

Научная статья

УДК 599.323.4-147.3.044:[547.495.1+549.232]  
doi:10.18499/2225-7357-2024-13-1-19-27  
1.5.22 – клеточная биология



## Изменение клеточного состава тимуса крыс через 90 дней после введения уретана на фоне приема селена

Н. В. Бубнова<sup>✉</sup>, Г. Ю. Стручко, Л. М. Меркулова, О. Ю. Кострова,  
А. А. Котёлкина, М. Н. Михайлова

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

**Аннотация.** Цель исследования – оценить клеточный состав тимуса крыс при изолированном введении селена, уретана и сочетанном действии двух факторов. **Материал и методы.** Исследование выполнено на 34 крысах-самцах линии Wistar, которые были разделены на 4 группы: 1-я – интактные особи, 2-я – крысы, получавшие только селен в течение 1 месяца, 3-я – животные, которым однократно вводили внутривентриально уретан, 4-я – крысы с сочетанным действием селена и уретана. Гистологические препараты тимуса изгоавливали по общепринятым методикам и в дальнейшем оценивали методами обзорной микроскопии, морфометрии, иммуногистохимии, электронной микроскопии и статистики. **Результаты.** Через 90 дней после окончания приема селена строение тимуса крыс незначительно отличалось от интактных животных. Введение уретана приводило к развитию акцидентальной инволюции тимуса, которая характеризовалась изменением формы долек органа, расширением междольковых промежутков и заполнением их жировой тканью, гиперплазией коркового вещества тимуса за счет увеличения количества зрелых лимфоцитов, эпителиальных клеток, положительных к панцитокератину. На ультрамикроскопическом уровне в лимфоцитах тимуса снижался ядерно-цитоплазматический индекс, увеличивалось количество митохондрий, которые имели светлый матрикс с небольшим количеством крист. Визуализировались апоптотические тельца и большое количество электронно-прозрачных вакуолей. При сочетанном действии двух факторов строение тимуса отличалось от интактной группы увеличением мозгового вещества, уменьшением количества эпителиальных клеток, положительных к панцитокератину, Ki-67<sup>+</sup>-клеток, а также клеток, экспрессирующих белок-регулятор апоптоза. По данным электронной микроскопии, при сочетанном действии селена и уретана определялось большое количество митохондрий с хорошо выраженными кристами. Присутствовало небольшое количество электронно-прозрачных вакуолей. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии курсового приема селена на Т-клеточное звено иммунитета на изучаемом сроке исследования. На фоне развития аденомы легкого, вызванной введением уретана, на этапе дисплазии альвеолярного эпителия определялись признаки акцидентальной инволюции тимуса. При сочетанном действии селена и уретана наблюдались менее выраженные изменения в исследуемом органе по сравнению с изолированным введением уретана.

**Ключевые слова:** тимус; селен; уретан; лимфоциты; иммуногистохимия; электронная микроскопия; митохондрии

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Бубнова Н.В., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Котёлкина А.А., Михайлова М.Н. Изменение клеточного состава тимуса крыс через 90 дней после введения уретана на фоне приема селена // Журнал анатомии и гистопатологии. 2024. Т. 13, №1. С. 19–27. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-1-19-27>

### ORIGINAL ARTICLES

Original article

## Changes in the Cellular Composition of the Rat Thymus 90 Days After Urethane Injection Against the Background of Selenium Intake

N. V. Bubnova<sup>✉</sup>, G. Yu. Struchko, L. M. Merkulova, O. Yu. Kostrova,  
A. A. Kotelkina, M. N. Mikhailova

I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

**Abstract.** The aim of the study is to assess the cellular composition of rat thymus when isolated administration of selenium, urethane and combined exposure to two factors. **Material and methods.** The study was performed on 34 male Wistar rats, which were divided into 4 groups: 1 – intact, 2 – rats, which received selenium only for 1 month, 3 – animals, which were injected once intraperitoneal urethane, 4 – rats with

combined selenium and urethane action. Histological preparations of the thymus were prepared according to generally accepted methods and further evaluated by the method of review microscopy, morphometry, immunohistochemical reactions, electron microscopy, statistical processing of data. **Results.** Ninety days after selenium, the rat thymus structure is slightly different from intact animals. The introduction of urethane leads to the development of excitation involution of the thymus, which is characterized by morphological changes, and manifests itself in a change in the shape of the organ lobes, in the expansion of the intercolle gaps and in the fat tissue thereof, hyperplasia of the cortical substance of the thymus by increasing the number of mature lymphocytes, epithelial cells positive to pancytokeratin. At the ultramicroscopic level, the thymus lymphocyte decreases its nuclear-cytoplasmic index, and increases the number of mitochondria that have a light matrix with a small amount of crystal. Apoptotic bodies and a large number of electron-transparent vacuoles are visualized. When combined, the thymus structure differs from the intact group by an enlarged brain substance, but the number of epithelial cells that are positive to pancytokeratin and Ki67<sup>+</sup>-cells, as well as cells that express apoptosis-regulating protein, decreases. Electron microscopy also indicates a large amount of mitochondria, but with well-defined crystals, when combined with selenium and urethane. There are a small number of electron-transparent vacuoles. **Conclusion.** The obtained data make it possible to draw a conclusion about the positive influence of the exchange rate of selenium on the T-cell link of immunity, at least for this period of study. In the course of the experiment, it was found that, against the background of the development of the adenoma of the lung caused by the introduction of urethane, at the stage of alveolar epithelium dysplasia signs of excitant thymus involution were detected. When selenium and urethane are combined, less pronounced changes are observed in the examined organ than in the isolated administration of urethane.

**Keywords:** thymus; selenium; urethane; lymphocytes; immunohistochemistry; electron microscopy; mitochondria

**Conflict of interests:** the authors declare no conflict of interests.

**For citation:** Bubnova N.V., Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Kostrova O.Yu., Kotelkina A.A., Mikhailova M.N. Changes in the cellular composition of the rat thymus 90 days after urethane injection against the background of selenium intake. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2024. V. 13, №1. P. 19–27. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-1-19-27>

## Введение

На сегодняшний день лидирующие позиции по частоте заболеваемости и по причине смертности занимают патология сердечно-сосудистой системы, травмы и онкопроцессы. Рак входит в тройку лидеров как по частоте, так и по показателям высокой смертности среди других злокачественных заболеваний человека [6, 10, 21, 24].

Опухоли любой локализации считаются мультифакториальными заболеваниями. Известно, что возраст человека играет важную роль в развитии разных патологий, в том числе и рака. Это объясняется тем, что чем дольше человек живет, тем больше он встречается с разными канцерогенами и, соответственно, тем больше циклов деления проходят его клетки, увеличивая шанс случайной или индуцированной ошибки при репликации [8, 14, 16].

Уретан, или этиловый эфир карбаминовой кислоты, или этилкарбамат в настоящее время используется в химической промышленности в качестве растворителя для различных органических материалов, при производстве пестицидов и фумигантов. Он также является промежуточным продуктом при производстве органических химикатов, фармацевтических препаратов, необходим при получении аминосмол и при проведении исследований в биохимических лабораториях. Помимо промышленного применения, уретан непреднамеренно образуется при производстве некоторых алкогольных напитков – фруктовых бренди, виски и вин, а также содержится в натуральном соединении табака. Населе-

ние в целом может подвергаться воздействию уретана при употреблении ферментированных пищевых продуктов и алкогольных напитков. Уретан-индуцированный канцерогенез участвует в развитии как доброкачественных, так и злокачественных опухолей, главным образом опухолей легких, и считается ценной экспериментальной моделью аденокарциномы человека. При внутрибрюшинном введении уретана крысам индуцируется развитие аденомы легких [25]. Уретан превращается ферментом CYP2E1 цитохрома P450 в винилкарбамат, что приводит к образованию эпоксида (винилкарбаматный эпоксид), который ковалентно связывается с ДНК и может привести к неправильному включению оснований во время репликации ДНК, что приводит к точечным мутациям [17, 19]. Также для организма очень важны особенности бытовых условий, экологическая обстановка, образ жизни, и, безусловно, наследственность [8, 23, 26].

В настоящее время все больше ученых разных специальностей интересуется вопросом об участии структур и органов иммунной системы в развитии онкологических заболеваний [18]. Тимус является центральным органом иммунной системы и принимает непосредственное участие в развитии процессов канцерогенеза [12, 22].

В литературе встречаются публикации, авторы которых озабочены поиском веществ, стимулирующих реакции иммунитета против новообразований [4, 27]. К ним можно отнести химический микроэлемент селен, обладающий выраженным иммуномодулирующим действием [15]. Уже доказано, что данный

нутриент играет важную роль в лечении и профилактике многих заболеваний [3, 7, 9, 13, 20].

Большинство людей во всем мире в последние годы задумываются о профилактике различных заболеваний, особенно онкологических. Поэтому многие стараются придерживаться здорового образа жизни, который включает в себя отказ от вредных привычек, занятие спортом, правильное питание, прием витаминов и микроэлементов. До сих пор остается важным вопрос о правильности выбора нутриентов, об их общем и локальном действии на организм и оптимальной дозировке.

В связи с этим становится актуальным изучение влияния селена на формирование опухоли, особенно на клеточном и ультраструктурном уровнях, тем более, что в литературе нам не встречались данные о его значении при развитии предраковых заболеваний легких.

Цель исследования – оценить клеточный состав тимуса крыс при изолированном введении селена, уретана и сочетанном действии двух факторов.

### Материал и методы исследования

Работа выполнена на 34 крысах-самцах линии Wistar, с исходной массой 200–250 г, полученных из вивария медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Возраст животных на начало эксперимента составлял 2 месяца, к моменту выведения их из опыта – 6 месяцев.

На протяжении всего эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария, в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Эксперименты проводили в соответствии с Приказом Минздрава России №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, проводились с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2008) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986). Проведение исследования одобрено на заседании локального этического комитета медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова» (протокол № 3 от 24.05.2021).

Крысы были разделены на 4 группы – одну интактную и три опытные. Первая (n=6)

была представлена интактными животными. Вторую (n=9) – составляли самцы, которым однократно внутрибрюшинно вводили уретан в дозировке 1,0 г/кг массы тела. Третью (n=10) – включала животных, получавших *ad libitum* питьевую бутилированную воду с добавлением селенита натрия в дозировке 20 мкг/кг массы тела в сутки, в пересчете на селен, ежедневно в течение 1 месяца (курсовой прием селена). В четвертую группу (n=9) входили животные, которых ежедневно в течение месяца поили водой с селеном в дозировке 20 мкг/кг массы тела в сутки с последующим однократным внутрибрюшинным введением уретана в дозе 1,0 г/кг массы тела. Доступ к воде был свободным, замена проводилась ежедневно. Доза селена была выбрана как средняя профилактическая, в соответствии с данными научных публикаций [1, 11]. Доза уретана была выбрана из того расчета, чтобы она обеспечивала развитие опухоли легкого у экспериментальных животных [28].

Выведение животных из эксперимента проводилось через 90 дней после окончания приема селена и введения канцерогена путем перикальной дислокации с применением телазола из расчета 15 мг/кг внутримышечно. Объектом исследования служил тимус. Количество животных, указанное в опытных группах, соответствует числу крыс, у которых через 90 дней после однократного введения уретана были обнаружены изменения в ткани легких в виде дисплазии альвеолярного эпителия, верифицированные классическими общегистологическими методами исследования [25].

Измерение массы тела крыс и массы тимуса проводили с помощью порционных весов SW-02 и электронных лабораторных весов серии «Эва» Ска-120В.

Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре 37°C в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности проводили в цитратном буфере pH 6,0 в автоклаве при температуре 96°C в течение 20 мин с последующим остыванием в течение 90 мин. Для выявления иммуногистохимической реакции использовалась система визуализации Novolink Polymer Detection System (Novocastra), контролем иммуногистохимической реакции служила неиммунизированная кроличья сыворотка. Результат реакции оценивали путем подсчета позитивно окрашенных клеток на 100 клеток в десяти полях зрения, выражая результаты в процентах.

Для рутинного общегистологического исследования применяли окраску гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества тимуса.

Иммуногистохимические реакции проводили с применением моноклональных

Таблица 1/ Table 1

**Масса крыс и тимуса через 90 дней после различных видов воздействия, (M±σ)  
Mass of rats and thymus 90 days after exposure, (M±σ)**

| Группы крыс                                | Масса крысы, г | Масса тимуса, мг |
|--|----------------|------------------|
| 1-я (интактные)                            | 303±3,2        | 161,3±3,8        |
| 2-я (уретан)                               | 268,3±10,1*    | 165,3±0,8*       |
| 3-я (селен)                                | 270,1±12,2*    | 217,3±2,4*       |
| 4-я (сочетанное действие селена и уретана) | 276,5±15,0*    | 181,9±2,5*       |

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у интактных крыс при  $p < 0,01$ .

антител (МКАТ) и поликлональных антител (ПКАТ) фирмы Santa Cruze (США) и NovoCastra (Великобритания): 1) МКАТ к панцитокератину для неселективной идентификации эпителиальных клеток дольки тимуса; 2) МКАТ к CD3 для идентификации зрелых тимоцитов; 3) ПКАТ к Synaptophysin для идентификации клеток нейроэндокринного происхождения, к которым в тимусе относятся клетки APUD-серии; 4) МКАТ к CD68 для идентификации макрофагов в структурах тимопоэтического и нетимопоэтического микроокружения долек тимуса; 5) ПКАТ к белку p53 для идентификации апоптотически измененных клеток в структурах дольки тимуса; 6) МКАТ к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 для идентификации клеток, находящихся в митотической, G1-, S- и G2-фазах клеточного цикла.

Для электронной микроскопии образцы ткани тимуса фиксировали в 1% растворе глутарового альдегида в течение 12 часов, далее переносили в 2,5% раствор глутарового альдегида на 2 часа. Постфиксацию проводили в 1% растворе OsO<sub>4</sub> в течение 2 часов. Образцы обезвоживали в серии спиртов и в окиси пропилена, после чего последовательно пропитывали в течение 24 часов эпоксидной смолой Epon 812 (Fluka, Швейцария) и окисью пропилена в соотношениях: 1:2; 1:1; 2:1. Образцы помещали в чистую смолу и проводили полимеризацию при температурах 37°C, 45°C и 60°C в течение 24 часов. С помощью микротомы Leica UC7 были получены полутонкие срезы толщиной 100 мкм. Далее срезы окрашивали метиленовым синим и выбирали область для получения ультратонких срезов. Исследование срезов тимуса толщиной 60–80 нм методом просвечивающей электронной микроскопии в HRTEM режиме на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT 7000 Exalens при ускоряющем напряжении 100 кэВ с разрешением 0,144 нм.

Измерение площади мозгового и толщины коркового вещества тимуса, а также оценку ультратонких срезов органа проводили автоматически с применением лицензионной программы «Микро-Анализ» (Россия).

Обработку полученных цифровых данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, США) с использованием методов параметрической и непараметри-

ческой статистики. Тип распределения устанавливали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. При нормальном распределении данных применяли t-критерий Стьюдента и представляли их в виде средней арифметической величины (M) и ее средней ошибки (m). При распределении, отличающемся от нормального, использовали U-критерий Манна–Уитни для двух групп и критерий Краскела–Уоллиса при сравнении трех исследуемых групп, при этом выборки описывали через медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q1 и Q3). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение**

При обработке результатов эксперимента нами были обнаружены статистически значимые различия в массе крыс и тимуса между группами животных (табл. 1).

У животных с введением селена паренхима тимуса была отчетливо разделена соединительнотканью септами на дольки округлой или полигональной формы с выраженной границей между корковым и мозговым веществом. При этом в единичных препаратах в расширенных междольковых промежутках в небольшом количестве встречалась жировая ткань, а также наблюдалось выраженное полнокровие сосудов мозгового вещества. Проведенная морфометрия не выявила статистически значимых различий в площади мозгового и в толщине коркового вещества по сравнению с показателями у интактных крыс.

Введение уретана заметно изменило citoархитектонику тимуса. Визуализировались пальцевидной или прямоугольной формы дольки с увеличенными междольковыми септами, которые в большинстве препаратов были заполнены жировой тканью. При этом толщина коркового вещества составляла 444,3±35,2 мкм и превышала аналогичный показатель у интактных крыс в 1,5 раза ( $p=0,01$ ).

При сочетанном введении двух факторов тимус отличался от нормы значительным увеличением площади мозгового вещества до 570,6±15,8 мкм, которая превышала соответствующий параметр у крыс интактной группы

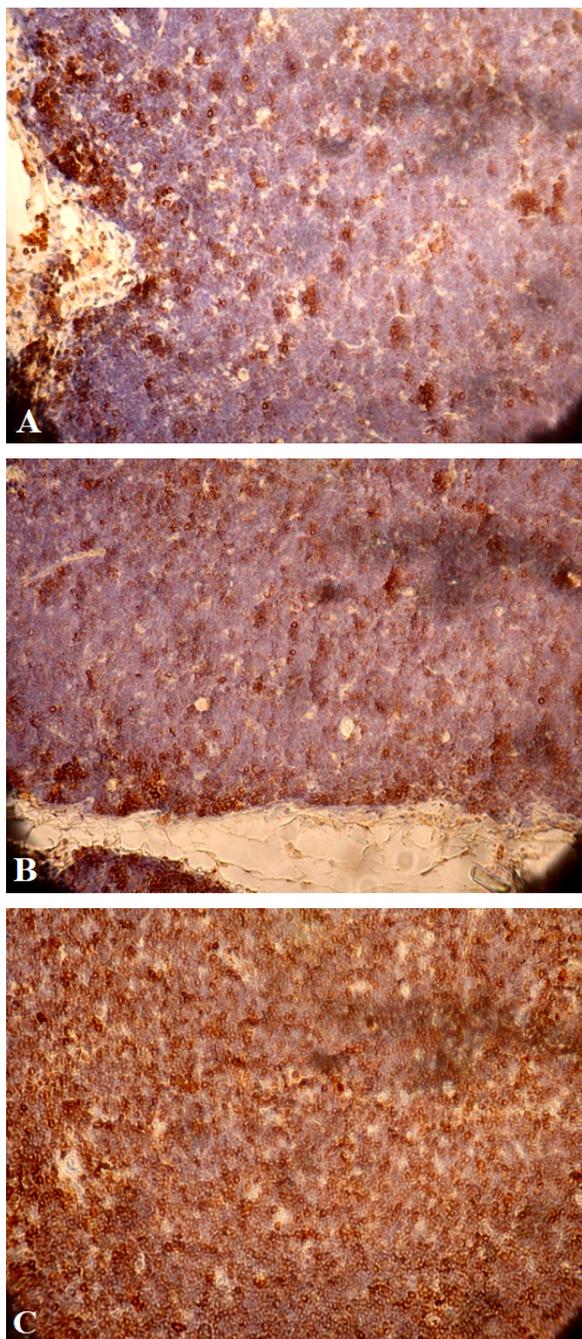


Рис. 1. Кортик коркового вещества тимуса крысы: А – при употреблении селена; В – при сочетании действия селена и уретана; С – при введении уретана. Иммуногистохимическая реакция к CD3. Ув. 400.  
Fig. 1. Cortex of rat's thymus: A – selenium intake; B – combination selenium with urethane; C – injection of urethane. Immunohistochemical reaction to CD3,  $\times 400$ .

в 3,8 раза ( $p=0,03$ ), а у крыс, подвергавшихся воздействию только уретана – в 2 раза ( $p=0,02$ ).

При иммуногистохимическом исследовании тимуса во всех опытных группах по сравнению с интактными животными выявлено изменение количества CD3<sup>+</sup>-клеток как в тимоцитах коркового вещества, так и мозгового вещества (табл. 2). На фоне приема селена количество зрелых лимфоцитов увеличивалось по сравнению с интактной группой в

2 раза (рис. 1А). Меньше всего этих клеток обнаружено в группе крыс с сочетанным воздействием селена и уретана, у которых их количество в корковом веществе было снижено на 30,5%, в мозговом – на 33,1% (рис. 1В). В группе с введением уретана, наоборот, регистрировали резкое достоверное увеличение CD3<sup>+</sup>-клеток в мозговом веществе в 9,8 раза (рис. 1С).

Изменения количества CD68<sup>+</sup>-макрофагов во всех опытных группах не были статистически значимыми.

При подсчете количества эпителиальных клеток, положительных к панцитокератину, отмечалось увеличение их численности у животных после введения уретана в корковом веществе на 72,9% и в мозговом веществе – на 36,5%. При сочетании влияния двух факторов, наоборот, число эпителиальных клеток уменьшалось в 2,4 раза.

У крыс, получавших селен, значение показателя клеточной пролиферации (Ki-67) в мозговом веществе тимуса превышало значение аналогичного показателя у интактных животных в 1,3 раза. В группе крыс, подвергавшихся сочетанному воздействию селена и уретана, индекс клеточной пролиферации в мозговом веществе уменьшался в 3,6 раза по сравнению с интактными животными.

При изучении содержания клеток, экспрессирующих белок регулятора апоптоза (p53), было выявлено снижение их численности в корковом веществе на 62% у крыс при сочетании воздействия двух факторов, тогда как в группе крыс, получавших только селен, их число возрастало более чем в 2 раза в мозговом веществе.

Электронно-микроскопическое исследование показало, что тимус крыс, получавших селен, по своей ультраструктурной организации не имел существенных отличий от тимуса животных интактной группы, кроме наличия полнокровных сосудов в мозговом веществе.

По данным электронной микроскопии, у крыс с введением уретана в лимфоцитах уменьшался ядерно-цитоплазматический индекс по сравнению с интактной группой. Количество митохондрий возрастало, они имели светлый матрикс с небольшим количеством крист. Определялись апоптотические тельца и большое количество электронно-прозрачных вакуолей. Для клеток была характерна нечеткость контуров плазмолеммы (рис. 2а).

При сочетании воздействия селена и уретана также выявлялось большое количество митохондрий, но с хорошо выраженными кристами. Присутствовало небольшое количество электронно-прозрачных вакуолей. У всех клеток была хорошо выражена плазмолемма (рис. 2б).

Таким образом, нами выявлено, что прием селена, введение уретана и сочетание

Таблица 2/Table 2

**Иммуногистохимические изменения в структурах тимуса крыс через 90 дней после различных видов воздействия, %**  
**Immunohistochemical changes in rat thymus structures 90 days after exposure, %**

| Клетки тимуса                       | Группы крыс                          | Корковое вещество, %<br>Me (Q1;Q3)     | Мозговое вещество, %<br>Me (Q1;Q3)    |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--|---------------------------------------|
| CD3 <sup>+</sup> -клетки            | Интактные                            | 5,9 (5,3; 6,1)                         | 3,2 (3; 3,4)                          |
|                                     | Уретан                               | 31,77 (30,48; 32,66)<br>p = 0,08252211 | 31,65 (31,2; 31,9)<br>p = 0,0489077*  |
|                                     | Селен                                | 12,1 (11,6; 12,3)<br>p = 0,0007025*    | 7,1 (7,01; 7,31)<br>p = 0,10610096    |
|                                     | Сочетанное действие селена и уретана | 1,8 (1,77; 1,9)<br>p = 0,0030058*      | 1,06 (0,97; 1,19)<br>p = 0,00272805*  |
| CD68 <sup>+</sup> -клетки           | Интактные                            | 1,36 (1,31; 1,39)                      | 0,56 (0,51; 0,67)                     |
|                                     | Уретан                               | 0,92 (0,83; 1,33)<br>p = 0,169411      | 0,49 (0,21; 0,56)<br>p = 0,1709112    |
|                                     | Селен                                | 0,26 (0,212; 0,288)<br>p = 0,07792615  | 0,25 (0,246; 0,256)<br>p = 0,22689881 |
|                                     | Сочетанное действие селена и уретана | 0,52 (0,465; 0,561)<br>p = 0,14594836  | 0,46 (0,4; 0,51)<br>p = 0,19265073    |
| Pancytokeratin <sup>+</sup> -клетки | Интактные                            | 0,56 (0,506; 0,62)                     | 1,2 (1,15; 1,23)                      |
|                                     | Уретан                               | 2,07 (2,054; 2,12)<br>p = 0,000254*    | 1,89 (1,15; 1,99)<br>p = 0,0183544*   |
|                                     | Селен                                | 0,67 (0,64; 0,69)<br>p = 0,1155837     | 0,36 (0,34; 0,38)<br>p = 0,06900396   |
|                                     | Сочетанное действие селена и уретана | 0,23 (0,22; 0,56)<br>p = 0,0031486*    | 0,51 (0,4; 0,81)<br>p = 0,00900396*   |
| Клеточная пролиферация (Ki-67)      | Интактные                            | 37,01 (36,16; 37,2)                    | 25,4 (25,1; 25,69)                    |
|                                     | Уретан                               | 40,5 (36,76; 44,03)<br>p = 0,25535403  | 16,5 (15,7; 16,96)<br>p = 0,06340918  |
|                                     | Селен                                | 34,6 (33,75; 35,96)<br>p = 0,20162948  | 33,7 (33,19; 34,15)<br>p = 0,0001447* |
|                                     | Сочетанное действие селена и уретана | 34,4 (33,49; 36,75)<br>p = 0,45156453  | 7,03 (6,77; 8,1)<br>p = 0,0002118*    |
| Белок апоптоза (p53)                | Интактные                            | 0,5 (0,49; 0,61)                       | 0,25 (0,18; 0,27)                     |
|                                     | Уретан                               | 0,41 (0,297; 0,582)<br>p = 0,43941701  | 0,61 (0,415; 0,80)<br>p = 0,0001779*  |
|                                     | Селен                                | 0,69 (0,627; 0,751)<br>p = 0,06319121  | 0,59 (0,532; 0,66)<br>p = 0,0132885*  |
|                                     | Сочетанное действие селена и уретана | 0,19 (0,172; 0,24)<br>p = 0,0002564*   | 0,18 (0,178; 0,2)<br>p = 0,06286319   |

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у интактных крыс при p < 0,05.

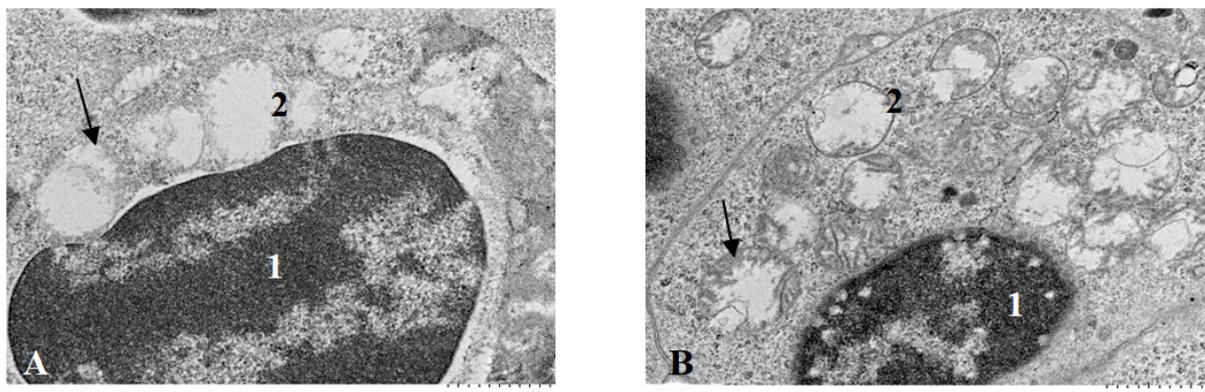


Рис. 2. Электронная микроскопия. Корковое вещество тимуса крысы: А – при введении уретана; В – при сочетании действия селена и уретана. 1 – ядро, 2 – митохондрии, стрелкой указаны кристы в митохондриях. Просвечивающий электронный микроскоп Hitachi HT 7700 Exalens. Ув. 12000.

Fig. 2. Electron microscopy. Cortex of rat's thymus: A – injection of urethane; B – combination selenium with urethane. 1 – nucleus, 2 – mitochondria, arrows indicate cristae in the mitochondria. The translucent electron microscope Hitachi HT 7700 Exalens,  $\times 12000$ .

действие двух факторов по-разному влияют на тимус опытных животных. Спустя 90 дней после курсового приема селена строение тимуса крыс незначительно отличается от интактных животных. Однако, следует отметить наличие полнокровия сосудов мозгового вещества органа на ультраструктурном уровне и увеличение количества зрелых лимфоцитов в нем.

Введение уретана существенно изменяет строение исследуемого органа, появляются признаки акцидентальной инволюции тимуса, которая характеризуется изменением формы долек тимуса, расширением междольковых промежутков и заполнением их жировой тканью, гиперплазией коркового вещества тимуса за счет увеличения количества зрелых лимфоцитов и эпителиальных клеток, положительных к панцитокератину.

Кроме этого, на ультрамикроскопическом уровне в лимфоцитах тимуса снижается ядерно-цитоплазматический индекс, увеличивается количество митохондрий, которые имеют светлый матрикс с небольшим количеством крист. Визуализируются апоптотические тельца и большое количество электронно-прозрачных вакуолей. Согласно данной литературе, выделяют гиперплазию тимуса, которая возможна как при острой, так и при хронической инволюции [2]. В нашем исследовании регистрируется гиперплазия коркового вещества тимуса при развитии его хронической акцидентальной инволюции спустя 90 дней после введения уретана.

При сочетанном воздействии двух факторов строение тимуса отличается от интактной группы увеличением площади мозгового вещества, уменьшением количества эпителиальных клеток, положительных к панцитокератину и Ki-67+ клеток. Также снижается число клеток, экспрессирующих белок-регулятор апоптоза. При электронной микроскопии количество митохондрий, которые имеют четко выраженные кристы, наоборот, увеличивается. Известно, что уменьшение экспрессии белка p53 обнаруживается в клетках, не подверженных стрессорному воздействию [5]. По результатам нашего исследования прием селена до введения уретана уменьшил процессы апоптоза и пролиферации клеток в тимусе.

### Заключение

Полученные данные позволяют сделать заключение о положительном влиянии курсового приема селена на Т-клеточное звено иммунитета на изучаемом сроке исследования. В ходе эксперимента было выявлено, что на фоне развития аденомы легкого, вызванной введением уретана, на этапе дисплазии альвеолярного эпителия определяются признаки акцидентальной инволюции тимуса. При сочетанном действии селена и уретана наблюдаются менее выраженные изменения в ис-

следуемом органе по сравнению с изолированным введением уретана.

### Список источников / References

1. Абрамцова А.В., Саградян Г.В., Пигунова Л.А., Репс В.Ф., и др. Механизмы действия модифицированной наночастицами селена минеральной воды «Красноармейский новый». Курортная медицина. 2016;1:26–34. Abramtsova AV, Sagradyan GV, Pigunova LA, Reps VF, et al. Action Mechanisms of Mineral Water "Krasnoarmeysky New" Modified by Selenium Nanoparticles. Resort Medicine. 2016;1:26–34 (In Russ.).
2. Асадова Н.Х., Алимова Н.П. Сравнительный анализ гистопатологии тимуса как центрального органа иммунной системы. Central Asian Journal of Medical and Natural Science. 2022;3(3):112–20. doi: 17605/cajmns.v3i3.740 Asadova NKh, Alimova NP. Sravnitel'nyi analiz gistopatologii timusa kak tsentral'nogo organa immunnoi sistemy. Central Asian Journal of Medical and Natural Science. 2022;3(3):112–20 (In Russ.). doi: 17605/cajmns.v3i3.740
3. Борисов В.В. Микроэлементы селен и цинк в организме женщины и мужчины: проблемы и решения. Consilium Medicum. 2018;20(7):63–8. doi: 10.26442/2075-1753\_2018.7.63-68 Borisov VV. Microelements Selenium and Zinc in Female and Male Body: Problems and Solutions. Consilium medicum. 2018 Jan 1;20(7):63–8 (In Russ.). doi: 10.26442/2075-1753\_2018.7.63-68
4. Бочарова О.А., Карпова Р.В., Бочаров Е.В., Вершинская А.А., др. β2-интегрины LFA-1, MAC-1 - мишень для усиления иммунитета против опухоли. Российский биотерапевтический журнал. 2020;19(1):53–8. doi: 10.17650/1726-9784-2019-19-1-53-58 Bocharova OA, Karpova RV, Bocharov EV, Ver-shinskaya AA. LFA-1, MAC-1 Leukocyte Integrins – Target For Tumour Immunity Magnification. Russian Journal of Biotherapy. 2020;19(1):53–8 (In Russ.). doi: 10.17650/1726-9784-2019-19-1-53-58
5. Гриценко Д.А., Орлова О.А., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х. Транскрипционный фактор p53 и старение кожи. Успехи геронтологии. 2017;30(1):10–6. Gritsenko DA, Orlova OA, Linkova NS, Khavinson VKh. Transcription Factor P53 and Skin Aging. Advances In Gerontology. 2017;30(1):10–6 (In Russ.).
6. Губенко М.С., Логинов В.И., Бурденный А.М., Пронина И.В., и др. Роль микроРНК в канцерогенезе немелкоклеточного рака легкого. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2022;30(1):123–31. doi: 10.17816/PAVLOVJ71395 Gubenko MS, Loginov VI, Burdenny AM, Pronina IV, et al. Role of Microribonucleic acid in the Carcinogenesis of Non-Small-Cell Lung Cancer. IPPavlov Russian Medical Biological Herald. 2022 Mar 31;30(1):123–32 (In Russ.). doi: 10.17816/PAVLOVJ71395
7. Заславская Р.М., Лилица Г.В., Тейблэм М.М. Влияние селена на эффективность лечения больших постинфарктным кардиосклерозом. The Scientific Heritage. 2021;64:23–7. doi: 10.24412/9215-0365-2021-64-2-23-27

- Zaslavskaya R, Lilitsa G, Tejblum M. Selenium Role on Therapy Efficacy in Patients with Postinfarction Cardiosclerosis. *The Scientific Heritage*. 2021;64:23–7 (In Russ.). doi: 10.24412/9215-0365-2021-64-2-23-27
8. Карданова А.Т., Механикова П.И., Сладковский Г.В. Анализ летальных исходов среди онкобольных военнослужащих. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020;39(S1(2)):85–7. Kardanova AT, Mekhanikova PI, Sladkovsky GV. Analysis of Deaths among Cancer Patients in Military Personnel. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2020;39(S1(2)):85–7 (In Russ.).
  9. Квиткова Л.В., Халимова А.С. Опухоли щитовидной железы, микроэлементы, ожирение и инсулинорезистентность: есть ли взаимосвязь? *РМЖ*. 2022;1:26–30. Kvitkova LV, Khalimova AS. Is there any correlation between thyroid cancer, microelements, obesity, and insulin resistance? *RMJ*. 2022;1:26–30 (In Russ.).
  10. Киреев А.А., Горбанев А.И. Легочный микробиом как фактор риска развития и прогрессирования бронхогенных опухолей. *Обзор литературы. Лабораторная и клиническая медицина. Фармация*. 2022;2(4(6)):51–8. doi: 10.14489/lcnp.2022.04.pp.051-058 Kireev AA, Gorbanev AI. The Pulmonary Microbiome as a Risk Factor for Lung Cancer Development and Progression. *Review. Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy*. 2022 Jan 1;2(4(6)):51–8 (In Russ.). doi: 10.14489/lcnp.2022.04.pp.051-058
  11. Кохан С.Т., Фефелова Е.В., Максименя М.В., Терешков П.П., и др. Восстановление антиоксидантной и иммунной защиты организма селеносодержащими средствами при экспериментальном гипоселенозе. *Фундаментальные исследования*. 2012;11-4:837–41. Kokhan ST, Fefelova EV, Maksimenya MV, Tereshkov PP, et al. Recovery and Antioxidant Selenium-Containing Immune Defense Funds in Experimental Giposelenoze. *Fundamental Research*. 2012;11-4:837–41 (In Russ.).
  12. Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю. Иммуногистохимическая характеристика некоторых показателей тимопоэза при экспериментальном канцерогенезе. *Фундаментальные исследования*. 2012;8-2:367–71. Moskvichev EV, Merkulova LM, Struchko GY. Immunohistochemical Characteristic of Some Indicators of Thymopoiesis at Experimental Carcinogenesis. *Fundamental Research*. 2012;8-2:367–71 (In Russ.).
  13. Тинькова М.Н., Айсувакова О.П., Тиньков А.А. Селен в офтальмопатологии: роль селена в физиологии зрительного анализатора. *Микроэлементы в медицине*. 2019;3(20): 3–11. doi: 10.19112/2413-6174-2019-20-3-3-11 Tinkova MN, Ajsuvakova OP, Tinkov AA. Selenium in Ophthalmopathology: The role of Selenium in Eye Physiology. *Trace Elements in Medicine (Moscow)*. 2019;20(3):3–11 (In Russ.). doi: 10.19112/2413-6174-2019-20-3-3-11
  14. Тюляндин С.А. Правда о российской онкологии: проблемы и возможные решения. М.: Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; 2018. Tyulyandin SA. Pravda o rossiiskoi onkologii: problemy i vozmozhnye resheniya. M.: Obshcherossiiskaya obshchestvennaya organizatsiya «Rossiiskoe obshchestvo klinicheskoi onkologii»; 2018 (In Russ.).
  15. Chen G, Yang F, Fan S, Jin H, Liao K, Li X, et al. Immunomodulatory roles of selenium nanoparticles: Novel arts for potential immunotherapy strategy development. *Frontiers in Immunology*. 2022 Jul 26;13:956181. doi: 10.3389/fimmu.2022.956181
  16. Dubin S, Griffin D. Lung Cancer in Non-Smokers. *Mo Med*. 2020 Jul-Aug;117(4):375–9. PMID: 32848276; PMCID: PMC7431055
  17. Forkert PG. Mechanisms of lung tumorigenesis by ethyl carbamate and vinyl carbamate. *Drug Metabolism Reviews*. 2010 Mar 5;42(2):355–78. doi: 10.3109/03602531003611915
  18. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the Immune System in cancer: from Tumor Initiation to Metastatic Progression. *Genes & Development*. 2018 Oct 1;32(19-20):1267–84. doi: 10.1101/gad.314617.118
  19. Gowd V, Su H, Karlovsky P, Chen W. Ethyl carbamate: An emerging food and environmental toxicant. *Food Chemistry*. 2018 May;248:312–21. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.072
  20. Hu W, Zhao C, Hu H, Yin S. Food Sources of Selenium and Its Relationship with Chronic Diseases. *Nutrients*. 2021 May 20;13(5):1739. doi: 10.3390/nu13051739
  21. Jones GS, Baldwin DR. Recent advances in the management of lung cancer. *Clinical medicine (London, England)*. 2018;18(2):s41–6. doi: 10.7861/clinmedicine.18-2-s41
  22. Kazakov OV, Kabakov AV, I. Yu. Ishchenko, Poveschenko AF, Raiter TV, Strunkin DN, et al. The Thymus in Experimental Mammary Carcinogenesis and Polychemotherapy. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017 Feb 1;162(4):479–82. doi: 10.1007/s10517-017-3644-y
  23. Minich WB. Selenium Metabolism and Biosynthesis of Selenoproteins in the Human Body. *Biochemistry (Moscow)*. 2022 Jan;87(S1):S168–77. doi: 10.1134/S0006297922140139
  24. Nooreldeen R, Bach H. Current and Future Development in Lung Cancer Diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Aug 12;22(16):8661. doi: 10.3390/ijms22168661
  25. Radwan E, Ali M, Faied SMA, Omar HM, Mohamed WS, Abd-Elghaffar SK, et al. Novel therapeutic regimens for urethane-induced early lung cancer in rats: Combined cisplatin nanoparticles with vitamin-D3. *IUBMB Life*. 2020 Dec 17;73(2):362–74. doi: 10.1002/iub.2432
  26. Tiffon C. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018 Nov 1;19(11):3425. doi: 10.3390/ijms19113425
  27. Yang X, Tang Z, Li J, Jiang J. Esophagus cancer and essential trace elements. *Frontiers in Public Health*. 2022 Nov 16;10. doi: 10.3389/fpubh.2022.1038153
  28. Zheng J, Guo X, Nakamura Y, Zhou X, Yamaguchi R, Zhang J, et al. Overexpression of PRDX4 Modulates Tumor Microenvironment and Promotes Urethane-Induced Lung Tumorigenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020 Dec 28;2020:1–11. doi: 10.1155/2020/8262730

**Информация об авторах**

✉ Бубнова Наталья Владимировна – старший преподаватель кафедры факультетской терапии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова; Московский проспект, 45, Чебоксары, 428034, Россия;  
natalia210485@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-2505-0827>  
SPIN 9137-4066  
Стручко Глеб Юрьевич – д-р. мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова;  
glebstr@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>  
SPIN 7776-7079  
Меркулова Лариса Михайловна – д-р. мед. наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова;  
merkulova192@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>  
SPIN 5280-9286  
Кострова Ольга Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской терапии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова;  
evkbiz@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>  
SPIN 2564-9312  
Котёлкина Анастасия Андреевна – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова;  
ds6426@chebnet.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5366-5135>  
SPIN 7213-3755

**Information about the authors**

✉ Natal'ya V. Bubnova – senior teacher of the department of faculty therapy of the Chuvash State University named after I.N. Ulyanov; Moskovskii prospekt, 45, Cheboksary, 428034, Russia;  
natalia210485@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-2505-0827>  
SPIN 9137-4066  
Gleb Yu. Struchko – Doct. Sci. (Med.), professor of the department of faculty therapy of the Chuvash State University named after I.N. Ulyanov;  
glebstr@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>  
SPIN 7776-7079  
Larisa M. Merkulova – Doct. Sci. (Med.), professor of the department of normal and topographic anatomy with operative surgery of the Chuvash State University named after I.N. Ulyanov;  
merkulova192@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>  
SPIN 5280-9286  
Ol'ga Yu. Kostrova – Cand. Sci. (Med.), associate professor of the department of faculty therapy of the Chuvash State University named after I.N. Ulyanov;  
evkbiz@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>  
SPIN 2564-9312  
Anastasiya A. Kotelkina – Cand. Sci. (Med.), associate professor of the department of normal and topographic anatomy with operative surgery of the Chuvash State University named after I.N. Ulyanov;  
ds6426@chebnet.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5366-5135>  
SPIN 7213-3755

Статья поступила в редакцию 2.06.2023; одобрена после рецензирования 23.03.2024; принята к публикации 29.03.2024.  
Submitted 2.06.2023; Revised 23.03.2024; Accepted 29.03.2024.