






МРНТИ 34.43.05

<https://doi.org/10.26577/bb1061202615>

А.А. Рахымжан , А.Н. Аралбаева* , З.Д. Душимова ,
Т.А. Ахаева , А.М. Сейталиева 

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

*e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ИНТРАВИТАЛЬНОЙ МНОГОФОТОННОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ ВОСПАЛЕНИЯ

Воспаление – универсальный, генетически запрограммированный комплекс реакций на повреждение различной природы, направленный на ликвидацию или ограничение очага повреждения и вызвавших его патогенных агентов. Воспалительная реакция – один из ключевых механизмов врожденного иммунитета, биологический смысл которого не только защита организма от патогенов, но и поддержание, и восстановление поврежденных тканей. Глубокое понимание механизмов воспаления крайне важно, так как более 70% известных заболеваний человека связано с воспалительным процессом, в том числе аутоиммунные, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые заболевания, диабет и рак. Современная наука и медицина располагают большим арсеналом методов и инструментов, позволяющих провести разностороннюю оценку состояния организма при воспалительных процессах. С каждым годом использование безинвазивных методов исследований разных процессов, протекающих в организме в реальном времени, становится более доступным и приемлемым для понимания клеточных процессов в динамике. Одним из современных инструментов применимых для наблюдения динамики иммунных клеток является витальная микроскопия. Данный обзор литературы посвящен роли метода мультифотонной микроскопии для исследования механизмов, задействованных в формировании иммунного ответа. Многофотонная микроскопия дает возможность изучать живые ткани, так как обладает высокой глубиной проникновения и минимальной фототоксичностью. Использование данного метода позволяет наблюдать течение клеточных процессов, таких как клеточная миграция, взаимодействие клеток, а также проводить исследования биологических систем и клеток в нейробиологии, кардиологии и других сферах.

Ключевые слова: интравитальная визуализация, многофотонная микроскопия, воспалительный процесс, иммунные клетки, врожденный иммунитет.

A.A. Rakhymzhan, A.N. Aralbaeva*, Z.D. Dushimova,
T.A. Akhayeveva, A.M. Seitaliyeva

Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru

On possibilities of vital multiphoton imaging of immune reactions in the study of inflammation processes

Inflammation is a universal, genetically programmed complex of reactions to damage of different nature aimed at elimination or limitation of the damage centre and pathogenic agents that caused it. Inflammatory reaction is one of the key mechanisms of innate immunity, the biological meaning of which is not only protection of the organism from pathogens, but also maintenance and restoration of damaged tissues. A thorough understanding of the mechanisms of inflammation is extremely important, as more than 70% of known human diseases are associated with the inflammatory process, including autoimmune, neurodegenerative, cardiovascular diseases, diabetes and cancer. Modern science and medicine have a large arsenal of methods and tools that allow for a multifaceted assessment of the state of the organism in inflammatory processes. Every year the use of non-invasive methods of research of different processes in the organism in real time becomes more accessible and acceptable for understanding cellular processes in dynamics. Vital microscopy is one of the modern tools applicable to the observation of immune cell dynamics. This literature review is devoted to the role of multiphoton microscopy in the study of mechanisms involved in the formation of immune response. Multiphoton microscopy makes it possible to study living tissues, as it has a high penetration depth and minimal phototoxicity. The use of this method allows to observe the course of cellular processes,

such as cell migration, cell interaction, as well as to conduct studies of biological systems and cells in neurobiology, cardiology and other spheres.

Keywords: vital imaging, multiphoton microscopy, inflammatory process, immune cells, innate immunity.

А.А. Рахымжан, А.Н. Аралбаева*, З.Д. Душимова,
Т.А. Ахаева, А.М. Сейталиева

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

*e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru

Қабыну процестерін зерттеудегі иммундық реакцияларды виталды мультифотонды визуализациялау әдісінің мүмкіндіктері

Қабыну – қандай да болсын патогендік әсерлерден туындаған зақымдану процесіне қарсы пайда болатын әмбебап, генетикалық тұрғыдан бағдарланған, әрі залалды әсер ошағын жоюға не шектеуге бағытталған реакциялар кешені. Қабыну реакциясы – туа біткен иммунитеттің негізгі механизмдерінің бірі, оның биологиялық мағынасы ағзаны патогендерден қорғап қана қоймай, зақымдалған тіндерді бір қалыпта ұстап тұру және қалпына келтіру. Қабыну механизмдерін терең түсіну өте маңызды, өйткені адамның белгілі ауруларының 70%-дан астамы қабыну процесімен байланысты, соның ішінде аутоиммунды, нейродегенеративті, жүрек-қан тамырлары аурулары, қант диабеті және қатерлі ісік бар. Заманауи ғылым мен медицинада қабыну процестері кезіндегі ағзаның жағдайын жан-жақты бағалауға мүмкіндік беретін әдістер мен құралдардың алуан түрі бар. Ағзадағы процестерді нақты уақыт аралығында бақылау әдістерін пайдалану жылдан жылға қолжетімді, әрі клеткалық процестерді динамикасын түсіну барысында оңтайлы бола бастады. Иммундық жасушалардың динамикасын бақылау үшін қолданылатын заманауи құралдардың бірі – виталды микроскопия. Атаулы мақала иммундық реакцияны қалыптастыруға қатысатын механизмдерді зерттеу үшін мультифотонды микроскопия әдісінің рөлін сипаттайтын зерттеулерді зерделеуге арналған. Мультифотонды микроскопия фотондардың тірі тканьдердің терең қабаттарына ену қабілетіне негізделген және фотоуыттылығы төмен әдіс. Бұл әдісті қолдану жасушалық миграция, жасушалардың өзара әрекеттесуі сияқты жасушалық процестердің барысын бақылауға, сондай-ақ неврология, кардиология және басқа салалардағы биологиялық жүйелер мен жасушалар динамикасына зерттеулер жүргізуге мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: виталды визуализация, мультифотонды микроскопия, қабыну процесі, иммунды жасушалар, туа біткен иммунитет.

Сокращения и обозначения

МФМ – мультифотонная микроскопия

Введение

Воспаление является одним из сложнейших процессов, часто встречающихся в патологии человека и нередко являющихся причиной многих нарушений жизнедеятельности организма человека и животных. Воспаление как основной, главный типовой патологический процесс является универсальным, генетически запрограммированным на любое флогогенное воздействие различной природы комплексом реакций на повреждение. Биологический смысл воспаления как эволюционно сложившегося процесса заключается в ликвидации или ограничении очага повреждения и вызвавших его патогенных агентов (Жадан С.А., 2015; Черешнев В.А., Черешнева М.В., 2011). Воспаление представляет собой часть врожденного иммунного ответа организма

и важный процесс, который не только защищает от вредных бактерий и патогенов, но также играет ключевую роль в поддержании и восстановлении тканей. Он опосредован механизмами, в которых участвуют иммунные клетки (лейкоциты), питательное микроокружение, доступность субстрата, а также секреторные факторы (Attiq A., Afzal S., 2023). Воспалительная реакция – несмотря на причину, это согласованная активация сигнальных путей, которые регулируют уровень медиаторов воспаления в соответствующих клетках тканей и клетках, рекрутированных из крови (Yeung Y.T, et all, 2018). Воспалительный ответ включает в себя высококоординированную сеть многих типов клеток. Активированные макрофаги, моноциты и другие клетки опосредуют местный ответ на повреждение тканей и инфекцию. В местах повреждения тканей эпителиальные и эндотелиальные клетки выделяют факторы, запускающие воспалительный каскад, а также хемокины и факторы роста, которые привлекают нейтрофилы и моноциты. Первыми

клетками, привлекаемыми к месту повреждения, являются нейтрофилы, за ними следуют моноциты, лимфоциты (естественные клетки-киллеры (NK-клетки), Т-клетки и В-клетки) и тучные клетки. Моноциты могут дифференцироваться в макрофаги и дендритные клетки и привлекаются в поврежденные ткани посредством хемотаксиса (Chen L. Et all, 2017; Vyver M., 2023)

Таким образом, с позиций иммунологии биологическая роль воспаления заключается в концентрации различных защитных факторов в зоне повреждения и ликвидации в ней биологически агрессивного материала, а также в восстановлении структуры и функции поврежденной ткани (Черешнев В.А., Черешнева М.В., 2011)

Расшифровка механизмов воспаления является фундаментальной проблемой общебиологического уровня, поскольку большинство (70-80%) заболеваний человека прямо ассоциированы с воспалительным процессом, включая астму, рак, хронические воспалительные заболевания, атеросклероз, диабет, аутоиммунные и дегенеративные заболевания. Для исследования механизмов воспалительного процесса в организме могут применяться различные подходы и методы. Одним из современных инструментов применимых для наблюдения динамики иммунных клеток является витальная микроскопия (Черешнев В.А., Черешнева М.В., 2011; Chen L. Et all, 2017). Таким образом, в связи с актуальностью данной темы целью нашего исследования является изучение возможностей интравитальной микрофотонной микроскопии для исследования динамики иммунных клеток в процессе воспаления.

Материалы и методы исследования

При подготовке материалов для обзора были использованы доступные поисковые системы: PubMed, GoogleScholar, <https://www.researchgate.net>, <https://cyberleninka.ru>, elibrary.ru. С их помощью была получена информация международных организаций дальнего и ближнего зарубежья, научные статьи. Ключевыми словами для поиска информации были: воспаление, иммунная реакция, методы оценки воспалительного процесса, клинико-диагностические методы, современные подходы в изучении динамики иммунного ответа, интравитальная микрофотонная микроскопия. Основная масса информации получена на русском и английском языках. Глубина исследования составляет последние 20 лет.

Критерии включения: в основном включались статьи с 2004 по 2024 годы.

Результаты исследования и их обсуждение

Воспаление – важнейший биологический процесс, который служит первой линией защиты организма от вредных раздражителей, включая патогенные микроорганизмы, поврежденные клетки и раздражители. Однако если воспалительная реакция чрезмерна или продолжительна, она может привести к хроническому воспалению и повреждению тканей. Хроническое воспаление характеризуется устойчивой выработкой провоспалительных цитокинов и постоянным привлечением иммунных клеток в пораженную ткань. Это может привести к повреждению тканей, фиброзу и нарушению их функции (Freund L, 2023). В то время как острое воспаление имеет решающее значение для заживления и восстановления, хроническое воспаление может привести к различным заболеваниям, включая рак, сердечно-сосудистые и аутоиммунные заболевания (Chen L. Et all, 2017; Chavda V.P.; Feehan J., Apostolopoulos V., 2024; Zhao H. et al., 2021)

Факторы вызывающие воспаление разнообразны, однако в итоге данный процесс способствует регенерации тканей благодаря своевременной и скоординированной инфильтрации различных типов клеток и секреции факторов роста, цитокинов и липидных медиаторов. Иммунные клетки первыми реагируют на действие флоггена, проникая в поврежденную ткань и инициируя провоспалительный ответ, уничтожая остатки клеток и некротические клетки (Caballero-Sánchez N., Alonso-Alonso S., Nagy L., 2024)

Несмотря на то, что воспалительный ответ (его интенсивность, уровень формирования, локализация) зависит от природы поражающего фактора, механизмы его формирования и развития во многом схожи, и могут быть представлены следующим алгоритмом: 1) рецепторы клеточной поверхности распознают воздействующие стимулы; 2) активируются воспалительные пути; 3) высвобождаются воспалительные маркеры; 4) рекрутируются воспалительные клетки (Пономарев Д.Б. и др., 2022)

Воспалительный процесс как известно протекает в три фазы: альтерация, экссудация и пролиферация. Механизмы врожденного иммунитета особенно важны на этапе инициации

воспалительной реакции, а адаптивного иммунитета – на этапе ее прогрессирования. Разрешение воспаления осуществляется посредством объединения компонентов обеих вышеупомянутых систем (Пономарев Д.Б. и др., 2022). Фаза альтерации характеризуется выбросом медиаторов, определяющих последующие события при развитии воспалительного процесса. В большинстве случаев в фазе альтерации имеет место разрушение лизосом клеток, сопровождающееся высвобождением гидролитических и протеолитических ферментов, которые в свою очередь могут повреждать основные клеточные структуры (Серебренникова С.Н. и др., 2023). Медиаторы воспаления продуцируются разными клетками или образуются в ходе воспалительной реакции. Медиаторы воспаления провоцируют повышение проницаемости стенок сосудов, активизируют хемотаксис лейкоцитов, обеспечивают внутрисосудистую коагуляцию для отграничения воспаления и обеспечивают включение иммунного ответа. Лизосомальные ферменты обуславливают лизис антигенов, микроорганизмов и бактерий (Chen L. Et all, 2017; Rossi J.F. Et all, 2021)

Вслед за стадией альтерации наступает фаза экссудации – выхода жидкой части крови и форменных элементов за пределы сосуда. В зоне воспаления наблюдаются сосудистые реакции, такие как спазм сосудов, артериальная и венозная гиперемия (Whiteford J.R., De Rossi G., Woodfin A., 2016). В результате изменений микроциркуляции, повышения сосудистой проницаемости, выхода из сосудов плазменных белков, воды и солей, эмиграции клеток крови в тканях образуется мутная, богатая белком жидкость – экссудат. Экссудат может накапливаться в серозных полостях, в тканях паренхиматозных органов, подкожной клетчатке, приводя к увеличению объема воспалительной ткани. Экссудат состоит из жидкой части и клеточной массы. Состав его неоднородный. При небольшой степени проницаемости сосудов в экссудате присутствуют альбумины и небольшое количество лейкоцитов. При значительной проницаемости сосудов выходят глобулины, в частности фибриноген, который превращается в фибрин, и много других клеток (Elgazzar A.H, Elmonayeri M., 2014; Landén

N.X.et all, 2016; Kiss L.A., 2022). Пролиферация – завершающая стадия воспаления, являющаяся репаративной. В очаге воспаления появляются молодые клетки. Размножаются клетки: макрофаги, мезенхимальные, гладкомышечные, эпителиальные, которые созревают и превращаются в зрелые клетки: фиброциты, плазмциты, специализированные клетки органов. Клеточные элементы в воспалительном очаге подвергаются трансформации и дифференцировке. Моноциты крови, попав в ткани, превращаются в макрофаги и расчищают очаг воспаления от погибших клеток, а затем с лимфой уносятся в лимфоузлы. Макрофаг может трансформироваться в эпителиоидную, или гигантскую клетку. В-лимфоциты трансформируются в плазматические клетки, которые участвуют в иммунных реакциях, обеспечивая гуморальный иммунитет. Мезенхимальная клетка превращается в фибробласт. Большое количество фибробластов необходимо для восстановления поврежденных тканей. В пролиферативную стадию в очаг воспаления устремляются эозинофилы под действием фактора хемотаксиса, выделяемого тучными клетками. Эозинофилы разрушают медиаторы воспаления, выделяя противовоспалительные медиаторы, которые погашают очаг воспаления (Landén N.X.et all, 2016; Medzhitov R., 2021; Rodrigues Soares C. L., 2023).

В клинической практике выявление маркеров воспалительного процесса представляет ценность в связи с необходимостью диагностики, прогнозирования заболевания, планировании тактики лечения, оценки эффективности проведения терапии (В клинической практике для диагностики и управления воспалительным процессом используют следующие подходы, которые могут применяться отдельно, так и в комплексе (Рябова С.И., 2012):

При научных исследованиях направленных на оценку и выявления глубинных процессов лежащих в основе заболеваний, опосредованных воспалением могут применяться большинство из названных подходов, используемых в клинической диагностике. Однако при изучении механизмов воспаления исследователи могут применять более широкий арсенал современных методов (Allen T. M.et all. 2019)

Таблица 1*Подходы и методы исследования воспалительного процесса в клинической практике*

№	Подходы к проведению диагностики воспаления	Методы исследования
1	Клинические подходы	1. Общие симптомы воспаления 2. Сбор анамнеза
2	Лабораторные тесты	1. Общий анализ крови 2. Уровень С реактивного белка 3. Наличие и содержание белков острой фазы воспаления (фибриноген, альфа-1-антитрипсин)
3	Методы визуализации	1. Ультразвуковое исследование 2. Рентгенография и компьютерная томография 3. Магнитно-резонансная томография
4	Цитологические и гистохимические методы	1. Пункция и биопсия 2. Цитологические исследования
5	Определение биомаркеров воспаления	1. Исследование интерлейкинови содержания фактора некроза опухоли 2. Микробиологические исследования
6	Иммунологические тесты	1. Антитела против определённых молекул или клеток:
7	Функциональные тесты	1. Исследование биохимических параметров функционального состояния органов 2. Физиологические методы (например пульсоксиметрия и спирометрия)

Таблица 2*Подходы и методы исследования воспалительного процесса*

№	Подходы для исследования механизмов воспаления	Методы исследования
1	Молекулярные методы	1. Генетические исследования 2. ПЦР / ПЦР в реальном времени 3. Секвенирование протеома, транскриптома и метаболома
2	Клеточные модели	1. Методы культуры клеток 2. Флуоресцентная микроскопия и клеточные маркеры
3	Животные модели	1. Модели острого и хронического воспаления 2. Модели аутоиммунных заболеваний
4	Рентгенография и магнитно-резонансная томография	
5.	Иммунологические методы	Иммуногистохимия и иммунофлуоресценция

В ряде современных методов исследования особое место занимают методы витальной визуализации клеток организма, которые позволяют наблюдать за объектом в динамике. Витальное исследование клеток организма представляется важным подходом в биомедицине, так как дает возможность наблюдения за процессами в живых клетках и тканях. Методы при жизненной визуализации играют ключевую роль в понимании глубинных механизмов разных биологических процессов, таких как деление клеток, апоптоз, миграция, клеточные взаимодействия и др. Неоценимый вклад методы витальной визуализации вносят в исследовании рака, нейроде-

генеративных заболеваний, инфекционных болезней и диабета (Pittet M.J., Weissleder R., 2011; Coste A. et al., 2019). Существует множество инструментов для наблюдения за живыми клетками в организме в режиме реального времени, к ним относят методы флуоресцентной микроскопии, конфокальной микроскопии, дифракционно ограниченной микроскопии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии, ядерно-магнитного резонанса и др. Методы витальной визуализации клеток являются не только незаменимым инструментом для исследования клеточных процессов в живых организмах, но и помогают разработать новые подходы к лечению и

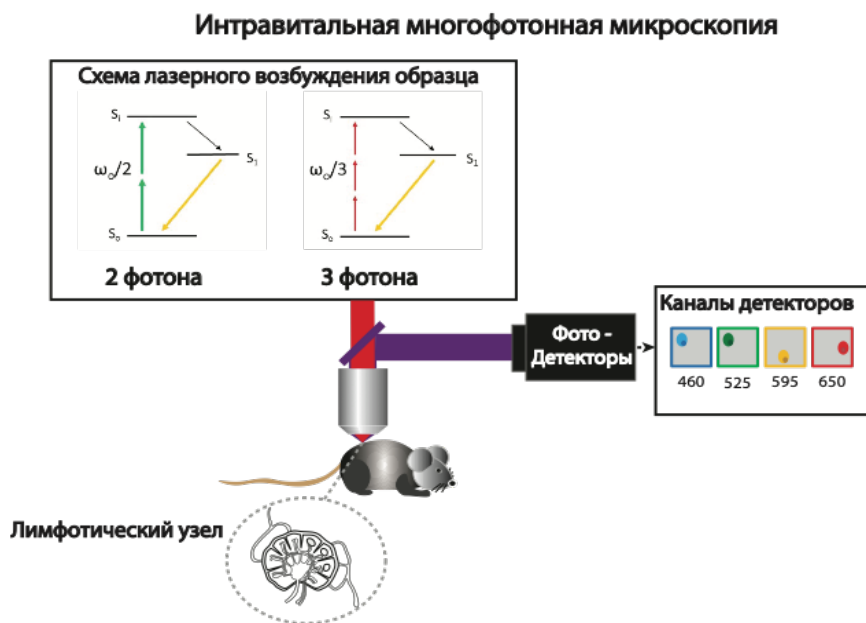
диагностике заболеваний (Мелешина А.В. и др., 2015; Кучмий А.А. и др, 2012; Nitschke C. et all, 2013)

Многофотонная микроскопия (МФМ) является одним из современных инструментов визуализации живых клеток, который дает возможность изучать живые ткани, так как обладает высокой глубиной проникновения и минимальной фототоксичностью (Rubart M., 2004). Использование данного метода позволяет наблюдать течение клеточных процессов, таких как клеточная миграция, взаимодействие клеток, а также проводить исследования биологических систем и клеток в нейробиологии, кардиологии (Park S.A., Hyun Y.M., 2016) МФМ открывает

огромные возможности для детального исследования изменений в разных клеточных структурах, таких как мембраны, цитоскелет и органеллы (Luu P., 2024)

В основе принципа многофотонной микроскопии лежит явление **многофотонной абсорбции**, при которой два или более фотона с низкой энергией поглощаются молекулой одновременно, что приводит к возбуждению данной молекулы. Это позволяет наблюдать за клетками и тканями, используя свет с длинной волной (обычно инфракрасного диапазона), который имеет большую проникающую способность и может достигать более глубоких слоев ткани (Cho H.J. et all, 2011, Tong S. et all, 2023).

Рисунок 1
Схема интравитальной многофотонной микроскопии (МФМ)



Примечание: составлено автором (Rakhymzhan A et all, 2024)

МФМ-малоинвазивный способ исследования биологических процессов в живом организме на клеточном уровне в реальном времени. Ключевым элементом МФМ является фотофизическое возбуждение с использованием фемтосекундных лазерных импульсов. В зависимости от задач, могут применяться различные режимы возбуждения – двух- и трёхфотонное, каждый из которых обладает своими особенностями и обеспечивает комплексное изучение клеточного поведения и функций в естественной среде. Под-

робное описание методики приведено в работе Рахымжан и соавт. (Rakhymzhan A et all, 2024)

Важным преимуществом многофотонной микроскопии можно назвать ее способность визуализировать клетки и ткани на большой глубине (до 1 мм и более), что делает метод идеальным для исследования глубоких слоев живых тканей, таких как нейроны в головном мозге, клетки сердца, сосудистая сеть и др. (Galli R., et all, 2024). В многофотонной микроскопии возбуждение флуоресцентных молекул происходит

исключительно в точке фокуса, что минимизирует флуоресценцию за пределами фокусного объема. Это значительно уменьшает фоновое свечение и повышает контрастность изображений. Поскольку для возбуждения флуорофоров используется инфракрасное излучение с более низкой энергией, это приводит к меньшему фотодegradационному воздействию на образцы, что позволяет проводить длительные наблюдения, что является еще одним преимуществом метода (Hierro-Bujalance C., 2018)

Многофотонная микроскопия находит широкое применение в биомедицинских исследованиях, особенно когда требуется визуализация глубоких тканей в живых организмах (Deng D. Et all, 2024). В нейробиологии многофотонная микроскопия активно используется для изучения нейрональных процессов, таких как синаптическая пластичность, активация нейронов, наблюдение за нейрогенезом и динамикой нейритов. В живых моделях многофотонная микроскопия позволяет исследовать мозг в реальном времени, что делает этот метод незаменимым для изучения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона (Mikael J., Pittet et al., 2018). Многофотонная микроскопия используется для визуализации сердца и сосудов, включая наблюдение за клетками миокарда, эндотелием сосудов, а также для исследования клеточной миграции и ангиогенеза. Метод также применяется для визуализации опухолевых тканей, изучения механизма метастазирования, а также для анализа клеточных взаимодействий в опухолевой микросреде (Luu P., 2024). Многофотонная микроскопия также позволяет отслеживать терапевтический эффект противораковых препаратов в реальном времени [37]. В иммунологии также удобно использовать метод двухфотонной микроскопии для наблюдения за движением иммунных клеток в тканях и их взаимодействием с микроорганизмами или опухолевыми клетками. Это помогает в понимании механизмов иммунного ответа и разработки новых методов вакцинации (Bender, E.C et all, 2025; Li Y., Liu T.M. 2018)

Воспаление – важнейший иммунный ответ, необходимый для реагирования на инфекцию, травму и поддержания тканевого гомеостаза. Процесс воспаления включает в себя активацию различных клеточных и молекулярных компонентов иммунной системы и имеет решающее значение для защиты организма от инфекционных агентов и повреждений тканей (Okada T. Et all, 2016; Rossi J.F. et all, 2021). Для наблюдения

динамики иммунных клеток в очагах воспаления либо при системном воспалительном процессе как было указано ранее, применяются разные методы. За последние 30 лет многофотонная визуализация использовалась для анализа динамики иммунных клеток *in vivo*. В частности, оно углубило понимание того, как иммунный ответ организуется миграцией и взаимодействием иммунных клеток (Uderhardt S. Et all, 2024; Yam A.O., 2024).

Многофотонная микроскопия активно используется в изучении различных воспалительных заболеваний, включая хронические воспаления, аутоиммунные заболевания и рак (Zanoli L. et all, 2020). В ряде различных воспалительных заболеваний, таких как хронический воспалительный артрит, астма, атеросклероз и рак, сосудистые реакции играют центральную роль в прогрессировании болезни (Castellon X., Bogdanova V., 2016; Wissmeyer G. et all, 2024). Например, в контексте атеросклероза МФМ позволяет визуализировать образование атеросклеротических бляшек и изменение сосудистой проницаемости. Показана роль техники МФМ при изучении клеточных механизмов ремоделирования атеросклеротических бляшек в результате трансплантации дуг аорты в шейный отдел модельных животных (Li W., 2018). В случае рака эта техника помогает изучать, как воспаление способствует ангиогенезу – процессу образования новых кровеносных сосудов, который поддерживает рост опухоли. С помощью МФМ можно изучать влияние противовоспалительных противораковых препаратов (Bellard E., Golzio M. 2024; Bhise K. et all, 2021) .

Результаты большинства опубликованных исследований направленных на выявление механизмов воспаления связаны с определенными заболеваниями, такими как артрит, рак, диабет и др. Как говорилось ранее, в очагах повреждения происходит выброс медиаторов воспаления которые стимулируют активацию и миграцию иммунных клеток из кровяного русла (Wautier J.L., Wautier M.P., 2022). В зону альтерации интенсивно эмигрируют нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, обеспечивающие формирование гранулоцитарного и моноцитарного барьеров, фагоцитоз возбудителей острого или хронического инфекционного воспалительного процесса, а также клеточного детрита (Серебрянникова С.Н., и др., 2023) Одним из первых признаков воспаления является расширение сосудов и увеличение их проницаемости. Изменения в проницаемости сосудов позволяют иммунным клеткам проникать

в ткань, что является необходимым для борьбы с инфекцией или повреждениями (Egawa G. et al., 2021). МФМ позволяет в реальном времени наблюдать эти изменения, анализируя как активация воспалённых клеток, таких как макрофаги или нейтрофилы, влияет на эндотелиальные клетки сосудов (Marangio A. et al., 2022)

Микросреда воспаления включает в себя не только сосудистую реакцию, но и изменения в составе внеклеточного матрикса, взаимодействия клеток с молекулами и структурными компонентами матрикса. Воспаление сопровождается активной ремоделировкой внеклеточного матрикса, что влияет на механизмы клеточной миграции, а также на восстановление повреждённых тканей (Marozzi M. Et al, 2021; Shimshoni E. Et all, 2021; Shi L. et all, 2025). МФМ позволяет исследовать динамику этих процессов на клеточном и молекулярном уровне (Bricio-Moreno L. et all, 2024) Кроме того, с помощью многофотонной микроскопии можно исследовать взаимодействия между эндотелиальными клетками и циркулирующими лейкоцитами. Например, с помощью флуоресцентных меток можно наблюдать, как лейкоциты мигрируют через стенку сосудов в ответ на химические сигналы, такие как хемокины. Это поведение известно как трансэндотелиальная миграция и является важным этапом в воспалительном процессе (Scott C. et all, 2023)

Активация иммунных клеток является критическим этапом в ответе иммунной системы на инфекцию, повреждения тканей или другие патологические процессы. Иммунные клетки берут начало из гемопоэтических клеток костного мозга, вновь синтезированные лимфоциты обычно функционально неактивны. Для их активации они проходят селекцию и созревание в периферических лимфатических органах, только после этого активные клетки могут вовлекаться в иммунный ответ (Rubart M.,2004). Этот процесс включает в себя сложные молекулярные и клеточные взаимодействия, которые приводят к изменению функционального состояния клеток, их дифференциации и способности эффективно реагировать на угрозы (Haseeb M. Et all, 2018; Bauer I.J et all, 2023). В исследованиях Isabel J. Bauer (2023) и соавторов представлены результаты исследований процессов активации Т-клеток в собственной пластинке кишечника при развитии множественного склероза. С помощью метода мультифотонной микроскопии и специфического кальций чувствительного белка показан процесс реакции Т-хелперов

на стимулы поступающие из микробиоты собственной пластинки подвздошной кишки. В сообщении Vallmitjana A (2024) указано, что при исследовании повреждения участка кожи с помощью метода МФМ наблюдается формирование иммунного ответа в течение 25 минут после повреждения, что подтверждено изменением флуоресцентного сигнала таких молекул как НАД Н⁺. Van Panhuys N (2017) в своей работе отметил характер клеточных взаимодействий между Т-лимфоцитами и дендритными клетками в процессе активации. МФМ позволяет исследовать активацию этих клеток в реальном времени, изучая такие ключевые процессы, как клеточные контакты и их динамику, цитокиновый ответ и изменения в клеточной морфологии. Применяя этот метод, исследователи могут наблюдать не только динамику воспаления на клеточном и молекулярном уровне, а также оценивать эффективность различных препаратов и терапевтических вмешательств при развитии воспаления (Van Panhuys N., 2017; Kojima S.,2016; Deng D.,2024).

Миграция иммунных клеток является важнейшим процессом, который лежит в основе функционирования иммунной системы, включая ответ на инфекцию и воспаление. Одним из основных преимуществ мультифотонной микроскопии является возможность наблюдать за динамикой миграции клеток в живых тканях в реальном времени. Nitschke C. (2008) отмечает, что мультифотонная микроскопия представляет собой незаменимый инструмент для наблюдения миграции клеток в процессе формирования иммунного ответа. МФМ позволяет изучать перемещение иммунных клеток через ткани, такие как лимфатические узлы, мозг, легкие или другие органы, с высокой пространственной и временной разрешающей способностью. К примеру в работах Kojima S . et al (2016) показана роль применения метода при изучении динамики накопления таких иммунных клеток как нейтрофилы, полиморфноядерные лейкоциты, лимфоциты и макрофаги в течение первых часов при развитии воспаления после хирургической операции на конъюнктиву глаза у экспериментальных трансгенных мышей. Аналогично в исследованиях Arsia Jamali и соавторов (2020) при инициации и прогрессировании воспаления при заболевании синдрома сухого глаза с помощью МФМ показан процесс созревания антиген-презентирующих клеток и их выход в дренирующие лимфоузлы с последующей миграцией Т-хелперов на поверхность глаза, что привело к

усугублению воспалительной реакции. Исследования с использованием МФМ показывают, как иммунные клетки, такие как Т-лимфоциты, нейтрофилы и дендритные клетки, перемещаются через сложные структуры тканей, взаимодействуют с другими клетками и проводят активацию или ингибирование иммунных ответов. Эти процессы, как правило, происходят в трехмерных средах, что делает традиционные методы наблюдения, такие как стандартная световая микроскопия, недостаточно эффективными для анализа таких сложных динамических процессов (Millington O. R., 2010). В работе Millington, O.R. (2010) представлены результаты визуализации миграции Т клеток в лимфатические узлы, а затем инфильтрацию очагов воспаления при атеросклерозе с помощью МФМ. МФМ дает возможность детально исследовать изменения в клеточных структурах, таких как мембраны, цитоскелет и органеллы, что играет решающую роль в процессе созревания и активации иммунных клеток. В ряде исследований показаны особенности реорганизации цитоскелета при миграции различных видов иммунных клеток в очаги воспаления (Wurzer H. Et all, 2019). Кроме того, использование мультифотонной микроскопии для изучения клеточных взаимодействий позволяет исследовать влияние различных молекул и сигналов на прогресс созревания и функциональное состояние иммунных клеток. В экспериментах Kretschmer S. (2016) направленных на исследование динамики иммунных клеток и изменение морфологии тканей дыхательных путей на модели воспалительного процесса обусловленной аллергической реакцией успешно применен метод автофлуоресцентной мультифотонной микроскопии. В ходе исследований выявлен характер клеточных взаимодействий при миграции гранулоцитов и нейтрофилов в эпителии дыхательных путей и ткани под ним, которые способны взаимодействовать с клетками поглощающими антиген.

Созревание иммунных клеток, в частности Т-лимфоцитов, – ключевой процесс, который происходит в органах лимфоидной системы, таких как тимус, тогда как предшественники В-лимфоцитов дозревают в костном мозге (Hassan R. S., 2023; Lancaster J.N., Ehrlich L.I., 217). Мультифотонная микроскопия позволяет отслеживать созревание и дифференциацию этих клеток с высокой точностью, тимоциты мигрируют внутрь тимуса, минуя определенные компартменты, где происходят разнообразные клеточные взаимодействия, в результате кото-

рых тимоциты дифференцируются в функциональные Т-лимфоциты. МФМ помогает изучать, как Т-лимфоциты взаимодействуют с клетками эпителия тимуса, какие сигналы они получают и как они проходят стадии негативного и позитивного отбора, что в свою очередь помогает избежать аутоиммунных заболеваний, что было показано экспериментально к примеру в работах таких авторов как Lancaster J. N (2017), Fournier M. (2020) и др. Аналогично с помощью мультифотонной микроскопии есть возможность отслеживать созревание В-лимфоцитов в герминационных центрах вторичных лимфоидных органов. В работах Asylkhan R. (2017, 2024) и Fu Y. (2022) представлены данные о сложных межклеточных взаимодействиях прогениторов В-лимфоцитов со стромальными клетками зародышевого центра, сигнальных путях которые включаются в процессе созревания разных типов иммунных клеток.

Заключение

Мультифотонная микроскопия за последние годы значительно расширила возможности визуализации живых тканей с высокой пространственной и временной разрешающей способностью. Эта техника основана на использовании двух или более фотонов, поглощаемых одновременно, что позволяет создавать изображения глубже в тканях, избегая повреждения из-за фототоксичности (Coste A. et all, 2019). Применение МФМ в биологии и медицине открывает новые перспективы для изучения клеточных и тканевых процессов на уровне, который ранее был недоступен при использовании традиционных методов, таких как однофотонная микроскопия. Современные достижения МФМ позволяют исследовать сложные взаимодействия клеток в реальном времени и в 3D-пространстве. Благодаря улучшениям в области лазерной технологии, оптической чувствительности и детекторов, мультифотонные микроскопы стали более доступными и точными, что открывает новые горизонты для применения в молекулярной биологии, нейробиологии, а также в исследовании воспалительных процессов (Bares A. J. et all, 2020; Grüneboom A et all, 2022).

Мультифотонная микроскопия сыграла ключевую роль в исследовании механизмов воспаления, особенно в живых организмах. Используя МФМ, ученые могут наблюдать в реальном времени динамику миграции иммунных клеток, взаимодействие с эндотелием сосудов, а также изменения в ткани при воспалении. Это позволя-

ет более глубоко понять патофизиологию воспалительных заболеваний, таких как аутоиммунные расстройства, инфекционные воспаления и хронические воспалительные болезни (Tandon I. et al., 2021; Fernandez J. L. et al., 2024)

Влияние МФМ на изучение воспаления имеет важные терапевтические перспективы. Например, с помощью МФМ можно исследовать эффекты новых противовоспалительных препаратов на клеточном уровне, изучать их проникновение в ткани и механизмы действия в живых организмах. Это способствует разработке более

эффективных и персонализированных подходов к лечению воспалительных заболеваний, а также помогает минимизировать побочные эффекты терапевтических вмешательств (Fernandez J. L. et al., 2024; Kojima S. et al., 2016).

Таким образом, мультифотонная микроскопия не только способствует лучшему пониманию молекулярных и клеточных механизмов воспаления, но и способствует развитию новых терапевтических стратегий, которые могут изменить подходы к лечению широкого спектра заболеваний.

Вклад авторов

Рахымжан А.А., Ахаева Т.А.: Концептуализация, методология, исследование, написание – первоначальный вариант; Аралбаева А.Н., Сейталиева А.М., Душимова З.Д.: Подготовка данных, формальный анализ, написание – рецензирование и редактирование.

Литература

- Allen T. M., Brehm M. A., Bridges S., Ferguson S., Kumar P., Mirochnitchenko O., et al. (2019) Humanized immune system mouse models: Progress, challenges and opportunities. *Nat. Immunol.* vol 20, pp.770–774. doi:10.1038/s41590-019-0416-z
- Attiq A., Afzal S. (2023) Trinity of inflammation, innate immune cells and cross-talk of signalling pathways in tumour microenvironment. *Front. Pharmacol.* vol. 14, no. 1255727. doi: 10.3389/fphar.2023.1255727
- Bares A. J., Mejooli M.A., Pender M. A., Leddon S. A., Tilley S., Lin K., Dong J., Kim M., Fowell D.J., Nishimura N., Schaffer C. B. (2020) Hyperspectral multiphoton microscopy for in vivo visualization of multiple, spectrally overlapped fluorescent labels. *Optica.* vol. 7, pp. 1587-1601
- Bauer I.J., Fang P., Lämmle K.F., Tyystjärvi S., Alterauge D., Baumjohann D., Yoon H., Korn T., Wekerle H., Kawakami N. (2023) Visualizing the activation of encephalitogenic T cells in the ileal lamina propria by in vivo two-photon imaging, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 120, no.30. <https://doi.org/10.1073/pnas.2302697120> (2023)
- Bellard E., Golzio M. (2024) Cancer Imaging by Intravital Microscopy: The Dorsal Window Chamber Model. *Methods Mol Biol.* vol. 2773, pp.125-135. doi: 10.1007/978-1-0716-3714-2_12.
- Bender, E.C., Tareq, H.S., Suggs, L.J. (2025) Inflammation: a matter of immune cell life and death. *Biomed. Innov.* vol. 2, no. 7. <https://doi.org/10.1038/s44385-025-00010-4>
- Bhise K., Sau S., Alzhrani R., Rauf M.A., Tatiparti K., Iyer A.K. (2021) Imaging the cellular components of the immune system for advancing diagnosis and immunotherapy of cancers. *Materials Today Advances.* vol.10, no. 100138. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2021.100138>
- Bricio-Moreno L., Kurt-Jones E.A., Sorensen E.W., Luster A.D., Michael B.D. (2024) Using Multiphoton Intravital Microscopy to Study Neutrophil Transmigration and Blood-Brain Barrier Permeability in a Mouse Model of Herpes Simplex Virus Encephalitis. *Methods Mol Biol.* vol.2828, pp.45-55. doi: 10.1007/978-1-0716-4023-4_5.
- Caballero-Sánchez, N., Alonso-Alonso, S. and Nagy, L. (2024) Regenerative inflammation: When immune cells help to re-build tissues. *FEBS J.* vol. 291, pp. 1597-1614. <https://doi.org/10.1111/febs.16693>
- Castellon X., Bogdanova V. (2016) Chronic Inflammatory Diseases and Endothelial Dysfunction. *Aging Dis.* vol. 2, no.7(1), pp.81-9. doi: 10.14336/AD.2015.0803.
- Chavda V.P.; Feehan J., Apostolopoulos V. (2024) Inflammation: The Cause of All Diseases. *Cells.* vol. 13, pp. 1906. <https://doi.org/10.3390/cells13221906>.
- Chen L., Deng H., Cui H., Fang J., Zuo Z., Deng J., Li Y., Wang X., Zhao L. (2017) Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* vol. 9, no. 6, pp. 7204-7218. doi: 10.18632/oncotarget.23208.
- Chun H.J., Kim ES, Cho BR. Multiphoton microscopy: an introduction to gastroenterologists. *World J Gastroenterol.* 2011;17(40):4456-60. doi: 10.3748/wjg.v17.i40.4456.
- Coste A., Oktay M.H., Condeelis J.S., Entenberg, D. (2019) Intravital Imaging Techniques for Biomedical and Clinical Research. *Cytometry.* vol. 97, pp. 448-457. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.23963>
- Deng D., Hao T., Lu L., Yang M., Zeng Z., Lovell J.F., Liu Y., Jin H. (2024) Applications of Intravital Imaging in Cancer Immunotherapy. *Bioengineering.* vol. 11, no.3, pp. 264. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11030264>
- Egawa G., Ono S., Kabashima K. (2021) Intravital Imaging of Vascular Permeability by Two-Photon Microscopy. *Methods Mol Biol.* vol.2223, pp.151-157. doi: 10.1007/978-1-0716-1001-5_11
- Elgazzar A.H, Elmonayeri M. Inflammation (2014). *The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine.* vol. :27, pp. 69–98. doi: 10.1007/978-3-319-06112-2_4.

- Fernandez J. L., Snipstad S., Bjørkøy A., Davies C. d. L. (2024) Real-Time Multiphoton Intravital Microscopy of Drug Extravasation in Tumours during Acoustic Cluster Therapy. *Cells*. vol. 13, no.4, pp. 349. <https://doi.org/10.3390/cells13040349>
- Freund L. (2023) The Role of Immune Cells in Inflammation. *Journal of Molecular Pathophysiology*. vol.12 , no. 4, pp. 01-02
- Fournier M., Dong M., Melichar H.J. (2020) Investigating T Cell Receptor Signals In Situ by Two-Photon Microscopy of Thymocytes Expressing Genetic Reporters in Low-Density Chimeras. *Methods Mol Biol*. vol.2111, pp. 221-238. doi: 10.1007/978-1-0716-0266-9_18.
- Fu Y., Wang L., Yu B., Xu D., Chu Y. (2022) Immunometabolism shapes B cell fate and functions. *Immunology*. vol. 166, no.4, pp. 444–457. <https://doi.org/10.1111/imm.13499>
- Galli R., Uckermann, O. (2024) Vibrational spectroscopy and multiphoton microscopy for label-free visualization of nervous system degeneration and regeneration. *Biophys Rev*. vol. 166, pp. 219–235. <https://doi.org/10.1007/s12551-023-01158-2>
- Grüneboom A., Aust O., Cibir Z., Weber F., Hermann D.M., Gunzer M. (2022) Imaging innate immunity. *Immunol Rev*. vol.306, pp. 293–303. doi:10.1111/imr.13048
- Hassan Rizk S. (2023) Bone Marrow Lymphocytes' Development and Dynamics. Lymphatic System – From Human Anatomy to Clinical Practice. *IntechOpen*. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.1002915>
- Haseeb M., Anwar M.A., Choi S. (2018) Molecular Interactions Between Innate and Adaptive Immune Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia and Their Therapeutic Implications. *Front. Immunol*. vol. 9, no. 2720. doi: 10.3389/fimmu.2018.02720
- Hierro-Bujalance C., Bacskaï B.J., Garcia-Alloza M. (2018) In Vivo Imaging of Microglia With Multiphoton Microscopy. *Front. Aging Neurosci*. vol. 10, no. 218. doi: 10.3389/fnagi.2018.00218
- Jamali A., Seyed-Razavi Y., Chao C., Ortiz G., Kenyon B., Blanco T., Harris D.L., Hamrah P. Intravital Multiphoton Microscopy of the Ocular Surface: Alterations in Conventional Dendritic Cell Morphology and Kinetics in Dry Eye Disease. *Front. Immunol*. vol.11, no.742. doi: 10.3389/fimmu.2020.00742
- Kojima S., Inoue T., Kikuta J., Furuya M., Koga A., Fujimoto T., Mayumi U., Kinoshita Sh., Ishii M., Tanihara H. (2016) Visualization of Intravital Immune Cell Dynamics After Conjunctival Surgery Using Multiphoton Microscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2016; 57(3):1207-1212. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-18507>
- Kretschmer S., Pieper M., Hüttmann G. et al. (2016) Autofluorescence multiphoton microscopy for visualization of tissue morphology and cellular dynamics in murine and human airways. *Lab Invest*. vol.96, pp. 918–931. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.69>
- Kiss L. A. (2022) Inflammation in Focus: The Beginning and the End. *Pathol. Oncol. Res*. vol. 27, no.1610136. doi: 10.3389/pore.2021.1610136
- Kuchmij A.A., Efimov G.A., Nedospasov S.A. Metod molekulyarnoj vizualizacii in vivo (2012) [In vivo molecular imaging techniques]. *Biochemistry*. vol.77, no. 12, pp. 1603 – 1620
- Lancaster J.N., Ehrlich L.I. (2017) Analysis of Thymocyte Migration, Cellular Interactions, and Activation by Multiphoton Fluorescence Microscopy of Live Thymic Slices. *Methods Mol Biol*. vol. 1591, pp. 9-25. doi: 10.1007/978-1-4939-6931-9_2.
- Landén, N.X., Li, D. & Stähle, M. (2016) Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell. Mol. Life Sci*. vol. 73, pp. 3861–3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- Li Y., Liu T-M (2018) Discovering Macrophage Functions Using In Vivo Optical Imaging Techniques. *Front. Immunol*. vol. 9, no. 502. doi: 10.3389/fimmu.2018.00502
- Li W., Luehmann H.P., Hsiao H.M., Tanaka S., Higashikubo R., Gauthier J.M., Sultan D, Lavine K.J., Brody S.L., Gelman A.E., Gropler R.J., Liu Y, Kreisel D. (2018) Visualization of Monocytic Cells in Regressing Atherosclerotic Plaques by Intravital 2-Photon and Positron Emission Tomography-Based Imaging-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. vol. 38, no.5, pp.1030-1036. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.310517.
- Luu P., Fraser S.E., Schneider F. (2024) More than double the fun with two-photon excitation microscopy. *Commun Biol*. vol.7, no.364. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06057-0>
- Marangio A., Biccari A., D'Angelo E., Sensi F., Spolverato G., Pucciarelli S., Agostini M. (2022) The Study of the Extracellular Matrix in Chronic Inflammation: A Way to Prevent Cancer Initiation? *Cancers (Basel)*. vol.14, no. 23, pp. 5903. doi: 10.3390/cancers14235903.
- Marozzi M., Parnigoni A., Negri A., Viola M., Vigetti D., Passi A., Karousou E., Rizzi F. (2021) Inflammation, Extracellular Matrix Remodeling, and Proteostasis in Tumor Microenvironment. *Int J Mol Sci*. vol.22, no.15, pp. 8102. doi: 10.3390/ijms22158102.
- Medzhitov R. (2021) The spectrum of inflammatory responses. *Science*. vol. 374, pp. 1070-1075. DOI:10.1126/science.abi5200
- Mikael J., Pittet et al. (2018) Recording the wild lives of immune cells. *Sci. Immunol*. vol. 3, no. 27. eaaq0491. doi: 10.1126/sciimmunol.aaq0491.
- Millington O. R., Brewer, J. M., Garside, P., and Maffia, P. (2010) Imaging interactions between the immune and cardiovascular systems in vivo by multiphoton microscopy. In: Marelli-Berg, F. M. and Nourshargh, S. (eds.) T-Cell Trafficking: Methods and Protocols. Series: Methods in Molecular Biology. *Humana Press Inc*. pp. 193-206.
- Nitschke C., Garin A., Kosco-Vilbois M. et al. (2013) 3D and 4D imaging of immune cells in vitro and in vivo. *Histochem Cell Biol*. vol. 130, pp. 1053–1062 <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0520-x>
- Okada T, Takahashi S, Ishida A, Ishigame H. (2016) In vivo multiphoton imaging of immune cell dynamics. *Pflugers Arch*. vol. 468, no. 11-12, pp.1793-1801. doi: 10.1007/s00424-016-1882-x.
- Park S.A., Hyun Y.M. (2016) Neutrophil Extravasation Cascade: What Can We Learn from Two-photon Intravital Imaging? *Immune Netw*. vol. 6, pp. 17-321. <https://doi.org/10.4110/in.2016.16.6.317>
- Peng X., Wang Y., Zhang J., Zhang Z., Qi S. (2023) Intravital imaging of the functions of immune cells in the tumor microenvironment during immunotherapy. *Front Immunol*. vol.14, no.1288273. doi: 10.3389/fimmu.2023.1288273

- Pittet M. J., Weissleder R. (2011) Intravital imaging. *Cell*. vol. 147, no. 5, pp. 983-91. doi: 10.1016/j.cell.2011.11.004.
- Rakhymzhan A, Fiedler AF, Günther R, et al. (2024) Optimized intravital three-photon imaging of intact mouse tibia links plasma cell motility to functional states. *iScience*. vol.27, no.10, pp.110985. doi: 10.1016/j.isci.2024.110985.
- Rakhymzhan A., Lindquist R. L., Hauser A. E., Niesner R. (2017) New dimensions in intravital multi-photon imaging of immune reactions. *J Immunological Sci*. vol. 1, no.1, pp. 13-19. <https://doi.org/10.29245/2578-3009/2018/1.1105>
- Rodrigues Soares C. L., Wilairatana P., Rodrigues Silva L., Silva Moreira P., Medeiros Vilar Barbosa N. M., da Silva P. R., Melo Coutinho H. D., de Menezes I., Bezerra Felipe C. F. (2023) Biochemical aspects of the inflammatory process: A narrative review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. vol. 168, no. 115764/ <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115764>
- Rossi J.F., Lu Z.Y., Massart C., Levon K. (2021) Dynamic Immune/Inflammation Precision Medicine: The Good and the Bad Inflammation in Infection and Cancer. *Front Immunol*. vol. 12, no.595722. doi: 10.3389/fimmu.2021.595722.
- Rubart M. (2004) Two-Photon Microscopy of Cells and Tissue. *Circulation Research*. vol. 95, no.12. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000150593.30324.42>
- Scott C., Neira Agonh, D., White H., Sultana S., Lehmann C. (2023) Intravital Microscopy of Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Changes in Different Organ Systems—A Scoping Review. *Int. J. Mol. Sci*. vol. 24, no. 16345. <https://doi.org/10.3390/ijms242216345>
- Shi L., Hu L., Chen R., Wang X., Chen J., Fang N. (2025) Multiphoton microscopy for the visualization of collagen fiber alignment and extracellular matrix remodeling in fibrous meningioma. Proc. SPIE 13507, Seventeenth International Conference on Photonics and Imaging in Biology and Medicine, 135070J. <https://doi.org/10.1117/12.3056832>
- Shimshoni E., Adir I., Afik R., Solomonov I., Shenoy A., Adler M., Puricelli L., Sabino F., Savickas S., Mouhadeb O., Gluck N., Fishman S. Werner L., Salame T., Shouval D. S., Varol Ch., Keller U., Podestà A., Geiger T., Milani P., Alon U., Sagii (2021) Distinct extracellular-matrix remodeling events precede symptoms of inflammation. *Matrix Biology*. vol.96, pp. 47-68, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2020.11.001>
- Tandon I., Quinn K.P., Balachandran K. (2021) Label-Free Multiphoton Microscopy for the Detection and Monitoring of Calcific Aortic Valve Disease. *Front. Cardiovasc. Med*. vol.8, no. 688513. doi: 10.3389/fcvm.2021.688513
- Tong S., Zhong J., Chen X., Deng X., Huang J., Zhang Y., Qin M., Li Z., Cheng H., Zhang W., Zheng L., Xie W., Qiu P., Wang K. (2023) In Vivo Deep-Brain 3- and 4-Photon Fluorescence Imaging of Subcortical Structures Labeled by Quantum Dots Excited at the 2200 nm Window. *ACS Nano*. vol.17, no.4, pp. 3686-3695. doi: 10.1021/acsnano.2c10724
- Uderhardt S., Neagl G., Germain R. N. (2024) Dynamic Multiplex Tissue Imaging in Inflammation Research. *Annual review of pathology: mechanisms of disease*. vol.19, pp.43-67. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-070323-124158>
- Vallmitjana A., Durkin A., Rajil N., Shiu J., Ganesan A. K., Balu M. (2024) Label-free multiphoton microscopy of immune cells in human skin. *Optica Biophotonics Congress: Technical Digest Series*, paper MS3A.3 <https://doi.org/10.1364/MICROSCOPY.2024.MS3A.3>
- Van Panhuys N. (2017) Studying Dendritic Cell-T Cell Interactions Under In Vivo Conditions. *Methods Mol Biol*. vol.1584, pp. 569-583. doi: 10.1007/978-1-4939-6881-7_36.
- Vyver M. (2023) Immunology of chronic low-grade inflammation: relationship with metabolic function. *Journal of Endocrinology*. vol. 257, no. 1. <https://doi.org/10.1530/JOE-22-0271>
- Wautier J.L., Wautier M.P. (2022) Vascular Permeability in Diseases. *Int J Mol Sci*. vol.23, no.7, pp. 3645. doi: 10.3390/ijms23073645
- Whiteford J.R., De Rossi G., Woodfin A. (2016) Mutually Supportive Mechanisms of Inflammation and Vascular Remodeling in Editor(s): Kwang W. Jeon, Galluzzi L., International Review of Cell and Molecular Biology, New York: Academic Press. vol. 326, <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.05.001>
- Wissmeyer G., Kassab M.B., Kawamura Y., Aguirre A.D., Jaffer F.A. (2022) Intravital Microscopy in Atherosclerosis Research. *Methods Mol Biol*. vol. 2419, pp. 645-658. doi: 10.1007/978-1-0716-1924-7_40.
- Wurzer H., Hoffmann C., Al Absi A., Thomas C. (2019) Actin Cytoskeleton Straddling the Immunological Synapse between Cytotoxic Lymphocytes and Cancer Cells. *Cells*. Vol.8, no. 5, pp.463. doi: 10.3390/cells8050463.
- Xu C., Nedergaard M., Fowell D. J., Friedl P., Ji N. (2024) Multiphoton fluorescence microscopy for in vivo imaging. *Cell*. vol.187, no. 17, pp. 4458-4487. DOI: 10.1016/j.cell.2024.07.036
- Yam A.O., Jakovija A., Gatt C., Chtanova T. (2024) Neutrophils under the microscope: neutrophil dynamics in infection, inflammation, and cancer revealed using intravital imaging. *Front Immunol*. vol.8, no.15, pp. 1458035. doi: 10.3389/fimmu.2024.1458035.
- Yeung Y.T., Aziz F., Guerrero-Castilla A., Arguelles S. (2018). Signaling Pathways in Inflammation and Anti-inflammatory Therapies. *Curr PharmDes*. vol. 24, no.14, pp.1449-1484. doi: 10.2174/1381612824666180327165604.
- Zanoli L., Briet M., Empana J.P., Cunha P.G., Mäki-Petäjä K.M., Protogerou A.D., Tedgui A., Touyz R.M., Schiffrin E.L., Spronck B, Bouchard P., Vlachopoulos C., Bruno R.M., Boutouyrie P. (2020) Vascular consequences of inflammation: a position statement from the ESH Working Group on Vascular Structure and Function and the ARTERY Society. *J Hypertens*. vol. 38, no. 9, pp. 1682-1698. doi: 10.1097/HJH.0000000000002508.
- Zhao, H., Wu, L., Yan, G. et al. (2021) Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Sig Transduct Target Ther*. vol. 6, no. 263. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>
- Жадан, С. А. (2015) *Воспаление (патофизиологические аспекты) : учеб.-метод. пособие*. Минск : БГМУ
- Кучмий А.А., Ефимов Г.А., Недоспасов С.А. (2012). Методы молекулярной визуализации in vivo *Биохимия*. № 77. Т. 12, С. 1603 – 1620

Мелешина А.В., Черкасова Е.И., Ширманова М.В., Храпичев А.А., Дуденкова В.В., Загайнова Е.В. (2015) Современные методы визуализации стволовых клеток *in vivo*. *Современные технологии в медицине*. Т. 7, №. 4, С. 174. <https://doi.org/10.17691/stm2015.7.4.24>

Морозов А.М., Сергеев А.Н., Жуков С.В., Новикова Н.С., Беляк М.А (2022) Современные маркеры воспалительного процесса в хирургической практике. *Амбулаторная хирургия*. Т. 19, №.1, С. 147–156. <https://doi.org/10.21518/1995-1477-2022-19-1-147-156>

Пономарев Д.Б., Степанов А.В., Ивченко Е.В., Селезнёв А.Б., Апчел В.Я.. (2022) Воспалительная реакция и пути ее коррекции при формировании ответа организма на воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. Т. 24, №.1, С. 165-177. doi: 10.17816/bmma83092

Рябова С.И. (2012) *Пропедевтика внутренних болезней: методы исследования пациента : учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности: 060101 65 – Лечебное дело, 060103 65 – Педиатрия*, Самара : ООО «Издательство Ас Гард»

Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Гузовская Е.В., Гуцол Л.О. (2023) Воспаление – фундаментальный патологический процесс: лекция 1 (альтерация, сосудистые реакции). *Байкальский медицинский журнал*. Т. 2, №. 2, С. 53-64. <https://doi.org/10.57256/2949-0715-2023-2-53-64>

Черешнев В.А., Черешнева М.В. (2011) Иммунологические механизмы локального воспаления *Медицинская иммунология*. Т.6, №13, С:557-568. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2011-6-557-568>

Сведения об авторах:

Рахымжан Асылхан Ануарбекулы – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры фундаментальной медицины Казахского национального университета им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: asylkhan.rakhymzhan@gmail.com).

Аралбаева Арайлым Нугмановна (корреспондентный автор) – кандидат биологических наук, ассоциированный профессор, и. о. профессора кафедры фундаментальной медицины Казахского национального университета им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru).

Душимова Зауре Дмитриевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины Казахского национального университета им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: zaure.dushimova@kaznu.edu.kz).

Ахаета Тамила Абдикаликовна – PhD, ассоциированный профессор, доцент кафедры фундаментальной медицины факультета медицины и здравоохранения, НАО «КазНУ им. аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: t.akhayeva@gmail.com).

Сейталиева Аида Мурзекеновна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины Казахского национального университета им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: seitalieva@mail.ru).

Information about authors:

Rakhymzhan Asylkhan – Candidate of Physics-Math science, Associate Professor, of the Department of Fundamental Medicine, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: asylkhan.rakhymzhan@gmail.com).

Aralbaeva Arailym Nugmanovna – Candidate of biological science, Associate Professor, acting professor of the Department of Fundamental Medicine, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru).

Dushimova Zaure – M.D., Candidate of medicine science, Associate Professor of the Department of Fundamental Medicine, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: zaure.dushimova@kaznu.edu.kz).

Akhayeva Tamila – Ph.D., Associate Professor of Department of the Fundamental Medicine, Faculty of Medicine and Health Care, al Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: t.akhayeva@gmail.com).

Seitaliyeva Aida – Candidate of medicine science, Associate Professor of the Department of Fundamental Medicine, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: seitalieva@mail.ru).

Авторлар туралы мәлімет:

Рахымжан Асылхан Әнуарбекулы – физика математика ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің Іргелі медицина кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, e-mail: asylkhan.rakhymzhan@gmail.com).

Аралбаева Арайлым Нугмановна (корреспондент-автор) – биология ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор – Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің Іргелі медицина кафедрасының профессор м.а. (Алматы, Қазақстан, email: a_aralbaeva83@bk.ru).

Душимова Зауре Дмитриевна – медицина ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің Іргелі медицина кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, e-mail: zaure.dushimova@kaznu.edu.kz).

Ахаета Тамила Абдикаликовна – Ph.D., қауымдастырылған профессор, әл Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Медицина және денсаулық сақтау факультеті, Іргелі медицина кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, e-mail: t.akhayeva@gmail.com).

Сейталиева Аида Мурзекеновна – медицина ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің Іргелі медицина кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, e-mail: seitalieva@mail.ru).

Поступило 19 июня 2025 года
Принято 20 февраля 2026 года