							
№	Топ тар	CD3e ⁺ CD19 ⁻ жалпы Т- лимфоциттер	CD43 ⁺ CD3e ⁺ CD4 ⁺ Т-хелпер- лер	CD43 ⁺ CD3e ⁺ CD8a ⁺ ЦТЛ	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Th _{act} - белсендірілген Т-хелперлер	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Fox P3 ⁺ Т-реттеуші лимфоциттер	CD28 ⁺ CD44 ⁺ CD8a ⁺ T _{mem} - жад лимфоциттер
1	UT	43,06±1,84	25,21±0,52	18,71±1,15	8,26±0,31	41,76±2,17	8,75±1,15
2	PL	32,71±0,84	25,25±0,54	24,86±3,75	6,05±0,25	21,68±0,98	6,3±0,77
3	BIV	41,55±0,91	25,85±0,47	18,55±0,72	7,2±0,48	43,52±1,52	8,31±0,39
4	TIC	52,91±0,95	30,46±1,48	38,13±0,64	8,38±0,7	25,66±1,37	17,6±0,0
5	MU	36,2±2,05	26,66±1,11	28,07±1,09	7,46±0,54	23,98±0,30	2,03±0,31
P		P ₁₋₂ = 0,000001 P ₁₋₄ = 0,000002 P ₂₋₃ = 0,0000004 P ₃₋₄ = 0,000001 P ₃₋₅ = 0,00003	P ₁₋₂ = ш.а. P ₁₋₃ = ш.а. P ₂₋₄ = 0,0000007	P ₁₋₂ = 0,000005 P ₁₋₄ = 0,0000005 P ₂₋₃ = 0,000005 P ₂₋₄ = 0,000001 P ₃₋₄ = 0,0000005 P ₄₋₅ = 0,000001	P ₁₋₂ = 0,006 P ₁₋₃ = ш.а. P ₁₋₄ = ш.а. P ₃₋₅ = ш.а.	P ₁₋₂ = 0,0000004 P ₂₋₃ = 0,0000004	P ₁₋₂ = 0,00003 P ₂₋₄ = 0,00007 P ₄₋₅ = 0,00004
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы							



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-лимфоциттер CD3e –59,0%, CD19–2,38%, CD3CD4–34,0%, CD3CD8–36,0%. С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, жалпы Т-лимфоциттердің мәні (59,0%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th-хелпер лимфоциттердің мәні (34,0%). Е. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CTL–цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (36,0%).

Сурет 17 – Тышқандардың әртүрлі тобына TIC енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы жалпы Т-лимфоциттер субпопуляциясының үлесі



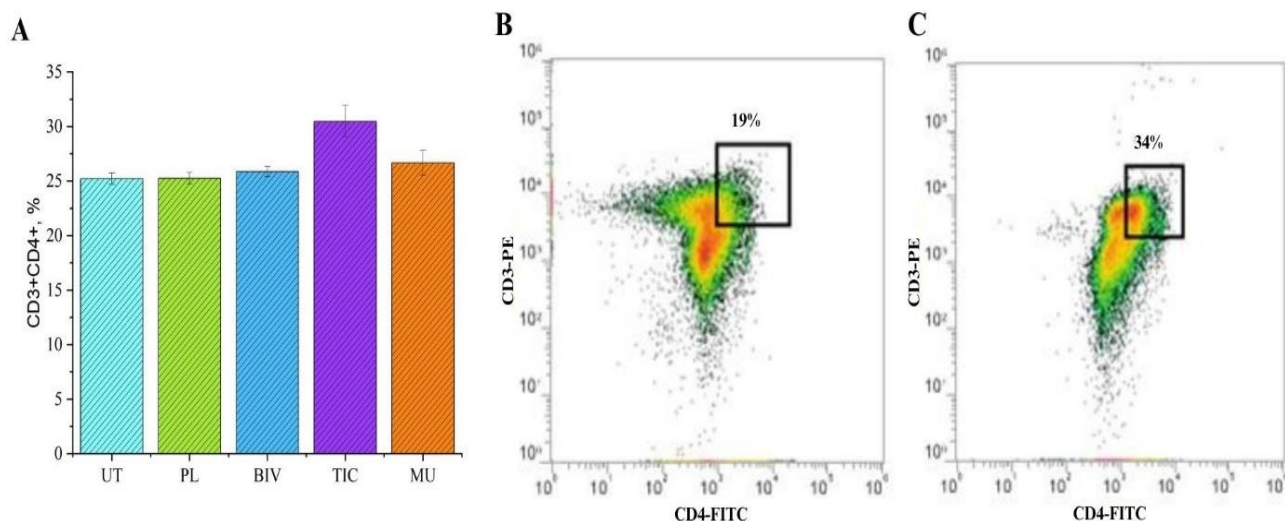
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-лимфоциттер CD3e –48,0%, CD19–2,38%, CD3CD4–19,0%, CD3CD8–16,0%. С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, жалпы Т-лимфоциттердің мәні (48,0%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th-хелпер лимфоциттердің мәні (19,0%). Е. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, CTL–цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (16,0%).

Сурет 18 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы жалпы Т-лимфоциттер, Т- лимфоциттер субпопуляциясының үлесі

ЦФ интоксикация $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-лимфоциттер деңгейін өзгертпеді. PL тобында $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-хелпер лимфоциттердің деңгейі UT жануарлар деңгейінде қалды ($25,21 \pm 0,52$) %.

TIC қосылысы $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-хелпер деңгейін PL тобындағы бастапқы деңгейімен салыстырғанда аздап ($25,25 \pm 0,54$) %-дан ($30,46 \pm 1,48$) %-ға дейін 1,2 есеге ($P=0,0000007$ $F > F_{crit}$, $135720,5 > 18,51$) арттырды.

BIV тобындағы $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-хелпер деңгейі ($25,85 \pm 0,47$) % өзгерген жоқ және PL, MU ($26,66 \pm 1,11$) %, UT тобындағы жасушалар деңгейімен бірдей болды (сурет 19).

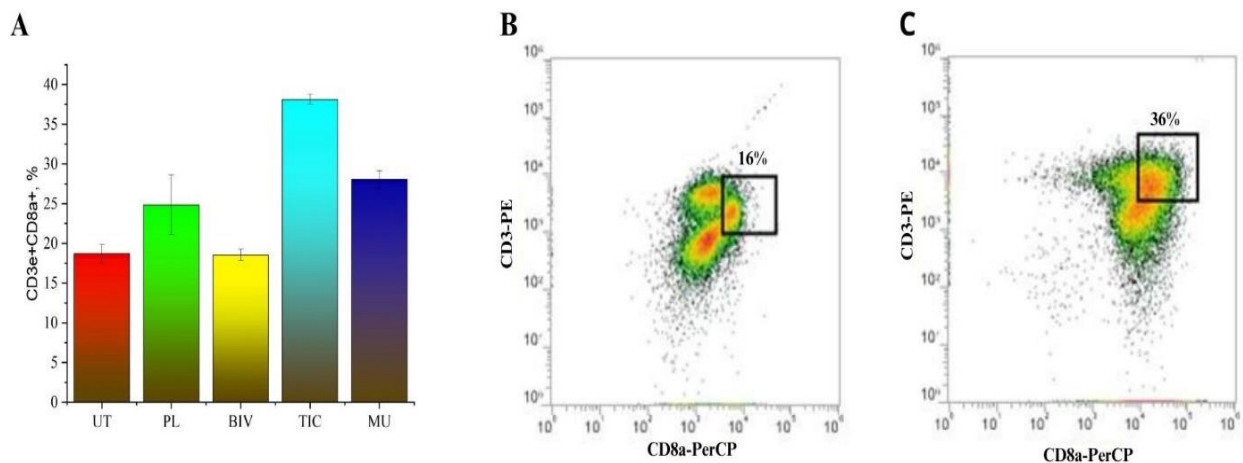


- А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы.
- В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Т-хелпер лимфоциттердің мәні (19,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Т-хелпер лимфоциттердің мәні (34,0%).

Сурет 19 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV және TIC енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы Th-лимфоциттердің үлесі

ЦФ интоксикация $CD43^+ CD3e^+ CD8a^+$ CTL жасушаларының деңгейінің жоғарылатты. PL тобындағы $CD43^+ CD3e^+ CD8a^+$ CTL деңгейі UT жануарлардың деңгейінен ($18,71 \pm 1,15$) %-дан ($24,86 \pm 3,75$) %-ға 1,32 есе, яғни 32,87 %-ға ($P=0,000005$ $F > F_{crit}$, $189112,5 > 18,51$) жоғарылады.

TIC қосылысы $CD43^+ CD3e^+ CD8a^+$ CTL деңгейін ($38,13 \pm 0,64$) %-ға тағы да арттырды, бұл PL тобынан 1,53 есе ($P=0,000001$ $F > F_{crit}$, $880464,5 > 18,51$), BIV тобынан ($18,55 \pm 0,72$) % 2,05 есе ($P=0,0000005$ $F > F_{crit}$, $1916882 > 18,51$), MU ($28,07 \pm 1,09$) % 1,35 есе ($P=0,000001$ $F > F_{crit}$, $506018 > 18,51$) және UT жануарлардан ($18,71 \pm 1,15$) 2,03 есе ($P=0,0000005$ $F > F_{crit}$, $1885682 > 18,51$) жоғары болды (сурет 20).



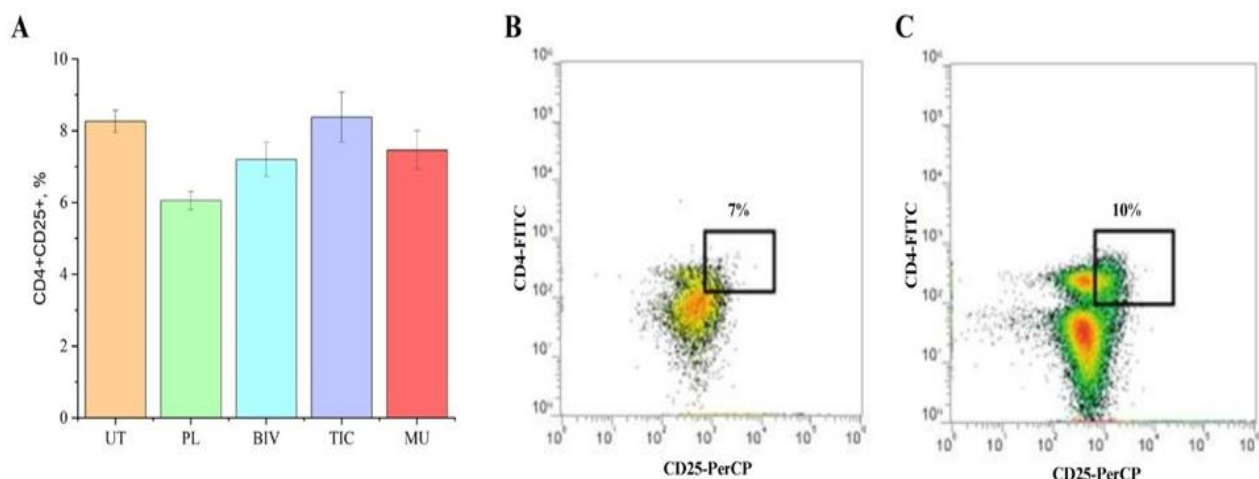
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (16,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің мәні (36,0%).

Сурет 20 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV және TIC енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің үлесі

BIV қосылысы $CD43^+ CD3e^+ CD8a^+$ CTL лимфоциттері деңгейінің жоғарылатпады, бірақ жасушалардың жоғары деңгейін қалпына келтіре отырып, көрсеткіштерін төмендетті. BIV тобындағы лимфоциттердің $CD43^+ CD3e^+ CD8a^+$ CTL деңгейі UT тобының деңгейіне ұқсас болды.

ЦФ белсендірілген $CD4^+ CD25^+$ Th_{act} -хелперлерінің UT жануарлар деңгейінен ($8,26 \pm 0,31$) %-дан 1,36 есе ($6,05 \pm 0,25$) 26,75%-ға ($P=0,006$ $F > F_{crit}$, $142,1 > 18,51$) төмендеуіне әкелді.

BIV және TIC қосылыстары жасушалардың деңгейін оңтайлы қалпына келтірді. BIV қосылысы $CD4^+ CD25^+$ Th_{act} -жасушалары деңгейінің жоғарылауын айқын ынталандырды, ол BIV қосылысы тобын ($7,2 \pm 0,48$) PL тобымен салыстырғанда ($6,05 \pm 0,25$) деңгейі 1,19 есеге дейін жоғарылады және белсенділік бойынша TIC қосылынан ($8,38 \pm 0,7$) % 1,16 есе төмен болды. BIV қосылысы және MU топтарындағы $CD4^+ CD25^+$ Th_{act} -хелперлерінің деңгейлері бірдей болды (сурет 21).



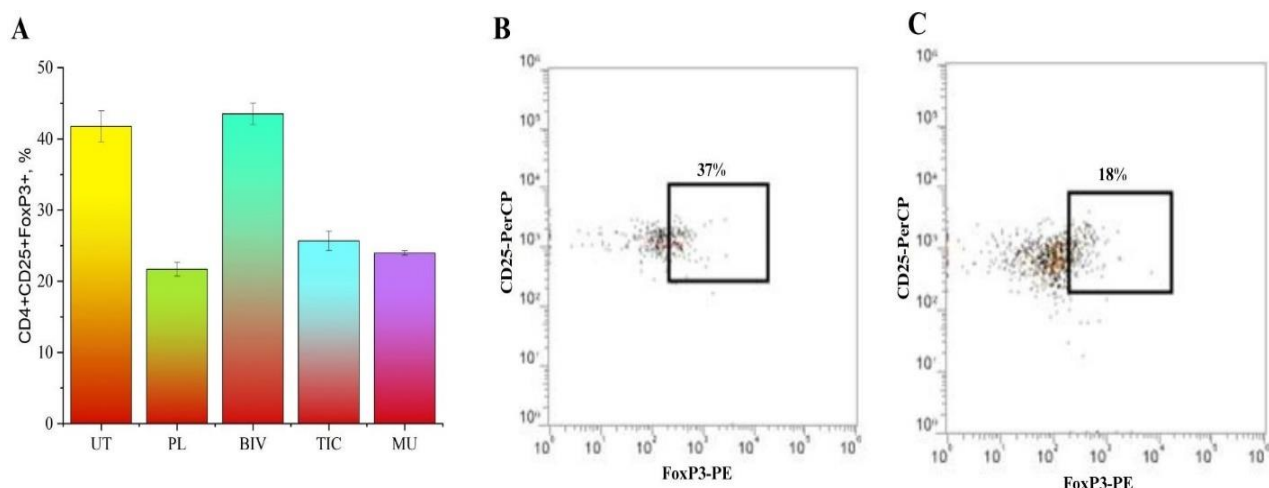
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Th_{act}-лимфоциттердің мәні (7,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Th_{act}-лимфоциттердің мәні (10,0%).

Сурет 21 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV және TIC енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы Th_{act}-лимфоциттердің үлесі

CD4⁺CD25⁺ Th_{act} гейтінде CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg} және CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem}-жасушаларының айтарлықтай төмендеуі байқалды. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-лимфоциттер деңгейі UT жануарлары деңгейінен ($41,76 \pm 2,17$) % PL тобы деңгейіне ($21,68 \pm 0,98$) % 1,92 есе, 48,08% ($P=0,0000004$ $F > F_{crit}$, $2016032 > 18,51$) дейін төмендеді. CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem} деңгейі UT жануарлар мәнінен ($8,75 \pm 1,15$) % PL тобы мәніне дейін ($6,30 \pm 0,77$) % 1,38 есе, 28,0%-ға ($P=0,000003$ $F > F_{crit}$, $30012,5 > 18,51$) төмендеді.

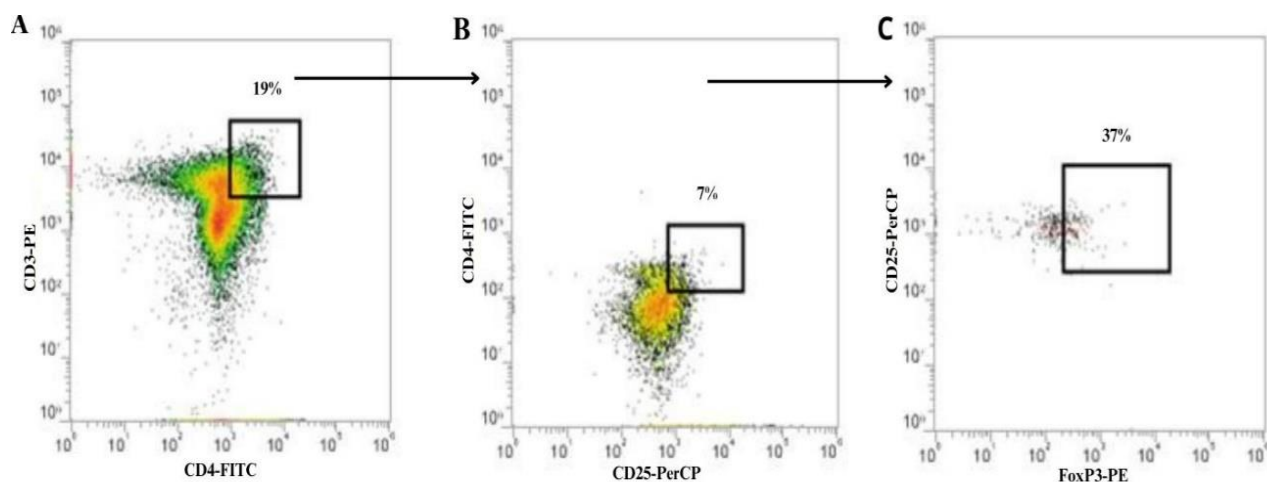
BIV қосылысы CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-лимфоциттері деңгейінің ($43,52 \pm 1,52$) %-ға қалпына келуін ынталандырды, ол PL көрсеткішінен ($21,68 \pm 0,98$) % 2,0 есеге, яғни 100,2%-ға ($P=0,0000004$ $F > F_{crit}$, $2384928 > 18,51$) жоғарылап, UT жануарлар деңгейіне жетіп, қалпына келуді айтарлықтай ынталандырды.

TIC қосылысы CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-лимфоциттер деңгейіне әсер етпеді. TIC қосылысы тобында CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-лимфоциттердің ($25,66 \pm 1,37$) % құрады және PL тобы ($21,68 \pm 0,98$) % деңгейіне, MU деңгейіне ($23,98 \pm 0,3$) % жетіп қалды. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-жасушалары MU деңгейіне әсер етпеді (сурет 22, 23, 24).



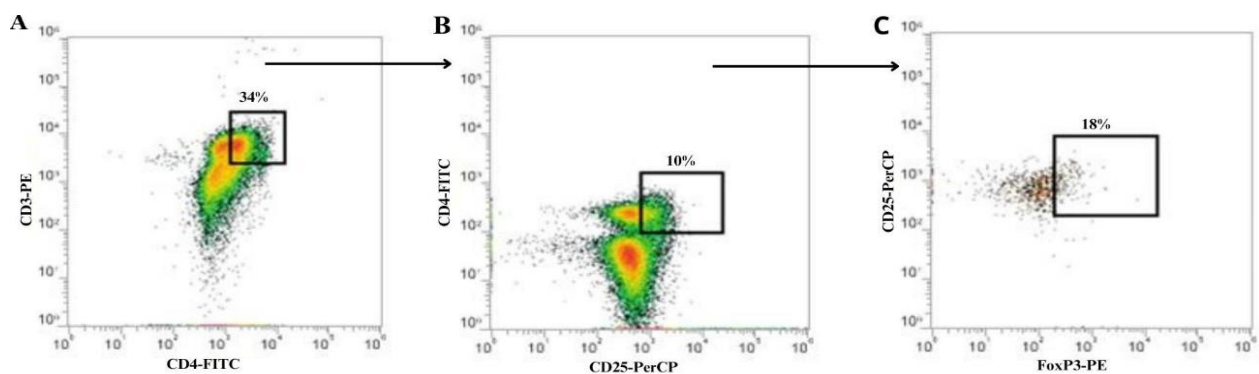
А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы T_{reg} -лимфоциттердің мәні (37,0%).
С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы T_{reg} -лимфоциттердің мәні (18,0%).

Сурет 22 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV және TIC енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы реттеуші $FoxP3^+$ - лимфоциттер үлесі



А. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th -хелпер лимфоциттердің мәні (19,0%). В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th_{act} -белсендірілген лимфоциттердің мәні (7,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, T_{reg} -реттеуші лимфоциттердің мәні (37,0%).

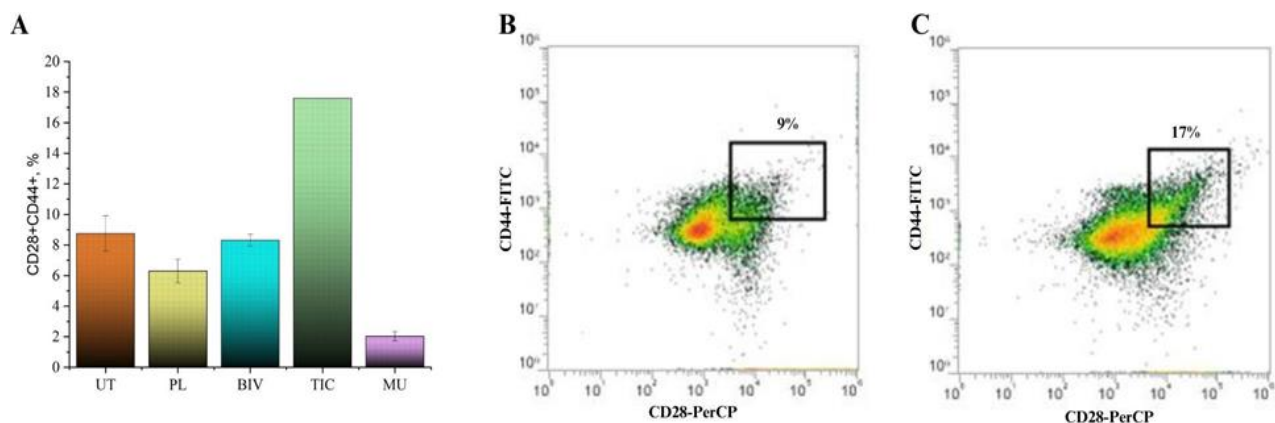
Сурет 23 - Тышқандардың әртүрлі тобына BIV енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы Т-лимфоциттердің үлесі



А. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th-хелпер лимфоциттердің мәні (34,0%). В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, Th_{act}-белсендірілген лимфоциттердің мәні (10,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, T_{reg}-рететуші лимфоциттердің мәні (18,0%).

Сурет 24 - Тышқандардың әртүрлі тобына ТІС енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы Т-лимфоциттердің үлесі

CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺T_{mem} жасушаларының деңгейі ЦФ интоксикация кезінде (6,30±0,77) %-ға дейін төмендеді, UT жануарлар деңгейінен (8,75±1,15) %-дан 1,38 есе төмендеді. BIV тобындағы CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem} жасушаларының деңгейі UT жануарлар деңгейіне (8,31±0,39) % дейін қалпына келді. ТІС қосылысы CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem}-жасушаларының деңгейін бірден (17,6±0,0) %-ға дейін 2,79 есеге (P=0,00007 F>F_{crit}, 12642,57>18,51), MU тобынан (2,03±0,31) % 8,66 есе (P=0,00004 F>F_{crit}, 24002,47>18,51) айтарлықтай жоғарылатты. MU тобы CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺T_{mem} жасушалары деңгейінің төмендеуіне әкелді (сурет 25).



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш (M± SD): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; ТІС – БИВ-119 қосылысы.

В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы T_{mem}-жад лимфоциттердің мәні (9,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, ТІС тобындағы T_{mem}-жад лимфоциттердің мәні (17,0%).

Сурет 25 – Тышқандардың әртүрлі тобына BIV және ТІС енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы T_{mem}- жад лимфоциттер үлесі

3.4.4 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі, тимикалық және гомеостатикалық спленоцитарлы Т-лимфоцитопоздін және жаңа синтезделген BIV, TIS қосылыстарының сүйек кемігіндегі, тимустағы, көкбауырдағы Т-лимфоциттер деңгейінің қалпына келуіндегі белсенділігін талдау

3.4.4.1 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі Т-лимфопоздін және жаңа синтезделген BIV, TIS қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

Қазіргі таңда сүйек кемігінің, тимустың және көкбауырдың циклофосфамидпен ықпалдандырылған иммунодепрессивті күйдегі Т-лимфоциттердің субпопуляциялық құрамын қалпына келтіру процесіндегі рөлі толық зерттелмеген. Сүйек кемігінің Т-жасушаларының стромалық элементтерімен және мезенхималық бағаналы жасушаларымен өзара байланысын зерттеуге алғашқы қадамдар жасалды [261, 262]. Панцитопенияның циклофосфамидтік моделі препараттың педиатриялық және терапевтік тәжірибеде кеңінен қолданылуын ескере отырып таңдалды. Циклофосфамид кеңінен қолданылады: мүшелерді трансплантациялауда [263-268], гемотрансфузиялық манипуляцияларында [269], лейкоздың және лейкемияның әртүрлі түрлерін емдеуден бұрын сүйек кемігін трансплантациялауда [270, 271], қантамырлар хирургиясында стенттерді өңдеуде [272], ірі қантамыр протездерді емдеуде, штифттарды имплантациялауға арналған стоматологияда, пластикалық хирургияда, аутоиммунды аурулар кезінде дәнекер ұлпасының пролиферативті белсенділігін және иммунореактивтілікті басу үшін [273-277], онкологиялық тәжірибеде жетекші препарат ретінде және басқа химиотерапевтік препараттармен үйлестіре отырып [278-281]. Тәжірибелік практикада циклофосфамид екіншілік иммунтапшылығы жағдайын модельдеу үшін қолданылады [282]. Циклофосфамидтің кардиотоксикалық әсері аз, сондықтан ол терапевтік, трансплантациялау және ота жасау тәжірибесінде көбірек қолданылады. Циклофосфамид салыстырмалы түрде минималды жанама әсерлеріне байланысты терапевтік тәжірибеде таңдаулы препарат болып табылады.

Зерттеу мақсаты *C57BL/6/J* линиялы тышқан салмағына 100 мг/кг мөлшерінде циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессияда сүйек кемігі, тимус пен жаңадан синтезделген BIV қосылыстарының спленоцитарлы Т-лимфопоздін және сүйек кемігіндегі, тимустағы, көкбауырдағы Т-лимфоциттер деңгейін қалпына келудегі белсенділігін талдау болды.

Циклофосфамидпен ықпалдандырылған иммунодепрессивті күй жағдайында сүйек кемігінің, тимустың және спленоцитарлы Т-жасушалардың: T_{naiv} , T_h , T_{reg} , CTL және T_{mem} сандық таралуы толық зерттелмеген. Гидрокортизон стресс гормондарының әсерінен сүйек кемігіндегі Т-жасушалар популяциясының көбеюі [283] және осыған байланысты қызықтыру мақсатында тимусқа тәуелді иммундық жауапқа сүйек кемігі туралы деректер бар [284]. Натрий циклофосфамидін жануар салмағына 30-дан 125 мг/кг-ға дейінгі мөлшерінде, бір рет ғана енгізу, натрий циклофосфамидін алғаш енгізгеннен

кейін гемопоэз бен тимопоэздің 60-шы тәулікте ғана толық қалпына келуімен панцитопенияны тудыратыны белгілі. Перифериялық Т-лимфоциттердің тұрақты тапшылығы гомеостатикалық пролиферацияның жоғарылауы мен T_{naiv} фенотипінің конверсиясына және Th-хелпер, CTL жинақталуына әкеледі. Ол өз кезегінде аутоагрессивті клондардың жинақталуына жеткізеді. Көптеген зерттеушілер тимустың уақтылы миграциялануы мен сүйек кемігі пулының митоздық белсенділігін уақтылы қалпына келтіру және аутоагрессивті CTL жинақталу қаупін азайту қажеттілігін атап өтті.

Гринконың және басқалардың зерттеулеріне сәйкес, зерттеудің 10-шы тәулігінде C57BL6/J линиялы тышқандарында жануардың салмағына 125 мг/кг мөлшерінде натрий циклофосфамидін бір рет енгізгеннен кейін тимустағы тимоциттер санының үш есе төмендеуі, мүше көлемінің азаюымен мүшенің тимикалық атрофиясы, субкапсулярлы және кортико-медулярлы аймағындағы миелометапластикалық бөлігі морфологиясының сарқылуы байқалды. Көкбауырда және басқа да екіншілік лимфо-миелоидты мүшелердегі мұндай төмендеу цитостатикті үш рет енгізгеннен кейін ғана мүше ұлпалардағы жасушаның айтарлықтай төмендеуі тіркелді. Зерттеуде тек адаптивті иммундық жауапқа қатысатын CD4, CD8 корецепторларын экспрессиялайтын $\alpha\beta$ T- лимфоциттері қарастырылды. $\gamma\delta$ T-лимфоциттері ескерілмеді, олар адаптивті емес, туа біткен иммундық жүйеге жатады. $\gamma\delta$ T-лимфоциттері CD4, CD8 корецепторларын экспрессияламайтын, МНС-ге тәуелсіз, аз әртүрлі антигендік рецепторларды тасымалдайды [285].

Дифференциацияланбаған гемопоэз сүйек кемігінде және дифференциаланған гемопоэз тимуста және перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде жүреді. Қазір Т-лимфоциттердің тек 2-5%-ы тимуста, ал қалғандары перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде соңғы дифференциациядан өтетіні дәлелденді. Сондай-ақ, Т-лимфоциттердің популяциясы жасушаларды компенсаторлық клондау есебінен сақталады.

Сүтқоректілердегі Т-жасушаларының дамуы мен жетілу процесі ұрықтың бауырындағы гемопоэтикалық бағаналы жасушаларынан (ГБЖ), содан кейін сүйек кемігінен басталады, мұнда ГБЖ мультипотентті ізашарларға бөлінеді. Содан кейін CLP айналады. Плюрипотентті жасушалардың аз ғана бөлігі тимусқа миграцияланады және ерте тимус ізашарларына (ETP) бөлінеді. Тимустың құрамында өзін-өзі жаңартатын ізашарлар жоқ; демек, тимопоэз адамның және басқа сүтқоректілердің бүкіл өмірінде тимуста қоныстанған ізашарлар жиынтығына байланысты. Бұл ізашарлар біртіндеп толық жетілген және функционалды Т-жасушаларын бағдарламалы түрде айналуы үшін тимусқа енуі керек. Т-жасушаларының дамуының әртүрлі кезеңдері дамып келе жатқан тимоциттердің тимустағы арнайы қуысқа миграциялануымен үйлестіріледі, олар әрі қарай дифференциалану үшін қажетті кезеңге тән арнайы факторларды қамтамасыз етеді.

Тимус қыртысында ETP-ы CD4 немесе CD8 (яғни $CD4^-$ және $CD8^-$) экспрессияламайтын қос теріс жасушаларға дифференциацияланады. Кейбір авторлар ETP-ды DN1 жасушасы деп санайды, ол кейінірек $CD25^+$ және $CD44^+$

рецепторларына ие болған кезде DN 2-ге дифференцияланады. Дамудың осы кезеңінде жасушалар В потенциалын жоғалтады, Т-жасушалық рецептор (TCR) генінің кейінгі қайта түзілуі үшін қажет маңызды белоктарды экспрессиялай бастайды. DN3 жасушалары екі түрлі дифференциация жолын қабылдай алады. Жасуша не $\alpha\beta$ -TCR тізбегін экспрессиялай алады және $CD4^+$ немесе $CD8^+$ Т-жасушаларын генерациялау үшін іріктеу процесін орындай алады немесе ерекше функционалдық сипаттамалары бар $\gamma\delta$ -лимфоциттердің субпопуляциясын құру үшін $\gamma\delta$ -тізбектерін экспрессиялайды.

Сүтқоректілердегі Т-жасушаларының дамуы мен жетілу процесі ұрықтың бауырындағы гемопоэтикалық бағаналы жасушаларынан (ГБЖ), содан кейін сүйек кемігінен басталады, мұнда ГБЖ мультипотентті ізашарларға бөлінеді.

Біздің зерттеуімізде, ЦФ тирозинмен-белсендірілген бағаналы жасушаларының (ГБЖ) күрт төмендеуіне әкелді. Циклофосфамидті интоксикацияның әсерінен сүйек кемігі жасушаларының ($CD117^+$) ГБЖ санының төмендеуі айтарлықтай болды. Жасушалардың төмендеу деңгейі UT жануарлар жасушаларынан 40,03%- дан астамын құрады.

Соңғы зерттеулерге сүйенсек, сүйек кемігінің Т-лимфоцит популяцияларының субпопуляциялық құрамының ерекшелігі $CD8^+$ лимфоциттердің субпопуляцияларының 45%-ға дейін басым болуы, олардың көпшілігі тимус пен перифериялық лимфо-миелоидты мүшелердің эмигранттары және негізінен жад жасушалары болып табылады [286, 287]. Біздің зерттеуімізде $CD3e^+$ Т-лимфоцит гейтінде $CD3e^+CD44^+$ T_{mem} -жад жасушаларының үлесі ($16,58 \pm 2,15$) % құрады. Бірақ, біз карантиндік жағдайда ұсталған таза тұқымды тышқандарды пайдаланғанымызды ескеру керек. Бұл тышқандар аңғал және ешқандай зертханалық әсерлерге ұшырамаған.

Орталық және эффекторлық жад жасушаларының арақатынасы шамамен тең екені белгілі, олар негізінен сүйек кемігінде орналасқан және жад жасушаларының арқасында сүйек кемігі екінші реттік иммундық жауапқа белсенді қатысады, ол негізінен оның аумағында жүреді; вакциналық процестерді жүзеге асыруда сүйек кемігі маңызды рөл атқаратыны анық [288].

Циклофосфамидті интоксикация $CD3e^+$ Т-жад лимфоцитінің $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ жасушаларының төмендеуіне әкелді. $CD3^+$ Т-лимфоцит жасушаларының популяциясында жасуша деңгейінің 40,02%-дан астам айқын төмендеуі байқалды. Рециркуляцияланатын $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад жасушалары деңгейінің төмендеуі 36,91%-дан астам болды. ЦФ Т-лимфоциттердің популяцияларына, әсіресе белсенді митоздық пролиферацияланатындарға айқын цитостатикалық әсер етті.

Көптеген зерттеушілер гемопоэз бен тимопоэздің толық қалпына келуі циклофосфамидті бірінші рет енгізгеннен кейін 60-шы тәулікте ғана байқалатынын атап өтеді [246, 351 б.]. Егеуқұйрықтар туралы анықтамалық деректерде Т-лимфоцит популяциясының қалпына келуі, сүйек кемігінде тимус пен перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерге қоныстануын көрсетті. Перифериялық Т-лимфоциттердің тұрақты тапшылығы гомеостатикалық пролиферацияның жоғарылауына және T_{naiv} фенотипінің конверсиясына және

Th-хелпер мен CTL жинақталуына әкеледі. Көптеген зерттеушілер тимустың уақтылы миграциялануы және аутоагрессивті CTL жинақталу қаупінің төмендеуімен байланысты сүйек кемігі пулының митоздық белсенділігін уақтылы қалпына келтіру қажеттілігін атап өтті.

Біз, BIV және TIS қосылыстарының сүйек кемігіндегі миелопоэзді қалпына келтіру қабілетін Т-лимфоцитарлы жасушаларды қалпына келтірумен зерттедік. TIS қосылысы сүйек кемігі жасушаларының (CD117⁺) ГБЖ деңгейін қалыпты түрде қалпына келтіріп, белсенділігі бойынша MU асып түсті. BIV қосылысы сүйек кемігі жасушаларының (CD117⁺) ГБЖ қалпына келтіру процесіне әсер етпеді. Бірақ дәл осы кезеңде жасушалардың (CD117⁺) ГБЖ митоздық белсенділігін ынталандыруға қатысты қосылыстардың төмен белсенділікті көрсетуі, қосылыстарды оң жағынан сипаттайды. CD117⁺ қанның қатерлі ісігінің болжаушысы болып табылады және көптеген канцерогенді қосылыстар, (CD117⁺) ГБЖ жасушаларының рецепторлық құрылымдарымен әрекеттесу және сүйек кемігі жасушаларының бақыланбайтын пролиферациясын тудыру қабілеті бар сүйек кемігінің миелинизациясының дамуына әкелуі мүмкін.

TIS қосылысы сүйек кемігіндегі CD43⁺CD3e⁺ Т-лимфоциттерінің деңгейін тиімді қалпына келтіріп, BIV және MU белсенділігінен айтарлықтай асып түсті. TIS тобындағы қалпына келтірілген CD43⁺CD3e⁺ Т-лимфоциттерінің деңгейі UT топтағы жасушалар деңгейінен 2 есе жоғары болды. Т-лимфоциттердің шамадан тыс саны теріс фактор болып табылады. Бірақ пре Т-лимфоциттер тимопоэз, селекция және дифференциациядан өту үшін тимусқа миграцияланады, ал Т-лимфоцит жасушаларының соңғы көлемін лимфа ағынынан тимус пен аймақтық лимфо-миелоидты мүшелерінен шығатын Т-лимфоцит жасушаларының саны бойынша бағалауға болады. BIV қосылысы орташа белсенділігімен ерекшеленді, ол TIS және MU топтарынан белсенділігі төмен болды. Екі қосылыс та циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия жағадайында Т-лимфоцит жасушаларының деңгейінің қалпына келуін ынталандырды.

Сонымен қатар, TIS қосылысы CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының деңгейін қалпына келтіруде, жасушалардың деңгейін PL деңгейінен 3,3 есе жоғарылата отырып, айқын ынталандырды. TIS CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының деңгейін BIV қосылысына қарағанда 2,12 есе тиімдірек қалпына келтірді. TIS тобындағы қалпына келтірілген CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының деңгейі UT топқа қарағанда жоғары болды. Табиғи, біріншілік иммундық жауапта иммундық жадты құруда, вакцинация кезінде және жылдам екіншілік иммундық жауапты қамтамасыз етуде сүйек кемігіндегі CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының рециркуляцияланатын рөлі белгілі. TIS қосылысы CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының бөлінуін ынталандыруға қабілетті қосылыс ретінде перспективалы дамуға ие, бұл қатерлі ісік терапиясы үшін онковакциналарды дайындауда үлкен маңызға ие. Сонымен қатар, TIS қосылысы CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жасушаларының деңгейін өте тиімді қалпына келтіріп, UT жануарлар деңгейіне жетті. Бірақ BIV тобындағы жасушалардың деңгейі UT топтың көрсеткіштерінен аспады. MU CD3e⁺CD44⁺T_{mem} деңгейін төмендетіп, жасуша деңгейін тіршілік үшін шекті маңызды деңгейге

жақындатты. $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ қалпына келуі Т-лимфоциттер пулының митоздық белсенділігінің жоғарылауы есебінен ғана емес, сонымен қатар Т-жад жасушаларының тимус пен аймақтық лимфо-миелоидты мүшелерден сүйек кемігіне миграциялануынан болады. Осылайша, сүйек кемігін Т-жасушалық жадтың нишасы ретінде қарастыруға болады, бұл оны екінші иммундық жауап үшін қорғаныштық жадтың қалыптасуында маңызды етеді және вакцинацияда үлкен рөл атқарады.

Әдеби деректерге сүйене отырып, сүйек кемігінің қалпына келу жылдамдығын салыстыра отырып, глюкокортикоидтардың әсер ету жағдайында, атап айтқанда екінші иммунодепрессивті жағдайлардың стресстік формаларында сүйек кемігінің Т-жасушаларының (негізінен $CD8^+$ жасушалары) көбеюі 2-ші тәулікте өте тез, жүреді деп айтуға болады. Бірақ ұлғаюы, тек аңғал Т-жасушаларының есебінен жүреді, олардың көпшілігі тимустың мигранттары. Аңғал Т-жасушалары жад жасушаларының пулын құра алмайды. ВІV және ТІС қосылыстарының әсерінен тимус пен аймақтық лимфо-миелоидты мүшелерден жетілген Т-жад жасушаларының жоғары митоздық белсенділігі мен ағынын қамтамасыз ету вакцинация жүргізуде және онкологияда вакциналарды дайындау бойынша биотехнологиялық жұмыстарда басым фактор болуы мүмкін. ТІС қосылысы сүйек кемігіндегі Т-лимфоцит жасушаларының деңгейін қалпына келтіруде тым жоғары белсенділікті көрсетті. ВІV қосылысы Т-лимфоцитарлы жасуша деңгейін қалпына келтіруді ынталандыруға қатысты орташа белсенділікті көрсетті. Т-лимфоцитарлы жасушалардың қалпына келуін шамадан тыс ынталандыру теріс фактор болып табылады, бірақ Т-лимфоцитарлы жасушалардың түпкілікті деңгейін тимустағы дифференциация мен селекциядан өткеннен кейін ғана айтуға болады.

3.4.4.2 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде тимустағы Т-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

Т-лимфоцитопоэзді қалпына келтіруде 2 механизм ажыратылады: тимопоэз және гомеостатикалық пролиферация. 1-ші механизм аңғал тимус Т-лимфоциттерінің келуін қамтамасыз етеді, 2-механизм – лимфо-миелоидты мүшелердегі пролиферация есебінен жүреді [289, 290]. Ағзаға жағымсыз сыртқы әсерлер кезінде иммундық жүйенің Т-жасушалық байланысын қалпына келтіруге әрбір механизмнің үлесін бағалау осы процестердің патогенезін түсіну үшін де, оларды түзетудің қолайлы әдістерін табу үшін де маңызды [245, 72 б.]. Тимопоэз аңғал Т-лимфоциттер деңгейінің жоғарылауына, гомеостатикалық пролиферация – клондық Т-лимфоциттер санының көбеюіне әкеледі. Т-лимфоциттердің дифференциацияланбаған пролиферациясы сүйек кемігінде жүреді және дифференциалданған гемопоэз тимуста және перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде жүреді. Қазір Т-лимфоциттердің тек 2-5%-ы тимуста соңғы дифференциациядан өтетіні дәлелденді, ал қалғандары перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде жүреді.

ЦФ CD3e⁺CD19⁻ лимфоциттерінің 59,33%-дан астам төмендеуіне әкелді. ЦФ SP CD3e⁺CD4⁺ лимфоциттер деңгейінің 82,99%-дан астам айқын төмендеуін тудырды, ол тимустағы хелпер жасушалар популяциясының сарқылуын туғызды. Сондай-ақ, SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттері деңгейінің де айқын төмендеуі байқалды, 64,09%-дан астам төмендеді. Бірақ, ЦФ рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺Th_{act} белсендірілген хелперлер деңгейінің төмендеуіне емес, жоғарылауына себеп болды. CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-жасушаларының деңгейі 32,05%-ға өсті. Рециркуляцияланатын FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ T_{reg}-жасушаларының деңгейі 19,13%-ға төмендеді.

ЦФ сүйек кемігіне қарағанда тимустағы Т-лимфоциттер популяциясының сарқылуына әкелетіні анықталды. Егер сүйек кемігінде CD3e⁺ Т-лимфоциттердің төмендеуі 40,02% деңгейінде болса, онда тимуста CD3e⁺ тимоциттердің 59,33%-дан астам төмендеуі байқалды. ЦФ SP CD3e⁺CD4⁺ тимоцит хелперлерінің жасуша популяциясының сарқылуына (82,99%) және SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттердің деңгейінің күрт төмендеуіне (64,09%) әкелді. Белсенді бөлінетін жасушалардың циклофосфанның әсеріне әлсіз екені белгілі. Сондықтан, көптеген зерттеулерде цитостатиктердің әсері туралы негізгі зерттеулердің нысаны ретінде сүйек кемігі қарастырылды.

Біздің зерттеулеріміз, алғаш рет циклофосфамидтің сүйек кемігіне қарағанда тимустағы Т-жасуша популяциясының деңгейінің айқын төмендеуін тудыратынын көрсетті. SP CD3e⁺CD4⁺ хелпер тимоциттерінің және SP CD3e⁺CD8⁺ цитотоксикалық тимоциттерінің жасуша популяциясының күрт төмендеуі байқалды. Бұрын басқа зерттеушілер циклофосфамидті жануар салмағына 125 мг/кг мөлшерінде енгізгеннен кейін тимустағы тимоцит деңгейінің бақылау тобының деңгейінен 37%-ға төмендеуі байқалатынын және қалпына келу тек қана бақылаудың 20-шы тәулігінде болатынын көрсетті. Осы 20 тәулік ішінде ағзадағы иммундық жауаптың бұзылуы байқалады. Сәулеленуден кейінгі тимоциттер саны біркелкі төмендеді, 10-шы тәулікте ол 58%, ал 20-шы тәулікте бақылау тобының деңгейінен 36% құрады. Біздің тәжірибеміздің қорытындылары мен басқа зерттеушілердің бұрынғы тәжірибелерінің қорытындыларында кейбір айырмашылықтар бар. Біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, CTL-ге қарағанда Т-хелпер популяциясының төмендеуі көбірек болды. Гринко Е.К., Донецкова А.Д., Мухина Е.А. және басқалары ЦФ енгізгенде ЦТЛ CD8⁺ Т-жасушалары CD4⁺ Т-жасушаларының популяциясына қарағанда бірінші кезекте әсер етеді, сублетальды сәулелену кезінде де [246, 348 б.]. Сондай-ақ, біздің зерттеулеріміз циклофосфан рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺T_{reg} белсендірілген хелперлердің жоғарылауын тудыратынын көрсетті, бірақ бұл гейтте FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺ T_{reg}-реттеуші жасушалардың популяциясы төмендеді.

Донецкова А.Д., Шарова Н.И., Никонова М.Ф. және басқалар лимфомиелоидты кешендегі Т-лимфоциттік популяциялардың қалпына келуі, ең алдымен, тимустың өзінде Т-лимфоциттік популяциялардың қалпына келуіне байланысты екенін көрсетті. Гидрокортизон 125 мг/кг мөлшерде және 4 Гр мөлшерде γ-сәулеленуден кейін қалпына келтіру тәжірибенің 20-шы тәулігінде

ғана тіркелді. Гидрокортизон әсерінен кейінгі алғашқы 20 тәулік бойы Т-жасушасының тимустан периферияға түсу белгілері болған жоқ. Сәулеленуден кейін лимфа түйіндері мен көкбауырға тимоциттердің миграциясының маңызды толқындары максимум 12-ші тәулікте тіркеледі, бұл тимустың жедел қалпына келу кезеңіне сәйкес келеді. Бұл нәтижені перифериялық Т-лимфоциттердің популяциясын қалпына келтіруде тимустың "көмек" көрінісі ретінде ғана емес, сонымен қатар радиацияның тікелей әсерін бастан өткерген Т-жасушаларынан босатуға бағытталған тимустың реакциясы ретінде де түсіндіруге болады, сондықтан қауіпті. Т-лимфоциттердің тұрақты санын қалпына келтіру екі механизмнің көмегімен жүзеге асырылады – тимустан жаңадан пайда болған Т-жасушаларының ағымы және иммундық жүйенің перифериялық мүшелеріндегі гомеостатикалық пролиферация. Екінші механизм негізгі болып саналады, әсіресе ересектерде. Екі механизм де әртүрлі сипаттағы зиянды агенттердің иммундық жүйесіне әсер еткенде Т-жасушаларының санын қалпына келтіруді қамтамасыз етеді [186, 310 б.]. ЦФ енгізген уақыт ішінде ағзаның иммундық тепе-теңдігінің бұзылуы жүрді. Тимустың сарқылуына байланысты гомеостатикалық Т-жасуша пролиферациясының жоғарылауы орталық Т-жад жасушалық фенотипі бар Т-хелперлердің және CTL-лердің жинақталуынан басталды. Ағзада аутоиммундық бұзылулардың дамуымен аутоагрессивті CTL жинақталуы жүрді. Аутоиммунды аурулардың ағымы аутоагрессивті клондарды бақылайтын T_{reg} -лимфоциттердің азаюымен күшейе түсті.

Біздің зерттеулеріміз, тимустағы Т-жасушалық популяциялардың тапшылығын өтей алмайтынын көрсетті, бұл өз кезегінде рециркуляциялық белсендірілген Т-хелперлердің жинақталуына әкеледі. $FoxP3^+CD4^+CD25^+$ T_{reg} -жасушаларының күрт төмендеуі байқалады.

Сондықтан, иммундық бақылауда тепе-теңдікті сақтау үшін тимустағы Т-жасушалық популяцияларды уақтылы қалпына келтіру өте маңызды.

Осылайша, $SP\ CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8a^+$ тимоциттеріне қатысты жасушаны қалпына келтіру алгоритмі дәйекті түрде прогрессивті болды. ЦФ $SP\ CD3e^+CD4^+$ және $CD3e^+CD8a^+$ тимоциттері деңгейінің төмендеуіне әкелді, ал BIV және T1C қосылыстары бұл жасушалардың деңгейін қалпына келтіріп, MU тең белсенділік көрсетті. Ал, ЦФ $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -белсендірілген хелперлеріне қатысты жасушалар деңгейінің жоғарылауын туғызды, ал BIV және T1C қосылыстары, бұл жасушалардың деңгейін қалыпты физиологиялық мәндерге дейін төмендетіп, UT жануарлар деңгейіне дейін жеткізді. $CD4^+CD25^+$ Th_{act} жасушаларының гейтінде T1C қосылысы $FoxP3^+CD4^+CD25^+T_{reg}$ -реттеуші лимфоциттердің деңгейін UT жануарлар деңгейіне дейін қалпына келтірді. $CD4^+CD25^+$ Th_{act} жасушаларының гейтінде BIV қосылысы UT тобының мәндеріне жетпей, $FoxP3^+CD4^+CD25^+T_{reg}$ реттеуші жасушаларының деңгейін қалыпты түрде қалпына келтірді.

Бірақ Метилурацилдің әсері тимопоэзді қалпына келтіру процесіне теріс әсер етті. MU $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -белсендірілген хелперлерінің жоғары деңгейін төмендетпеді, одан да жоғарылатты, белсендірілген Th_{act} деңгейінің шамадан тыс жоғарылауын күшейтіп, UT тобының көрсеткіштерінен 3,18 есе асып түсті,

дегенмен бұл гейтте $\text{FoxP3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T_{reg} -реттеуші жасушалары өте төмен деңгейде болды, ол Метилурацил әсерінен кейін қалпына келмеді. Метилурацил Т-лимфоциттер популяциясының қалыпты арақатынасын бұзды. Бұл өзгерістердің салдары толыққанды иммундық бақылаудың бұзылуымен Т-жасушалық популяциялардың әсерінің тарылуы және болашақта онкологиялық, аутоиммундық және жұқпалы аурулардың көбеюі болуы мүмкін [137, 6 б.].

Циклофосфамидтің және жаңадан синтезделген BIV, TIC қосылыстарының әсеріне жауап беретін *C57BL6/J* тышқандарының тимусында белсендірілген $\text{FoxP3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T_{reg} -реттеуші лимфоциттердің болуы алғаш рет көрсетілді. Алғаш рет, кейбір зерттеушілер тимуста белсендірілген Т-реттеуші жасушалардың (жадтың) болуын 2008 жылы ұсынды [290, 36 б.]. Гипотеза қалыпты ағзада олардың TCR α -тізбектерінің екінші қайта реттелуімен байланысты жад жасушаларын пайдалану механизмі бар екендігіне негізделген. Авторлар тимустағы жад жасушаларының болуы олардың TCR-ын қайта реттелуімен байланысты екендігін, осылайша олардың басқа антигендерге иммундық жауаптардағы қайта сіңірілу ықтималдығы туралы болжам жасады. Бұрынғы барлық зерттеулер қатерлі ісіктің әртүрлі түрлерімен ауыратын адамдарда жүргізілген. Біздің зерттеулеріміз *C57BL6/J* линиялы тышқандарының тимусында әртүрлі химиялық қосылыстардың әсеріне жауап беретін Т-реттеуші жасушалардың (жад) белсенділігін, яғни белсенді функционалды деңгейде болатындығын көрсетті.

3.4.4.3 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде көкбауырдағы Т-лимфопоэздің және жаңа синтезделген BIV, TIC қосылыстарының Т-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

ЦФ CD3e^+ Т-лимфоциттердің 40,02% және 59,33% деңгейінде төмендеуі байқалған, сүйек кемігі мен тимустан айырмашылығы көкбауырда оның 24,03% орташа төмендеуін туғызды. Циклофосфамидті интоксикация $\text{CD43}^+\text{CD3e}^+\text{CD4}^+$ Th-хелпер-лимфоциттердің деңгейін өзгертпеді. Ал, $\text{CD43}^+\text{CD3e}^+\text{CD8a}^+$ CTL-цитотоксикалық жасушаларының популяциясында циклофосфамид жасушалар деңгейінің жоғарылауын туғызды. Бір қызығы, көкбауырда циклофосфамид белсендірілген $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ Th_{act}-хелперлерін 26,75% төмендеткен болса, тимуста жасушалардың көбеюіне бастама берді. $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FoxP3}^+$ T_{reg} -реттеуші лимфоциттердің 48,08%-ға және $\text{CD28}^+\text{CD44}^+\text{CD8a}^+$ T_{mem} -жад жасушаларының 28,0%-ға айтарлықтай төмендеуі байқалды. Көптеген зерттеушілер бұрын $\text{FoxP3}^+\text{T}_{\text{reg}}$ -реттеуші лимфоциттердің деңгейінің төмендеуімен айқындалатын циклофосфамидтің әсерін анықтаған болатын, оның нәтижесінде цитотоксикалық жасушалардың CTL деңгейі күрт артады. Біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, ЦФ $\text{CD3e}^+\text{CD4}^+$ Th-хелпер лимфоциттерінің төмендетпейді, ал белсендірілген $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ Th_{act}-хелперлер мен $\text{CD28}^+\text{CD44}^+\text{CD8a}^+$ T_{mem} -жад жасушаларының айтарлықтай төмендеуін туындатады. Циклофосфамид тек митоздық белсенді жасушаларды ғана емес, иммундық жауапқа қатысатын

белсендірілген жасушаларды да төмендетеді. Тыныштық күйдегі жасушалардың деңгейі циклофосфамидпен әсер кезінде өзгерген жоқ [291].

Осылайша, циклофосфамид көкбауырда, тимус пен сүйек кемігіне карағанда Т-лимфоциттердің субпопуляциялары деңгейінің айқын төмендеуін тудырмады. Циклофосфамид сүйек кемігі мен тимустағы белсенді бөлінетін, митоздық белсенді жасушалардың күрт төмендеуіне әкелді, бұл әдебиет деректемелерге сәйкес келеді [292].

Алғаш рет, циклофосфамид тек митоздық белсенді жасушаларды ғана емес, иммундық жауапқа қатысатын белсендірілген жасушаларды да төмендететіні анықталды. Тыныштық күйдегі жасушалардың деңгейі циклофосфамидпен әсер ету кезінде өзгерген жоқ.

Гемопоззынталандырушы белсенділіктің салыстырмалы талдауы ТІС қосылысының гемопоззді ынталандыратын белсенділігі жоғары екенін көрсетті. ТІС қосылысы $CD3e^+CD19^-$ Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін айқын қалпына келтіріп, ВІВ қосылысының, метилурацилдің гемопоззді ынталандырушы белсенділігінің деңгейінен, тіпті УТ тобының жасушаларының көрсеткіштерінен асып түсті. ЦФ $CD43^+ CD3e^+CD4^+$ Th-хелпер деңгейінің төмендеуіне әкелмеді, ал ТІС қосылысы Th-хелпер деңгейіне әлсіз әсер етті. ТІС қосылысы цитотоксикалық Т-лимфоциттердің деңгейінің жоғарылауын, ағзаның циклофосфамидпен интоксикациясы туындаған кезде одан әрі күшейтті. Цитотоксикалық Т-лимфоциттердің деңгейінің мұндай өте жоғарылауын ТІС қосылысымен қалпына келтірмеген $FoxP3^+T_{reg}$ -реттеуші жасушалар деңгейінің төмендеуімен түсіндіруге болады. Циклофосфамид белсендірілген $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -хелперлерінің төмендеуіне әкелді, ал ТІС қосылысы жасушаларды қалыпты деңгейге дейін қалпына келтірді. ТІС қосылысы $CD28^+CD44^+ CD8a^+T_{mem}$ -жасушаларының деңгейін 2,72 есеге күрт өсуіне әкеліп, МУ тобындағы жасушалар деңгейінен 8,66 есе асып түсті.

ВІВ тобындағы $CD3e^+CD19^-$ Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін қалпына келуі біркелкі жүріп, УТ тобының жасушаларының деңгейіне жетті. ВІВ қосылысы $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-хелперлерінің деңгейіне әсер етпеді, ол УТ жануарлар деңгейінде болды және сау ағза көрсеткіштеріне сәйкес келеді. ВІВ қосылысы $CD43^+CD3e^+CD8a^+$ CTL-цитотоксикалық лимфоциттердің жоғары деңгейін төмендетіп, жасушалардың жоғары деңгейін қалыпқа келтірді. ВІВ тобындағы лимфоциттердің $CD43^+ CD3e^+CD8a^+$ CTL деңгейі УТ тобының деңгейіне сәйкес болды. ВІВ қосылысы $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -белсендірілген хелпер және $CD4^+CD25^+FoxP3^+ T_{reg}$ -реттеуші лимфоциттердің деңгейін физиологиялық қалыпқа, УТ жануарлар деңгейіне дейін айтарлықтай қалпына келтірді. ВІВ тобындағы $CD28^+CD44^+ CD8a^+ T_{mem}$ жасушаларының деңгейі УТ жануарлар деңгейіне дейін қалпына келді.

МУ $CD4^+CD25^+FoxP3^+ T_{reg}$ жасушаларының деңгейіне әсер еткен жоқ.

МУ $CD28^+CD44^+ CD8a^+ T_{mem}$ жасушаларының деңгейінің төмендеуіне әкелді.

3.4.5 Циклофосфамидтің лимфо-миелоидты мүшелерге цитостатикалық әсері және қалпына келудегі BIV, TIS қосылыстарының оң қасиеттері

1. Сүйек кемігінде (CD117⁺) ГБЖ бағаналы жасушалары мен CD3e⁺ Т-лимфоциттердің және рециркуляцияланатын CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад жасушаларының деңгейінің айқын (40%-дан астам) төмендеуін туғызды. Гемопозге қатысатын бағаналы жасушаларының деңгейінің төмендеуі перифериялық қандағы түзілген элементтер деңгейінің бұзылуымен жүретін панцитопенияға әкелуі мүмкін. Екіншілік иммундық жауап үшін қорғаныштық жадты қалыптастырудың негізгі нишасы болып саналатын және вакцинацияда үлкен рөл атқаратын сүйек кемігіндегі жад жасушаларының деңгейінің төмендеуі ағзада адаптивті иммундық жауаптың күрт төмендеуіне әкелуі мүмкін.

2. Тимуста аңғал SP CD3e⁺CD4⁺ және SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттерінің деңгейін және CD3e⁺-Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін күрт төмендетіп, тимустың көптеп сарқылуын (80%-дан астам) туғызды. Тимустың сарқылуы перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде Т-лимфоциттердің дер кезінде орналаспауына, аңғал T_{naiv}-фенотипінің аутоагрессивті цитотоксикалық Т-лимфоциттерге трансформациясына әкеледі. Біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, тимопоз тимустағы Т-жасуша популяцияларының тапшылығын өтей алмайды, бұл рециркуляциялық белсендірілген CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-хелперлерінің шоғырлануына әкеледі. Т-хелперлердің шамадан тыс көбеюі толыққанды иммундық бақылаудың бұзылуымен Т-жасушалық популяциялардың ауқымы мен функционалдық белсенділігінің тарылуына және болашақта онкологиялық, аутоиммундық және жұқпалы аурулардың көбеюіне әкелуі мүмкін. Алғаш рет, циклофосфамидтің тимустағы рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттерінің төмендеуіне әкелетіні анықталды, бірақ бұл аңғал SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттері деңгейін арттырмады.

3. Көкбауырда CD3e⁺Т-лимфоциттердің, CD43⁺ CD3e⁺CD4⁺ Th-хелпер лимфоциттерінің, рециркуляцияланатын белсендірілген CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-хелпердің, рециркуляцияланатын CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің және рециркуляцияланатын CD28⁺CD44⁺ CD8a⁺ T_{mem}-жад жасушаларының статистикалық сенімді деңгейде (20%-дан астам) төмендеуін туғызды. Митоздық белсенді аңғал T_{naiv}-лимфоциттердің деңгейінің төмендеуі дифференциацияланған Т-лимфоциттердің популяциясының төмендеуіне әкелуі мүмкін. Қазіргі таңда Т-лимфоциттердің көбі перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде жетілетіні белгілі. Перифериялық лимфо-миелоидты мүшелердегі рециркуляцияланатын FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттері деңгейінің төмендеуі рециркуляцияланатын CD43⁺CD3e⁺CD8a⁺ цитотоксикалық жасушаларының деңгейінің жоғарылауына әкелді. Бұл аутоагрессивті клондардың көбеюіне және аутоиммунды аурулардың қаупінің жоғарылауына әкеледі. Көкбауырдағы CD3e⁺CD44⁺T_{mem}-жад лимфоциттері төмендеді. Көкбауырдағы жад жасушаларының деңгейінің төмендеуі екіншілік иммундық жауап үшін қорғаныштық жад қалыптасуының төмендеуіне және ағзадағы адаптивті иммундық жауаптың күрт төмендеуіне әкелуі мүмкін.

4. Сүйек кемігіндегі, тимикалық, перифериялық Т-лимфоциттердің T_{nai} -н Th -фенотипінде, CTL көрсеткіштердің көшірілімімен жүретін субпопуляциясының саны айқын өзгерді. T_{reg} деңгейінің төмендеуімен жүретін CTL аутоагрессивті клондарының жинақталуының тәуелділігін айқындалды. Осы факторлардың барлығы сүйек кемігінде, тимуста және көкбауырда уақтылы шоғырлану арқылы сүйек кемігі пулының митоздық белсенділігін уақтылы қалпына келтіру, тимопоздді қалпына келтіру және екіншілік мүшелерде гомеостатикалық пролиферация, сондай-ақ аутоагрессивті CTL жинақталуы ауру қаупін азайту қажеттілігінің өзектілігін көрсетті.

BIV және TIS екі қосылыстың миело- және гемопоэз ынталандырушы белсенділігін салыстырмалы талдау мынаны көрсетті:

TIS қосылысының оң қасиеттері: гемопоэзынталандырушы белсенділігі BIV және MU қосылыстарының белсенділігін арттыра отырып, біршама жоғары гемопоэзынталандырушы белсенділігімен ерекшеленді; Сонымен қатар, сүйек кемігіндегі ($CD117^+$) ГБЖ жасушаларының деңгейін, $CD43^+CD3e^+$ Т-лимфоциттердің деңгейін, $CD3e^+CD44^+$ T_{mem} -жад жасушаларының деңгейін, сүйек кемігі, көкбауырдағы $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -хелпер деңгейін статистикалық маңызды деңгейде қалпына келтірді. Бірақ, TIS қосылысы $FoxP3^+$ T_{reg} -реттеуші жасушаларының деңгейін жоғарылатпады; CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің $CD43^+CD3e^+CD8a^+$ деңгейін күрт арттырды; $CD28^+CD44^+CD8a^+T_{mem}$ -жад жасушаларының деңгейін айтарлықтай жоғарылатты. TIS қосылысы $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад жасушалары деңгейінің өсуін ынталандыруға қабілетті қосылыс ретінде перспективті дамуға ие, бұл *in vitro* қатерлі ісікті емдеуге арналған онковакциналарды дайындауда үлкен маңызға ие.

BIV қосылысының оң қасиеттері: сүйек кемігіндегі ($CD117^+$) ГБЖ жасушаларының қалпына келу процесіне әсер етпеді; $CD3e^+CD19^-$ Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін қалпына келтіруде біркелкі маңызды белсенділікке ие болды; $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th -хелперлердің жоғары деңгейінің жоғарылауын күшейтпеді, бірақ физиологиялық қалыпқа келтірді; $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ T_{reg} -реттеуші лимфоциттердің төмен деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін қалпына келтірді; $CD43^+CD3e^+CD8a^+$ CTL-цитотоксикалық лимфоциттердің жоғары деңгейін төмендетті, $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -белсенді хелперлердің деңгейін, $CD28^+CD44^+CD8a^+T_{mem}$ -жасушаларының деңгейін физиологиялық қалыпты мөлшерге дейін қалпына келтірді.

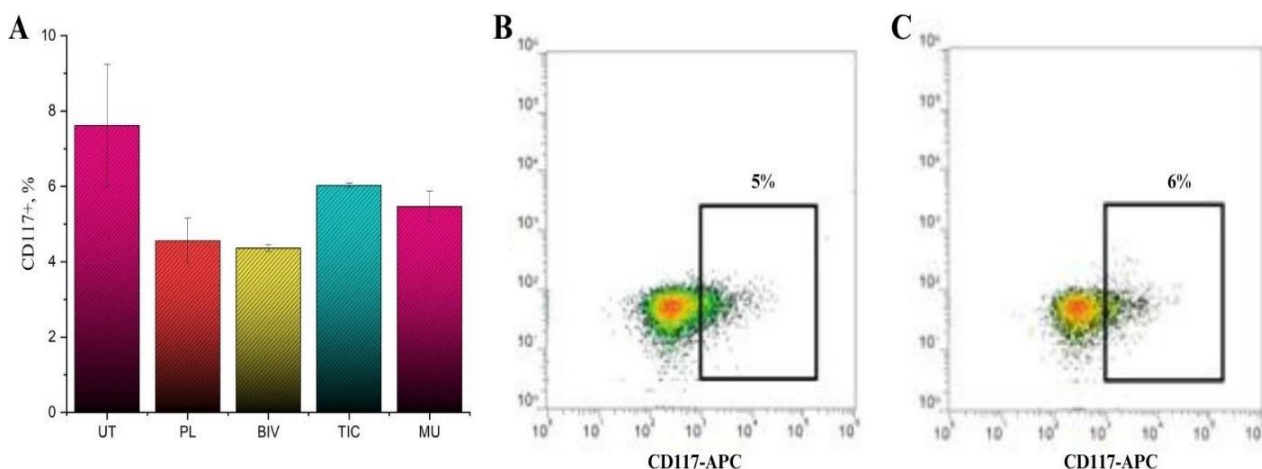
BIV қосылысы Т-лимфопоэз ынталандырушы белсенділігі бар оң гемоынталандырушы (гемомодуляциялық) қосылыс ретінде, екінші гемодепрессия жағдайында Т-лимфоциттердің популяциясының жоғарылаған және төмендеген көрсеткіштерін физиологиялық қалыпқа теңестіруде одан әрі даму перспективасына ие.

3.5 BIV және TIS әсерінен лимфо-миелоидты мүшелердегі (ГБЖ, В-лимфоциттер) субпопуляцияларының қайта қалпына келуі

3.5.1 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кеміктік В-лимфопоэз және жаңа синтезделген BIV, TIS қосылыстарымен сүйек кемігіндегі В-лимфоциттер деңгейінің қалпына келуі

Сүтқоректілердегі В-жасушаларының дамуы мен жетілу процесі ұрықтың бауырындағы гемопоэтикалық бағаналы жасушаларынан (ГБЖ), содан кейін сүйек кемігінен басталады, мұнда ГБЖ мультипотентті ізашарларға бөлінеді. Сүйек кемігіндегі дифференциацияның осы кезеңінде ($CD117^{+}$) ГБЖ жасушаларында тирозинкиназа жолы белсендіріледі, яғни жасушалар гемопоэзге қатысады. Циклофосфамидті интоксикацияның әсерінен сүйек кемігі жасушаларының ($CD117^{+}$) ГБЖ санының төмендеуі айтарлықтай болды. Жасушалардың төмендеу деңгейі 40,03%-дан астам, 1,67 есе ($P=0,00002$ $F>F_{crit}$, $46512,5>18,51$) болды (сурет 26). PL тобындағы жасушалардың ($CD117^{+}$) ГБЖ көрсеткіші ($4,57\pm 0,6$ %), UT топтағы жасушалар деңгейі ($7,62\pm 1,61$ %) құрады (сурет 26). Бағаналы жасуша деңгейінің күрт төмендеуі науқастарға клиникалық тексерулер жүргізудің болжаушысы болып табылады. Содан кейін жалпы лимфоидты ізашарларға (CLP) айналады.

CLP жасушалары үш бағытта: Т-, В-лимфоцит және NK жасушаларына дифференциациялануға қабілетті.



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы ГБЖ мәні (5,0 %). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы ГБЖ мәні (6,0%).

Сурет 26 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы сүйек кемігіндегі $CD117^{+}$ гемопоэтикалық бағаналы жасушалардың үлесі

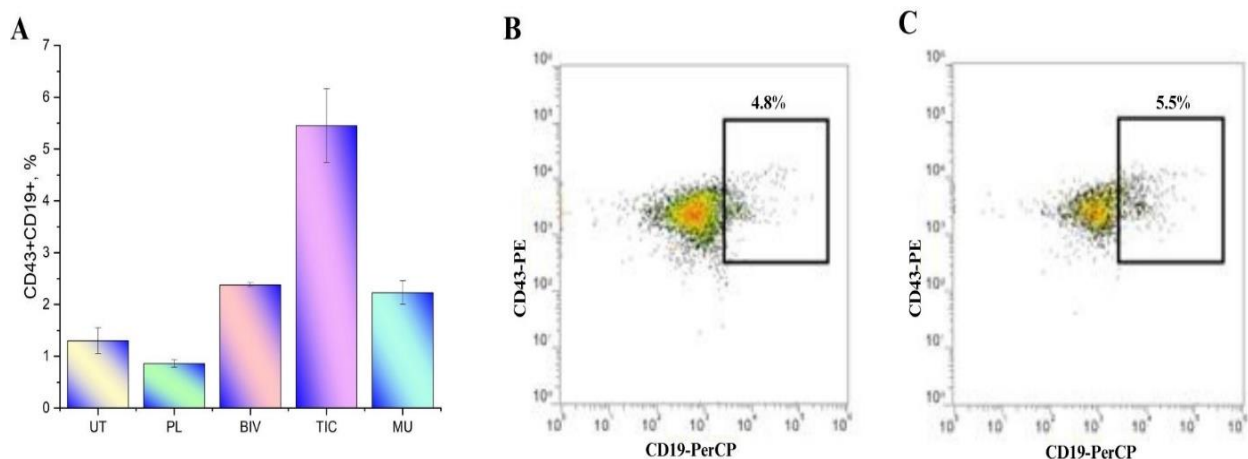
Ересек сүтқоректілерде сүйек кемігіндегі В-лимфопоэз бағаналы жасушасынан пайда болады, содан кейін жалпы лимфоидты ізашарларға (CLP) дифференциацияланады, қан түзетін жасушалардың негізгі линияларына тән

беткі линиялық маркерлерден айырылады. Бағаналы жасушаларына ұқсас, CLP CD34 молекулаларын, сондай-ақ CD45R панлейкоциттік маркерін (тышқандарда, CD45 изоформасы) экспрессиялайды. Жетілудің бес сатысынан (А, В, С, D және E) өтіп, CLP-2 сатысында жасушалар CD19⁺ экспрессиясының болмауымен сипатталады, содан кейін барлық келесі сатыларда Pro-B-I- және Pro-B-II-лимфоциттерде CD19⁺ CD43⁺ молекулаларына ие болады.

CD19⁺CD43⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II-лимфоцитарлы жасушалардың пролиферациясы мен дифференциациясының ерте, кеш кезеңдерінде зерттелетін BIV қосылысы жасушалардың пролиферативті белсенділігіне әлсіз әсер етті. CD19⁺CD43⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II- лимфоцитарлық жасуша деңгейі үш тәжірибелік топта (BIV, MU, PL енгізгенде) бір ауқым 3,8 млн-нан 4,9 млн жасушаға дейін болды, UT тобы 7,7 млн жасуша ($6,6 \pm 8,8$) мәніне жетпеді (кесте 22, сурет 27). Бірақ TIC қосылысы CD19⁺CD43⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II Pro-B-II-лимфоцит жасушаларының деңгейін ($6,03 \pm 0,07$) · 10⁹/л дейін арттырды, бұл PL тобындағы жасуша деңгейінен ($4,57 \pm 0,6$) · 10⁹/л мен MU тобындағы ($5,47 \pm 0,4$) · 10⁹/л сәйкесінше 1,32 және 1,1 есе асып түсті [293].

Кесте 22 – Сүйек кемігіндегі В-жасуша субпопуляцияларының көрсеткіштері

№	Сүйек кемігі M±SD, % (n=6)		
	Топтар	CD43 ⁺ CD19 ⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II- лимфоциттер	CD43 ⁺ CD19 ⁺ D45R ⁺ Pre-B-I-, Pre-B-II-, жетілмеген В-лимфо- циттер
1	UT	7,62±1,33	14,04±4,59
2	PL	4,57±0,6	7,66±0,41
3	BIV	4,36±0,10	15,90±4,08
4	TIC	6,03±0,07	8,15±0,10
5	MU	5,47±0,4	9,61±1,50
Р		Р ₁₋₂ = 0,00002 Р ₂₋₃ = ш.а. Р ₃₋₄ = 0,00007 Р ₄₋₅ = 0,0006	Р ₁₋₂ = 0,000001 Р ₃₋₅ = 0,000002 Р ₃₋₄ = 0,0000001
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы			

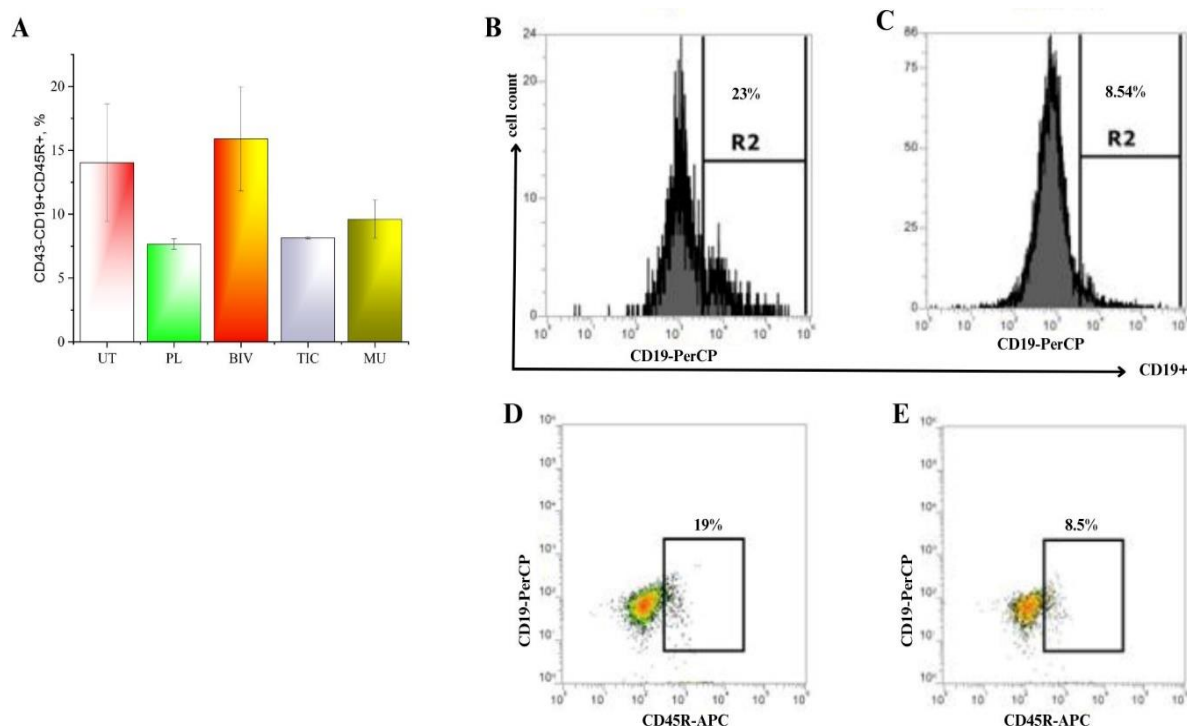


А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы Pro-B-I-, Pro-B-II-лимфоциттер мәні (4,8%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы Pro-B-I, Pro-B-II-лимфоциттер мәні (5,5%).

Сурет 27 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы сүйек кемігіндегі CD43⁺CD19⁺ Pro-B-I- және Pro-B-II-лимфоциттер үлесі

3.5.2 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде спленоцитарлы В-лимфопоэз және BIV, TIC қосылыстарымен көкбауырдағы В-лимфоциттердің қалпына келу белсенділігі

Е сатысында CD43⁻ B220⁺/CD45R⁺CD19⁺CD24⁺IgM⁺ экспрессиясы бар жетілмеген В-жасушалары сүйек кемігінен шығып, екіншілік лимфоидты мүшелерге (көкбауыр, лимфа түйіндері, пейер шытырасы, бадамша бездер және шырышты ұлпа) олардың өтпелі жасушаларға дифференциациясын жалғастыру үшін (түрі 1 және 2 тип) бағытталады. Осылайша, pre-B-I жасушаларын, pre-B-II жасушаларын және жетілмеген В-лимфоциттерін ерте CD19⁺ беткі маркерімен және B220⁺/CD45R⁺, панлейкоцитарлық маркерімен біріктіру арқылы біз жасуша деңгейін есептедік. B220⁺/CD45R⁺CD19⁺ pre-B-I-, pre-B-II- және жетілмеген В-лимфоциттердің деңгейі барлық үш PL тобында, TIC, MU тобында бір ауқымда 8,0 млн-нан 8,5 млн-ға дейін болды және UT топтың мәніне жете алмады $12,1 \text{ млн} (12,1 \pm 18,8)$. Бірақ, BIV қосылысы pre-B-I, pre-B-II және жетілмеген В-лимфоциттердің деңгейіне айқын ынталандырушы әсер етті, $(15,90 \pm 4,08) \cdot 10^9/\text{л}$, дейін көтерілді, бұл PL, MU және TIC тобының көрсеткішінен сәйкесінше 2,07; 1,65; 1,95 есе асып түсті ($P=0,000001 \ F > F_{\text{crit}}, 678976 > 18,51$), ($P=0,000001 \ F > F_{\text{crit}}, 678976 > 18,51$), ($P=0,000002 \ F > F_{\text{crit}}, 395641 > 18,51$), ($P=0,000001 \ F > F_{\text{crit}}, 600625,5 > 18,51$) (сурет 28).

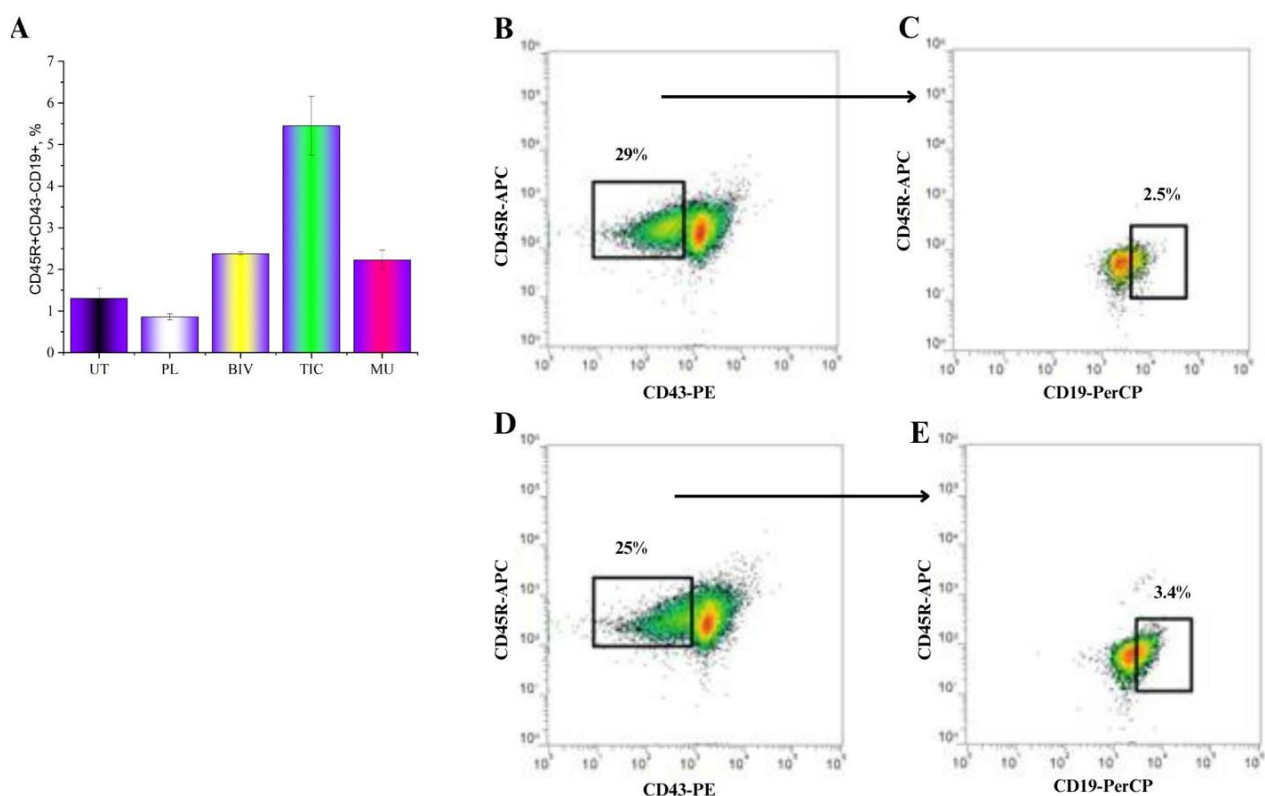


А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, жетілмеген В-лимфоциттердің мәні (23,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, жетілмеген В-лимфоциттердің мәні (8,54%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы pre-B-I-, pre-B-II-лимфоциттердің мәні (19,0%). E. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы pre-B-I, pre-B-II-лимфоциттердің мәні (8,5%).

Сурет 28 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы сүйек кемігіндегі pre-B-I-, pre-B-II- және жетілмеген В-лимфоциттер үлесі

D сатысында pre-B-I жасушалары және pre-B-II жасушалары $B220^{+}/CD45R^{+}CD19^{+}CD24^{+}CD25^{+}$ экспрессиялау арқылы $CD43^{-}$ молекуласын жоғалтады.

E сатысында $B220^{+}/CD45R^{+}$, $CD19^{+}$, $CD24^{+}$, $CD43^{-}$ және IgM^{+} экспрессиясы бар жетілмеген В-жасушалары сүйек кемігінен шығып, өтпелі кезеңге В-жасушасы (1 тип және 2 тип) дифференциациясын жалғастыру үшін екінші лимфоидты мүшелерге (көкбауыр, лимфа түйіндері, пейер шытырасы, бадамша бездер және шырышты ұлпаға) бағытталады. Көкбауырдағы $CD19^{+}$ беттік маркерлері және $B220^{+}/CD45R$ панлейкоциттік маркері бар транзиторлы В-лимфоциттерін санадық. TIC қосылысы жоғары белсенділікті көрсетті. Ол $B220^{+}/CD45R^{+}CD19^{+}CD43^{-}$ транзиторлық В-лимфоцит деңгейін $(5,45 \pm 0,71) \cdot 10^9/\text{л}$ дейін жоғарылата ықпалдандырып, PL, BIV және MU тобынан сәйкесінше 4,19; 2,28; 2,44 есе ($P=0,000009$ $F > F_{\text{crit}}$, $105340,5 > 18,51$), ($P=0,00002$ $F > F_{\text{crit}}$, $47124,5 > 18,51$), ($P=0,00001$ $F > F_{\text{crit}}$, $51842 > 18,51$) жоғары болды. BIV қосылысы MU деңгейінде белсенді болды (кесте 23, сурет 29).



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы; TIC – БИВ-119 қосылысы. В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы транзиторлы В-лимфоциттердің мәні (29,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы транзиторлы В-лимфоциттердің мәні (3,4%). D. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы pre-B-I-, pre-B-II-лимфоциттердің мәні (19,0%). E. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы pre-B-I, pre-B-II-лимфоциттердің мәні (8,5%).

Сурет 29 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы транзиторлы В-лимфоциттер үлесі (T1, T2, T3)

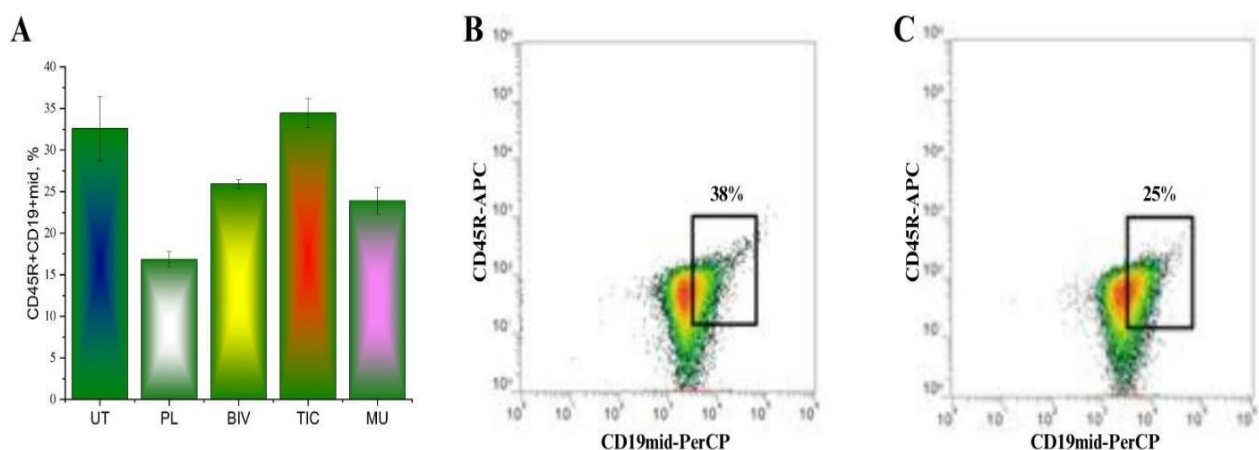
Кесте 23 – Екіншілік лимфо-миелоидты мүшедегі жасуша субпопуляцияларының көрсеткіштері

№	Екіншілік лимфо-миелоидты мүшелер $M \pm SD$, % (n=6)				
	Топтар	CD45R ⁺ CD43 ⁻ CD19 ⁺ T1, T2, T3- транзиторлы лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ^{+/mid} MZB-, FO-B- лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ⁺ M HCII ⁺ герментативті аймақтағы белсендірілген В-лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ⁺ CD40 ⁺ В _{mem} -жад лимфоциттер
1	UT	1,3±0,25	32,6±3,88	60,65±2,41	24,60±2,02
2	PL	0,86±0,07	16,88±0,93	15,26±1,54	7,86±1,05
3	BIV	2,38±0,04	25,93±0,53	33,35±1,11	12,31±0,78
4	TIC	5,45±0,71	34,45±1,74	68,80±2,74	12,25±0,87
5	MU	2,23±0,23	23,91±1,58	36,76±5,34	10,36±1,18

23-кестенің жалғасы					
Екіншілік лимфо-миелоидты мүшелер $M \pm SD$, % (n=6)					
№	Топтар	CD45R ⁺ CD43 ⁻ CD19 ⁺ T1, T2, T3- транзиторлы лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ^{+/mid} MZB-, FO-B- лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ⁺ M НСII ⁺ герментативті аймақтағы белсендірілген В-лимфоциттер	CD45R ⁺ CD19 ⁺ CD40 ⁺ В _{mem} -жад лимфоциттер
	P	P ₂₋₄ = 0,000009 P ₃₋₄ = 0,00002 P ₃₋₄ = 0,00001	P ₃₋₄ = 0,000002 P ₂₋₄ = 0,0000006 P ₄₋₅ = 0,01	P ₂₋₃ = 0,0000006 P ₂₋₄ = 0,00000006 P ₃₋₄ = 0,0000001 P ₄₋₅ = 0,000003	P ₄₋₂ = 0,00001 P ₃₋₁ = 0,0000006 P ₂₋₃ = 0,000005

B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ фенотипі бар FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің көрсеткіштері жоғары мәндермен ерекшеленді. BIV және TIC қосылыстары B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің жоғарылауын айқын ынталандырды. BIV қосылысын енгізген топта B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің деңгейі MU тобы деңгейінде болды. Көрсеткіш PL тобының деңгейінен 1,53 есе асып түсті есе ($P=0,01$ $F > F_{crit}$, $79,7 > 18,51$). Бірақ TIC қосылысы жоғары нәтиже көрсетті. Ол B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің деңгейін $(34,45 \pm 1,74) \cdot 10^9/\text{л}$ дейін жоғарылатып, MU, BIV және PL көрсеткіштерінен сәйкесінше, 1,44, 1,32, 2,04 есе ($P=0,01$ $F > F_{crit}$, $89,2 > 18,51$), ($P=0,000002$ $F > F_{crit}$, $362952 > 18,51$), ($P=0,0000006$ $F > F_{crit}$, $1543524 > 18,51$) жоғары болды. TIC тобында B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің деңгейі UT тобы мәніне сәйкес келді (сурет 30).

Ары қарай В-лимфоциттер антигенмен кездеседі. Антидене түзуші жасушалар В-лимфоциттердің туындылары болып табылады. MZB жасушалары мен В-1-в жасушаларына Т-жасушалырман өзара байланысуын қатыссыз айналып өтеді, IgM және IgG3 антиденелерін өндіру үшін бірнеше сағат/тәулік қажет (иммундық жауаптың бұл түрі, әдетте, ТI-антигендеріне қарсы дамиды). Соңында, мерзімі ұзақ (бірнеше тәулік/апта), бірақ ең жақсы реттелген иммундық жауап плазмалық жасушалардан алынған арнайы антиденелер түрінде (IgG, IgA, IgE) ұсынылған.

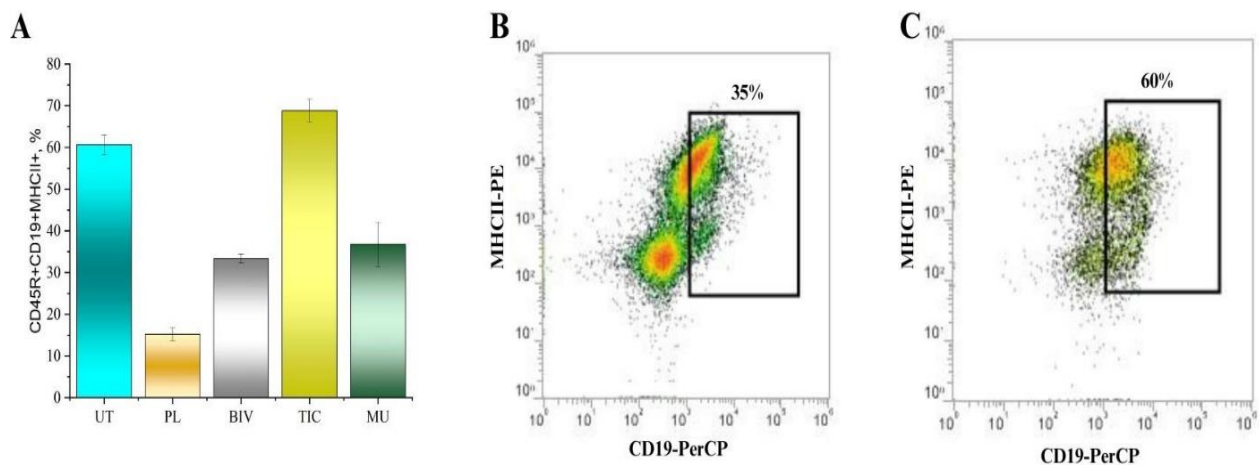


А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).
 В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы MZB- және FO-B-лимфоциттердің мәні (38,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы MZB- және FO-B-лимфоциттердің мәні (25,0%).

Сурет 30 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы көкбауырдағы MZB- және FO-B-лимфоциттер үлесі

Көкбауырдың герментативті орталығындағы антигенмен белсендірілген В-лимфоциттері B220/CD45R⁺CD19⁺MHC class II⁺ фенотипімен сипатталады. BIV қосылысын енгізген тобындағы B220/CD45R⁺CD19⁺ MHC class II⁺ (33,35±1,11) % құрады, бұл салыстырмалы препарат MU белсенділік деңгейінде болды және PL тобындағы жасуша деңгейінен (15,26±1,54) % айтарлықтай 2,19 есе ($P=0,0000006$ $F > F_{crit}$, 1636241 > 18,51) асып түсті. Бірақ TIC қосылысы белсенділігі бойынша едәуір жоғары болды. TIC қосылысы B220/CD45R⁺CD19⁺MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттерінің мәнін (68,80±2,74) % жоғарылатты, бұл UT тобы мәнініне (60,65±2,41) % сәйкес келді және MU, BIV және PL тобы деңгейінен 1,87; 2,06 және 4,51 есе жоғары болды (сурет 31).

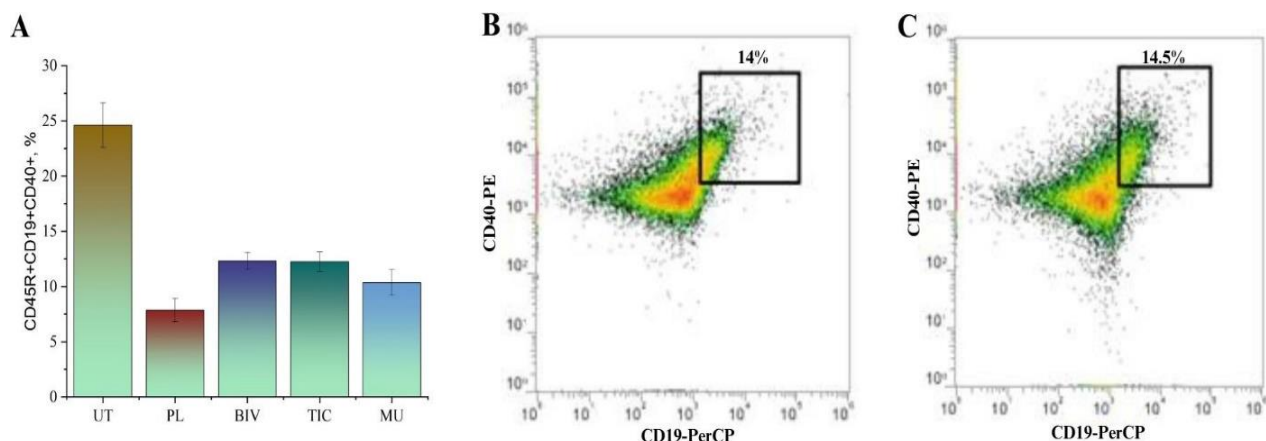
Ары қарай, В және Th-2-жасушаларының өзара байланысуы кезінде байланысқан тану жүзеге асады, соның нәтижесінде В-жасушасының мембранасында экспрессияланатын Th-2-жасуша бетінде CD40 рецепторы-CD40L молекуласы пайда болады. Мұндай қосымша костимуляция В-лимфоцитпен цитокиндік рецепторлардың экспрессиясының басталуына және В-Т-конъюгатының біріншілік фолликул аймағына миграциялануына серпін береді. CD40 рецепторы жад жасушаларына, реттеуші және киллер В-лимфоциттеріне тән. B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоциттердің саны BIV және TIC енгізген топтарда бір деңгейде (12,25 – 12,31) · 10⁹/л болды, ол MU, PL тобынан 1,55 есе (7,86±1,05) % жоғары болды (сурет 32).



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).
 В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы МНС class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттердің мәні (35,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы МНС class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттердің мәні (60,0%).

Сурет 31 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы МНС class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттердің үлесі

B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоцит деңгейі UT тобына жетпеді. Көрсеткіштердің UT тобы деңгейіне жетпеуін B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоциттердің жеткілікті популяцияны құруға арналған уақыт интервалының жеткіліксіздігімен түсіндіруге болады.



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).
 В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы В_{mem}-жад лимфоциттердің мәні (14,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы В_{mem}-жад лимфоциттердің мәні (14,5%).

Сурет 32 – Тышқандардың әртүрлі топтарындағы В_{mem}- жад лимфоциттердің үлесі

В-1 жасушаларының популяциясы есепке алынбады, бұл В-лимфоциттерінің жалпы санының 5% құрайды. Бірақ В-1 жасушаларының пайда болуы мезенхималық бағаналы жасушалармен байланысты және олар негізінен шырышты қабықтардың лимфоидты ұлпаларында орналасқан. Тіршілік бойы сүйек кемігінде пайда болатын В-1 жасушаларының В-2 жасушаларынан айырмашылығы, ересек адамның В-1 жасушаларының субпопуляциясы өте баяу пролиферациялану арқылы ғана өзін-өзі жаңартады. Жасушалық циклдің басқа параметрлеріне, сондай-ақ басқа белсендіру қасиеттеріне байланысты В-лимфоциттерінің бұл линиясы жеке лимфоидты ізашарлардан басталады, эмбриогенездің ерте кезеңдерінде оқшауланады, содан кейін постнаталды сүйек кемігінің басқа В-лимфоциттерінен тәуелсіз болады деген пікір бар.

3.5.3 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі және көкбауырдағы спленоцитарлы В-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының В-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

3.5.3.1 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезіндегі сүйек кемігіндегі спленоцитарлы В-лимфопоэздің және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының В-лимфоциттердің қалпына келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

Әрине, В-лимфоциттердің негізгі функционалдық жүктемесі гуморальды иммунитетпен байланысты, мұнда плазмалық жасушалар, денені жасушадан тыс инфекциялардан қорғай отырып, антиденелерді түзеді. Бірақ, В-лимфоциттердің реттеуші, адгезиялық, корецепторлық белсенділігін арттыра отырып, түрлі иммундық реакциялардың қатысады, сол арқылы антипаразитарлы, ісікке қарсы, вирусқа қарсы иммунитеттің қалыптасуына қатысады. Демек, циклофосфамидті гемодепрессия жағдайында В-лимфоциттер популяциясының уақтылы қалпына келуі онкологиялық, аутоиммунды ауруларды емдеу кезінде, трансплантациядан кейінгі тәжірибеде, отадан кейінгі оңалту кезеңінде цитостатик қабылдайтын науқастар үшін үлкен рөл атқарады.

Бағаналы жасушадан бастап ізашар В-лимфоциттер жетілудің екі кезеңінен өтеді. В-лимфоциттердің негізгі қайта құрылуы BCR рецепторларының түзілуімен байланысты. Бұл процесс вариабельді иммуноглобулин гендерінің қайта құрылуына тәуелді. Дәл осы пісіп-жетілу кезеңінде ерте CD19⁺ беттік маркері пайда болады. CD19⁺ В-лимфоциттердің бетінде pro-B-II сатысында пайда болады және кейіннен бір липидті деңгейде В-жасуша рецепторымен бірге орналасады. Сүйек кемігінде бағаналы жасушадан CLP пролиферация және дифференциация кезеңінде ізашар жасушалардың, Pro-B-I және Pro-B-II жасушаларының жетілу кезеңінде, ВІV қосылысы және салыстырмалы препарат Метилурацил пролиферативті белсенділікке әлсіз ынталандырушы әсер етті. Тек, ТІС қосылысы Pro-B-I және Pro-B-II-жасушаларының қалпына келуін ынталандырды. Бұл ізашар жасушалардың бетіндегі рецепторлық құрылымдардың таңдамалы сезімталдығымен байланысты. Бірақ дамудың бұл кезеңінде, ізашарлық жасушаларды жасанды ынталандыру (сыртқы ятрогенді) *in*

vitro жасушаларын алу үшін маңызды болып келеді. Жасушаларды, ұлпалардың стромадан тыс Pro-B-және Pro-B-II-жасушаларын алу үшін культивирлеу кезінде ТІС қосылысының маңызы өте үлкен. Бірақ, екінші жағынан көптеген авторлардың есептеуі бойынша, нақ осы Pro-B-лимфоцитарлы дифференциация кезіндегі жасушалардың түрлі химиялық қосылыстардың әсерін қабылдамауы өте маңызды. Өйткені, бұл жасушалар созылмалы лимфолейкоздың жасушалары болып табылатын жетілмеген функционалды толық емес жасушалардың тоқтаусыз бөлінуіне әкеп соғуы мүмкін. Жасушалардың бөлінуі сүйек кемігінің стромалы жасушалары өндіретін және пролиферация, CD117⁺ дифференциациясы бағаналы рецепторы бар бағаналы жасушалар мембранасында тіркеле стромалы жасушалардың факторымен ғана ынталандыруы керек. Нақ осы CD117⁺ протоонкогенді ақуыз – қанның ісік ауруларының алғашқы диагностикалық маркері болып табылады. BIV қосылысының ізашарлы Pro-B-I және Pro-B-II-жасушаларының деңгейіне әсерінің әлсіз болғандығы өте маңызды.

D сатысында жетілмеген pre-B-I жасушалар мен pre-B-II- жасушалар B220⁺/CD45R⁺, CD19⁺, CD24⁺, CD25⁺ экспрессиялай отырып, CD43-молекуласын жоғалтады. Біз, Pre-B-I жасушалар, pre-B-II жасушаларын және жетілмеген B-лимфоциттерін ерте CD19⁺ беткі маркерімен және B220⁺/CD45R⁺ панлейкоцитарлық маркерімен бірлестіре отырып жасуша деңгейін есептедік. B220⁺/CD45R⁺CD19⁺ pre-B-I-, pre-B-II- және жетілмеген B-лимфоциттерінің деңгейін PL, ТІС және MU барлық үш тобы бір деңгейде 8,0-ден 8,5%-ға дейін болды және UT топтың 12,1 (12,1±18,8) % мәніне жетпеді. Бірақ BIV қосылысы pre-B-I, pre-B-II және жетілмеген B-лимфоциттердің деңгейіне әсер етіп, белсенділігі бойынша ТІС және MU қосылыстарынан сәйкесінше 1,95 және 1,65 есе асып, PL көрсеткішінен 2 есеге жоғарылады. Осылайша, BIV қосылысы сүйек кемігіндегі pre-B-I, pre-B-II және жетілмеген B-лимфоциттердің деңгейін тиімді қалпына келтірді.

3.5.3.2 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде көкбауырдағы спленоцитарлы B-лимфопоэздің және жаңа синтезделген BIV, ТІС қосылыстарының B-лимфоциттердің қалпын келу деңгейін белсендіру кезіндегі талдауы

Pre-B-лимфоциттер сүйек кемігінен шығып, транзиторлы B-лимфоциттер сатысына өтеді. Транзиторлы жасушалардың өте аз саны көкбауырда орналасқан ерте CD19⁺ беткі маркері және B220⁺/CD45R⁺ панлейкоциттік маркері бар жетілмеген B-лимфоциттері болып табылады [294]. ТІС қосылысы жоғары лимфоцитопоэз ынталандырушы белсенділігімен айқындалды. Ол B220⁺/CD45R⁺CD19⁺ CD43⁻ транзиторлы B-лимфоциттерінің жоғарылауын тиімді түрде ықпалдандырды, PL, BIV және MU топтарындағы жасуша деңгейінен сәйкесінше 4,19; 2,28; 2,44 есе, тіпті UT тобынан асып түсті. Көкбауырда B-лимфоциттер аутореактивтілікке антигенге-тәуелсіз оң және теріс селекциядан өтуі керек. Транзиторлы B-жасушалары BCR жоғары аффиндылығы бар аутоантигендермен байланысатын ауто-B жасушаларының

клондарын жоюға бағытталған антигенге-тәуелді емес оң және теріс селекциядан өтеді. T2 жасушалары BCR антигенмен байланысуына жауап ретіндегі белсендірілетін жетілген В-лимфоциттерден айырмашылығы - ол BAFF (В-жасушалық белсендіру факторы) арналған рецептордың төмен экспрессиясымен сипатталады, сондықтан өзінің BCR-ді аутоантигенмен байланысып, бұл жасушалар белсендірілмейді, тек BCR гендерін өңдеуге сигнал алады [135, 602 б.]. Селекциядан сәтті өткен T1 және T2 клондары ұрық орталығының В-жасушаларының жетілген популяциясына және екіншілік лимфоиды мүшелердің маргинальды аймақтарының В-лимфоциттеріне бастама береді. Аутореактивті T3 пулы анергияға ұшырайды. Жағдайдың үшінші даму жолы бар – аутоантигендермен байланысуға жауап ретінде клондардың анергия күйіне ауысуы. Транзиторлы В-жасушаларының тіршілік ету ұзақтығы 1 тәуліктен 5 тәулікке дейін, содан кейін олар жетілген аңғал В-лимфоциттеріне айналады және CXCR5 хемокиндік рецептордың экспрессиясының басталуына байланысты біріншілік фолликулдың В-аймағын құрай, аймақтық лимфа түйіндеріне миграцияланады.

Жетілген аңғал В-жасушалары, олар іс жүзінде В-2 жасушаларына жататын көкбауыр мен лимфа түйіндерін мекендейтін В-лимфоциттерінің көпшілігін, сонымен қатар рециркуляциялық В-қан жасушаларының пулын қамтиды. Дәл В-2 жасушалары біріншілік лимфоидты фолликуланың В-зоначасын [follicular (FO) В-cells] құрайды, Т-лимфоциттермен өзара байланысуға қатысып, екіншілік фолликулалардағы ұрық орталықтарының В-жасушаларын түзеді [germinal center (GC) В-cells] [138, 302 б., 139, 181 б.]. В-2-лимфоциттер иммуноглобулиндердің изотипін (класс) М/D-ден А, Е және G-ге ауыстыруға, сондай-ақ В-жад жасушаларына және плазмалық жасушаларға дифференциациялауға, содан кейін арнайы антиденелердің секрециясына қабілетті. В-2-жасушалар молекулаларының бетінде МНС-I, МНС-II, костимулдаушы молекулаларды CD40, CD86 алып жүреді, ал активация кезінде CD80 молекулаларын алып жүреді, бұл оларға "кәсіби" АПЖ рөлін атқаруға мүмкіндік береді [140, 109 б.]. Сондай-ақ, В-2 жасушалары адгезия молекулаларын (β 1-интегриндер VLA-2 және VLA-4, β 2-интегрин LFA-1, L-селектин CD62L және т.б.) экспресстейді, бұл оларға тамырлардан қозғалуға және ұлпаларға ауысуға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, В-2 жасушаларына цитокиндердің (IL-4R, IL-5R, IL-6R, IL-2R, IL-1R, IL-10R) және хемокиндердің (CXCR4, CXCR5, CCR3, CCR6) көптеген рецепторларының экспрессиясы тән. В-2 жасушасының мембраналық фенотипі: CD10⁻ CD19⁺ CD20⁺ CD21⁺ CD22⁺ CD23⁻ CD24^{low} CD27⁻ CD38^{low}. Ұсынылған фенотип орташа болып табылады, өйткені белгілі бір молекулалық маркерлердің экспрессиясы жетілу дәрежесіне, антигенмен байланысқа, В-2 жасушасының орналасуына және оның микроортасына байланысты.

MZB жасушалары В-маргинальды аймақ жасушалары (MZB) ақ пульпаны қызыл пульпадан бөлетін көкбауырдың маргинальды аймағында орналасқан (көкбауырдың барлық В-жасушаларының шамамен 15% құрайды) [142, 644 б., 144, 5265 б.]. MZB-лимфоциттер сүйек кемігіндегі транзиторлы В-жасушалар

сатысында жеке субпопуляцияға бөлінеді. FO-B лимфоцит немесе MZB лимфоцит транзиторлы В-жасушасының дифференциалдану жолын таңдау BCR арқылы жасушаға енетін сигналдар жиынтығымен, сондай-ақ BAFF және Noth-2 дифференциалдық факторларына арналған рецепторлармен анықталады. MZB жасушалары өздерінің фенотипі бойынша белсендірілген В-2 лимфоциттеріне ұқсас келеді. Антигенмен жақын арада байланысын көрсеткен маркер - бұл MZB-лимфоциттерінің бетінде экспрессияланатын CD27 молекуласы. MZB лимфоциттеріне тән қасиет олардың иммундық жауапқа Т-антигенге тәуелді сияқты, Т-антигендерге тәуелсіздігі де (Т1-2) қатысу қабілеті болып табылады. Бұл MZB лимфоциттерін туа біткен және адаптивті иммунитет арасындағы аралық жасушалық байланыс ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. В-2 жасушалары сияқты, MZB жасушалары МНС-II молекулаларын және костимулдаушы CD80 және CD86 молекулаларды экспрессиялайды, бұл оларға антигенді байланыстыруға мүмкіндік береді (көбінесе маргиналды аймақтың дендритті жасушаларымен ұсынылады), көкбауырдың Т-тәуелді аймағына миграцияланады және оны Т-хелпер жасушаларға ұсынады. MZB лимфоциттерінің тағы бір ерекшелігі инвариантты табиғи Т-киллер (iNKT) жасушаларына липидті антигендерді ұсынуға қатысатын CD1d молекуласының экспрессиясы болып табылады [295]. CD21, комплементтің C3d-компонентінің рецепторы болып табылатын антигенді BCR-мен байланысқан CD19 корецепторымен бірлескен байланысын қамтамасыз етеді. Мұндай үштік кешеннің түзілуі төмен аффинді антигендермен активация шегін айтарлықтай төмендетеді және Т-жасушалық көмек болмаған жағдайда MZB жасушаларын активтендіруге мүмкіндік береді [296-298].

Фолликулярлық FO-B-лимфоциттері мен маргиналды аймақтың В-лимфоциттері өте белсенді, рецепторлардың алуан түрлілігіне ие және лигандтарды, интерлейкиндерді ынталандыруға жауап береді. Дифференциация мен пролиферацияның осы кезеңінде фолликулярлық FO-B лимфоциттері мен маргиналды аймақтың MZB-лимфоциттері BIV қосылыстарымен ынталандыруға жауап берді, UT жануарлардың мәніне жетті (тіпті көп емес) және салыстырмалы препарат MU белсенділігінен асып түсті. T1C қосылысы B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің жоғарылауын белсенді түрде ынталандырды, белсенділігі бойынша салыстырмалы препарат MU, BIV және PL асып түсті. T1C қосылысының белсенділігі салыстырмалы препарат MU белсенділігінен 1,4 есе асып түсті. T1C тобындағы B220/CD45R⁺CD19^{mid}CD43⁻ FO-B-лимфоциттері мен MZB-лимфоциттерінің, В лимфоциттерінің деңгейі қысқа мерзімде UT жануарлар жасушаларының деңгейіне жетті. Дәл осы кезеңде В-2 лимфоциттерінің В-лимфоциттік популяцияларының сандық толықтығы маңызды. В-лимфоцитарлық жасушалардың жеткіліксіздігі көбінесе инфекциялық іріңді аурулардың жоғарылау қаупімен және патогендік-микрофлораның белсендірілуімен байланысты.

Ары қарай, В-лимфоциттер антигенмен кездеседі. Антидене түзетін жасушалар В-лимфоциттердің туындылары болып табылады. MZB жасушалары

мен В-1в-жасушаларына Т-жасушаларымен өзара байланысынан тыс, IgM және IgG3 антиденелерін өндіру үшін бірнеше сағат/тәулік талап етіледі (иммундық жауаптың бұл түрі, әдетте, ТI-антигендеріне қарсы дамиды). Соңында, ең кешіктірілген (бірнеше күн/апта), бірақ ең жақсы реттелген иммундық жауап плазмалық жасушалардан алынған арнайы антиденелермен (IgG, IgA, IgE) ұсынылған. Иммуноглобулиндер көпшілік жағдайда лимфоидты фолликулалардың ұрықты орталықтардағы антигенге- тәуелді селекциядан өткен В-2 жасуша клондарының туындылары болып табылады. Иммундық жауаптың сипатталған түрін Т-тәуелді антигендер (Т-dependent antigens, TD) туғызады. Бұл модель аясында В-лимфоцит толық белсендірілу 3 ретті сигнал қабылдауы керек: 1. Жетілген аңғал В-жасушасы $IgD^{dim}CD38^{low}$ молекулалық фенотипімен, «қабылдағыштық» күйде (когнитивтік күй) BCR антигенмен байланысқанда (еркін түрінде немесе дендритті жасушалар арқылы презентацияланған) бірінші сигналды қабылдайды. В-жасушасы 2-ші сигналды В-Т-конъюгатты (В-Т-conjugate) түзе отырып, II типті Т-хелпермен (Th2) байланыс орнату арқылы қабылдайды. Тек сол антигенмен байланысқан Th2-жасушалары В-жасушаларымен өзара байланысқа түседі, бұл олардың TCR (T-cell receptor) осы антигеннің Т - жасушалық эпитопына ерекшелігін қамтамасыз етеді. Осылайша, В-және Th2 жасушаларының өзара байланысуы кезінде байланысты тану жүзеге асады, нәтижесінде Th2 жасушасының бетінде мембранада экспрессияланатын CD40-CD40L-рецептор молекуласы пайда болады. Мұндай қосымша костимуляция цитокин рецепторларының В-лимфоциттерінің экспрессия бастамасы мен В-Т-конъюгаттың біріншілік фолликуланың аймаққа миграциясына түрткі болады. CD40/CD40L арқылы сүйек кемігінде сигнал алмаған В-жасушалары анергияға немесе апоптозға түседі. Үшінші сигналдың берілуі цитокиндердің (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-21) [299-301], Th2 жасушасымен өндірілетін, В-жасушасының мембранасында пайда болған арнайы рецепторлармен байланысу арқылы жүзеге асырылады.

Белсендірілу сатысында белсендірілген В-лимфоциттерінің бетінде MHC-I, MHC-II молекулалары, CD40, CD86, CD80 костимуляциялау молекулалары болады [302]. Плазмалық антидене түзетін жасушаларын жад жасушаларынан бөлу үшін алдымен $CD19^{+} MHCII^{+}$ жасушаларының санын, содан кейін $CD19^{+} MHCII^{+}CD40^{+}$ санын анықтадық. MZB лимфоциттеріне IgM және IgG3 антиденелерін Т-жасушаларымен байланысу үшін бірнеше сағат/тәулік қажет. Дәл осы кезеңде $B220/CD45R^{+}CD19^{+}MHC\ class\ II^{+}$ белсендірілген В-лимфоциттері ең көп пролиферативті белсенділікті көрсетеді және олар көкбауырдың фолликулярлық орталықтарының циклофосфамидті цитотоксикалық сарқылуынан кейін плазмалық жасушалардың субпопуляциялық жасушалығын толығымен қалпына келтіріп, UT жануарлардың мәніне жету арқылы BIV қосылыстарының ынталандырылуына жауап берді. BIV қосылысын енгізген тобындағы $B220/CD45R^{+}CD19^{+}MHC\ class\ II^{+}$ белсендірілген В-лимфоциттерінің деңгейі MU тобы деңгейінде болды, PL тобындағы жасушалар деңгейінен 2,19 есе айтарлықтай асып түсті. Бірақ, TIC қосылысы белсенділігі бойынша едәуір асып түсті. TIC қосылысы

B220/CD45R⁺CD19⁺MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттерінің деңгейін қысқа уақыт аралығындағы УТ топтың мәніне дейін жеткізді және MU белсенділігінен, BIV 1,87; 2,06 есе асып түсті.

Жад жасушаларының түзілуі. Біріншілік және екіншілік жауаптың айырмашылығы. В-лимфоциттерінің нақты клондарын белсендіріу кезінде қалыптасқан аздаған лимфобласттар саны плазмалық жасушаларға айналмайды, ол бастапқы клон жасушаларына ұқсас жаңа В-лимфоциттердің статистикалық сенімді мөлшерін түзеді. Басқаша айтқанда, арнайы белсендірілген клонның В-жасушалық популяциясы күшті артады және жаңа В-лимфоциттер осы клонның бастапқы лимфоциттеріне қосылады. Олар сондай-ақ барлық лимфоидты жасушаларға орныға отырып, ағзаның бойымен айналады; иммунологиялық тұрғыдан алғанда бұл лимфоциттер осы антигеннің жаңа мөлшері мен белсендірілгенге дейін қолданылмайды. Бұл лимфоциттер – жад жасушалар деп аталады. Сол антигеннің келесі қайтарымды әсері антиденелердің түзілуінің біршама жылдам және қарқынды реакциясын туындатты: Өйткені жад жасушаларының арнайы клонының В-лимфоциттерінің бастапқы санынан біршама асып түседі.

В жад (V_m) жасушалары иммундық жүйенің орталық буыны болып табылады, өйткені ол SLPC немесе LLPC-ға сигналдардың (антигенге-тәуелді және антигенге-тәуелсіз) үйлесімділік есебінен дифференциациялану қабілетіне ие [303]. Негізгі сигнал, әдетте, осы жасушаларға тән антигеннің бірнеше рет келіп түсуі болып табылады. Морфологиялық жағынан V_m ағзал В-жасушаларына ұқсайды, бірақ оларда костимуляциялау және активациялау маркерлері көбірек экспрессияланады (CD80, CD86, CD93). Адамның V_m жасушалары CD27 маркерінің болуымен сипатталады [151, 307 б., 152, 574 б.]. Сонымен бірге, кейбір V_m оны эспресстемейді. Шығу тегінің айырмашылығынан басқа, V_m CD38, CD21, CD24, CD19, CD25 және CD45 беттік маркерлерінің экспрессия деңгейлерімен, сондай-ақ басқа сипаттамалармен (аутоиммундық аурулардың дамуына ықпалы, тіршілік ету ұзақтығы, *in vivo* тәжірибелерде және т.б. бөліну жылдамдығы және саны) ерекшеленеді. Цитометрияда жиі қолданылатын мембраналық маркерлерге негізделген V_m-нің ең көп таралған екі классификациясы бар. Біріншісі- реттеуші В-жасушаларының (V regulatory cell, Vreg) субпопуляциясын бөліп алу жақында болды. Бұл термин алғаш рет ТАЭ клиникалық көріністерін төмендете алатын IL-10 өндіретін В-жасушаларын сипаттау үшін қолданылды [304, 305]. Дегенмен, Vreg жасушалық микроортамен анықталған факторлардың әсерінен (CD40 арқылы активтендіру, липополисахаридтермен ынталандырушы және ИЛ-5, ИЛ-4 әрекеті) дами алатыны тәжірибелік түрде анықталды. Сонымен қатар, Vreg жасушалық иммундық жауапты осылар арқылы секреттелетін қарсы цитокиндер (ИЛ-1β, ИЛ-35, ИЛ-21, ТФРβ) модуляциялауға қабілетті, атап айтқанда: Т-жасушаларды реттеуші фенотипке қарай ығыстыра отырып, дифференциациясына әсер етеді, iNKT функциясын қолдайды, Tfh, Th1 дифференциациясын тежейді. Сыртқы тітіркендіргіштердің әсерінен аутореактивті В-жасушалары өздерінің фенотипін өзгерте алады, Vreg-ке

айналады, бұл өз кезегінде қалған аутореактивті клондарды жояды деген болжам бар. Бірқатар жұмыстар активтендірілген CD4⁺ Т-жасушаларының апоптозын туғызатын бетінде Fas-лигандын экспрессиялайтын Breg (FasL⁺ IL5RA⁺CD40⁺PD-1⁺CD38⁺) киллер популяциясының бар екендігін көрсетеді. Breg киллердің кейбір бактериялық және паразиттік инфекцияларға қарсы иммундық жауапқа қатысуы да көрсетілген. Жад жасушалары, реттеуші және киллер В-лимфоциттері үшін пролиферативті белсенділік тән емес.

Осылайша, CD40 рецепторы жад жасушаларына, реттеуші және киллер В-лимфоциттерге тән. Жад жасушалары, реттеуші және киллер В-лимфоциттері үшін жоғары пролиферативті белсенділік тән емес, бұл тәжірибе нәтижелері бойынша тіркелген. BIV, T1C қосылыстары B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоциттердің деңгейіне метилурацил препараты деңгейінде статистикалық тұрғыдан маңызды әсер етті. Бірақ B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоциттердің деңгейі UT тобының мәніне жеткен жоқ. B220/CD45R⁺CD19⁺CD40⁺ В-лимфоциттердің деңгейі UT топтың мәніне жетпегенін уақыт аралығының жеткіліксіздігімен түсіндіруге болады. Бірақ, бұл BIV қосылыстарын оң жағынан сипаттайды, өйткені жад клондарының шамадан тыс саны аутоиммундық аурулардың дамуымен, ұлпа жасушаларының антиденеге тәуелді шамадан тыс жойылуымен мәжбүрлі реакцияға әкелуі мүмкін.

BIV қосылысының оң қасиеті: pre-B-I, pre-B-II және жетілмеген В-лимфоциттердің, транзиторлы В-лимфоциттердің, фолликулярлық FO-B-лимфоциттердің және маргинальды MZB-лимфоциттердің, белсендірілген В-лимфоциттер MHC class II⁺, жад жасушалары, реттеуші және киллер В-лимфоциттер пролиферация және дифференциация сатысында статистикалық маңызды В-лимфопоз ынталандырушы белсенділігіне ие болды.

BIV қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитарлық депрессиялық күйлерді емдеуге арналған препарат ретінде перспективалы болып табылады. BIV қосылысы жад жасушаларының, реттеуші және киллер В-лимфоциттердің компенсаторлық пролиферациясын ынталандыру тұрғысынан статистикалық маңызды белсенділікке, бұл аутоиммундық аурулардың дамуымен, тін жасушаларының шамадан тыс антиденеге тәуелді бұзылуымен мәжбүрлі реакцияның дамуына жол бермейді.

T1C қосылысының оң қасиеті: ізашар жасушалардың, Pro-B-I және Pro-B-II жасушаларының, транзиторлы В-лимфоциттердің, фолликулярлық FO-B-лимфоциттердің және маргинальды аймақтағы MZB-лимфоциттердің, белсендірілген В-лимфоциттердің MHC class II пролиферациясы мен дифференциациясы сатысында жоғары В-лимфопозді ынталандырушы белсенділікке ие болды.

Жад жасушаларының, реттеуші және киллер В-лимфоциттердің пролиферациясы мен дифференциациясы сатысында статистикалық маңызды В-лимфопоз ынталандырушы белсенділігіне ие болды.

T1C қосылысы *in vitro* жасуша культурасында ізашарлық жасушалардың, Pro-B-I және Pro-B-II жасушаларының бөлінуін ынталандыруға арналған қосылыс ретінде перспективті дамуға ие.

ТІС қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитарлық депрессиялық жағдайларды емдеуге арналған препарат ретінде перспективалы болып табылады. ТІС қосылысы жад жасушаларының, реттеуші және киллер В-лимфоциттердің компенсаторлық пролиферациясын ынталандыруда статистикалық маңызды белсенділігіне ие болды, бұл аутоиммундық аурулардың дамуымен, ұлпа жасушаларының шамадан тыс антиденеге тәуелді бұзылуымен мәжбүрлі реакцияның дамуына жеделдетілген жауапқа жол бермейді.

3.6 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған миелодепрессия кезінде ВІV және ТІС қосылыстарының сүйек кемігіне, спленоцитарлы регенеративті миелоцитопозге әсері

3.6.1 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған депрессия кезінде сүйек кемігіндегі, спленоцитарлы гранулоцито-моноцитопоз және жаңа синтезделген ВІV, ТІС қосылыстарының гранулоциттер мен моноциттер/макрофагтар деңгейінің қалпына келуіндегі белсенділігі

Гранулоцитопоз мультипотентті ГБЖ жалпы миелоидты ізашар (СМР) жасушасына дейін жетілудің гранулоциттердің түзілуіне әкеп соғатын дифференциация арқылы бірнеше кезеңдерінен тұрады. Негіздемелі жұмыс, Lin⁻ Sca1⁻c-Kit⁺ (жасушалы фенотип) фракциясында СМР жасушаларын айқындап көрсетті. Олар не мегакариоцитарлы және эритроидты жасушалар не тышқандарда Fcγ-II/III (FcγR) и CD34 рецептордың экспрессиясына байланысты макрофагтар және гранулоциттер болуы мүмкін [306, 307].

Жүргізілген тәжірибелер көрсеткендей, салыстырылған препараттардың гемопоэзді тежейтін циклофосфамидке ынталандырушы әсерінің тең емес сипаты олардың әсер ету механизмдерінің әртүрлі болуына байланысты екенін көрсетті. Атап айтқанда, қолданылатын иммуноынталандырушыға байланысты тәжірибелік жануарлардың сүйек кемігіндегі гранулоцит-макрофаг ізашарларының құрамында айтарлықтай айырмашылықтар болды. Миелобластты жасушалар мен гранулоцитарлы лейкоциттердегі Ly-6G(PerCP)⁺ экспрессиясы жасушалардың дифференциациясы мен жетілу деңгейімен тікелей байланысты. Бұл Ly6G жасуша дифференциациясының миелоидтық линиясының жасуша популяциялары үшін жақсы маркер етеді. ВІV қосылысы сүйек кемігі жасушаларының дифференциациясының гранулоцитарлы-моноцитарлы жасушаларының пролиферативті белсенділігін айқын ынталандырды. ВІV қосылысын енгізген топтағы Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардағы жасуша саны ($47,55 \pm 1,60$) аралығында, максималды және минималды таралу ауқымы ($51,1 \pm 44,0$) болды және бұл көрсеткіш бақылау тобы, салыстырмалы препарат МУ тобы деңгейінде ($45,56 \pm 1,02$), таралуы бойынша ($48,6 \pm 43,2$) болды.

Біз берілген өзгерістер қан ағымындағы нейтрофильдердің жетілмеген де жетілген де түрлерінің таралуын арттыратын шұғыл гранулоцитопоз бен байланыстылығы туралы болжам жасадық. Бұл процесс, солға ығысумен немесе айналымдағы нейтрофильдердің жетілмеген түрлерінің басымдылығы мен

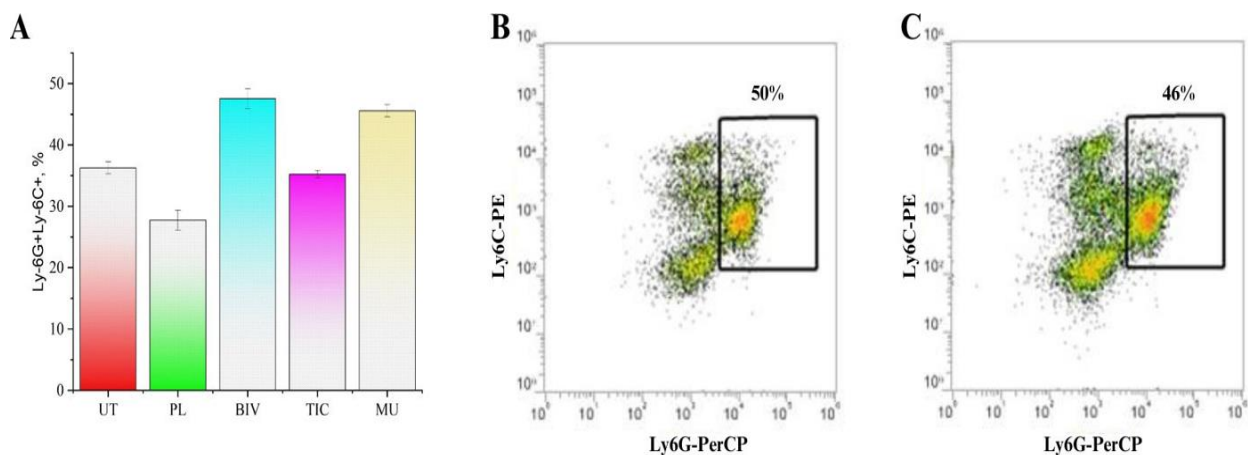
санының ұлғаюына әкелді [308-311]. BIV қосылысын енгізу Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардың PL тобындағы Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ гранулоцитарлы-моноцитарлы қатарынан ($26,76 \pm 1,62$), таралу ауқымы ($31,5 \pm 21,5$) 1,78 есе ($P=0,0000004$ $F > F_{crit}$, $2161120 > 18,51$), UT тобы Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ санынан ($36,28 \pm 1,01$), таралу ауқымы ($38,2 \pm 34,4$) 1,31 есе ($P=0,000001$ $F > F_{crit}$, $635064,5 > 18,51$) жоғары болды. BIV қосылысы гранулоцитралы/макрофагты қатардағы жасушалардың қалпына келу процесіне маңызды әсер етті (кесте 24, сурет 33).

Кесте 24 – Сүйек кемігіндегі гранулоцитралы/моноцитарлы қатардағы жасушалардың көрсеткіштері

№	Сүйек кемігі $M \pm SD$, % (n=6)	
	Жануарлар тобы	Ly-6C ⁺ Ly-6G ⁺ грануло-моноциттер
1	UT	$36,28 \pm 1,01$
2	PL	$26,76 \pm 1,62$
3	BIV	$47,55 \pm 1,60$
4	TIC	$35,25 \pm 0,58$
5	MU	$45,56 \pm 1,02$
P		$P_{3-5} = 0,00005$ $P_{2-3} = 0,0000004$ $P_{1-3} = 0,000001$

Ал, TIC қосылысын енгізген топтағы Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардың саны ($35,25 \pm 0,58$), максималды және минималды таралу көрсеткіші ($36,2 \pm 34,3$) және бұл көрсеткіштер салыстырмалы препарат MU тобынан төмен болды, бірақ Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ санынан PL тобынан ($26,76 \pm 1,62$), таралу ауқымы ($31,5 \pm 21,5$) жоғары болды, сонымен қатар Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ саны UT тобы ($36,25 \pm 1,01$), таралу ауқымы ($38,2 \pm 34,4$) деңгейінде болды [312].

BIV тобының қосылысы арқылы қан түзетін жасушаның қалпына келуін зерттеу тышқандардың сүйек кемігінде тағайындалған ізашар жасушалардың біртіндеп жинақталуын, сондай-ақ салыстырмалы препарат MU тобынан асып түсетін максималды көрсеткіші бар гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардағы Ly-6G(PerCP)⁺, Ly-6C(PE)⁺ жасушаларының жетілу қарқындылығының жоғарылауын анықтады.



- А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).
 В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы грануло-моноциттердің мәні (50,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы грануло-моноциттердің мәні (46,0%).

Сурет 33 – Тышқандардың әртүрлі топтарына BIV, TIC қосылыстарын енгізгеннен кейінгі сүйек кемігіндегі грануло-моноциттердің үлесі

TIC тобындағы $6G(PerCP)^+$, $Ly-6C(PE)^+$ гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардағы жасушалардың саны салыстырмалы препарат MU мәніне жеткен жоқ, бірақ PL топтарынан асып түсті.

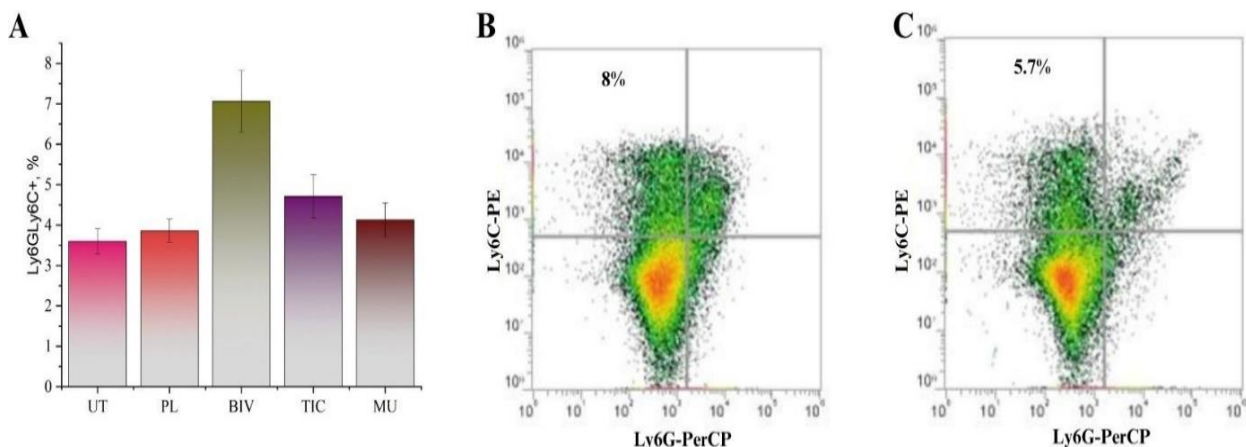
Көкбауыр сепсис кезінде немесе стресс жағдайында қосымша миелоидты жасушаларды үздіксіз өндіруге қабілетті ерекше резервуар болып табылады. BIV, TIC қосылыстарының гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардың $Ly-6G^+Ly-6C^+$ жасушаларының қалпына келуіне әсерін қарастыру өте маңызды болды. Көкбауырда BIV тобындағы гранулоцитарлы-моноцитарлы қатардың $Ly-6G^+Ly-6C^+$ жасушаларының жалпы саны ($7,06 \pm 0,76$) болды, максималды және минималды көрсеткіштің таралу ауқымы ($5,8 \pm 8,3$) және берілген көрсеткіштер басқа топтардың барлық көрсеткіштерінен жоғары болды, атап айтқанда: MU тобынан ($4,13 \pm 0,42$) 1,7 есе ($P=0,00002$ $F > F_{crit}$, $42924,5 > 18,51$), TIC тобынан ($4,71 \pm 0,53$) 1,49 есе ($P=0,00003$ $F > F_{crit}$, $2761,5 > 18,51$), PL ($3,86 \pm 0,29$) тобынан 1,82 есе ($P=0,00001$ $F > F_{crit}$, $51200 > 18,51$), сондай-ақ UT тобы көрсеткішінен ($3,6 \pm 0,31$) 1,96 есе ($P=0,0008$ $F > F_{crit}$, $1185,30 > 18,51$) басым болды.

BIV тобындағы көкбауырдағы моноцитарлы-макрофагалды қатардың $Ly-6G^+Ly-6C^+$ жасушаларының жалпы саны ($16,06 \pm 0,59$) болды, максималды және минималды көрсеткіштің таралу ауқымы ($14,9 \pm 17,2$) және бұл көрсеткіштер басқа топтардың $Ly-6G^+Ly-6C^+$ деңгейінен төмен болды: MU тобында ($21,66 \pm 0,71$) таралуы ($21 \pm 22,5$) 1,34 есе ($P=0,000006$ $F > F_{crit}$, $156800 > 18,51$), TIC тобында ($23,06 \pm 1,16$) 1,43 есе ($P=0,000004$ $F > F_{crit}$, $245000 > 18,51$), сондай-ақ UT топтан ($22,81 \pm 2,67$) таралуымен ($16,4 \pm 29,2$) 1,42 есе ($P=0,002$ $F > F_{crit}$, $432,4 > 18,51$), бірақ PL тобынан жоғары болды (кесте 25, сурет 34, 35).

Кесте 25 – Көкбауырдағы грануло/макрофагалды қатардағы жасушалардың көрсеткіші

№	Көкбауыр $M \pm SD$, % (n=6)		
	Топтар	Ly-6C ⁺ Ly-6G ⁺ Гранулоциттер мен моноциттер	Ly-6C ⁺ Ly-6G ⁻ Макрофагтар
1	UT	3,6 $\pm$ 0,31	22,81 $\pm$ 2,67
2	PL	3,86 $\pm$ 0,29	13,45 $\pm$ 0,91
3	BIV	7,06 $\pm$ 0,76	16,06 $\pm$ 0,59
4	TIC	4,71 $\pm$ 0,53	23,06 $\pm$ 1,16
5	MU	4,13 $\pm$ 0,42	21,66 $\pm$ 0,71
P		$P_{3-5} = 0,00002$ $P_{3-4} = 0,00003$ $P_{3-2} = 0,00001$ $P_{3-1} = 0,0008$	$P_{3-5} = 0,000006$ $P_{3-4} = 0,000004$ $P_{3-1} = 0,002$ $P_{3-2} = 0,00002$ $P_{4-5} = 0,0001$ $P_{4-1} = \text{ш.а.}$
Ескерту-кестеде қысқартулар қолданылған: ш.а.- айырмашылық деңгейі шамалы			

PL тобындағы Ly-6G⁺ Ly-6C⁺ жасуша саны (13,45 $\pm$ 0,91), максималды және минималды көрсеткіштің таралу ауқымымен (10,9 $\pm$ 15,4) және бұл индекс BIV тобы деңгейінен 1,19 есе төмен ($P=0,00002$ $F > F_{\text{crit}}$, 34060,5 $>$ 18,51) болды.

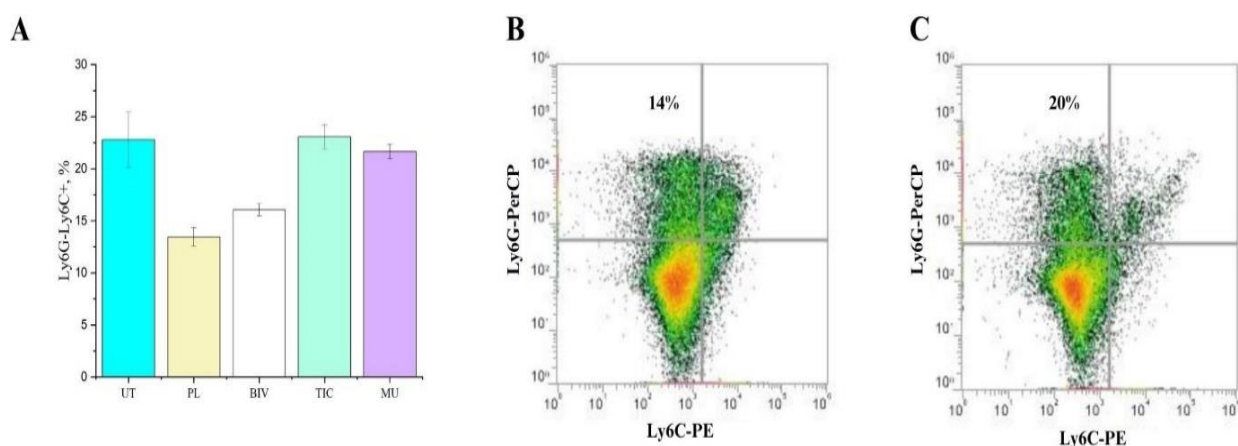


А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).

В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы гранулоциттердің мәні (8,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы гранулоциттердің мәні (5,7%).

Сурет 34 – Тышқандардың әртүрлі топтарына BIV, TIC қосылыстарын енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы гранулоцитралы жасушалар үлесі

Ал, ТІС қосылысы енгізілген топта макрофагты қатардың Ly-6G⁺Ly-6C⁺ жасушаларының саны (23,06±1,16), максималды және минималды таралу ауқымы (20,7±25,6) және берілген көрсеткіштер салыстырмалы препарат МУ тобының (бақылау тобы) (21,66±0,71) Ly-6G⁺Ly-6C⁺ жасушаларының саны деңгейінен шамалы ғана жоғары болды, таралу ауқымы (21±22,5) 1,06 есе (P=0,0001 F>F_{crit}, 9800>18,51), сондай-ақ UT тобындағы Ly-6G⁺ Ly-6C⁺ жасушаларының санынан жоғары таралу ауқымы (16,4±29,2) 1,01 есе (P=0,21 F>F_{crit}, 3,1<18,51) болды. BIV тобы (16,06±0,59) макрофагалды қатары Ly-6G⁺ Ly-6C⁺ жасушаларының санын біршама арттырды, таралу ауқымы (14,9±17,2) 1,43 есе (P=0,000004 F>F_{crit}, 245000>18,51), және PL тобынан (13,45±0,91) таралу ауқымы (10,9±15,4) 1,71 есе (P=0,000002 F>F_{crit}, 461760,5>18,51) жоғарылатты.



А. Топтар бойынша орташа көрсеткіш (M± SD): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).

В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы макрофагтардың мәні (14,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы макрофагтардың мәні (20,0%).

Сурет 35 – Тышқандардың әртүрлі топтарына BIV, TIC қосылыстарын енгізгеннен кейінгі көкбауырдағы макрофагтың үлесі

3.6.2 Циклофосфамидпен ықпалдандырылған сүйек кемігіндегі эритроцитопоз және жаңа синтезделген BIV, TIC қосылыстарының эритроцитопоз деңгейін қалпына келтірудегі белсенділігі

Қызыл қан түйірішіктері (эритроциттер) оттегінің ұлпаларға тасымалдануында маңызды рөл атқаратын ядросыз жасушалар болып табылады. Эритроциттер қанның 1 микролитрінде 5 миллион бола тұрып, қандағы кеңінен таралған жасуша болып табылады. Қандағы эритроциттердің санын ұстап тұру үшін сүйек кемігі 1 секундта 2 млн эритроцит өндіреді. Өндірудің бұл деңгейінде эритроциттер мен эритроцитопоздың өндірілуін бақылаушы ішкі және сыртқы факторлар қатаң түрде үйлесімділікте болуы қажет [313, 314]. Эритроцитопоз реттелуінің клиникалық бұзылуы анемия немесе полицитемия дамуына әкеледі. Ересек сүтқоректілердегі эритроцитопоз сүйек кемігінде гомеостатикалық жағдайда

жүзеге асырылады. Эритропоэз күрделі және динамикалық процесс. Бұл жерде жетілген эритроциттер гемопоэтикалық бағаналы жасушалардан және ізашар жасушалардан түзіледі. Сүйек кемігінде эритроиды ізашарлар бірнеше кезеңдерге дифференциацияланады: ол проэритробласттар, базофильдер, полихроматофильді эритробласттар, ортохроматофильді эритробласттар және соңында энекуляция жолымен түзілетін ретикулоциттер. Эритропоэздің мұндай жекелей кезеңдері морфологиялық тұрғыдан жасушалар көлемінің біртіндеп төмендеуі хроматин конденсациясының артуы және гемоглобинизацияның артуы, сондай-ақ CD71 және Ter119 молекуласының жасуша бетіне экспрессилануы негізінде морфологиялық жолмен анықталды [315].

Циклофосфамидке ең сезімтал эритроидты дифференциация жолының жасушалары болды. Циклофосфамидті интоксикация жасушалардың күрт төмендеуіне әкелді және PL тобында Ter119⁺/CD71⁺ эритроидты жасушалардың деңгейі (5,67±0,85) % құрады, ал UT топтағы мән (25,55±2,60) % болды. PL тобындағы жасушалардың күрт төмендеуі 77,81%, 4,51 есе (P=0,0000005 F>F_{crit}, 1976072>18,51) (кесте 26, сурет 36). Анемия және полицитиемиясы бар ауруларды клиникалық зерттеуден өткізу эритропоэз және сүйек кемігі гомеостазының арасында функционалды байланыс барлығын қарастырады. Анемиялық, сондай-ақ полицитимиялық науқастар сүйек ауруларына бейім келеді. Созылмалы гемолитикалық анемиясы бар аурулар таласемия ауыратындар сияқты сүйек кемігі салмағының аздығынан, сүйектердің сынуы мен ауырсынуынан зардап шегеді. Серповидті-жасушалы анемиясы бар аурулардың 80%-ы сүйек кемігінің тығыздығы төмен болып келеді.

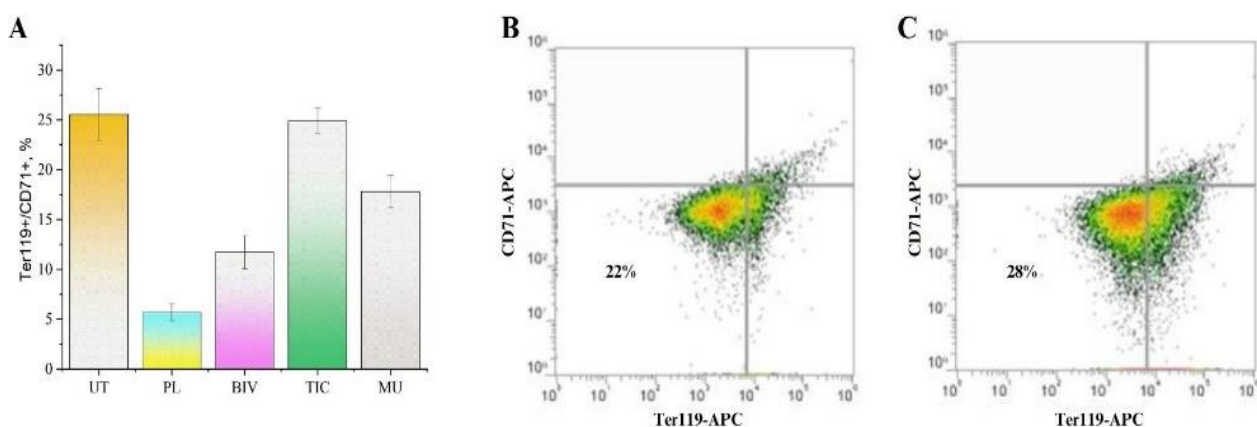
Кесте 26 – Сүйек кемігіндегі эритроциттер көрсеткіші

№	Сүйек кемігі M±SD, % (n=6)	
	Жануарлар тобы	Ter119 ⁺ /CD71 ⁺ эритроциттер
1	UT	25,55±2,60
2	PL	5,67±0,85
3	BIV	17,8±1,6
4	TIC	24,90±1,31
5	MU	11,73±1,65
P		P ₁₋₂ = 0,0000005 P ₃₋₂ = 0,0001 P ₃₋₅ = 0,0006 P ₄₋₂ = 0,0000002 P ₄₋₅ = 0,0000005

BIV қосылысын енгізген топтағы эритроидты қатардағы Ter119⁺/CD71⁺ жасушаларының саны (17,8±1,6) максималды және минималды көрсеткіштің таралу ауқымы (22,4±13,1) құрады және бұл көрсеткіш PL тобының көрсеткішінен (5,67±0,85) таралу ауқымынан (6,6±3,0) 3,13 есе (P=0,0001 F>F_{crit}, 6456,92>18,51) жоғары болды. Сондай-ақ препараттың белсенділігі бойынша

салыстырмалы препарат MU (бақылау тобы) ($11,73 \pm 1,65$), таралуы ($6,2 \pm 17,3$) 1,51 есе ($P=0,000623$ $F > F_{crit}$, $1603,558 > 18,51$) асып түсті. BIV қосылысы енгізілген топтағы $Terr119^+/CD71^+$ эритроидтық қатардағы жасушалардың саны UT топтың мәніне жеткен жоқ [316].

Бірақ, MU қосылысы мен PL тобы препаратынан жоғары болды. Бұл мәліметті пролиферацияның ұзақ мерзімімен, сүйек кемігінің жетілуіне ұзақ уақыт қажет жетілуімен эритроидтарының дифференциациясымен байланыстыруға болады. Жинақталған деректер, эритропоэтин, гликопротеин эритропоэз бен сүйек кемігін үйлесімді реттеуге жауапты фактор бола алатындығын көрсетеді. ЭПО ұлпалардың оксигенациясы өзгерістеріне жауап ретінде эритроциттер санын реттеу үшін қажет. ЭПО эритропоэзді сүйек кемігіндегі эритроидты қатардың ізашар жасушаларындағы рецепторын ынталандыру арқылы эритропоэзді ықпалдандырады, сол арқылы қанның оттегіні тасымалдау қабілетін арттыра отырып, өміршеңдігін, пролиферациясын, дифференциясын ынталандырады.



A. Топтар бойынша орташа көрсеткіш ($M \pm SD$): UT – интакт; MU – метилурацил; PL – плацебо; BIV – БИВ-190 қосылысы (BIV); TIC – БИВ-119 қосылысы (TIC).

В. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, BIV тобындағы эритроциттердің мәні (22,0%). С. Цитофлуориметриялық талдаудың репрезентативті мәліметтері, TIC тобындағы эритроциттердің мәні (28,0%).

Сурет 36 – Тышқандардың әртүрлі топтарына BIV, TIC қосылыстарын енгізгеннен кейінгі сүйек кемігіндегі эритроциттердің үлесі

TIC қосылысы енгізілген топтағы эритроидты қатардағы $Terr119^+/CD71^+$ жасушаларының саны ($24,90 \pm 1,31$), максималды және минималды көрсеткіштің таралу ауқымы ($28,7 \pm 21,2$) құрады және бұл көрсеткіш PL тобының көрсеткіштерінен ($5,37 \pm 1,18$) таралу ауқымын ($6,6 \pm 3,0$), 4,63 есе ($P=0,0000002$ $F > F_{crit}$, $3814209 > 18,51$) және салыстырмалы препарат MU ($11,73 \pm 1,65$) максималды және минималды ауқымы ($6,2 \pm 17,3$) 2,12 есе ($P=0,0000005$ $F > F_{crit}$, $1734489 > 18,51$). жоғары болды. TIC қосылысын енгізген топтағы эритроидты қатардың $Terr119^+/CD71^+$ жасушалардың саны UT топ мәніне жетті дерлік ($25,55 \pm 2,60$), максималды және минималды ауқымы ($21,2 \pm 28,8$). $Terr119^+/CD71^+$

саны PL мен салыстырмалы препарат MU топтарынан едәуір асып түсті, UT топтың мәніне жетті.

Осылайша, BIV қосылысы пролиферативті белсенділікті ынталандыру сатысында және эритроидтық қатардағы Terr119⁺/CD71⁺ жасушаларының тірішілік етуі салыстырмалы препарат метилурацил белсенділігінен асып, белсенділікті көрсетті, ал T1C тобы салыстырмалы препарат MU 2 есе, ал PL тобынан 4 есе асып түсті.

ҚОРЫТЫНДЫ

Циклофосфамидтің В- және Т-лимфопоэз-депрессивті әсері келесідей болды:

1. Циклофосфамидтің Т-лимфопоэз-депрессивті әсері айқындалды:

Сүйек кемігіндегі CD117⁺ ГБЖ бағаналы жасушаларының (40%-дан астам), CD3e⁺ Т-лимфоциттерінің (45,20%-ға) және рециркулдеуші T_{mem}-жад жасушаларының деңгейі (36,91%-ға) айқын төмендеді. Гемопоэзге қатысқан коммитирленген бағаналы жасушалар деңгейінің төмендеуі перифериялық қандағы жасушалар деңгейінің бұзылуымен жүретін панцитопенияға әкелуі мүмкін. Сүйек кемігіндегі T_{mem}-жад жасушаларының деңгейінің төмендеуі екіншілік иммундық жауапта қорғаныштық жадтың қалыптасуына арналған негізгі нишасы ретінде қарастырылуы мүмкін және вакцинация үшін маңызды рөл атқарады, ағзадағы адаптивті иммунитеттің күрт төмендеуіне әкеп соғуы мүмкін.

Тимушта аңғал SP CD3e⁺CD4⁺, SP CD3e⁺CD8⁺ тимоциттердің және жалпы CD3e⁺-Т-лимфоциттердің деңгейін күрт төмендете отырып, тимустың ауқымды сарқылуын (80%-дан астам) туындатты. Тимустың сарқылуы перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерге Т-лимфоциттердің уақытылы емес орналасуына, көкбауырдағы аңғал T_{naiv} фенотипінің аутоагрессивті цитотоксикалық Т-лимфоциттерге трансформациялануына әкелді. Біздің зерттеулер көрсеткендей, тимопоэз тимустағы Т-жасушалы популяцияның тапшылығын толтыруға қабілетті емес, бұл мүшеде рециркулденетін белсендірілген CD4⁺CD25⁺Th_{act}-хелперлердің орнығуы мен жинақталуына әкелді. Th_{act}-белсендірілген хелперлердің санының тым артып кетуі Т-жасушалы популяцияның ауқымының таралуына және функционалды белсенділігінің төмендеуіне әкеп соғуы мүмкін. Бұл, толыққанды иммунды бақылаудың бұзылуымен және онкологиялық, аутоиммунды және инфекциялы аурулардың санының өсуіне әкеп соғуы мүмкін. Алғаш рет, циклофосфан тимуста рециркулдеуші CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің санын төмендеткендігі анықталды, бірақ бұл аңғал SP CD3e⁺CD8⁺тимоциттер деңгейін арттырмады.

Көкбауырда CD3e⁺ Т-лимфоциттердің (24%), CD43⁺ CD3e⁺CD4⁺Th-хелперлы лимфоциттердің, рециркулденетін CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-белсендірілген хелперлердің, рециркулденетін CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің және рециркулденетін CD28⁺CD44⁺CD8a⁺T_{mem}-жад жасушаларының статистикалық төмендеуін туғызды. Митотикалық белсенді аңғал T_{naiv} – лимфоциттердің деңгейінің төмендеуі дифференциацияланған Т-лимфоциттердің популяциясының деңгейінің төмендеуіне әкелуі мүмкін. Қазіргі таңда, Т-лимфоциттердің көбісі перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде жетілетіндігі белгілі. Перифериялық лимфо-миелоидты мүшелерде рециркулденетін FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің төмендеуі рециркулденетін CD43⁺CD3e⁺CD8a⁺ CTL-цитотоксикалық жасушалардың деңгейінің жоғарылауына әкелді. Бұл аутоагрессивті клондардың және аутоиммунды аурулардың туындау қаупінің күшеюіне әкелуі мүмкін.

Көкбауырда $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад лимфоциттердің төмендеуі жүрді. Көкбауырда жад жасушалары санының төмендеуі екіншілік иммундық жауап үшін қорғаныштық жадтың қалыптасуына және ағзадағы адаптивті иммундық жауаптың бірден төмендеуіне әкелуі мүмкін.

2. Циклофосфамидтің В-лимфопоэз-депрессивті әсері келесідей болды:

Сүйек кемігінде және көкбауырда белсенді пролиферацияланатын В-лимфоцитарлы жасушалардың деңгейінің маңызды төмендеуін (33,85 – 54,42%) туғызды: $CD19^+CD43^+$ Pro-B-I-, Pro-B-II-лимфоциттер; $B220^+/CD45R^+CD19^+$ Pre-B-I, Pre-B-II- және жетілмеген В-лимфоциттер; $B220^+/CD45R^+CD43^+CD19^+$ транзиторлы В-лимфоциттер; $B220/CD45R^+CD19^{mid}CD43^-$ FO-B-лимфоциттер мен MZB-лимфоциттер.

Белсенді пролиферацияланатын және иммуноглобулиндердің барлық класын синтездейтін реактивті жасушалардың (68,05 – 74,83%) жойқын төмендеуін туғызды: $B220/CD45R^+CD19^+MHC\ class\ II^+$ белсендірілген В-лимфоциттер, $B220/CD45R^+CD19^+CD40^+$ V_{mem} -жад лимфоциттер. Көкбауырда реактивті $CD19^+CD40^+$ V_{mem} -жад лимфоциттердің төмендеуі екінші иммундық жауап үшін қорғаныштық жадтың түзілуінің төмендеуіне әкелетін гуморальды иммунитеттің реактивті бұзылысына әкеледі. $B220/CD45R^+CD19^+MHC\ class\ II^+$ белсендірілген В-лимфоциттердің төмендеуі гипогаммаглобулинемияға, иммунитеттің адаптивті және туа пайда болған факторлары реактивтілігінің төмендеуіне әкелуі мүмкін.

3. BIV (5-бензил-7-(о-фторбензилиден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен кешені) және TIS (бромид N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний қосылысы) жоғары гемоинталандырушы белсенділікті көрсетті.

4. Қосылыстардың Т-лимфопоэз ынталандырушы белсенділігі:

TIS қосылысы белсенділігі бойынша BIV және Метилурацил қосылысы белсенділігінен асып түсе жоғары Т-лимфопоэз ынталандырушы белсенділігімен ерекшеленді. Ол сүйек кемігінде ($CD117^+$) ГБЖ жасуша деңгейін статистикалық маңызды қалпына келтірді және сүйек кемігінде, тимуста, көкбауырда $CD43^+CD3e^+$ Т-лимфоциттер деңгейін статистикалық маңызды қалпына келтірді; сүйек кемігінде, көкбауырда $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад жасушалары, $CD4^+CD25^+$ Th_{act} -белсендірілген хелперлері деңгейін статистикалық қалпына келтірді. Бірақ, TIS $CD43^+CD3e^+CD8a^+$ CTL-цитотоксикалық Т-лимфоциттердің деңгейін жоғарылатты.

TIS қосылысы $CD3e^+CD44^+T_{mem}$ -жад жасушаларының деңгейін жоғарылта ынталандыруы, қатерлі ісік терапиясы үшін онковакцинаны өндіруде маңызды рөл атқаратын қосылыс ретінде перспективалы болып табылады.

BIV қосылысы Метилурацил белсенділігінен асып түсе, жоғары Т-лимфопоэз ынталандырушы белсенділігімен ерекшеленді. Ол Т-лимфопоэз модуляциялық ерекше белсенділігімен ерекшеленді. BIV сүйек кемігіндегі ($CD117^+$) ГБЖ жасушаларының қайта қалпына келуіне әсер етпеді; $CD3e^+CD19^+$ Т-лимфоциттердің жалпы деңгейін қалпына келтіруде статистикалық маңызды біркелкі қалпына келтірді; $CD43^+CD3e^+CD4^+$ Th-хелперлер мен

CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T_{reg}-реттеуші лимфоциттердің деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін қалпына келтірді; CD43⁺CD3e⁺CD8a⁺ CTL-цитотоксикалық лимфоциттердің жоғары деңгейін төмендетті; CD4⁺CD25⁺ Th_{act}-белсенді хелперлер мен CD28⁺CD44⁺CD8a⁺T_{mem}-жад жасушалардың деңгейін физиологиялық қалыпқа дейін қалпына келтірді.

BIV циклофосфамидпен ықпалдандырылған екіншілік миело- мен лимфопоз-депрессия кезінде Т-лимфоциттер популяциясының жоғары және төменгі көрсеткіштерін физиологиялық қалыпқа дейін біркелкі Т-лимфоцит ынталандырушы (модуляциялық) қосылысы ретінде ары қарайғы перспективаға ие.

5. Қосылыстың В-лимфопоз ынталандырушы белсенділігі:

ТІС қосылысы пролиферация және ізашарлы жасушалардың дифференциациясы сатысында Pro-B-I, Pro-B-II–лимфоциттер, транзиторлы В-лимфоциттер, фолликулярлы FO-B-лимфоциттер мен маргиналды аймақтың MZB-лимфоциттері, MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттер жоғары В-лимфопоз ынталандырушы белсенділік көрсетті. ТІС қосылысы В_{mem}-жад жасушасы гомеостатикалық пролиферациясын ынталандыруға қатысты, аутоиммунды аурулардың дамуына әкелетін көптеген антидене-тәуелді жасушаларының күшейтілген жауабының дамуын алдын алады.

ТІС қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитарлы депрессиялық жағдайда терапия ретінде перспективалы болып табылады.

BIV қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитарлы депрессиялық жағдайда pre-B-I, pre-B-II, жетілмеген В-лимфоциттер, транзиторлы В-лимфоциттер, фолликулярлы FO-B-лимфоциттер, маргиналды аймақтағы MZB-лимфоциттер, MHC class II⁺ белсендірілген В-лимфоциттер, В_{mem}-жад жасушалары пролиферациясы мен дифференциациясы сатысында статистикалық маңызды В-лимфопоз ынталандырушы белсенділікке ие болды.

BIV қосылысы циклофосфамидпен ықпалдандырылған В-лимфоцитарлы депрессиялық жағдайда терапия ретінде перспективаға ие.

6. BIV қосылысы эритроциттер, гранулоциттер, моноциттер деңгейін статистикалық маңызды миелоынталандырушы белсенділігіне ие болды. ТІС қосылысы эритроциттер, гранулоциттер мен моноциттер деңгейін тиімді қалпына келтіре, жоғары миелоынталандырушы белсенділікке ие болды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Токаев К. Послание Главы государства Касым-Жомарта Токаева народу Казахстана [Message from the Head of State Kassym-Zhomart Tokayev to the people of Kazakhstan]. – 2021.
2. Абдреева Г. У. Здоровье населения, проживающего в зоне экологического предкризисного состояния //Здравоохранение Казахстана. – 2005. – №. 4. – С. 17-19.
3. Аманжол И. А. Стратегические подходы управления экологическими рисками на урбанизированных территориях //Гигиена труда и медицинская экология. – 2012. – №. 4. – С. 7-11.
4. Волков А. Г., Трофименко С. Л. Клинические проявления вторичного иммунодефицита при заболеваниях ЛОР органов. – Джангар, – 2007. – 176 с.
5. Машковский М. Д. : Лекарственные средства Минск Беларусь, 1987 //Т. – 1987. – Т. 2. – С. 384-387.
6. Ширинский В. С., Старостина, Н. М., Сенникова, Ю. А., Малышева, О. А. Проблемы диагностики и классификации вторичных иммунодефицитов //Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1. – №. 1. – С. 62-70.
7. Мухаметжанова З. Т. Современное состояние проблемы загрязнения окружающей среды //Гигиена труда и медицинская экология. – 2017. – №. 2 (55). – С. 11-20.
8. Абжанова Ш. А., Байболова Л. К., Рскелдиев Б. А. Изучение функционально-технологических свойств конины. – 2016. –118 с.
9. Тулебаев Р. К., Слажнева Т. И., Кенесариев У. И., Белоног А. А., Корчевский А. А. Оценка гигиенических рисков в промышленных регионах Республики Казахстан //Алматы: Искандер. – 2004. – С. 281.
10. Нурмадиева Г. Т., Жетписбаев Б. А. Влияние экосистемы на здоровье человека в промышленно развитых регионах Казахстана. Обзор литературы //Наука и здравоохранение. – 2018. – №. 4. – С. 107-132.
11. Анзельм К. А. Наблюдения за наличием тяжелых металлов в пахотном горизонте орошаемых сероземов Южного Казахстана //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2012. – №. 3. – С. 142-145.
12. Адрышев А. К. Техногенное загрязнение природной среды отходами нефтегазовой отрасли //Актуальные проблемы экологической безопасности с пути их решения в Казахстане.-Усть-Каменогорск: ВКГТУ. – 2008. – С. 55–109.
13. Lee W. J., Lee T. A., Calip G. S., Suda K. J., Briars L., Schumock G. T. Risk of Serious Bacterial Infection Associated With Tumor Necrosis Factor–Alpha Inhibitors in Children and Young Adults With Inflammatory Bowel Disease //Inflammatory Bowel Diseases. – 2018. – V. 24. – №. 4. – P. 883-891.
14. McAtee C. L., Lubega J., Underbrink K., Curry K., Msaouel P., Barrow M., Bernhardt M. B. Association of rituximab use with adverse events in children, adolescents, and young adults //JAMA Network Open. – 2021. – V. 4. – №. 2. – P. e2036321-e2036321.

15. De Vita M. V., Scolfaro, C., Santini, B., Lezo, A., Gobbi, F., Buonfrate, D., Morino, G. Malnutrition, morbidity and infection in the informal settlements of Nairobi, Kenya: an epidemiological study //Italian journal of pediatrics. – 2019. – V. 45. – №. 1. – P. 1-11.
16. Müller M., Dahdal S., Saffarini M., Uehlinger D., Arampatzis S. Evaluation of Nutrition Risk Screening Score 2002 (NRS) assessment in hospitalized chronic kidney disease patient //PloS one. – 2019. – V. 14. – №. 1. – P. e0211200.
17. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии //Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000. – Т. 1. – С. 9-16.
18. Пинегин Б. В., Хаитов Р. М. Современные принципы создания иммуноотропных лекарственных препаратов //Иммунология. – 2019. – Т. 40. – №. 6. – С. 57-62.
19. Салохиддинов Ф. Б., Иноятова Ф. Х., Каримов М. Ю. Некоторые механизмы посттравматической иммуносупрессии и возможность их коррекции полиоксидонием //Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan. – 2021. – С. 31-37.
20. Busch K., Klapproth K., Barile M., Flossdorf M., Holland-Letz T., Schlenner S. M., Rodewald H. R. Fundamental properties of unperturbed haematopoiesis from stem cells in vivo //Nature. – 2015. – V. 518. – №. 7540. – P. 542-546.
21. Sawai C. M., Babovic S., Upadhaya S., Knapp D. J., Lavin Y., Lau C. M., Reizis B. Hematopoietic stem cells are the major source of multilineage hematopoiesis in adult animals //Immunity. – 2016. – V. 45. – №. 3. – P. 597-609.
22. Rodriguez-Fraticelli A. E., Wolock S. L., Weinreb C. S., Panero R., Patel S. H., Jankovic M., Camargo F. D. Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis //Nature. – 2018. – V. 553. – №. 7687. – P. 212-216.
23. Säwen P., Eldeeb M., Erlandsson E., Kristiansen T. A., Laterza C., Kokaia Z., Bryder D. Murine HSCs contribute actively to native hematopoiesis but with reduced differentiation capacity upon aging //Elife. – 2018. – V. 7. – P. e41258.
24. Morrison S. J., Scadden D. T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells //Nature. – 2014. – V. 505. – №. 7483. – P. 327-334.
25. Kiel M. J., Yilmaz Ö. H., Iwashita T., Yilmaz O. H., Terhorst C., Morrison, S. J. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells //Cell. – 2005. – V. 121. – №. 7. – P. 1109-1121.
26. Sugiyama T., Kohara H., Noda M., Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches //Immunity. – 2006. – V. 25. – №. 6. – P. 977-988.
27. Nombela-Arrieta C., Pivarnik G., Winkel B., Canty K. J., Harley B., Mahoney J. E., Silberstein L. E. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment //Nature cell biology. – 2013. – V. 15. – №. 5. – P. 533-543.
28. Acar M., Kocherlakota K. S., Murphy M. M., Peyer J. G., Oguro H., Inra C. N., Morrison, S. J. Deep imaging of bone marrow shows non-dividing stem cells are mainly perisinusoidal //Nature. – 2015. – V. 526. – №. 7571. – P. 126-130.

29. Chen Q., Liu Y., Jeong H. W., Stehling M., Zhou B., Adams R. H. Apelin+ endothelial niche cells control hematopoiesis and mediate vascular regeneration after myeloablative injury //Cell stem cell. – 2019. – V. 25. – №. 6. – P. 768-783. e6.
30. Christodoulou C., Spencer, J. A., Yeh, S. C. A., Turcotte, R., Kokkaliaris, K. D., Panero, R., Camargo, F. D. Live-animal imaging of native haematopoietic stem and progenitor cells //Nature. – 2020. – V. 578. – №. 7794. – P. 278-283.
31. Kokkaliaris K. D., Kunz, L., Cabezas-Wallscheid, N., Christodoulou, C., Renders, S., Camargo, F., Schroeder, T. Adult blood stem cell localization reflects the abundance of reported bone marrow niche cell types and their combinations //Blood. – 2020. – V. 136. – №. 20. – P. 2296-2307.
32. Ding L., Morrison S. J. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches //Nature. – 2013. – V. 495. – №. 7440. – P. 231–235.
33. Greenbaum A., Hsu Y. M. S., Day R. B., Schuettpeiz L. G., Christopher M. J., Borgerding J. N., Link D. C. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance //Nature. – 2013. – V. 495. – №. 7440. – P. 227-230.
34. Oguro H., Ding L., Morrison S. J. SLAM family markers resolve functionally distinct subpopulations of hematopoietic stem cells and multipotent progenitors //Cell stem cell. – 2013. – V. 13. – №. 1. – P. 102–116.
35. Gomes A. C., Hara T., Lim V. Y., Herndler-Brandstetter D., Nevius E., Sugiyama T., Pereira J. P. Hematopoietic stem cell niches produce lineage-instructive signals to control multipotent progenitor differentiation //Immunity. – 2016. – V. 45. – №. 6. – P. 1219-1231.
36. Zhang J., Wu Q., Johnson C. B., Pham G., Kinder J. M., Olsson A., Lucas, D. In situ mapping identifies distinct vascular niches for myelopoiesis //Nature. – 2021. – V. 590. – №. 7846. – P. 457-462.
37. Shen B., Tasdogan A., Ubellacker J. M., Zhang J., Nosyreva E. D., Du L., Morrison S. J. A mechanosensitive peri-arteriolar niche for osteogenesis and lymphopoiesis //Nature. – 2021. – V. 591. – №. 7850. – P. 438-444.
38. Cvejic A. Mechanisms of fate decision and lineage commitment during haematopoiesis //Immunology and cell biology. – 2016. – V. 94. – №. 3. – P. 230-235. <https://doi.org/10.1038/icb.2015.96>
39. Akashi K., He X., Chen J., Iwasaki H., Niu C., Steenhard B., Li L. (2003). Transcriptional accessibility for genes of multiple tissues and hematopoietic lineages is hierarchically controlled during early hematopoiesis //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2003. – V. 101. – №. 2. – P. 383-389.
40. Iwasaki H., Mizuno S. I., Wells R. A., Cantor A. B., Watanabe S., Akashi K. GATA-1 converts lymphoid and myelomonocytic progenitors into the megakaryocyte/erythrocyte lineages //Immunity. – 2003. – V. 19. – №. 3. – P. 451-462. [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(02\)00201-0](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00201-0)
41. Nandakumar S. K., Ulirsch J. C., Sankaran V. G. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives //British journal of haematology. – 2016. – V. 173. – №. 2. – P. 206-218. <https://doi.org/10.1111/bjh.13938>

42. Paul F., Arkin Y. A., Giladi A., Jaitin D. A., Kenigsberg E., Keren-Shaul H., Amit I. Transcriptional heterogeneity and lineage commitment in myeloid progenitors //Cell. – 2015. – V. 163. – №. 7. – P. 1663-1677. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.013>
43. Notta F., Zandi S., Takayama N., Dobson S., Gan O. I., Wilson G., Dick J. E. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny //Science. – 2016. – V. 351. – №. 6269. – P. aab2116. <https://doi.org/10.1126/science.aab2116>
44. Doulatov S., Notta F., Eppert K., Nguyen L. T., Ohashi P. S., Dick J. E. Revised map of the human progenitor hierarchy shows the origin of macrophages and dendritic cells in early lymphoid development //Nature immunology. – 2010. – V. 11. – №. 7. – P. 585-593. – DOI: 10.1038/ni.1889.
45. Bartels M., Govers A. M., Fleskens V., Lourenço A. R., Pals C. E., Vervoort S. J., Coffier P. J. Acetylation of C/EBP «is a prerequisite for terminal neutrophil differentiation //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2015. – V. 125. – №. 11. – P. 1782-1792. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-12-543850>
46. Hattori T., Ohoka N., Inoue Y., Hayashi H., Onozaki K. C/EBP family transcription factors are degraded by the proteasome but stabilized by forming dimer //Oncogene. – 2003. – V. 22. – №. 9. – P. 1273-1280. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206204>
47. Ohlsson E., Fröhling S., Krämer A. Role of chromosomal aberrations in clonal diversity and progression of acute myeloid leukemia //Leukemia. – 2015. – V. 29. – №. 6. – P. 1243-1252. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.32>
48. Balamurugan K., Sterneck E. The many faces of C/EBP δ and their relevance for inflammation and cancer //International journal of biological sciences. – 2013. – T. 9. – №. 9. – C. 917. doi:10.7150/ijbs.7224
49. Cirilli M., Bereshchenko O., Ermakova O., Nerlov C. Insights into specificity, redundancy and new cellular functions of C/EBP α and C/EBP β transcription factors through interactome network analysis //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 2017. – V. 1861. – №. 2. – P. 467-476. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.10.002>
50. Gade P., Kimball A. S., DiNardo A. C., Gangwal P., Ross D. D., Boswell H. S., Kalvakolanu D. V. Death-associated protein kinase-1 expression and autophagy in chronic lymphocytic leukemia are dependent on activating transcription factor-6 and CCAAT/enhancer-binding protein- β //Journal of Biological Chemistry. – 2016. – V. 291. – №. 42. – P. 22030-22042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.725796>
51. Bararia D., Kwok H. S., Welner R. S., Numata A., Sárosi M. B., Yang H., Tenen D. G. Acetylation of C/EBP α inhibits its granulopoietic function //Nature communications. – 2016. – V. 7. – №. 1. – P. 10968. <https://doi.org/10.1038/ncomms10968>
52. Lawrence S. M., Corriden R., Nizet V. The ontogeny of a neutrophil: mechanisms of granulopoiesis and homeostasis //Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2018. – V. 82. – №. 1. – P. 10.1128/mmbr.00057-17.
53. Ma O., Hong S., Guo H., Ghiaur G., Friedman A. D. Granulopoiesis requires increased C/EBP α compared to monopoiesis, correlated with elevated Cebpa in

- immature G-CSF receptor versus M-CSF receptor expressing cells //PLoS One. – 2014. – V. 9. – №. 4. – P. e95784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095784>
54. Liu Q., Dong F. Gfi-1 inhibits the expression of eosinophil major basic protein (MBP) during G-CSF-induced neutrophilic differentiation //International journal of hematology. – 2012. – V. 95. – P. 640-647. <https://doi.org/10.1007/s12185-012-1078-x>
 55. Sheshachalam A., Srivastava N., Mitchell T., Lacy P., Eitzen G. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils //Frontiers in immunology. – 2014. – T. 5. – C. 1-12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00448>
 56. Johansen L. M., Iwama A., Lodie T. A., Sasaki K., Felsher D. W., Golub T. R., Tenen D. G. c-Myc is a critical target for c/EBP α in granulopoiesis //Molecular and cellular biology. – 2001. – V. 21. – №. 11. – P. 3789-3806. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.11.3789-3806.2001>
 57. Wang Q., Friedman A. D. C/EBPs are required for granulopoiesis independent of their induction of the granulocyte-colony stimulating factor receptor //Blood. – 2002. – V. 99. – P. 2776-2785. <https://doi.org/10.1182/blood.V99.8.2776>
 58. Fiedler K., Brunner C. The role of transcription factors in the guidance of granulopoiesis //American journal of blood research. – 2012. – V. 2. – №. 1. – P. 57.
 59. Athens J. W. Blood: leukocytes //Annual review of physiology. – 1963. – V. 25. – №. 1. – P. 195-212. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.25.030163.001211>
 60. Summers C., Rankin S. M., Condliffe A. M., Singh, N., Peters A. M., Chilvers E. R. Neutrophil kinetics in health and disease //Trends in immunology. – 2010. – V. 31. – №. 8. – P. 318-324. <https://doi.org/10.1016/j.it.2010.05.006>
 61. Dancy J. T. Deubelbeiss K.A., Harker L.A., Finch C.A. //Neutrophil kinetics in man. J Clin Invest. – 1976. – V. 58. – P. 705-715. <https://doi.org/10.1172/JCI108517>
 62. Burdon P. C. E., Martin C., Rankin S. M. Migration across the sinusoidal endothelium regulates neutrophil mobilization in response to ELR+ CXC chemokines //British journal of haematology. – 2008. – V. 142. – №. 1. – P. 100-108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07018.x>
 63. Slayton W. B. et al. The first-appearance of neutrophils in the human fetal bone marrow cavity //Early human development. – 1998. – V. 53. – №. 2. – P. 129-144. [https://doi.org/10.1016/S0378-3782\(98\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0378-3782(98)00049-8)
 64. Remington J. S., Wilson C. B., Nizet V., Klein J. O., Maldonado Y. Infectious diseases of the fetus and newborn E-book. – Elsevier Health Sciences, 2010.
 65. Luis T.C, Killmann N., Staal F. J. T. Signal transduction pathways regulating hematopoietic stem cell biology: introduction to a series of Spotlight Reviews //Leukemia. – 2012. – V. 26. – №. 1. – P. 86-90. <https://doi.org/10.1038/leu.2011.260>
 66. Gong J. K. Endosteal marrow: a rich source of hematopoietic stem cells //Science. – 1978. – V. 199. – №. 4336. – P. 1443-1445. <https://doi.org/10.1126/science.75570>
 67. Borregaard N., Nauseef W. M. Neutrophils at work //Nature immunology. – 2014. – V. 15. – №. 7. – P. 602-611. <https://doi.org/10.1038/ni.2921>

68. Ding L., Ley T. J., Larson D. E., Miller C. A., Koboldt D. C., Welch J. S., DiPersio J. F. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing //Nature. – 2012. – V. 481. – №. 7382. – P. 506-510. <https://doi.org/10.1038/nature10783>
69. Zaretsky A. G., Engiles J. B., Hunter C. A. Infection-induced changes in hematopoiesis //The Journal of Immunology. – 2014. – V. 192. – №. 1. – P. 27-33. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302061>
70. WM N., Borregaard N. Neutrophils at work //Nat Immunol. – 2014. – V. 15. – P. 602-11. <https://doi.org/10.1038/ni.2921>
71. Jiao J., Dragomir A. C., Kocabayoglu P., Rahman A. H., Chow A., Hashimoto D., Aloman C. Central role of conventional dendritic cells in regulation of bone marrow release and survival of neutrophils //The Journal of Immunology. – 2014. – V. 192. – №. 7. – P. 3374-3382. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300237>
72. Kennedy A. D., DeLeo F. R. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection //Immunologic research. – 2009. – V. 43. – P. 25-61. <https://doi.org/10.1007/s12026-008-8049-6>
73. Faurschou M., Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation //Microbes and infection. – 2003. – V. 5. – №. 14. – P. 1317-1327. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2003.09.008>
74. Bainton D. F., Ulflyot J.L., Farquhar M.G. //The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. J Exp Med. – 1971. – V. 134. – P. 907-934. <https://doi.org/10.1084/jem.134.4.907>
75. Fraschilla I., Pillai S. Viewing Siglecs through the lens of tumor immunology //Immunological reviews. – 2017. – V. 276. – №. 1. – P. 178-191. <https://doi.org/10.1111/imr.12440>
76. Pham C. T. N. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation //Nature Reviews Immunology. – 2006. – V. 6. – №. 7. – P. 541-550. <https://doi.org/10.1038/nri1841>
77. Bjerregaard M. D., Jurlander J., Klausen P., Borregaard N., Cowland J. B. The in vivo profile of transcription factors during neutrophil differentiation in human bone marrow //Blood. – 2003. – V. 101. – №. 11. – P. 4322-4332. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-03-0835>
78. Guo H., Ma O., Speck N.A., Friedman AD. Runx1 deletion or dominant inhibition reduces Cebpa transcription via conserved promoter and distal enhancer sites to favor monopoiesis over granulopoiesis //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2012. – V. 119. – №. 19. – P. 4408-4418. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-12-397091>
79. Cowland J.B., Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils //Immunological reviews. – 2016. – T. 273. – №. 1. – C. 11-28. <https://doi.org/10.1111/imr.12440>
80. Hock H., Hamblen M. J., Rooke H. M., Traver D., Bronson R. T., Cameron S., Orkin S. H. Intrinsic requirement for zinc finger transcription factor Gfi-1 in neutrophil differentiation //Immunity. – 2003. – V. 18. – №. 1. – P. 109-120. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(02\)00501-0](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00501-0)

81. Ostuni R., Natoli G., Cassatella M. A., Tamassia N. Epigenetic regulation of neutrophil development and function // *Seminars in Immunology*. – Academic Press, 2016. – V. 28. – №. 2. – P. 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.04.002>
82. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes // *Immunity*. – 2010. – V. 33. – №. 5. – P. 657-670. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.11.011>
83. Clements W. K. A somitic Wnt16/Notch pathway specifies haematopoietic stem cells // *Nature*. – 2011. – V. 474. – №. 7350. – P. 220-224. <https://doi.org/10.1038/nature10107>
84. Klimenkova O., Ellerbeck W., Klimiankou M., Ünalán M., Kandabarau S., Gigina A., Skokowa J. A lack of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) causes defects in granulocytic differentiation // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2014. – V. 123. – №. 8. – P. 1239-1249.
85. Naik S., Metcalf D., Van Nieuwenhuijze A., Wicks I., Wu L., O'Keeffe M., Shortman K. Intrasplenic steady-state dendritic cell precursors that are distinct from monocytes // *Nature immunology*. – 2006. – V. 7. – №. 6. – P. 663-671. <https://doi.org/10.1038/ni1340>
86. Onai N., Obata-Onai A., Schmid M. A., Ohteki T., Jarrossay D., Manz M. G. Identification of clonogenic common Flt3⁺ M-CSFR⁺ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow // *Nature immunology*. – 2007. – V. 8. – №. 11. – P. 1207-1216. <https://doi.org/10.1038/ni1518>
87. Auffray C., Fogg D. K., Narni-Mancinelli E., Senechal B., Trouillet C., Sæderup N., Geissmann F. CX3CR1⁺ CD115⁺ CD135⁺ common macrophage/DC precursors and the role of CX3CR1 in their response to inflammation // *Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – V. 206. – №. 3. – P. 595-606. <https://doi.org/10.1084/jem.20081385>
88. Auffray C., Fogg D., Garfa M., Elain G., Join-Lambert O., Kayal S., Geissmann F. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior // *Science*. – 2007. – V. 317. – №. 5838. – P. 666-670. [doi:10.1126/science.1142883](https://doi.org/10.1126/science.1142883)
89. Carlin L., Stamatiades E.G., Auffray C., Hanna R.N., Glover L., Vizcay-Barrena G. Nr4a1-dependent Ly6Clow monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal // *Cell*. – 2013. – V. 153. – №. 2. – P. 362-375. [doi:10.1016/j.cell.2013.03.010](https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.010)
90. Nahrendorf M., Swirski F. K., Aikawa E., Stangenberg L., Wurdinger T., Figueiredo J.L., Libby P., Weissleder R., Pittet M.J. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and 597 complementary functions // *J Exp Med*. – V. 204. – P. 3037-3047. <https://doi.org/10.1084/jem.20070885>
91. Swirski F., Nahrendorf M., Etzrodt M., Wildgruber M., Cortez-Retamozo V., Panizzi P. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites // *Science*. – 2009. – V. 325. – №. 5940. – P. 612-616. [doi:10.1126/science.1175202](https://doi.org/10.1126/science.1175202)
92. Klimchenko O., Di Stefano A., Geoerger B., Hamidi S., Opolon P., Robert T., Norol F. Monocytic cells derived from human embryonic stem cells and fetal liver

share common differentiation pathways and homeostatic functions //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2011. – V. 117. – №. 11. – P. 3065-3075. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-295246>

93. Saule P., Trauet J., Dutriez V., Lekeux V., Dessaint J. P., Labalette M. Accumulation of memory T cells from childhood to old age: central and effector memory cells in CD4⁺ versus effector memory and terminally differentiated memory cells in CD8⁺ compartment //Mechanisms of ageing and development. – 2006. – V. 127. – №. 3. – P. 274-281.

94. Goronzy J. J., Weyand C. M. Successful and maladaptive T cell aging //Immunity. – 2017. – V. 46. – №. 3. – P. 364-378.

95. Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 //Science. – 2003. – V. 299. – №. 5609. – P. 1057-1061.

96. Watanabe N., Wang Y. H., Lee H. K., Ito T., Wang Y. H., Cao W., Liu Y. J. (Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in human thymus //Nature. – 2005. – V. 436. – №. 7054. – P. 1181-1185.

97. Seddiki N., Santner-Nanan B., Tangye S. G., Alexander S. I., Solomon M., Lee S., de Saint Groth B. F. Persistence of naive CD45RA⁺ regulatory T cells in adult life //Blood. – 2006. – V. 107. – №. 7. – P. 2830-2838.

98. Cupedo T., Nagasawa M., Weijer K., Blom B., Spits H. Development and activation of regulatory T cells in the human fetus //European journal of immunology. – 2005. – V. 35. – №. 2. – P. 383-390.

99. Michaëlsson J., Mold J. E., McCune J. M., Nixon D. F. Regulation of T cell responses in the developing human fetus //The Journal of Immunology. – 2006. – V. 176. – №. 10. – P. 5741-5748.

100. Dalmaso A. P., Martinez C., Sjodin K., Good R. A. Studies on the role of the thymus in immunobiology: Reconstitution of immunologic capacity in mice thymectomized at birth //The Journal of experimental medicine. – 1963. – V. 118. – №. 6. – P. 1089-1109.

101. Sakaguchi S., Takahashi T., Nishizuka Y. Study on cellular events in postthymectomy autoimmune oophoritis in mice. I. Requirement of Lyt-1 effector cells for oocytes damage after adoptive transfer //The Journal of experimental medicine. – 1982. – V. 156. – №. 6. – P. 1565-1576.

102. Sakaguchi S., Asano M., Itoh M., Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases //Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950). – 1995. – V. 155. – №. 3. – P. 1151-1164.

103. Mancebo E., Clemente J., Sanchez J., Ruiz-Contreras J., De Pablos P., Cortezon S., Allende L. M. Longitudinal analysis of immune function in the first 3 years of life in thymectomized neonates during cardiac surgery //Clinical & Experimental Immunology. – 2008. – V. 154. – №. 3. – P. 375-383.

104. Wells W. J., Parkman R., Smogorzewska E., Barr M. Neonatal thymectomy: does it affect immune function? //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 1998. – V. 115. – №. 5. – P. 1041-1046.

105. Prelog M., Keller M., Geiger R., Brandstätter A., Würzner R., Schweigmann U., Grubeck-Loebenstien B. Thymectomy in early childhood: Significant alterations of the CD4⁺ CD45RA⁺ CD62L⁺ T cell compartment in later life //Clinical immunology. – 2009. – V. 130. – №. 2. – P. 123-132.
106. Van Den Broek T., Delemarre E. M., Janssen W. J., Nievelstein R. A., Broen J. C., Tesselaar K., Van Wijk F. Neonatal thymectomy reveals differentiation and plasticity within human naive T cells //The Journal of clinical investigation. – 2016. – V. 126. – №. 3. – P. 1126-1136.
107. Silva S. L., Albuquerque A., Amaral A. J., Li Q. Z., Mota C., Cheynier R., Sousa A. E. Autoimmunity and allergy control in adults submitted to complete thymectomy early in infancy //PloS one. – 2017. – V. 12. – №. 7. – P. e0180385.
108. Bennett C., Christie J., Ramsdell F., Brunkow M. E., Ferguson P. J., Whitesell L., Ochs H. D. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3 //Nature genetics. – 2001. – V. 27. – №. 1. – P. 20-21.
109. Qi Q., Liu Y., Cheng Y., Glanville J., Zhang D., Lee J. Y., Goronzy J. J. Diversity and clonal selection in the human T-cell repertoire //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2014. – V. 111. – №. 36. – P. 13139-13144.
110. Thome J. J. C., Bickham K. L., Ohmura Y., Kubota M., Matsuoka N., Gordon C., Farber D. L. Early-life compartmentalization of human T cell differentiation and regulatory function in mucosal and lymphoid tissues //Nature medicine. – 2016. – V. 22. – №. 1. – P. 72-77.
111. Thome J. J. C., Grinshpun B., Kumar B. V., Kubota M., Ohmura Y., Lerner H., Farber D. L. Long-term maintenance of human naïve T cells through in situ homeostasis in lymphoid tissue sites //Science immunology. – 2016. – V. 1. – №. 6. – P. eaah6506.
112. Thome J. J. C., Yudanin N., Ohmura Y., Kubota M., Grinshpun B., Sathaliyawala T., Farber D. L. Spatial map of human T cell compartmentalization and maintenance over decades of life //Cell. – 2014. – V. 159. – №. 4. – P. 814-828.
113. Mold J. E., Michaëlsson J., Burt T. D., Muench M. O., Beckerman K. P., Busch M. P., McCune J. M. Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero //Science. – 2008. – V. 322. – №. 5907. – P. 1562-1565.
114. Golding A., Darko S., Wylie W. H., Douek D. C., Shevach E. M. Deep sequencing of the TCR-β repertoire of human forkhead box protein 3 (FoxP3)⁺ and FoxP3[–] T cells suggests that they are completely distinct and non-overlapping //Clinical & Experimental Immunology. – 2017. – V. 188. – №. 1. – P. 12-21.
115. Thiault N., Darrigues J., Adoue V., Gros M., Binet B., Peral C., Romagnoli P. Peripheral regulatory T lymphocytes recirculating to the thymus suppress the development of their precursors //Nature immunology. – 2015. – V. 16. – №. 6. – P. 628-634.
116. Silva S. L., Albuquerque, A. S., Serra-Caetano, A., Foxall, R. B., Pires, A. R., Matoso, P., Sousa, A. E. Human naive regulatory T-cells feature high steady-state turnover and are maintained by IL-7 //Oncotarget. – 2016. – V. 7. – №. 11. – P. 12163.

117. McGovern N., Shin A., Low G., Low D., Duan K., Yao L. J., Ginhoux F. Human fetal dendritic cells promote prenatal T-cell immune suppression through arginase-2 //Nature. – 2017. – V. 546. – №. 7660. – P. 662-666.
118. Gourley T. S., Wherry E. J., Masopust D., Ahmed R. Generation and maintenance of immunological memory //Seminars in immunology. – Academic Press, 2004. – V. 16. – №. 5. – P. 323-333.
119. Kaech S. M., Wherry E. J. Heterogeneity and cell-fate decisions in effector and memory CD8⁺ T cell differentiation during viral infection //Immunity. – 2007. – V. 27. – №. 3. – P. 393-405.
120. Akondy R. S., Johnson P. L., Nakaya H. I., Edupuganti S., Mulligan M. J., Lawson B., Ahmed R. Initial viral load determines the magnitude of the human CD8 T cell response to yellow fever vaccination //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – V. 112. – №. 10. – P. 3050-3055.
121. Blom K., Braun M., Ivarsson M. A., Gonzalez V. D., Falconer K., Moll M., Sandberg J. K. Temporal dynamics of the primary human T cell response to yellow fever virus 17D as it matures from an effector-to a memory-type response //The journal of immunology. – 2013. – V. 190. – №. 5. – P. 2150-2158.
122. Miller J. D., van der Most R. G., Akondy R. S., Glidewell J. T., Albott S., Masopust D., Ahmed R. Human effector and memory CD8⁺ T cell responses to smallpox and yellow fever vaccines //Immunity. – 2008. – V. 28. – №. 5. – P. 710-722.
123. Wieten R. W., Goorhuis, A., Jonker, E. F. F., De Bree, G. J., de Visser, A. W., Van Genderen, P. J. J., van Leeuwen, E. M. M. 17D yellow fever vaccine elicits comparable long-term immune responses in healthy individuals and immune-compromised patients //Journal of Infection. – 2016. – V. 72. – №. 6. – P. 713-722.
124. Kohler S., Bethke N., Böthe M., Sommerick S., Frentsch M., Romagnani C., Thiel A. The early cellular signatures of protective immunity induced by live viral vaccination //European journal of immunology. – 2012. – V. 42. – №. 9. – P. 2363-2373.
125. DeWitt W. S., Emerson R. O., Lindau P., Vignali M., Snyder T. M., Desmarais C., Robins H. S. Dynamics of the cytotoxic T cell response to a model of acute viral infection //Journal of virology. – 2015. – V. 89. – №. 8. – P. 4517-4526.
126. Fuertes Marraco S. A., S. A., Soneson C., Cagnon L., Gannon P. O., Allard M., Maillard S. A., Speiser D. E. Long-lasting stem cell-like memory CD8⁺ T cells with a naïve-like profile upon yellow fever vaccination //Science translational medicine. – 2015. – V. 7. – №. 282. – P. 282ra48-282ra48.
127. Hammarlund E., Lewis M. W., Hansen S. G., Strelow L. I., Nelson J. A., Sexton G. J., Slifka M. K. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination //Nature medicine. – 2003. – V. 9. – №. 9. – P. 1131-1137.
128. Larbi A., Fulop T. From “truly naïve” to “exhausted senescent” T cells: when markers predict functionality //Cytometry Part A. – 2014. – V. 85. – №. 1. – P. 25-35.
129. Di Benedetto S., Derhovanessian E., Steinhagen-Thiessen E., Goldeck D., Müller L., Pawelec G. Impact of age, sex and CMV-infection on peripheral T cell phenotypes: results from the Berlin BASE-II Study //Biogerontology. – 2015. – V. 16. – P. 631-643.

130. Gordon C. L., Miron M., Thome J. J., Matsuoka N., Weiner J., Rak M. A., Farber D. L. Tissue reservoirs of antiviral T cell immunity in persistent human CMV infection //Journal of Experimental Medicine. – 2017. – V. 214. – №. 3. – P. 651-667.
131. Weiskopf D., Bangs D. J., Sidney J., Kolla R. V., De Silva A. D., de Silva A. M., Sette A. Dengue virus infection elicits highly polarized CX3CR1⁺ cytotoxic CD4⁺ T cells associated with protective immunity //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – V. 112. – №. 31. – P. E4256-E4263.
132. Бурместер Г. Р., Пецутто А. с участием Улрихса Т., Айхер А. Наглядная иммунология //Наглядная медицина. – 2014. – 320 с.
133. Sanyal M., Fernandez R., Levy S. Enhanced B cell activation in the absence of CD81 //International immunology. – 2009. – V. 21. – №. 11. – P. 1225-1237. doi:10.1093/intimm/dxp090
134. Allman D., Lindsley R. C., DeMuth W., Rudd K., Shinton S. A., Hardy R. R. Resolution of three nonproliferative immature splenic B cell subsets reveals multiple selection points during peripheral B cell maturation //The Journal of Immunology. – 2001. – V. 167. – №. 12. – P. 6834-6840. doi:10.4049/jimmunol.167.12.68
135. Hardy R.R., Hayakawa K. B cell development pathways //Annual review of immunology. – 2001. – V. 19. – №. 1. – P. 595-621. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.595
136. Yarkoni Y., Getahun A., Cambier J. C. Molecular underpinning of B-cell anergy //Immunological reviews. – 2010. – V. 237. – №. 1. – P. 249-263. doi:10.1111/j.1600-065X.2010.00936.x
137. Cambier J. C., Getahun A. B cell activation versus anergy; the antigen receptor as a molecular switch //Immunology letters. – 2010. – V. 128. – №. 1. – P. 6-7. doi:10.1016/j.imlet.2009.09.006
138. Kaminski D.A., Wei C., Qian Y., Rosenberg A.F., Sanz I. Advances in human B cell phenotypic profiling //Frontiers in immunology. – 2012. – V. 3. – P. 302. doi:10.3389/fi mmu.2012.00302
139. Будкова А. И., Лапин С. В., Серебрякова М. К., Кудрявцев И. В., Тришина И. Н., Маслянский А. Л. Субпопуляционный состав В-клеток периферической крови у больных системной красной волчанкой //Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – №. 2. – С. 175-184.
140. Vale A. M., Kearney J. F., Nobrega A., Schroeder H. W. Development and function of B cell subsets //Molecular Biology of B Cells. – Academic Press, 2015. – P. 99-119.
141. Сизякина Л. П., Харитонов М. В. Характеристика В2-лимфоцитов у пациентов с серонегативным ревматоидным артритом суставной формы //Иммунология. – 2018. – Т. 39. – №. 2-3. – С. 134-136.
142. Holstein S. A., Avet-Loiseau H., Hahn T., Ho C. M., Lohr J. G., Munshi N. C., McCarthy P. L. BMT CTN Myeloma Intergroup Workshop on Minimal Residual Disease and Immune Profiling: summary and recommendations from the organizing committee //Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2018. – V. 24. – №. 4. – P. 641-648. doi:10.1016/j.bbmt.2017.12.774

143. Pillai S., Cariappa A. The follicular versus marginal zone B lymphocyte cell fate decision //Nature Reviews Immunology. – 2009. – V. 9. – №. 11. – P. 767-777. doi: 10.1038/nri2656
144. Allan L.L., Stax, A. M., Zheng, D. J., Chung, B. K., Kozak, F. K., Tan, R., van den Elzen, P. CD1d and CD1c expression in human B cells is regulated by activation and retinoic acid receptor signaling //The Journal of Immunology. – 2011. – V. 186. – №. 9. – P. 5261-5272. doi: 10.4049/jimmunol.1003615
145. Amlot P. L., Grennan D., Humphrey J. H. Splenic dependence of the antibody response to thymus-independent (TI-2) antigens //European journal of immunology. – 1985. – V. 15. – №. 5. – P. 508-512. doi: 10.1002/eji.1830150516
146. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа.-2010.-с. 752 //Yarilin AA. – 2010. – 740 с.
147. Marasco W., Avnir Y. Immunogenetic restriction on elicitation of antibodies : заяв. пат. 15127404 США. – 2017.
148. Sanz I., Wei C., Lee F. E. H., Anolik J. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells //Seminars in immunology. – Academic Press, 2008. – V. 20. – №. 1. – P. 67-82.
149. Anderson S.M., Hannum L.G., Shlomchik M.J. Maintenance of the plasma cell pool is independent of memory B cells //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – V. 105. – №. 12. – P. 4802-4807. doi:10.1073/pnas.0800555105
150. Maruyama M., Lam K. P., Rajewsky K. Erratum: memory B-cell persistence is independent of persisting immunizing antigen //Nature. – 2001. – V. 409. – №. 6818. – P. 382-382. doi:10.1038/35036600
151. Obukhanych T. V., Nussenzweig M. C. T-independent type II immune responses generate memory B cells //The Journal of experimental medicine. – 2006. – V. 203. – №. 2. – P. 305-310. doi:10.1084/jem.20052036
152. Agematsu K. Invited Review W Memory B cells and CD27 //Histol Histo-pathol. – 2000. – T. 15. – C. 573-576. doi:10.14670/HH-15.573
153. Bergmann B., Grimsholm O., Thorarinsdottir, K., Ren, W., Jirholt, P., Gjertsson, I., Mårtensson, I. L. Memory B cells in mouse models //Scandinavian journal of immunology. – 2013. – V. 78. – №. 2. – P. 149-156.
154. Pape K. A., Taylor, J. J., Maul, R. W., Gearhart, P. J., Jenkins, M. K. Different B cell populations mediate early and late memory during an endogenous immune response //Science. – 2011. – V. 331. – №. 6021. – P. 1203-1207.
155. Соколов А. В., Шмидт А. А., Ломакин Я. А. В-клеточное звено в регуляции аутоиммунных заболеваний //Acta Naturae (русскоязычная версия). – 2018. – Т. 10. – №. 3 (38). – С. 11-23.
156. Moore D. K., Loxton A. G. Regulatory B lymphocytes: development and modulation of the host immune response during disease //Immunotherapy. – 2019. – V. 11. – №. 8. – P. 691-704. doi:10.2217/imt-2018- 0185
157. Михайлова А. А. Индивидуальные миелопептиды-лекарства «нового поколения», используемые для иммунореабилитации //Int. J. Immunoreabil. – 1996. – Т. 2. – С. 27-31.

158. Карсонова М. И., Пинегин Б. В., Хаитов Р. М. Иммунокорригирующая терапия при хирургической инфекции //Анналы хирургической гепатологии. – 1999. – Т. 4. – №. 1. – С. 88-96.
159. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение //Иммунология. – 2003. – Т. 24. – №. 4. – С. 196.
160. Пинегин Б. В., Некрасов А. В., Хаитов Р. М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения //Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – №. 3. – С. 41-47.
161. Горыня Л. А., Сергеева В. В., Сошина А. А. Дифференцированный подход к диагностике и лечению анемии хронического заболевания и железодефицитной анемии у пожилых //Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. ИИ Мечникова. – 2012. – Т. 4. – №. 2. – С. 96-105.
162. Carmel R. Anemia and aging: an overview of clinical, diagnostic and biological issues //Blood Reviews. – 2001. – V. 15. – №. 1. – P. 9-18.
163. Приходько В. Ю. Железодефицитная анемия–синдром, требующий настороженности врача. – 2023. – Т. 26. – №7. – С. 80-87 – DOI:10.17116/prof-med20232607180
164. Репина М. А., Бобров С. А. Анемический синдром у беременных: вопросы патогенеза, диагноза и лечения //Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. 59. – №. 2. – С. 3-11.
165. Санакоева Л. П., Шестакова Е. Ю., Соловьева Н. И. Анализ применения лекарственных препаратов железа для профилактики и лечения железодефицитной анемии //Пермский медицинский журнал. – 2012. – Т. 29. – №. 4. – С. 119-122.
166. Струтынский А. В. Железодефицитные анемии. Диагностика и лечение //Трудный пациент. – 2013. – Т. 11. – №. 12. – С. 38-42.
167. Федорук А. В. Особенности диагностики и лечения железодефицитной анемии у больных пожилого и старческого возраста //Атореферат дис. к. м. н. – 2009.
168. Федорук А. В., Воробьев, П. А., Некрасова, Н. И., Доркина, А. А. Анализ врачебной практики ведения больных железодефицитной анемией в различных возрастных группах //Клиническая геронтология. – 2005. – Т. 11. – №. 10. – С. 8-14.
169. Яминова Н.Х., Иминова Д.А., Ниезова Е.М., Абдувалиева Г.Т. Особенности диагностики и лечения железодефицитной анемии у больных пожилого и старческого возраста //Клиническая геронтология. – 2015. - №9-10. – С. 11-14
170. Horwich T. B, Fonarow G. C., Hamilton M. A., MacLellan W. R., Borenstein J. Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure //Journal of the American College of Cardiology. – 2002. – V. 39. – №. 11. – P. 1780-1786.
171. Toblli J. E., Brignoli R. Iron (III)-hydroxide polymaltose complex in iron deficiency anemia //Arzneimittelforschung. – 2007. – V. 57. – №. 06. – P. 431-438.

172. Гринфельд Е. С. Анемия у людей пожилого возраста //РМЖ. – 2008. – Т. 16. – №. 29. – С. 1944-1947.
173. Aapro M. An update on twenty years of anemia management with erythropoiesis-stimulating agents in nephrology and oncology/hematology //The Oncologist. – 2009. – V. 14. – №. S1. – P. 1-5.
174. Бобрышева И. В. Изменения ультраструктуры тимуса белых крыс после введения циклофосфамида //Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2013. – Т. 12. – №. 4. – С. 63-69.
175. Павлюковец А. Ю., Шейбак В. М., Жмакин А. И. Иммуносупрессия и метаболизм аминокислот в тимусе после курсового введения циклофосфамида //90 лет в авангарде микробиологической науки Беларуси. – 2015. – С. 84-87.
176. Chen X., Nie W., Fan S., Zhang J., Wang Y., Lu J., Jin L. A polysaccharide from *Sargassum fusiforme* protects against immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice //Carbohydrate polymers. – 2012. – V. 90. – №. 2. – P. 1114-1119.
177. Popov B., Dobрева Z., Georgieva S., Stanilova S. Enhancement of anti-KLH IgG antibody production in rabbits after treatment with *Haberlea rhodopensis* extract //Trakia Journal of Sciences. – 2010. – V. 8. – №. 2. – P. 92-97.
178. Коваленок Ю. К. Взятие крови у животных: учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальностям «Ветеринарная медицина»; «Ветеринарная санитария и экспертиза»; «Ветеринарная фармация». – 2019. – С. 26.
179. Медведев А. П., Вербицкий А. А. Основы анатомии, физиологии, содержания и использования лабораторных животных. – 2016. – 181 с.
180. Мехова О. С. Криптоспоридиоз лабораторных мышей (методы диагностики) //Животноводство и ветеринарная медицина. – 2016. – №. 1 (20). – С. 38-41.
181. Belyaev N. N., Abdolla N., Perfilyeva Y. V., Ostapchuk Y. O., Krasnoshtanov V. K., Kali A., Tleulieva R. I. Daunorubicin conjugated with alpha-fetoprotein selectively eliminates myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and inhibits experimental tumor growth //Cancer Immunology, Immunotherapy. – 2018. – V. 67. – №. 1. – P. 101-111.
182. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови/Горизонтов ПД, Белоусова ОИ, Федотова МИ–М //Медицина. – 1983. – 240 с.
183. Ярилин А. А. Цитокины в тимусе. Биологическая активность и функции цитокинов в тимусе //Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2. – №. 2. – С. 3-11.
184. Ярилин А. А., Беляков И. М. Тимус как орган эндокринной системы //Иммунология. – 1996. – Т. 1. – С. 4-10.
185. Суслов А. П., Караулов, А. В., Геринг, С., Брондз, Б. Д. Чувствительность предшественников субпопуляций Т-лимфоцитов к циклофосфамиду и гидрокортизону //Иммунология. – 1980. – Т. 1. – №. 2. – С. 53-56.
186. Донецкова А. Д., Шарова Н. И., Никонова М. Ф., Митин А. Н., Литвина М. М., Комогорова В. В., Ярилин А. А. Вклад тимуса в восстановление

популяции Т-клеток после действия различных повреждающих агентов //Иммунология. – 2013. – Т. 34. – №. 6. – С. 309-313.

187. Митин А. Н., Литвина, М. М., Комогорова, В. В., Шарова, Н. И., Ярилин, А. А. Вклад гомеостатической пролиферации и связанных с ней процессов в восстановление популяции периферических Т-клеток в условиях лимфопении, индуцированной облучением //Иммунология. – 2013. – Т. 34. – №. 5. – С. 242-247.

188. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy //Cancer chemotherapy and pharmacology. – 2016. – V. 78. – P. 661-671.

189. Телегин Л. Ю., Писарев В. М., Певницкий Л. А. Циклофосфамид усиливает иммунодепрессивное действие своих активных метаболитов //Доклады Академии наук. – Федеральное государственное бюджетное учреждение "Российская академия наук", 2008. – Т. 423. – №. 3. – С. 427-429.

190. Лепешко П. Н., Семёнов И. П. Исследование острой токсичности фармацевтической субстанции циклофосфамид //Медицинский журнал. – 2019. – №. 2. – С. 92-96.

191. Полюга Н. Л., Крышень, К. Л., Муразов, Я. Г., Трофимец, Е. И., Гущин, Я. А., Бельтюков, П. П., Скворцов, Н. В. Характеристика модели циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессии у мышей линии Balb/c //Лабораторные животные для научных исследований. – 2023. – №. 1. – С. 4-13.

192. Hickman S. P., Turka L. A. Homeostatic T cell proliferation as a barrier to T cell tolerance //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2005. – V. 360. – №. 1461. – P. 1713-1721.

193. Борсук О. С., Масная Н. В., Чурин А. А., Шерстобоев Е. Ю. Доклинические исследования препаратов природного происхождения в условиях цитостатического воздействия //Биомедицина. – 2010. – №. 2. – С. 53-64.

194. Sprent J., Surh C. D. Normal T cell homeostasis: the conversion of naive cells into memory-phenotype cells //Nature immunology. – 2011. – V. 12. – №. 6. – P. 478-484.

195. Cho B. K., Rao V. P., Ge Q., Eisen H. N., Chen J. Homeostasis-stimulated proliferation drives naive T cells to differentiate directly into memory T cells //The Journal of experimental medicine. – 2000. – V. 192. – №. 4. – P. 549-556.

196. Goldrath A. W., Bogatzki L. Y., Bevan M. J. Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis-driven proliferation //The Journal of experimental medicine. – 2000. – V. 192. – №. 4. – P. 557-564.

197. Sallusto F., Geginat J., Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance //Annu. Rev. Immunol. – 2004. – V. 22. – P. 745-763.

198. Курченко Г. А. Влияние циклоспорина А и циклофосфамида на популяции В-и Т-клеток, а также на наличие вируса в гардеровой железе кур, вакцинированных штаммом Hitchner В1 вируса болезни Ньюкасла.(Великобритания) //Ветеринария. Реферативный журнал. – 1999. – №. 4. – С. 931-931.

199. Новиков П. И., Моисеев, С. В., Буланов, Н. М., Макаров, Е. А. Современные подходы к терапии АНЦА-ассоциированных системных васкулитов //Клиническая нефрология. – 2014. – №. 1. – С. 42-49.
200. Сорока Н. Ф., Свирновский А. И., Рекун А. Л. Влияние иммуносупрессивных лекарственных препаратов на апоптоз лимфоцитов больных системной красной волчанкой *in vitro* //Научно-практическая ревматология. – 2007. – №. 1. – С. 15-21.
201. Лавриненко А. К., Станкевич К. С. Катион аминодиазония-активный электрофил в реакциях прямого аминирования аренов //Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков ЛПИ Кулёва и НМ Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора АГ Стромберга, 21–24 сентября 2020 г., г. Томск. – Томский политехнический университет, 2020. – С. 200-201.
202. Spieler J., Huttenloch O., Waldmann H. Synthesis of Chiral Amino Alcohols Embodying the Bispidine Framework and Their Application as Ligands in Enantioselectively Catalyzed Additions to C=O and C=C Groups //European Journal of Organic Chemistry. – 2000. – Т. 391. – №. 3. – С. 391-399.
203. Chen C. L. Sangiah S., Roder, J. D., Chen H., Berlin K. D., Garrison G. L., Lazzara R. Pharmacokinetics and plasma protein binding of the new potent class III antiarrhythmic agent 3-[4-(1H-imidazol-1-yl) benzoyl]-7-isopropyl-3, 7-diazabicyclo [3.3. 1] nonane dihydroperchlorate //Arzneimittel-forschung. – 1995. – V. 45. – №. 6. – P. 670-675.
204. Қалдыбаева А. Б., Малмакова А. Е. Биспидины на основе 1-(3-аминопропил) имидазола как местноанестезирующие средства //химия и химическая технология в XXI веке. – 2020. – С. 199-200.
205. Baktybayeva L. K., Daulet G. D., Yu K. V., Malmakova B. A., Zazybin G. A., Satybaldyeva G. K. Влияние азотосодержащих соединений на показатели периферической крови на фоне экспериментальной панцитопении //Научный журнал «Доклады НАН РК». – 2021. – №. 2. – С. 61-67. <https://doi.org/10.32014/2021.2518-1483.31>
206. Голиков А. Г., Райкова С. В., Бугаев А. А., Кривенько А. П., Шуб Г. М. Синтез и антимикробная активность некоторых (нитро) фурфурилиденсодержащих гексагидроиндазолов //Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39. – №. 2. – С. 22-24.
207. Piantadosi C., Hall I. H., Irvine J. L., Carlson G. L. Cycloalkanones. 2. Synthesis and biological activity of. α ., α .'-dibenzylcycloalkanones //Journal of Medicinal Chemistry. – 1973. – V. 16. – №. 7. – P. 770-775.
208. Carlson G. L., Hall I. H., Abernethy G. S., Piantadosi C. Cycloalkanones. eCycloalkanones. 3. Structure-activity relations of hypocholesterolemic cyclooctanone derivatives //Journal of Medicinal Chemistry. – 1974. – V. 17. – №. 2. – P. 154-157.
209. Dinkova-Kostova A. T., Abeygunawardana C., Talalay P. Chemoprotective properties of phenylpropenoids, bis (benzylidene) cycloalkanones, and related Michael

reaction acceptors: correlation of potencies as phase 2 enzyme inducers and radical scavengers //Journal of medicinal chemistry. – 1998. – V. 41. – №. 26. – P. 5287-5296.

210. Gafner S., Bergeron C., McCollom M. M., Cooper L. M., McPhail K. L., Gerwick W. H., Angerhofer C. K. Evaluation of the efficiency of three different solvent systems to extract triterpene saponins from roots of *Panax quinquefolius* using high-performance liquid chromatography //Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – V. 52. – №. 6. – P. 1546-1550.

211. Dimmock J. R., Kumar P., Nazarali A. J., Motaganahalli N. L., Kowalchuk T. P., Beazely M. A., Balzarini J. Cytotoxic 2, 6-bis (arylidene) cyclohexanones and related compounds //European journal of medicinal chemistry. – 2000. – V. 35. – №. 11. – P. 967-977.

212. Dimmock J. R., Arora V. K., Quail J. W., Pugazhenth U., Allen T. M., Kao G. Y., De Clercq E. Cytotoxic evaluation of some 3, 5-diarylidene-4-piperidones and various related quaternary ammonium compounds and analogs //Journal of pharmaceutical sciences. – 1994. – V. 83. – №. 8. – P. 1124-1130.

213. Sardjiman S. S., Reksohadiprodjo M. S., Hakim L., Van der Goot H., Timmerman H. 1, 5-Diphenyl-1, 4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationship //European Journal of Medicinal Chemistry. – 1997. – V. 32. – №. 7-8. – P. 625-630.

214. Sokolenko A., Daulet G., Beisenbayeva G., Kirgizbaeva A., Mukhamdiyeva Y. Study on erythropoiesis-, leukopoiesis-and thrombocytopoiesis-stimulating activity of compounds BIV-241, BIV-242, BIV-243 //BIO Web of Conferences. – EDP Sciences, 2024. – V. 100. – P. 01017.

215. El-Gohary N. S., Hawas S. S., Gabr M. T., Shaaban M. I., El-Ashmawy M. B. New series of fused pyrazolopyridines: Synthesis, molecular modeling, antimicrobial, antiquorum-sensing and antitumor activities //Bioorganic Chemistry. – 2019. – V. 92. – P. 103109.

216. Даулет Г. Д., Бактыбаева Л. К., Соколенко А. С., Ю В. К., Малмакова А. Б., Зазыбин А. Г., Беляев Н. Н. Биологический спектр активности азагетероциклических соединений //Experimental Biology. – 2021. – №. 2. – С. 124-136. <https://doi.org/10.26577/eb.2021.v87.i2.12>

217. Шульженко А. Е. Иммунофармакологическая и клиническая эффективность применения полиоксидония у больных HSV-2, резистентных к противовирусной монотерапии //Аллергия, астма и клиническая иммунология N. – 2000. – Т. 1. – С. 44-45.

218. Хайтов Р. М., Пинегин Б. В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии //Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000. – Т. 1. – С. 9-16.

219. Соколенко А.С., Дәулет Г.Д., Бактыбаева Л.К., Малмакова А.Е., Ю В.К. Лейкопозстимулирующие свойства пиперазинсодержащих соединений» клиническая медицина и фармакология //Фармация Казахстана. – 2023. – №. 2. – С. 135-142. – DOI: 10.53511/PHARMKAZ.2023.26.41.018.

220. Дәулет Г. Д., Бактыбаева Л. К., Соколенко А. С., Кыдырбаева А. К., Катчибаева А. С. Жаңа синтезделген қосылыстармен миелопоэздің реттелуін

зерттеу //Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2021. – №. 1. – С. 215-219.

221. Trabanco A. A., Aerts N., Alvarez R. M., Andrés J. I., Boeckx I., Fernández J., Pullan S. 4-Phenyl-4-[1H-imidazol-2-yl]-piperidine derivatives as non-peptidic selective δ -opioid agonists with potential anxiolytic/antidepressant properties. Part 2 //Bioorganic and medicinal chemistry letters. – 2007. – V. 17. – №. 14. – P. 3860-3863.

222. Kumar J., Chawla G., Gupta H., Akhtar M., Tanwar O. P., Bhowmik M. Synthesis and neuropharmacological evaluation of some new isoxazoline derivatives as antidepressant and anti-anxiety agents //Afr J Pharm Pharmacol. – 2013. – V. 7. – №. 22. – P. 1523-1530.

223. Al-Baghdadi O. B., Prater N. I., Van der Schyf C. J., Geldenhuys W. J. (Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease //Bioorganic and medicinal chemistry letters. – 2012. – V. 22. – №. 23. – P. 7183-7188.

224. Mu L. H., Wang B., Ren H. Y., Liu P., Guo D. H., Wang F. M., Guo Y. S. Synthesis and inhibitory effect of piperine derivatives on monoamine oxidase //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2012. – V. 22. – №. 9. – P. 3343-3348.

225. Asif M., Singh A., Siddiqui A. A. The effect of pyridazine compounds on the cardiovascular system //Medicinal Chemistry Research. – 2012. – V. 21. – P. 3336-3346.

226. Bai Y. F., Xu H. Protective action of piperine against experimental gastric ulcer //Acta Pharmacologica Sinica. – 2000. – V. 21. – №. 4. – P. 357-359.

227. Boddupalli B. M., Ramani R., Subramaniam B., Anisetti R. N. In vitro and in vivo evaluation of hepato protection and anti ulcer activities of piperine gastro retentive microparticles //Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2012. – V. 2. – №. 3. – P. S1237-S1240.

228. Zimmet P., Alberti K., Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic //Nature. – 2001. – V. 414. – №. 6865. – P. 782-787.

229. Sharma R., Soman S. S. Design and synthesis of sulfonamide derivatives of pyrrolidine and piperidine as anti-diabetic agents //European Journal of Medicinal Chemistry. – 2015. – V. 90. – P. 342-350.

230. Asif M., Singh A., Lakshmayya L. The development of structurally different new antitubercular molecules containing pyridazine ring system //Chronicle of Young Scientist. – 2013. – V. 4. – №. 1. – P. 1-8.

231. Kakimoto S., Tonooka S. Antituberculous Compounds. XXV. Some Derivatives of Pyrido [2, 3-d] Pyridazine //Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1967. – V. 40. – №. 1. – P. 153-159.

232. Umamatheswari S., Balaji B., Ramanathan M., Kabilan S. Synthesis, antimicrobial evaluation and QSAR studies of novel piperidin-4-yl-5-spiro-thiadiazoline derivatives //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2010. – V. 20. – №. 23. – P. 6909-6914.

233. Al-Tel T. H. Design and synthesis of novel tetrahydro-2H-Pyrano [3, 2-c] Pyridazin-3 (6H)-one derivatives as potential anticancer agents //European journal of medicinal chemistry. – 2010. – V. 45. – №. 12. – P. 5724-5731.

234. Selvakumar P., Thennarasu S., Mandal A. B. Synthesis of novel pyridopyridazin-3 (2h)-one derivatives and evaluation of their cytotoxic activity against mcf-7 cells //International Scholarly Research Notices. – 2014. – V. 2014.
235. Pradeep C. R., Kuttan G. Effect of piperine on the inhibition of lung metastasis induced B16F-10 melanoma cells in mice //Clinical & experimental metastasis. – 2002. – V. 19. – P. 703-708.
236. Lai L., Fu Q. H., Liu Y., Jiang K., Guo Q. M., Chen Q. Y., Shen J. G. Piperine suppresses tumor growth and metastasis in vitro and in vivo in a 4T1 murine breast cancer model //Acta Pharmacologica Sinica. – 2012. – V. 33. – №. 4. – P. 523-530.
237. Mittal R., Gupta R. L. In vitro antioxidant activity of piperine //Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. – 2000. – V. 22. – №. 5. – P. 271-274.
238. Vijayakumar R. S., Surya D., Nalini N. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress //Redox Report. – 2004. – V. 9. – №. 2. – P. 105-110.
239. Rauscher F. M., Sanders R. A., Watkins III J. B. Effects of piperine on antioxidant pathways in tissues from normal and streptozotocin-induced diabetic rats //Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. – 2000. – V. 14. – №. 6. – P. 329-334.
240. Bang J. S., Oh D. H., Choi H. M., Sur B. J., Lim S. J., Kim J. Y., Kim K. S. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 β -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models //Arthritis research & therapy. – 2009. – V. 11. – №. 2. – P. 1-9.
241. Mujumdar A. M., Dhuley J. N., Deshmukh V. K., Raman P. H., Naik S. R. Anti-inflammatory activity of piperine //Japanese Journal of Medical Science and Biology. – 1990. – V. 43. – №. 3. – P. 95-100.
242. Дәулет Г. Д., Бактыбаева Л. К., Соколенко А. С., Беляев Н. Н., Молдакарызова, А. Ж., Катчибаева, А. С. Екінші имунтапшылығы жағдайында жаңа имуномодуляторларды қолдану //Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2021. – №. 1. – С. 220-225.
243. Daulet G.D., Baktybayeva L.K., Sokolenko A.S., Berlin K.D., Zazyvin A.G., Malmakova B.A., Belyaev N.N. Biological activity of 4-ethynyl-, 4-oxy-, 4-butoxypropylpyperidine and azaheterocyclic compounds //International Journal of Biology and chemistry. – 2021. – V. 14. – №. 1. – P. 130-141. <https://doi.org/10.26577/ijbch.2021.v14.i1.014>
244. Даулетбаков А. А., Белянкова Е. О., Золотарева Д. С., Зазыбин А. Г. Synthesis of ionic compounds based on trimecaine in classical condition and using alternative methods //Химический Журнал Казахстана. – 2020. – №. 1. С. 115-124.
245. Janeway C., Travers P., Walport M. Immunobiology: Immunobiology: the immune system in health and disease. – New York : Garland Pub., 2001. – V. 2. – 154 p.
246. Гринько Е. К., Вериго К. С., Мухина Е. А., Шарова Н. И., Комогорова В. В., Литвина М. М., Митин А. Н. Динамика восстановления субпопуляций Т-

лимфоцитов после действия различных повреждающих агентов //Иммунология. – 2021. – Т. 42. – №. 4. – С. 346-355.

247. Atanackovic D., Cao Y., Luetkens T., Panse J., Faltz C., Arfsten J., Kroger N. CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ T regulatory cells reconstitute and accumulate in the bone marrow of patients with multiple myeloma following allogeneic stem cell transplantation //haematologica. – 2008. – V. 93. – №. 3. – P. 423-430.

248. Бурместер Г. Р., Пецутто А. Наглядная иммунология //М.: Бином. Лаборатория знаний. – 2007. – Т. 2009. – №. 2014. – С. 2019.

249. Демьяненко С. В., Чистяков В. А., Водопьянов А. С., Брень А. Б.. Возрастные изменения тимусзависимого звена иммунной системы //Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2012. – №. 1. – С. 17-29.

250. Hickman S. P., Turka L. A. Homeostatic T cell proliferation as a barrier to T cell tolerance //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2005. – V. 360. – №. 1461. – P. 1713-1721.

251. Hiesche K. D., Révész L. The role of bone marrow in different phases of the cellular repopulation of irradiated mouse thymus //Beiträge zur Pathologie. – 1975. – V. 155. – №. 2. – P. 181-192.

252. Лебединская Е. А., Лебединская О. В., Годовалов А. П., Прокудин В. С. Иммуноморфологические особенности тимуса крыс на фоне введения цитостатика в эксперименте //Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – Т. 12. – №. 1. – С. 12-14.

253. Wu T., Plett P. A., Chua H. L., Jacobsen M., Sandusky G. E., MacVittie T. J., Orschell C. M. Immune reconstitution and thymic involution in the acute and delayed hematopoietic radiation syndromes //Health physics. – 2020. – V. 119. – №. 5. – P. 647.

254. Włodarczyk M., Ograczyk E., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Rudnicka W., Fol M. Effect of cyclophosphamide treatment on central and effector memory T cells in mice //International Journal of Toxicology. – 2018. – V. 37. – №. 5. – P. 373-382.

255. Горизонтов П. Д. Гомеостаз, его механизмы и значение //Гомеостаз.- М.: Медицина. – 1981. – С. 5-28.

256. Чернявский Ф. Б., Лазуткин А. Н., Большаков В. Н. Циклы леммингов и полевок на Севере. – 2004. – 153 с.

257. Тарахтий Э. А., Давыдова Ю. А., Кшнясев И. А. Межгодовая изменчивость показателей системы крови флуктуирующей популяции европейской рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) //Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2007. – №. 6. – С. 755-764.

258. Лазуткин А. Н., Ямборко А. В., Киселев С. В. Энергетические и иммунные показатели красной полевки (*Clethrionomys rutilus*) в условиях разной плотности популяции (бассейн р. Колыма) //Экология. – 2016. – Т. 6. – С. 461-467.

259. Ковригина А. М., Глинкина С. А., Байков В. В. Принципы патоморфологической дифференциальной диагностики миелодиспластических синдромов //Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2015. – Т. 8. – №. 1. – С. 62-68.

260. Daulet G., Baktybayeva L., Belyaev N., Koshetova Z., Ostapchuk Y., Perfi-lyeva Y., Zazybin A. Improvement of myelopoiesis in a cyclophosphamide-induced myelodepression model by administration of a Newly Synthesized Pyrazolo-Piperidine β -Cyclodextrine complex compound. – 2022. – Preprint DOI:10.21203/rs.3.rs-1433939/v1 10.21203/rs.3.rs-1433939/v1
261. Zhao E., Xu H., Wang L., Kryczek I., Wu K., Hu Y., Zou W. Bone marrow and the control of immunity //Cellular & molecular immunology. – 2012. – V. 9. – №. 1. – P. 11-19.
262. Douek D. C., McFarland R. D., Keiser P. H., Gage E. A., Massey J. M., Haynes B. F., Koup R. A. Changes in thymic function with age and during the treat-ment of HIV infection //Nature. – 1998. – V. 396. – №. 6712. – P. 690-695.
263. Kato K., Takeuchi A., Akashi K., Eto M. Cyclophosphamide-induced toler-ance in allogeneic transplantation: from basic studies to clinical application //Frontiers in Immunology. – 2020. – V. 10. – P. 3138.
264. Mayumi H., Umesue M., Nomoto K. Cyclophosphamide-induced immuno-logical tolerance: an overview //Immunobiology. – 1996. – V. 195. – №. 2. – P. 129-139.
265. Stockman G. D., Heim L. R., South M. A., Trentin J. J. Differential effects of cyclophosphamide on the B and T cell compartments of adult mice //The Journal of Immunology. – 1973. – V. 110. – №. 1. – P. 277-282.
266. Wachsmuth L. P., Patterson M. T., Eckhaus M. A., Venzon D. J., Kanakry, C. G. Optimized timing of post-transplantation cyclophosphamide in MHC-haploiden-tical murine hematopoietic cell transplantation //Biology of Blood and Marrow Trans-plantation. – 2020. – V. 26. – №. 2. – P. 230-241.
267. Nomoto K., Yanaga K., Nishimura Y., Maeda T., Nomoto, K. Interference with cyclophosphamide-induced skin allograft tolerance by cyclosporin A //Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950). – 1992. – V. 149. – №. 8. – P. 2668-2674.
268. Ganguly S., Ross D. B., Panoskaltsis-Mortari A., Kanakry C. G., Blazar B. R., Levy R. B., Luznik L. Donor CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells are necessary for posttransplantation cyclophosphamide-mediated protection against GVHD in mice //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2014. – V. 124. – №. 13. – P. 2131-2141.
269. Teles K. A., Medeiros-Souza P., Lima F. A. C., Araújo B. G. D., Lima R. A. C. Cyclophosphamide administration routine in autoimmune rheumatic diseases: a re-view //Revista brasileira de reumatologia. – 2017. – V. 57. – P. 596-604.
270. Al-Homsi A. S., Cole K., Muilenburg M., Goodyke A., Abidi M., Duffner U., Abdel-Mageed A. Calcineurin and mtor inhibitor-free post-transplantation cyclo-phosphamide and bortezomib combination for graft-versus-host disease prevention af-ter peripheral blood allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a phase i/ii study //Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2017. – V. 23. – №. 10. – P. 1651-1657.
271. Robinson T. M., O'Donnell P. V., Fuchs E. J., Luznik L. Haploidentical bone marrow and stem cell transplantation: experience with post-transplantation

cyclophosphamide //Seminars in hematology. – WB Saunders, 2016. – V. 53. – №. 2. – P. 90-97.

272. Azzam Z. S., Maza, I., Zeidan-Shwiri, T., Lorber, M. Cyclophosphamide restores heart function in a patient with lupus myocarditis //Isr Med Assoc J. – 2005. – V. 7. – №. 4. – P. 266-7.

273. Mota L. M. H., Cruz B. A., Brenol C. V., Pereira I. A., Rezende-Fronza L. S., Bertolo M. B., Pinheiro G. D. R. C. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da artrite reumatoide //Revista Brasileira de Reumatologia. – 2012. – V. 52. – P. 152-174.

274. Broad K., Pope J. E. The efficacy of treatment for systemic sclerosis interstitial lung disease: results from a meta-analysis //Medical Science Monitor. – 2010. – V. 16. – №. 9. – P. RA187-RA190.

275. Chu H., Wu L. H., Song D., Yu F., Zhao M. H. Noninflammatory necrotizing vasculopathy in lupus nephritis: a single-center experience //Lupus. – 2014. – V. 23. – №. 1. – P. 20-30.

276. Pagnoux C. Updates in ANCA-associated vasculitis //European journal of rheumatology. – 2016. – V. 3. – №. 3. – P. 122.

277. Singh J. A., Hossain A., Kotb A., Wells G. A. Comparative effectiveness of immunosuppressive drugs and corticosteroids for lupus nephritis: a systematic review and network meta-analysis //Systematic reviews. – 2016. – V. 5. – №. 1. – P. 1-13.

278. Burkard M. E., Wisinski K. B., Njiaju U. O., Donohue S., Hegeman R., Stella A., Tevaarwerk A. J. Feasibility of 4 cycles of docetaxel and cyclophosphamide every 14 days as an adjuvant regimen for breast cancer: a Wisconsin Oncology Network study //Clinical breast cancer. – 2014. – V. 14. – №. 3. – P. 205-211.

279. Huang B. T., Tan Y., Zhao W. H., Zeng Q. C., Li B. S., Chen R. L. How to determine bortezomib-based regimen for elderly patients with multiple myeloma: PAD versus CBd, an observational study //Journal of cancer research and clinical oncology. – 2014. – V. 140. – P. 303-309.

280. Munyangango E. M., Le Roux-Villet C., Doan S., Pascal F., Soued I., Alexandre M., Prost-Squarcioni C. Oral cyclophosphamide without corticosteroids to treat mucous membrane pemphigoid //British Journal of Dermatology. – 2013. – V. 168. – №. 2. – P. 381-390.

281. Williams L., Cirrone F., Cole K., Abdul-Hay M., Luznik L., Al-Homsi A. S. Post-transplantation cyclophosphamide: from HLA-haploidentical to matched-related and matched-unrelated donor blood and marrow transplantation //Frontiers in immunology. – 2020. – V. 11. – P. 636.

282. Huyan X. H., Lin Y. P., Gao T., Chen R. Y., Fan Y. M. Immunosuppressive effect of cyclophosphamide on white blood cells and lymphocyte subpopulations from peripheral blood of Balb/c mice //International immunopharmacology. – 2011. – V. 11. – №. 9. – P. 1293-1297.

283. Di Rosa F. T-lymphocyte interaction with stromal, bone and hematopoietic cells in the bone marrow //Immunology and cell biology. – 2009. – V. 87. – №. 1. – P. 20-29.

284. IuI Z., Khaitov R. M. T-lymphocyte migration into the bone marrow in the initial period of the stress reaction //Biulleten'Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny. – 1975. – V. 80. – №. 12. – P. 68-70.
285. Митин А. Н., Донецкова А. Д., Шарова Н. И., Комогорова В. В., Литвина М. М., Ярилин А. А. Структура популяции Т-лимфоцитов костного мозга мыши и влияние на нее кортикостероидов //Иммунология. – 2013. – Т. 34. – №. 6. – С. 314-317.
286. Di Rosa F., Pabst R. The bone marrow: a nest for migratory memory T cells //Trends in immunology. – 2005. – V. 26. – №. 7. – P. 360-366.
287. Broers A. E. C., Meijerink J. P., van Dongen J. J., Posthumus S. J., Löwenberg, B., Braakman E., Cornelissen J. J. Quantification of newly developed T cells in mice by real-time quantitative PCR of T-cell receptor rearrangement excision circles //Experimental hematology. – 2002. – V. 30. – №. 7. – P. 745-750.
288. Dygai A. M., Shakhov V. P., Mikhlenko A. V., Goldberg E. D. Role of glucocorticoids in the regulation of bone marrow hemopoiesis in stress reaction //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 1991. – V. 45. – №. 1. – P. 9-14.
289. Croft M., So T., Duan W., Soroosh P. The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease //Immunological reviews. – 2009. – V. 229. – №. 1. – P. 173-191.
290. Golubovskaya V., Wu L. Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy //Cancers. – 2016. – V. 8. – №. 3. – P. 36.
291. Дәулет Г.Д. Циклофосфамид препаратының рөлі және әсер ету механизмі //Заманау биология және биотехнологияның мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы. – 2021. – С. 44-47.
292. Yehuda A. B., Friedman G., Wirtheim E., Abel L., Globerson A. Checkpoints in thymocytopoiesis in aging: expression of the recombination activating genes RAG-1 and RAG-2 //Mechanisms of ageing and development. – 1998. – V. 102. – №. 2-3. – P. 239-247.
293. Baktybayeva L., Daulet G., Zazybin A. Yu V., Ostapchuk Y., Perfilyeva Y., Kali A., Abdolla N., Malmakova A., Baktybai N., Temirbekova Zh., Rafikova K. Stimulation of B-Lymphopoiesis by Administration of a Trimecaine-Based Ionic Compound in Cyclophosphamide-Induced Hematopoietic-Depressive Model //Molecules. – 2023. – V. 28. – №. 3. – P. 1378. <https://doi.org/10.3390/molecules28031378>
294. Sen G., Wu H. J., Bikah G., Venkataraman C., Robertson D. A., Snow E. C., Bondada S. Defective CD19-dependent signaling in B-1a and B-1b B lymphocyte subpopulations //Molecular immunology. – 2002. – V. 39. – №. 1-2. – P. 57-68 бнь.
295. Marasco W., Avnir Y. Immunogenetic restriction on elicitation of antibodies: заяв. пат. 15127404 США. – 2017.
296. Топтыгина А. П. Общие закономерности формирования и поддержания специфического гуморального иммунного ответа на примере ответа на вирусы кори и краснухи //Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4. – №. 1. – С. 7-14.
297. Гариб Ф. Ю. В-лимфоциты и моноклональные лечебные антитела. Лекция //Вестник лимфологии. – 2009. – №. 2. – С. 29-38.

298. Duchamp M., Sterlin D., Diabate A., Uring-Lambert B., Guérin-El Khourouj V., Le Mauff B., Picard C. B-cell subpopulations in children: national reference values //Immunity, inflammation and disease. – 2014. – V. 2. – №. 3. – P. 131-140.
299. Dono M., Cerruti G., Zupo S. The CD5+ B-cell //The international journal of biochemistry & cell biology. – 2004. – V. 36. – №. 11. – P. 2105-2111.
300. Covens K., Verbinen, B., Geukens, N., Meyts, I., Schuit, F., Van Lommel, L., Bossuyt, X. Characterization of proposed human B-1 cells reveals pre-plasmablast phenotype //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2013. – V. 121. – №. 26. – P. 5176-5183.
301. Griffin D. O., Holodick N. E., Rothstein T. L. Human B1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype CD20+ CD27+ CD43+ CD70– //Journal of Experimental Medicine. – 2011. – V. 208. – №. 1. – P. 67-80.
302. Duan B., Morel L. Role of B-1a cells in autoimmunity //Autoimmunity reviews. – 2006. – V. 5. – №. 6. – P. 403-408.
303. Ahuja A., Anderson S. M., Khalil A., Shlomchik M. J. Maintenance of the plasma cell pool is independent of memory B cells //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – V. 105. – №. 12. – P. 4802-4807.
304. Anolik J. H., Looney R. J., Lund F. E., Randall T. D., Sanz I. Insights into the heterogeneity of human B cells: diverse functions, roles in autoimmunity, and use as therapeutic targets //Immunologic research. – 2009. – V. 45. – P. 144-158.
305. Radbruch A. The cellular basis of B cell memory //The Molecular Biology of Cells. – 2004. – P. 247-259.
306. Yvan-Charvet L., Ng L. G. Granulopoiesis and neutrophil homeostasis: a metabolic, daily balancing act //Trends in immunology. – 2019. – V. 40. – №. 7. – P. 598-612.
307. Akashi K., Traver D., Miyamoto T., Weissman I. L. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages //Nature. – 2000. – V. 404. – №. 6774. – P. 193-197
308. Stark M. A., Huo Y., Burcin T. L., Morris M. A., Olson T. S., Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17 //Immunity. – 2005. – V. 22. – №. 3. – P. 285-294. <https://doi.org/10.1038/ni.2921>
309. Manz M. G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis //Nature Reviews Immunology. – 2014. – V. 14. – №. 5. – P. 302-314. <https://doi.org/10.1038/nri3660>
310. Hirai H., Zhang P., Dayaram T., Hetherington C. J., Mizuno S. I., Imanishi J., Tenen D. G. C/EBP β is required for 'emergency' granulopoiesis //Nature immunology. – 2006. – V. 7. – №. 7. – P. 732-739. <https://doi.org/10.1038/ni1354>
311. Vickers N. J. Animal communication: when i'm calling you, will you answer too? //Current biology. – 2017. – V. 27. – №. 14. – P. R713-R715. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.03.002>
312. Sokolenko A.S., Daulet G.D., Omirzakova K.K., Dossymbekova R.S., Bayalieva R.A., Sarsenbayeva U.B., Almasbekova A.A., Antay A.B., Kazizkhanova B.K., Katchibaeva A.S. Study of New Synthesized Piperazine-Containing Compounds for The Ability to Stimulate Leukopoiesis, Microbicidal and Adhesive Activity of

Granulocytes //Proceedings of research world International conference Hamburg, – 2023. – V. 100. – P. 1-5. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410001017>

313. Eggold J. T., Rankin E. B. Erythropoiesis, EPO, macrophages, and bone //Bone. – 2019. – V. 119. – P. 36-41.

314. Palis J. Primitive and definitive erythropoiesis in mammals //Frontiers in physiology. – 2014. – V. 5. – P. 74694.

315. Socolovsky M., Nam H. S., Fleming M. D., Haase V. H., Brugnara C., Lodish H. F. (Ineffective erythropoiesis in Stat5a^{-/-} 5b^{-/-} mice due to decreased survival of early erythroblasts //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2001. – V. 98. – №. 12. – P. 3261-3273.

316. Дәулет Г.Д., Бактыбаева Л.К., Соколенко А.С., Молдакарызова А.Ж., Катчибаева А.С. Иммуноаппарат: диагностика және иммунотерапия //ҚазҰМУ Хабаршысы. – 2020. – №. 3. – Б. 210-214.

ҚОСЫМША А

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 35632

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2021/0138.1

(22) 02.03.2021

(45) 22.04.2022

(54) Лейкопозз ынталандыргыш белсенділікке ие 5-бензил-7-(о-фторбензилден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-пиразоло[4,3-с]пиридиннің β-циклодекстринмен комплексі
Комплекс 5-бензил-7-(о-фторбензилден)-2,3-бис(о-фторфенил)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-пиразоло[4,3-с]пиридина с β-циклодекстрином, обладающий лейкопоззстимулирующей активностью
Complex of 5-benzyl-7-(o-fluorobenzylidene)-2,3-bis(o-fluorophenyl)-3,3a,4,5,6,7-hexahydro-2H-pyrazolo[4,3-c]pyridine with β-cyclodextrin having leukopoiesis stimulating activity

(73) «Ә.Б. Бектұров атындағы Химия ғылымдары институты» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Институт химических наук имени А.Б. Бектұрова» (KZ)
«A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences» Joint-Stock Company (KZ)

(72) Ю Валентина Константиновна (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)
Кошетова Жанаргуль Абдрахмановна (KZ) Koshetova Zhanargul Abdrakhmanovna (KZ)
Пралиев Калдыбай Джайылович (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ)
Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ)
Жуманова Нургүл Арипжановна (KZ) Zhumanova Nurgul Arizhanovna (KZ)
Тен Асель Юрьевна (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

А. Естаев
А. Естаев
A. Yestayev

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директорының м.а.
И.о. директора РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Executive director of RSE «National institute of intellectual property»

ҚОСЫМША Ә


ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
ПАТЕНТ
PATENT
№ 35977
ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2021/0601.1
(22) 07.10.2021
(45) 09.12.2022

(54) Иммуностимуляторлық белсенділігі бар бромид N,N-диэтил-2-(метиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамоний қосылысы
Соединение бромид N,N-диэтил-2-(метиламино)-N-пропаргил-оксоэтанамония обладающее иммуностимулирующей активностью
Compound bromide N,N-diethyl-2-(methylamino)-N-propargyl-oxoethanamonium with immunostimulating activity

(73) «Қазақстан-Британ техникалық университеті» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Казахстанско-Британский технический университет» (KZ)
«Kazakh-British Technical University» Joint stock company (KZ)

(72) Зазыбин Алексей Георгиевич (KZ) Zazybin Aleksey Georgiyevich (KZ)
Тен Асель Юрьевна (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ)
Ю Валентина Константиновна (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)
Рафикова Хадичахан Сабыржановна (KZ) Rafikova Khadichakhan Sabyrzhanovna (KZ)
Бақтыбаева Ляйла Кыргызбаевна (KZ) Baktybayeva Lyailya Kyrgyzbayevna (KZ)
Дәулетбаков Ануар Аметович (KZ) Dauletbaikov Anuar Ametovich (KZ)
Белыкова Елизавета Олеговна (KZ) Belyankovna Elizaveta Olegovna (KZ)
Золотарева Дарья Сергеевна (KZ) Zolotaryova Darya Sergeyevna (KZ)
Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Daulet Guldana Dauletqyzy (KZ)
Сokolenko Анастасия Сергеевна (KZ) Sokolenko Anastasia Sergeevna (KZ)
Айдемир Мурат (TR) Aydemir Murat (TR)
Арслан Невин (TR) Arslan Nevin (TR)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Osranov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РПТ «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ҚОСЫМША Б

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ		РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН		
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN				
ПАТЕНТ PATENT				
№ 36148				
ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION				
	(21) 2021/0732.1 (22) 02.12.2021 (45) 31.03.2023			
(54) Миеломынталандырығыш белсенділікке ие диметил(1-гидроксициклогексил)марганец(II) фосфонаты комплексінің ацетаты Ацетат комплекса диметил(1-гидроксициклогексил)фосфоната марганца(II), обладающий миелостимулирующей активностью Acetate of a complex of dimethyl(1-hydroxycyclohexyl)manganese(II) phosphonate having myelostimulating activity (73) «А.Б.Бектұров атындағы Химия ғылымдары институты» акционерлік қоғамы (KZ) Акционерное общество «Институт химических наук имени А.Б. Бектұрова» (KZ) «A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences» Joint Stock Company (KZ) <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> (72) Жаркынбек Толғанай Еркінқызы (KZ) Тен Асель Юрьевна (KZ) Пралиев Калдыбай Джайлолович (KZ) Бактыбаева Лийля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ) </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> Zharkynbek Tolganay Yerkinkyzy (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ) </td> </tr> </table>			(72) Жаркынбек Толғанай Еркінқызы (KZ) Тен Асель Юрьевна (KZ) Пралиев Калдыбай Джайлолович (KZ) Бактыбаева Лийля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ)	Zharkynbek Tolganay Yerkinkyzy (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)
(72) Жаркынбек Толғанай Еркінқызы (KZ) Тен Асель Юрьевна (KZ) Пралиев Калдыбай Джайлолович (KZ) Бактыбаева Лийля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ)	Zharkynbek Tolganay Yerkinkyzy (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)			
 ЭЦҚ қол қойылды Подписано ЭЦП Signed with EDS E. Ospanov E. Ospanov Y. Ospanov «Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» Director of RSE «National institute of intellectual property»				

ҚОСЫМША В

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT
№ 36149

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2021/0641.1

(22) 21.10.2021

(45) 31.03.2023

(54) Гемопозды ынталандырығыш белсенділігіне ие 1-(2-этоксетил)-3,5-ди[2-(трифторметил)бензилден]пиперидин-4-оның β-циклодекстринмен комплекстік қосыласы
Соединение 1-(2-этоксетил)-3,5-ди[2-(трифторметил)бензилден]пиперидин-4-он в комплексе с β-циклодекстрином, обладающее гемопозстимулирующей активностью
Compound 1-(2-ethoxyethyl)-3,5-di[2-(trifluoromethyl)benzylidene]piperidin-4-one in combination with β-cyclodextrin having hemopoiesis-stimulating activity

(73) «А.Б.Бектұров атындағы Химия ғылымдары институты» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Институт химических наук имени А.Б. Бектұрова» (KZ)
«A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences» Joint Stock Company (KZ)

(72) Пралиев Калдыбай Джайлолович (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ)
Кожетова Жанаргуль Абдрахмановна (KZ) Koshetova Zhanargul Abdrakhmanovna (KZ)
Фишер Даметкен Едилевна (KZ) Fischer Dامتкен Edilovna (KZ)
Ю Валентина Константиновна (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)
Жуманова Нургуль Арипжановна (KZ) Zhumanova Nurgul Aripzhanovna (KZ)
Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ)
Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Osranov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РПТ «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of RSE «National institute of intellectual property»

ҚОСЫМША Г

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ		РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН		
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN				
ПАТЕНТ PATENT				
№ 36150				
ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION				
	(21) 2021/0733.1 (22) 03.12.2021 (45) 31.03.2023			
(54) Миелоангиталандырғыш белсенділікке ие диметил((4-бензгидрилпиперазин-1-ил)(3-феноксифенил)метил)фосфонатының β-циклодекстринмен кешенді қосылысы Соединение диметил((4-бензгидрилпиперазин-1-ил)(3-феноксифенил)метил)фосфоната в комплексе с β-циклодекстрином, обладающее миелостимулирующей активностью Compound dimethyl((4-benzhydrylpiperazin-1-yl)(3-phenoxyphenyl)methyl)phosphonate in complex with β-cyclodextrin having myelostimulating activity				
(73) «А.Б.Бектуров атындағы Химия ғылымдары институты» акционерлік қоғамы (KZ) Акционерное общество «Институт химических наук имени А.Б. Бектурова» (KZ) «A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences» Joint Stock Company (KZ)				
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"> (72) Тен Асель Юрьевна (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ) Прайев Калдыбай Джайловович (KZ) Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Жұмакова Сымбат Серіковна (KZ) Фишер Даметкен Еділовна (KZ) </td> <td style="width: 50%;"> Ten Asel Yuryevna (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Zhumakova Symbat Serikovna (KZ) Fischer Dаметкен Edilovna (KZ) </td> </tr> </table>			(72) Тен Асель Юрьевна (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ) Прайев Калдыбай Джайловович (KZ) Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Жұмакова Сымбат Серіковна (KZ) Фишер Даметкен Еділовна (KZ)	Ten Asel Yuryevna (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Zhumakova Symbat Serikovna (KZ) Fischer Dаметкен Edilovna (KZ)
(72) Тен Асель Юрьевна (KZ) Ю Валентина Константиновна (KZ) Прайев Калдыбай Джайловович (KZ) Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна (KZ) Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Жұмакова Сымбат Серіковна (KZ) Фишер Даметкен Еділовна (KZ)	Ten Asel Yuryevna (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ) Daulet Guldana Dauletkyzy (KZ) Zhumakova Symbat Serikovna (KZ) Fischer Dаметкен Edilovna (KZ)			
				
ЭЦҚ қол қойылды Подписано ЭЦП Signed with EDS		Е. Оспанов Е. Оспанов Y. Ospanov		
«Ұлттық интеллекттік меншік институты» РМК директоры Директор РПТИ «Национальный институт интеллектуальной собственности» Director of RSE «National institute of intellectual property»				

ҚОСЫМША Д

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 36151

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2022/0050.1

(22) 28.01.2022

(45) 31.03.2023

(54) Миеломыталандығын белсенділікке ие β-циклодекстримен кешеніндегі диметил((1H-бензо[d]имидазол-1-ил))-(3-фторофенил)метил)фосфонат қосылысы
Соединение диметил((1H-бензо[d]имидазол-1-ил))-(3-фторофенил)метил)фосфоната в комплексе с β-циклодекстрином, обладающее миелостимулирующей активностью
Compound dimethyl((1H-benzod[imidazol-1-yl])-(3-fluorophenyl)methyl)phosphonate complexed with β-cyclodextrin having myelostimulating activity

(73) «А.Б. Бектұров атындағы Химия ғылымдары институты» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Институт химических наук имени А.Б. Бектұрова» (KZ)
«A.B. Bekturov Institute of Chemical Sciences» Joint Stock Company (KZ)

(72) Ким Юлия Юрьевна (KZ) Kim Yuliya Yuryevna (KZ)
Дәулет Гүлдана Дәулетқызы (KZ) Dautlet Guldana Dauletkyzy (KZ)
Тен Асель Юрьевна (KZ) Ten Asel Yuryevna (KZ)
Прайев Калдыбай Дзхайлович (KZ) Praliyev Kaldybay Dzhaylovovich (KZ)
Бактыбаева Ляйля Кыргызбаевна (KZ) Baktybaeva Lyailya Kyrgyzbaevna (KZ)
Ю Валентина Константиновна (KZ) Yu Valentina Konstantinovna (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры
Директор РПТИ «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of RSE «National institute of intellectual property»