

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-47-54

УДК [599.323.4+114.73:611.018.2]:[615.277.4+616-003.96]

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2019

## Клеточный состав тимуса крыс при сочетанном воздействии канцерогена и стресса

А. А. Котелкина, О. Ю. Кострова, Л. М. Меркулова,  
Г. Ю. Стручко, М. Н. Михайлова

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»,  
Чебоксары, Россия

**Цель** – изучить влияние экспериментального рака молочной железы и стресса на состояние тимуса лабораторных животных.

**Материал и методы.** С помощью люминесцентно-гистохимических, общегистологических и иммуногистохимических методов исследован тимус 40 белых нелинейных крыс-самок одного возраста. Животные были разделены на 3 группы. В 1-й группе находились интактные особи. Крысам 2-й группы вводили N-метил-N-нитрозомочевину, вызывающую рак молочной железы. Животные 3-й группы испытывали сочетанное воздействие канцерогена и водно-иммобилизационного стресса.

**Результаты.** Установлено, что введение крысам-самкам N-метил-N-нитрозомочевины вызывает увеличение размеров мозгового и коркового вещества долек тимуса. В клетках премедулярной и субкапсулярной зон отмечается повышение уровня серотонина и катехоламинов, а в клетках премедулярной зоны, тимocyтах коркового и мозгового вещества – снижение уровня гистамина. Уменьшается соотношение (серотонин+гистамин)/катехоламины, процентное содержания дегранулированных форм тучных клеток возрастает. Также увеличивается количество зрелых Т-лимфоцитов и макрофагов на фоне уменьшения численности S-100<sup>+</sup> клеток. При сочетанном воздействии факторов выявлено уменьшение размеров долек органа, замещение паренхимы жировой и соединительной тканью, повышение содержания серотонина и катехоламинов, и значительное снижение уровня гистамина, с падением соотношения (серотонин+гистамин)/катехоламины в тех же клетках, увеличение зрелых форм Т-лимфоцитов и макрофагов, а также уменьшение процентного содержания дендритных клеток.

**Заключение.** Сочетанное воздействие вызывает более выраженную дезорганизацию морфофункционального состояния тимуса и приводит к формированию 4-й фазы акцидентальной инволюции тимуса с развитием атрофии и склероза органа.

**Ключевые слова:** тимус, стресс, канцерогенез, акцидентальная инволюция тимуса, биогенные амины, тучные клетки, дендритные клетки, лимфоциты, макрофаги.

### Cellular Composition of Rat Thymus with Combined Effects of Carcinogen and Stress

© A.A. Kotelkina, O.Yu. Kostrova, L.M. Merkulova, G.Yu. Struchko, M.N. Mikhailova, 2019

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

**The aim** of the research was study the effects of experimental breast cancer and stress on the thymus of laboratory animals

**Material and methods.** Thymus 40 white nonlinear female rats of the same age were investigated using luminescent-histochemical, general histological and immunohistochemical methods. The animals were divided into 3 groups. In the 1<sup>st</sup> group were intact animals. Rats of the 2<sup>nd</sup> group were injected with N-methyl-N-nitrosourea, causing breast cancer. Animals of the 3<sup>rd</sup> group experienced a combined effect of carcinogen and water-immobilization stress.

**Results.** It was established that the administration of N-methyl-N-nitrosourea to female rats causes an increase in the size of the medullar and cortex of the thymus lobes. In cells of the premedullary and subcapsular zones, an increase in the level of serotonin and catecholamines is observed, and in cells of the premedullary zone, in the thymocytes of the cortex and medulla – a decrease in the level of histamine. The ratio (serotonin + histamine) / catecholamines decreases and the percentage of degranulated mast cells increases. Also, the number of mature T-lymphocytes and macrophages is increasing against the background of a decrease in the number of S-100<sup>+</sup> cells. Combined effect of factors revealed a decrease in the size of the lobes of the organ, the replacement of the parenchyma with adipose and connective tissue, an increase in the content of serotonin and catecholamines, a significant decrease in histamine levels, with a decrease in the ratio (serotonin + histamine) / catecholamines in the same cells, an increase in mature forms of T-lymphocytes and macrophages, as well as a decrease in the percentage of dendritic cells.

**Conclusion.** The combined effect causes a more pronounced disorganization of the morphofunctional state of the thymus and leads to the 4th phase of the accidental involution of the thymus with the development of atrophy and sclerosis of the organ.

**Key words:** thymus, stress, carcinogenesis, accidental involution of thymus, biogenic amines, mast cells, dendritic cells, lymphocytes, macrophages.

**\*Автор для переписки:**

Котелкина Анастасия Андреевна  
 ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им.  
 И.Н. Ульянова», Московский пр-т, 45, г. Чебоксары,  
 Чувашская Республика, 428017, Российская Федерация  
 E-mail: ds6426@chebnet.com

**\*Corresponding author:**

Anastasiya Kotelkina  
 I.N. Ulyanov Chuvash State University, Moskovskii prospekt,  
 45, Cheboksary, Chuvash Republic, 428017, Russian  
 Federation  
 E-mail: ds6426@chebnet.com

**Введение**

Активное развитие клинической и экспериментальной медицины в последнее десятилетие привело к формированию понимания ведущей роли иммунной системы в развитии онкологических заболеваний. Пристальное внимание к проблемам этиологии и патогенеза канцерогенеза связано, в первую очередь, с ростом смертности от злокачественных новообразований. Доказано, что развитие рака происходит на фоне выраженных нарушений работы иммунной системы организма [2, 6, 12]. С одной стороны, она способна бороться с опухолью с помощью врожденного и приобретенного звеньев [1], с другой стороны – иммунная система может способствовать развитию опухоли [6].

Иммунная система способна распознавать и элиминировать опухолевые клетки, формировать специфические антитела, контролировать рост опухоли, обеспечивать длительную ремиссию заболевания, но при этом способность опухоли ускользать от иммунного распознавания определяет исход болезни [9, 14]. Выявлены многочисленные супрессорные факторы, которые могут подавлять реакцию иммунной системы в отношении опухоли [6, 9].

Дисфункция иммунных органов на фоне канцерогенеза толстой кишки была показана в наших предыдущих исследованиях. Она проявлялась развитием акцидентальной трансформации вилочковой железы [3, 8]. Эта железа как основной орган иммунной защиты выполняет функцию поддержания постоянного числа Т-лимфоцитов в периферической крови. Тимус подвергается инволютивным изменениям, в результате чего происходит снижение иммунной реактивности организма и противоопухолевой защиты.

Также известно, что на иммунную систему негативно влияет стресс, при этом потенцируя опухолевый рост и, тем самым, ухудшая прогноз для онкологических больных [13]. Доказано, что в механизм развития новообразований вовлечены гормоны, регулирующие сложные процессы в организме [4]. Некоторые гормоны принимают непосредственное участие в развитии и прогрессировании рака, другие, наоборот, тормозят его развитие [15]. Установлено, что у онкологических больных выявляется повышенный уровень

андрогенов, кортизола, эстрогенов на самых ранних стадиях рака [19, 22].

Попытки объединения полученных данных об участии иммунной и эндокринной систем в канцерогенезе приводят к выявлению значительных противоречий. В настоящей работе мы попытались показать роль иммунной системы в формировании злокачественной опухоли на фоне воздействия стресса, что, возможно, будет способствовать более глубокому пониманию функционирования оси тимус–гипофиз–надпочечники.

Целью исследования явилась оценка клеточного состава вилочковой железы при комбинированном воздействии канцерогена и стресса.

**Материал и методы исследования**

Исследование выполнено на 40 белых нелинейных крысах-самках. Все животные содержались в условиях вивария в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами». На проведение исследования получено разрешение этического комитета медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». Животные были разделены на 3 группы. 1-ю группу составляли интактные (контрольные) животные (n=10), которым вводили физиологический раствор. Во 2-ю группу входили крысы-самки (n=15), которым индуцировали опухоль молочной железы подкожным введением в основание 2-й молочной железы слева канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина из расчета 2.5 мг на крысу еженедельно в течение 5 недель. 3-я группа объединяла крыс (n=15), которых после окончания инъекций подвергали водно-иммобилизационному стрессу. Стресс моделировали путем фиксирования животных в специальных пластиковых пеналах. Затем пеналы погружались в ванну с водой (температура 16–17°C) на 60 минут на протяжении 10 дней таким образом, чтобы крысы были погружены до головы в положении на спине [16].

Через 90 суток после окончания всех воздействий животных выводили из эксперимента под кетаминным наркозом из расчета 4.4 мг/кг путем декапитации с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных 1986 года.

В результате патоморфологического исследования обнаружено, что у крыс с изолированным введением канцерогена в молочную железу выявляются предраковые изменения в виде пролиферации долек, фиброзно-кистозной мастопатии с дисплазией. В группе животных с сочетанным воздействием стресса и канцерогена в молочной железе обнаружен

неинфильтрирующий внутрипротоковый рак. Это согласуется с данными литературы [17].

С целью выявления серотонин- и катехоламинсодержащих тканевых элементов в тимусе применяли люминесцентно-гистохимический параформальдегидный метод Фалька–Хилларпа в модификации Е.М.Крохиной [5]. Для идентификации гистаминсодержащих тканевых элементов тимуса использовали флуоресцентно-гистохимический ортофталевый-альдегидный метод Кросса-Эвена-Роста [18]. Количественное определение уровней биологически активных аминов в тканевых элементах тимуса проводили с помощью цитоспектрофлуориметрического метода. Уровень биогенных аминов выражался в условных единицах (усл. ед.). Определяли соотношение (серотонин+гистамин)/катехоламины с целью оценки суммарно-направленного действия биологически активных аминов. Это соотношение свидетельствует о функциональном состоянии клеточных структур тимуса. Его увеличение указывает на подавление физиологической активности клеток, уменьшение – об их стимуляции.

Морфометрию тимуса проводили на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином (толщину коркового и площадь мозгового вещества).

Изучение тучноклеточной популяции тимуса проводили на препаратах, окрашенных полихромным толуидиновым синим по методу Унна [10].

Иммуногистохимический анализ проводили с применением моноклональных (МКАТ) и поликлональных (ПКАТ) антител NovoCastra (Великобритания) и Santa Cruse (США): ПКАТ к белку S-100 – маркеру дендритных клеток и нейроэктодермальных клеток; ПКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 3 типа – CD3 (для идентификации зрелых Т-лимфоцитов); МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 68 типа – CD68 (для выявления макрофагов в структурах микроокружения тимических долек, клон ED-1). Для иммуногистохимического исследования половину тимуса в течение суток фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина, затем выполняли стандартную спиртово-ксилоловую проводку, подготовленные образцы заливали в парафин. Изготавливали микротомные срезы толщиной 4 мкм, наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре 37°C в течение 18 ч. Демаскировку и иммуногистохимическую окраску проводили ручным способом с использованием системы визуализации NovoLink polymer. Контролем для иммуногистохимической реакции служила немунитизированная сыворотка.

Компьютерную морфометрию проводили с помощью лицензионной программы

«Микро-Анализ» (г. Санкт-Петербург). Оценка интенсивности мембранной иммуногистохимической реакции осуществлялась путем автоматического выделения и подсчета площади соответствующего цветового спектра (DAB) по отношению к площади снимка. Окрашивание ядер оценивали путем подсчета их позитивной реакции. На каждом срезе измерения выделены в 10 полях зрения при увеличении  $\times 400$ . Все результаты выражали в процентах.

Оценка статистической значимости полученных данных проводилась по t-критерию Стьюдента. Данные представляли в виде средней арифметической величины (M) и ее средней ошибки (m).

### Результаты и их обсуждение

В интактном тимусе паренхима отчетливо разделена соединительнотканью септами на дольки округлой или полигональной формы с выраженной границей между корковым и мозговым веществом. Мозговое вещество долек обладает темно-зеленой люминесценцией. Корковое вещество, окружающее мозговое, светлее, из-за более высокого содержания биогенных аминов в его клеточных элементах.

В тимусе определяют люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК), преимущественно в корковом веществе (рис. 1). Клеточные элементы, расположенные в разных частях дольки, отличаются по форме, размеру, а также по числу, размеру и цвету гранул. Среди этих клеток выделяют крупные клетки премедуллярной зоны (ПМК), обладающие ярко-желтым свечением. Все корковое вещество дольки железы занимают беспорядочно расположенные мелкие субкапсулярные клетки (СКК), гранулы которых обладают зелено-желтой люминесценцией. Тучные клетки (ТК) встречаются в периферической части коркового вещества и междольковых соединительнотканью септах. Это клетки овальной формы с гранулами одинакового размера, с беловато-желтой люминесценцией.

Клетки мозгового вещества и премедуллярной зоны у контрольных животных дают позитивную реакцию на белок S-100. Кроме того, в тимусе обнаруживаются единичные макрофаги – CD68<sup>+</sup> клетки. Зрелые Т-лимфоциты выявляются в мозговом и корковом веществе долек железы. Доля CD3-позитивных лимфоцитов составляет 35% в мозговом веществе и 50% – в корковом веществе от общего числа тимоцитов.

На окрашенных гематоксилином и эозином срезах тимуса интактных крыс визуализируются дольки округлой, полигональной или овальной формы, в них четко отграничены светлое мозговое и темное корковое вещество.

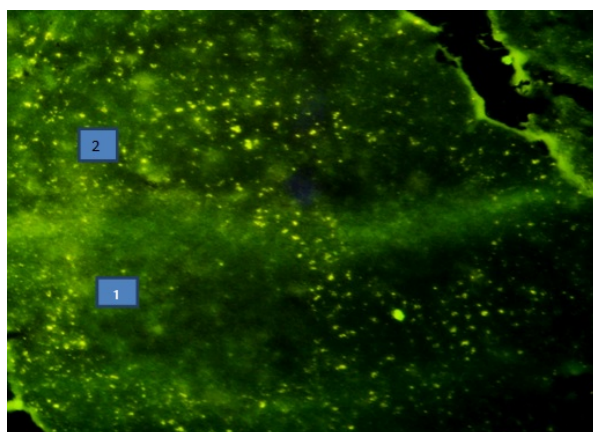


Рис. 1. Тимус интактной крысы. Клетки премедулярной зоны окружают мозговое вещество округлой формы. Метод Фалька–Хилларпа. Обозначения: 1 – мозговое вещество доли; 2 – корковое вещество доли. Об.10; ок. 10



Рис. 2. Тимус интактной крысы. Тучные клетки в междольковых септах. Преобладание недегранулированных форм. Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна. Об. 10; ок.10.

Таблица

**Уровень биогенных аминов в тимусе у интактных крыс, после введения N-метил-N-нитрозомочевина и комбинированного воздействия канцерогена и стресса, (усл. ед.)**

Структуры	Биогенные амины	Контроль	Введение канцерогена	Комбинированное воздействие канцерогена и стресса
Премедулярные клетки	серотонин	1.86±0.4	4.2±0.16*	3.005±0.12*
	гистамин	9.514±0.3	7.44±0.74*	3.26±0.32**
	катехоламины	0.377±0.05	0.611±0.02	0.61±0.02*
Субкапсулярные клетки	серотонин	0.87±0.17	1.376±0.05*	1.34±0.06*
	гистамин	3.75±0.02	4.677±0.7	1.28±0.07*
	катехоламины	0.15±0.01	0.3±0.01*	0.28±0.02*
Тимоциты коркового вещества	серотонин	0.56±0.17	1.01±0.03	1.2±0.08
	гистамин	9.49±0.09	2.595±0.4*	1.4±0.16*
	катехоламины	0.28 ±0.028	0.188±0.005	0.28±0.005
Тимоциты мозгового вещества	серотонин	0.58±0.07	0.636±0.849	1.37±0.08**
	гистамин	2.1±0.14	0.849±0.04*	0.89±0.04*
	катехоламины	0.24±0.07	0.173±0.005	0.4±0.02**
Тучные клетки	серотонин	1.324±0.01	1.671±0.13	1.84±0.4
	гистамин	1.74±0.17	1.746±0.13	1.73±0.1
	катехоламины	0.26±0.008	0.225±0.003	0.29±0.02

Примечание: \* –  $P \leq 0.01$

ТК на срезах тимуса контрольных крыс в основном располагаются в междольковых соединительнотканых септах (рис. 2). Единичные ТК встречаются и в корковом веществе. В среднем они обнаруживаются в количестве  $5.2 \pm 0.3$  клеток, среди них преобладают недегранулирующие и слабодегранулирующие формы.

Через 90 суток после окончания введения канцерогена цитоархитектоника тимуса заметно изменяется. Встречаются крупные долики вытянутой, веретенообразной формы с увеличенными междольковыми промежутками. Визуально мозговое вещество тимуса имеет разную форму и размеры с неровными контурами, а его площадь при морфометрии превышает этот показатель у интактных животных. Толщина коркового вещества также достоверно увеличивается в два раза по сравнению с контролем.

При исследовании содержания биогенных аминов в ПМК, СКК обнаруживается достоверное увеличение уровня серотонина и катехоламинов по сравнению с интактными животными (табл.). Уровень гистамина, напротив, достоверно уменьшается в ПМК в 1.3 раза, в тимоцитах коркового и мозгового вещества – в 3.6 и 2.5 раза соответственно.

Кроме того, при воздействии канцерогена выявлено снижение соотношения (серотонин+гистамин)/катехоламины в ПМК и СКК в 1.5 раза, в тимоцитах коркового вещества оно уменьшается почти в 2 раза, что свидетельствует об увеличении функциональной активности клеточных элементов тимуса.

При окраске срезов полихромным толуидиновым синим по методу Унна нами не выявлено достоверных различий по общему количеству ТК от интактных крыс. При этом в процентном соотношении преобладают де-



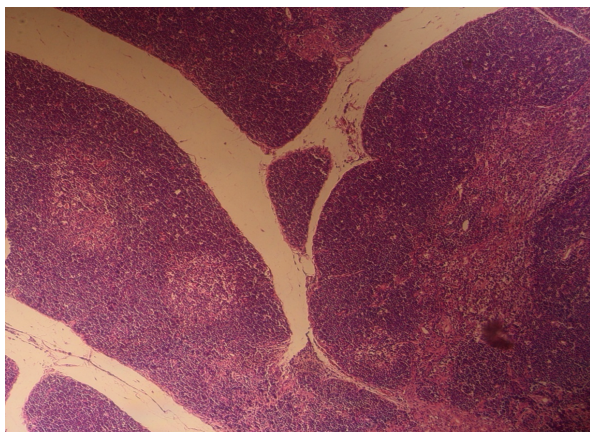


Рис. 3. Тимус крысы спустя 90 суток после окончания сочетанного воздействия канцерогена и водно-иммобилизационного стресса. Мозговое вещество в виде небольших включений округлой формы, замещение паренхимы тимуса жировой и соединительной тканью. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10; ок.10.

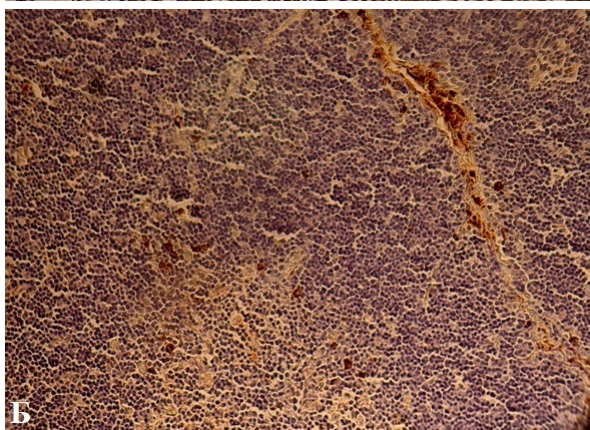
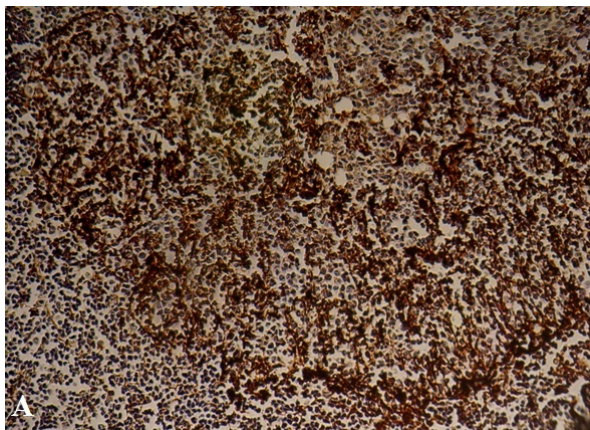


Рис. 4. Тимус интактной крысы (А); тимус крысы спустя 90 суток после окончания сочетанного воздействия канцерогена и водно-иммобилизационного стресса (Б). Уменьшение S-100<sup>+</sup> клеток в паренхиме коркового и мозгового веществ. Иммуногистохимическая реакция на белок S-100. Об. 40; ок.10.

гранулированные и полностью опустошенные клетки.

Результаты иммуногистохимического исследования показали, что доля S-100<sup>+</sup> клеток в премедуллярной зоне достоверно сокращается в 2 раза по сравнению с контролем. Доля зрелых Т-лимфоцитов в мозговом веще-

стве значительно возрастает (почти в 7 раз). Также увеличивается количество макрофагов и в корковом, и в мозговом веществе в 7 раз и в 5 раз соответственно.

Сочетанное воздействие канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины и водно-иммобилизационного стресса приводит к более выраженным изменениям в citoархитонике и функциональной активности биоаминсодержащих структур тимуса. Кортико-медуллярная граница становится нечеткой, при этом большая часть тимоцитов в паренхиме замещается жировой и соединительной тканью (рис. 3).

Морфометрия долек показала уменьшение площади мозгового и толщины коркового вещества, как по сравнению с интактными крысами, так и с изолированным введением канцерогена.

При исследовании биогенных аминов выявлено достоверное снижение гистамина по сравнению с интактными животными того же возраста в ЛГК премедуллярной и субкапсулярной зон в 3 раза, тимоцитах коркового и мозгового вещества – в 6 и в 2.3 раза соответственно.

Соотношение (серотонин+гистамин)/катехоламины в ЛГК и корковых тимоцитах уменьшается в 3.5 раза, в мозговых тимоцитах – в 2 раза по сравнению с контрольными крысами того же возраста. Это снова свидетельствует об увеличении функциональной активности клеток, несмотря на снижение их общего количества.

Все формы ТК встречаются практически в одинаковом соотношении. Недегранулированные и частично дегранулированные составляют 25.7% и 26.6%, дегранулированные и полностью опустошенные – 23% и 24.7% соответственно.

Иммуногистохимическое исследование структур тимуса показало, что в мозговом веществе CD3<sup>+</sup> клеток на 14% ниже, чем у крыс с введением N-метил-N-нитрозомочевины. Также в паренхиме мозгового вещества существенно возрастает доля CD68<sup>+</sup> клеток – в 5 раз. Достоверно сокращается число S-100<sup>+</sup> клеток, как в корковом, так и в мозговом веществе, и по сравнению с контролем, и с группой животных, которым вводили канцероген (рис. 4). Их доля составляет в мозговом веществе 7.35% против 34.68% у интактных и 16.8% – с изолированным введением канцерогена, в корковом веществе – 4.38% против 10.73% у интактных, и 11.5% предыдущей группы исследования соответственно.

Таким образом, при введении крысам-самкам N-метил-N-нитрозомочевины наблюдается увеличение размеров мозгового и коркового вещества долек тимуса, повышение уровня серотонина и катехоламинов и снижение гистамина в изучаемых клеточных структурах, снижение показателя (серото-

нин+гистамин)/катехоламины, увеличение процентного содержания дегранулированных и полностью опустошенных тучных клеток, а также увеличение количества зрелых Т-лимфоцитов и макрофагов и уменьшение S-100<sup>+</sup> клеток. Все это может указывать на повышение функциональной активности тимуса.

Воздействие двух факторов приводит к более значительным изменениям морфофункционального состояния тимуса. Это проявляется уменьшением размеров долики органа, замещением паренхимы жировой и соединительной тканью, снижением уровня гистамина, что в 1.5 раза более выражено по сравнению с изолированным введением канцерогена, и, напротив, повышением серотонина и катехоламинов, снижением соотношения (серотонин+гистамин)/катехоламины, увеличением зрелых форм Т-лимфоцитов и макрофагов и уменьшением процентного содержания дендритных клеток. Прослеживается значительная дезорганизация тимуса по сравнению с изолированным введением канцерогена.

По-нашему мнению, выявленные изменения у животных обеих экспериментальных групп свидетельствуют о развитии акцидентальной инволюции тимуса. Это согласуется с данными литературы [21]. При этом сочетанное воздействие вызывает более выраженную дезорганизацию морфофункционального состояния тимуса. Известно, что развитие инволюции тимуса происходит поэтапно [11]. Вероятно, при изолированном введении канцерогена формируется 2–3 фаза инволюции тимуса, при которой наблюдается стимуляция функциональной активности органа. При сочетанном воздействии на этом же сроке исследования – 4 фаза с развитием атрофии и склероза органа.

Развитие акцидентальной инволюции может быть спровоцировано любыми факторами. Действие патологических раздражителей приводит к напряжению функциональной активности тимуса [7]. При этом может изменяться количество лимфоцитов в железе и интенсивность их миграции, а также может возрастать секреторная активность клеток эпителиальных скоплений, синтезирующих гормональные вещества [7]. Секретируемые гормональные вещества, с одной стороны, влияют на поступление Т-предшественников в тимус, с другой – способствуют становлению иммунологической зрелости этих клеток [7]. Доказано, что запуск и регуляция эффективности иммунного ответа определяется антигенами Т-лимфоцитов [14]. К фенотипическим маркерам лимфоцитов относится маркер CD3<sup>+</sup> [14]. Экспрессия CD3<sup>+</sup> рецепторов на мембране Т-клеток отражает их функцию и позволяет определять общее количество Т-лимфоцитов [14].

Выявленное нами уменьшение этих клеток при сочетанном воздействии по сравнению с изолированным введением канцерогена, вероятнее всего, является токсическим и депрессивным воздействием опухоли и стресса на клеточный иммунитет.

Важную роль в защите организма занимают дендритные клетки, которые при активации вырабатывают интерлейкины и гормонopodobные биологически активные вещества, а также биоамины. В нашем исследовании количество этих клеток уменьшается по сравнению с контрольными животными во всех сериях эксперимента. Установлено, что после того, как дендритные клетки захватывают злокачественные антигены, опухолевые и стромальные стимулы вызывают их созревание и эмиграцию в лимфатические узлы для представления опухолевых антигенов специфическим Т-клеткам [1]. Также и некоторые факторы, выделяемые опухолью, могут привлекать дендритные клетки в очаг неоплазии, нарушать их созревание, дифференцировку и функциональную активность [1]. При сравнении количества этих клеточных элементов между различными сериями в нашем эксперименте выявлено, что наибольшее их уменьшение наблюдалось при сочетанном воздействии.

Известно, что различные воздействия на организм провоцируют ответную реакцию со стороны тучных клеток, а именно их количественным изменениям и распаду за счет выброса медиаторов из гранул. Также эти клетки способствуют активации ангиогенеза в активно растущих злокачественных новообразованиях [20]. На фоне развивающейся инволюции популяция дегранулированных и полностью опустошенных тучных клеток увеличивается, а локализуются они по всей строме тимуса. Возможно, процесс дегрануляции тучных клеток свидетельствует об их непосредственном участии в иммунном ответе при развитии опухоли. С другой стороны, тучные клетки и выделяемые ими биогенные амины, способны регулировать скорость и степень развития акцидентальной инволюции.

### Заключение

Наши исследования показали, что изолированное введение канцерогена, а также сочетанное воздействие канцерогена и стресса приводят к изменениям цитоархитектоники тимуса, что проявляется его акцидентальной инволюцией. При этом процесс значительно выражен при сочетанном воздействии канцерогена и стресса, что сопровождается развитием более агрессивной опухоли.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы / References

1. Кескинов А.А., Шуринов М.Р., Бухман В.М., Шпрых З.С. Влияние секретируемых опухолью веществ на дендритные клетки при раке. Российский биотерапевтический журнал. 2017; 16(1):12–23 [Keskinov AA, Shurin MR, Bukhman VM, Shprakh ZS. Impact of tumor-derived factors on dendritic cells in cancer. Russian Journal of Biotherapy. 2017; 16 (1): 12–23] (in Russian).
2. Кит О.И., Златник Е.Ю., Никителова Е.А., Геворкян Ю.А., Аверкин М.А., Новикова И.А., Дашков А.В. Особенности общего и локального иммунитета при одиночном и синхронном первично-множественном раке толстой кишки. Современные проблемы науки и образования. 2012; 5:38 [Kit OI, Zlatnik EYu, Nikipelova EA, Gevorkyan YuA, Averkin MA, Novikova IA, Dashkov AV. Peculiarities of general and local immunity at solitary and synchronous primary-multiple colon cancer. Modern problems of science and education. 2012; 5:38] (in Russian).
3. Кострова О.Ю. Акцидентальная инволюция тимуса крыс на фоне развития аденокарциномы толстой кишки, вызванной введением канцерогена в различной дозировке. Фундаментальные исследования. 2013; 3–2:321–4 [Kostrova OYu. Accidental thymic involution in rats in the background of a colon adenocarcinoma induced by administration of a carcinogen in different given dose. Fundamental research. 2013; 3–2:321–4] (in Russian).
4. Кострова О.Ю., Стоменская И.С., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н., Лукьянов М.В., Филиппов Ф.Н. Изменения в надпочечниках крыс-самок при сочетанном воздействии канцерогена и стресса. Строение организма человека и животных в норме, патологии и эксперименте: сборник научных работ. Минск, 2017: 295–9 [Kostrova OYu, Stomenskaya IS, Merkulova LM, Struchko GYu, Mikhajlova MN, Lukiyanov MV, Filippov FN. Changes in adrenal glands of female rats with the combined effect of carcinogen and stress. Stroenie organizma cheloveka i zhivotnykh v norme, patologii i ehksperimente. Minsk, 2017: 295–9] (in Russian).
5. Крохина Е.М., Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффекторной иннервации сердечной мышцы. Кардиология. 1969; 3: 97–102 [Krokhina EM, Aleksandrov PN. Simpaticheskiy (adrenergicheskiy) komponent effektornoy innervatsii serdechnoy myshtsy. Kardiologiya. 1969; 3:97–102] (in Russian).
6. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунофизиологические механизмы возникновения и поддержания опухолевого роста у человека. Физиология человека. 2010; 36 (4):5–14 [Lebedev KA, Ponyaakina ID. Immunophysiological mechanisms of the origin and maintenance of tumor growth in humans. Human Physiology. 2010; 36(4):373–81] (in Russian).
7. Маткина О.В. Патогистологические изменения в тимусе и селезенке инбредных белых крыс при остром стрессе. Пермский медицинский журнал. 2014; 31(1):121–8 [Matkina O.V. Pathohistological changes in inbred white rats thymus and spleen during acute stress. Perm Medical Journal. 2014; 31(1):121–8] (in Russian).
8. Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н., Кострова О.Ю. Возрастная инволюция и острая атрофия тимуса при экспериментальном канцерогенезе. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2014; 3(51):127–9 [Moskvichev EV, Merkulova LM, Struchko GYu, Mikhajlova MN, Kostrova OYu. Age-related involution and acute thymic atrophy in experimental carcinogenesis. Journal of Volgograd State Medical University. 2014; 3 (51):127–9] (in Russian).
9. Парахонский А.П. Механизмы повышения эффективности противоопухолевого иммунитета. В мире научных открытий: материалы XVI международной научно-практической конференции: сборник научных трудов. Москва; 2015: 21–6 [Parakhonskiy AP. Mekhanizmy povysheniya ehffektivnosti protivopukholevogo immuniteta. V mire nauchnykh otkrytij: materialy XVI mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferentsii: sbornik nauchnykh trudov. Moscow; 2015: 21–6] (in Russian).
10. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.: Изд-во иностр. лит. 1962. 962 [Pirs E. Histochemistry theoretical and applied. Moscow: 1962. 962] (in Russian).
11. Родзаевская Е.Б. Особенности акцидентальной инволюции вилочковой железы при пероральном применении ацетата свинца в эксперименте. Естественные науки. 2017; 4:166–71 [Rodzaevskaya EB. Peculiarities of the thymus accidental involution under plumbum acetate-containing ration at experiment. Natural sciences. 2017; 4:166–71] (in Russian).
12. Скотаренко Л.В., Воротников И.К., Кадагидзе З.Г., Шамилов Ф.А. Особенности Т-клеточного иммунитета при раке молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2011; 4:24–8 [Skotarenko LV, Vorotnikov IK, Kadagidze ZG, Shamilov FA. The specific features of T cell immunity in breast cancer. Tumors of female reproductive system. 2011; 4:24–8] (in Russian).
13. Солопова А., Идрисова Л., Чуканова Е., Алипов В. Нейроиммунология в онкологии: воздействие стресса на болезнь. Врач. 2017; 9:14–6 [Solopova A, Idrisova L, Chukanova E, Alipov V. Neuroimmunology in oncology: impact of stress on disease. Vrach. 2017; 9:14–16] (in Russian).
14. Тилляшайхов М.Н., Камышов С.В. Особенности клеточного статуса иммунитета у больных раком шейки матки. European Science. 2018; 5(37):75–80 [Tillyashajkhov MN, Kamyshev SV. Osobennosti kletochного statusa immuniteta u bol'nykh rakom shejki matki. European Science. 2018; 5 (37): 75–80] (in Russian).
15. Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепятаки Л.К., Черярина Н.Д. Взаимосвязь некоторых факторов роста и гормонов в крови крыс в динамике метастатического поражения печени. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3:205 [Frantsiyants EM, Kaplieva IV, Trepitaki LK, Cheryarina ND. Correlation between some growth factors and hormones in blood of rats during liver metastasis. Modern problems of science and education. 2015; 3:205] (in Russian).
16. Шалыпина В.Г., Вершинина Е.А., Ракицкая В.В., Рыжова Л.Ю., Семенова М.Г., Семенова О.Г. Изменение приспособительного поведения активных и пассивных крыс Виста в водно-иммерсионной модели депрессии. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2006; 56(4): 543–7 [Shalyapina VG,

- Vershinina EA, Rakitskaya VV, Ryzhova LYu, Semenova MG, Semenova OG. Alteration of active and passive Wistar rats adaptive behavior in water-immersion model of depression. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2006 Jul-Aug;56(4):543–7] (in Russian).
17. Bojkova B, Kajo K, Kubatka P, Solar P, Pec M, Adamkov M. Metformin and melatonin improve histopathological outcome of NMU-induced mammary tumors in rats. *Pathol Res Pract*. 2019; 215(4):722–9. doi:10.1016/j.prp.2019.01.007
  18. Cross SAM, Ewen SWB., Rost EWD. A study of the methods oavailable for the cytochemical Fnflammatory of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde. *J. Histochem*. 1971; 6:471–6.
  19. Csaba G. The immunoendocrine thymus as a pacemaker of lifespan. *Acta Microbiologica et Immunologica*. 2016; 63(2):139–58.
  20. Faustino-Rocha A, Gama A, Neuparth M, et al. Mast Cells in Mammary Carcinogenesis: Host or Tumor Supporters. *Anticancer Res*. 2017; 37(3):1013–21.
  21. Kazakov OV, Kabakov AV, Ishchenko IY, Pove-shchenko AF, Raiter TV, Strunkin DN, Konenkov VI. The Thymus in Experimental Mammary Carcinogenesis and Polychemotherapy. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 162(4): 479–82. doi:10.1007/s10517-017-3644-y
  22. Wang W, Xu ZZ, Costanzo M, Boone C, Lange CA, Myers CL. Pathway-based discovery of genetic interactions in breast cancer *PLoS Genet*. 2017; 13(9). doi:10.1371/journal.pgen.1006973

Поступила в редакцию 17.03.2019

Принята в печать 6.05.2019

Received 17.03.2019

Accepted 6.05.2019

Для цитирования: Котелкина А.А., Кострова О.Ю., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н. Клеточный состав тимуса крыс при сочетанном воздействии канцерогена и стресса. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2019; 8(2): 47–54. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-47-54

For citation: Kotelkina A.A., Kostrova O.Yu., Merkulova L.M., Struchko G.Yu., Mikhailova M.N. Cellular composition of rat thymus with combined effects of carcinogen and stress. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(2): 47–54. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-47-54