

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ ТИМУСА КРЫС ПРИ ИНДУЦИРОВАНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ N-МЕТИЛ-N-НИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ

Котелкина А.А., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Стоменская И.С.

Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия, e-mail: ds6426@chebnet.com

FEATURES OF RAT THYMUS MORPHOLOGY AT THE INDUCTION OF THE BREAST CANCER BY N-METHYL-N-NITROSOUREA

Kotyolkina AA, Merkulova LM, Struchko GYu, Moskvichev EV, Kostrova OYu, Stomenskaya IS

Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia, e-mail: ds6426@chebnet.com

Для цитирования:

Котелкина А.А., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Стоменская И.С. Особенности морфологии тимуса крыс при индуцировании рака молочной железы n-метил-n-нитрозомочевинной// Морфологические ведомости.- 2020.- Том 28.- № 1.- С. 55-63. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28\(2\):55-63](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28(2):55-63)

For the citation:

Kotyolkina AA, Merkulova LM, Struchko GYu, Moskvichev EV, Kostrova OYu, Stomenskaya IS. Features of rat thymus morphology at the induction of the breast cancer by n-methyl-n-nitrosourea. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2020; 28(1):55-63. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28\(2\):55-63](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28(2):55-63)

Резюме. Иммунная система в целом занимает ведущее значение в формировании адекватного иммунного ответа при возникновении и развитии опухолей. Цель исследования - выявить особенности изменения морфологии и содержания биогенных аминов в тимусе крыс при экспериментальном канцерогенезе рака молочной железы путем введения N-метил-N-нитрозомочевины. В работе использованы люминесцентно-гистохимические, общегистологические и иммуногистохимические методы исследования, которые позволили получить важную информацию о функциональной активности клеточных элементов тимуса, количественном составе макрофагов, дендритных клеток, лимфоцитов и о качественной характеристике тучных клеток. Эксперимент выполнен на 85 белых нелинейных крысах-самках, которым вводили канцероген N-метил-N-нитрозомочевину, индуцирующий опухоль молочной железы. Животные были разделены на две группы: интактные (n=30) и крысы, которым вводили канцероген (n=45). Структуру тимуса исследовали через 1, 2 и 3 месяца после окончания инъекций. В ходе исследования отмечаются изменения морфометрических показателей органа. Через месяц после введения препарата увеличивается площадь мозгового и толщина коркового вещества, которые с увеличением срока исследования уменьшаются. Замещение паренхимы тимуса жировой и соединительной тканью начинается уже через 2 месяца и прогрессирует с увеличением срока исследования. Выявлена тенденция к волнообразным изменениям биогенных аминов, через 1 месяц наблюдается достоверный рост уровня гистамина и снижение серотонина и катехоламинов, через 2 месяца увеличение всех биогенных аминов, особенно гистамина (в 1,5 и более раз) в премедуллярных и тучных клетках, тимоцитах коркового вещества. Через 3 месяца, напротив, отмечается снижение гистамина и возрастание уровня моноаминов. Соотношение (серотонин+гистамин)/катехоламины через 1 месяц свидетельствует о снижении функциональной активности тимуса, а через 3 месяца - об ее увеличении. На всех сроках исследования преобладают дегранулированные формы тучных клеток. В динамике эксперимента выявлен рост числа дендритных клеток, лимфоцитов, и, вдвое числа макрофагов и Bcl-2+клеток. Полученные в ходе исследования данные позволили предположить, что введение N-метил-N-нитрозомочевины и последующее развитие опухоли молочной железы отражается на изменении морфофункционального состояния тимуса. При этом наибольшие изменения наблюдались через 2 месяца после окончания введения канцерогена еще до формирования опухоли молочной железы. Полученные данные могут иметь определенное значение при определении иммунного статуса в моделях экспериментального канцерогенеза.

Ключевые слова: тимус, биогенные амины, экспериментальный канцерогенез, N-метил-N-нитрозомочевина

Summary. The immune system as a whole plays a leading role in the formation of an adequate immune response during the onset and development of tumors. The aim of the study was to reveal the features of the change in the morphology and level of biogenic amines of the thymus of rats during experimental carcinogenesis of breast cancer by the injection of N-methyl-N-nitrosourea. In the work used luminescence-histochemical, general histological and immunohistochemical methods, which made it possible to obtain important information about the functional activity of the cellular elements of the thymus, the quantitative composition of macrophages, dendritic cells, lymphocytes and the qualitative characteristics of mast cells. The experiment was carried out on 85 white nonlinear female rats, which were injected with the carcinogen N-methyl-N-nitrosourea, which induces a breast tumor. Animals were divided into two groups: intact (n=30) and rats injected with a carcinogen (n=45). The thymus structure was examined 1, 2, and 3 months after the end of the injections. During the study, changes in the morphometric parameters of the organ are noted. A month after the injection of the drug, the area of the medulla of the thymus and the thickness of the cortex substance of the organ increases, which decrease with an increase in the study period. Replacement of the thymus parenchyma with adipose and

connective tissue begins after 2 months and progresses with an increase in the study period. A tendency to wavelike changes in biogenic amines was revealed, after 1 month there is a significant increase in the level of histamine and a decrease in serotonin and catecholamines, after 2 months an increase in all biogenic amines, especially histamine (1.5 times or more) in premedullary and mast cells, thymocytes of the cortex. After 3 months, on the contrary, there is a decrease in histamine and an increase in the level of monoamines. The ratio (serotonin+histamine)/catecholamines after 1 month indicate a decrease in the functional activity of the thymus, and after 3 months - about its increase. At all stages of the study, degranulated forms of mast cells predominate. In the dynamics of the experiment, an increase in the number of dendritic cells, lymphocytes, and twice the number of macrophages and Bcl-2+cells was revealed. The data obtained in the course of the study suggested that the introduction of N-methyl-N-nitrosourea and the subsequent development of a breast tumor is reflected in the change in the morphofunctional state of the thymus. In this case, the greatest changes were observed 2 months after the end of the administration of the carcinogen, even before the formation of a breast tumor. The data obtained can have a certain value in determining the immune status in models of experimental carcinogenesis.

Key words: *thymus, biogenic amines, experimental carcinogenesis, N-methyl-N-nitrosourea*

Введение. Механизмы развития злокачественных опухолей по-прежнему остаются актуальной проблемой экспериментальной и клинической онкологии [1-3]. Отдельным классом канцерогенных факторов следует рассматривать химические канцерогены [4-6]. Их воздействие исследуется преимущественно при экспериментальном канцерогенезе на моделях с лабораторными животными. Существенное значение в таких моделях уделяется детальному анализу процессов в иммунной системе животных. Риск развития злокачественной опухоли повышается при любом виде экзогенной химической иммуносупрессии, а исход процесса напрямую зависит от состояния иммунитета [7-10]. Важным звеном в этих процессах является тимус, в котором дифференцировка Т-лимфоцитов происходит с участием биогенных аминов (гистамина, серотонина, катехоламинов). Уникальность тимуса заключается в том, что его структуры – тимические лимфоциты и эпителиальные клетки, а также выделяемые ими биогенные амины, непосредственно участвуют в обеспечении нейроэндокринных процессов [11]. Известно, что серотонин усиливает активность и взаимодействие клеток иммунной системы, их миграцию, а катехоламины активируют Т-хелперы и усиливают функциональную активность тучных клеток [12]. Гистамин, наоборот, угнетает фагоцитоз, усиливает цитотоксичность Т-клеток.

Цель исследования - выявить особенности динамики морфологических и иммуногистохимических изменений тимуса крыс при экспериментальном канцерогенезе молочной железы на фоне введения N-метил-N-нитрозомочевина.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 85 белых нелинейных крысах-самках. Уход за животными, содержащимися в виварии, осуществлялся в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», с разрешения локального этического комитета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол 2/2 от 8 октября 2015 года). Крысы были разделены на две группы. Первая группа (n=30) – интактные животные. Вторая группа (n=45) – животные, которым проводили инъекции канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина в молочную железу из расчета 2,5 мг 1 раз в неделю в течение 5 недель. Выведение животных из эксперимента проводилось через 1, 2 и 3 месяца после завершения курса инъекций под кетаминным наркозом из расчета 4,4 мг/кг путем декапитации в соответствии с международными правилами проведения работ с экспериментальными животными [13]. Объект морфологического исследования был тимус. При взятии тимуса его массу выражали в мг на 100 г массы крысы. Были использованы следующие методы исследования: люминесцентно-гистохимический параформальдегидный метод Фалька-Хилларпа в модификации Крохиной [14] – для избирательного выявления серотонина и катехоламинов в тимусе; флуоресцентно-гистохимический ортофталевальдегидный метод Кросса, Эвена, Роста [15] – для идентификации гистаминсодержащих структур тимуса; метод цитоспектрофлуориметрии – для количественной оценки уровней серотонина (далее - СТ), катехоламинов (далее - КА) и гистамина (далее - ГСТ). Измерения проводили с помощью насадки ФМЭЛ-1А, установленной на люминесцентный микроскоп ЛЮАМ-4 при выходном напряжении 600 В. Для характеристики суммарно-

направленного действия биогенных аминов вычислялось соотношение (СТ+ГСТ)/КА, свидетельствующее о функциональном состоянии клеточных элементов. Повышение этого соотношения косвенно свидетельствует о подавлении физиологической активности клеток, снижение соотношения - о ее стимуляции [12]. Уровень биогенных аминов выражался в условных единицах (у.е.). Препараты окрашенные гематоксилином и эозином подвергались последующей морфометрии на автоматизированном морфометрическом комплексе «Микро-Анализ». Тучноклеточную популяцию тимуса выявляли методом окраски полихромным толуидиновым синим по Унна для качественного и количественного определения. Тучные клетки подсчитывали в десяти полях зрения микроскопа при увеличении в 600 раз. Тучные клетки классифицировали на 4 типа в зависимости от степени дегрануляции: Т-0 – тучные клетки с плотно заполненными неразличимыми гранулами и ядром; Т-1 – клетки с отдельно идентифицируемыми гранулами и неполностью замаскированным гранулами ядром; Т-2 – формы клеток с отчетливо различимыми гранулами как внутри, так и вокруг клетки и видимым ядром; Т-3 – опустошенные клетки с единичными гранулами внутри и рассеянными гранулами за пределами клетки. Для определения отдельных популяций клеток использовали иммуногистохимический метод со следующими типами моноклональных (далее - МКАТ) и поликлональных (далее - ПКАТ) антител: МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 68 типа (CD68), клон ED-1 (Abcam, Великобритания), МКАТ к Pan-cytokeratin, клон AE1/AE3 (NovoCastrа, Великобритания) – для неселективного распознавания эпителиальных клеток долек тимуса и ПКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов CD3, к белку S-100, Rtu (ДАКО, Дания) – маркер клеток нейроэктодермального происхождения и незрелых дендритных клеток и к антиапоптотическому белку Bcl-2 (Santa Cruze, США).

Для проведения иммуногистохимического исследования тимус фиксировали 10% нейтральным забуференным формалином в течение 24 ч, выполняли стандартную спиртоксисоловую проводку. Образцы органа заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла и подвергали сушке при температуре 37°C в течение 18 ч. Демаскировка и иммуногистохимическая окраска производилась с использованием системы визуализации NovoLink polymer. Для контроля иммуногистохимической реакции использовалась сыворотка интактных животных. Компьютерная оценка интенсивности мембранной иммуногистохимической реакции оценивали автоматическим выделением и подсчетом площади изучаемого цветового спектра по отношению к площади снимка в системе «Микро-Анализ». Расчет количества иммуноположительных клеток производили на 1 мм². Для определения значимости межгрупповых различий переменных использовали критерий Стьюдента. Оценка различия проводили при уровне доверительной вероятности 95% (p<0,05).

Результаты исследования и обсуждение. По данным литературы использованный канцероген индуцирует рак молочной железы [16-17]. При морфологическом исследовании через 1 и 2 месяца после введения канцерогена структура молочной железы не отличается от таковой у животных интактной группы. Через 3 месяца в молочной железе отмечаются многочисленные солитарные, реже мультифокальные очаги пролиферации долек и протоков. В отдельных препаратах степень клеточной атипии характерна для не инвазивного рака *in situ* (рис. 1).

В гистологической картине тимуса интактных крыс визуализируется паренхима, разделенная соединительнотканнми перегородками, дольки округлой или овальной формы, в которых различимо корковое и мозговое вещество. При люминесцентной микроскопии мозговое вещество долек обладает темно-зеленым свечением. Корковое вещество окружает мозговое, оно более светлое из-за высокого содержания биогенных аминов в его клеточных структурах. В тимусе располагаются люминесцирующие гранулярные клетки (далее - ЛГК), которые преимущественно занимают корковое вещество. Все ЛГК можно разделить на крупные ярко-желтого свечения клетки премедулярной зоны, расположенные хаотично мелкие клетки с гранулами зелено-желтой люминесценцией – клетки субкапсулярной зоны. По периферии коркового вещества и в соединительно-ткан -

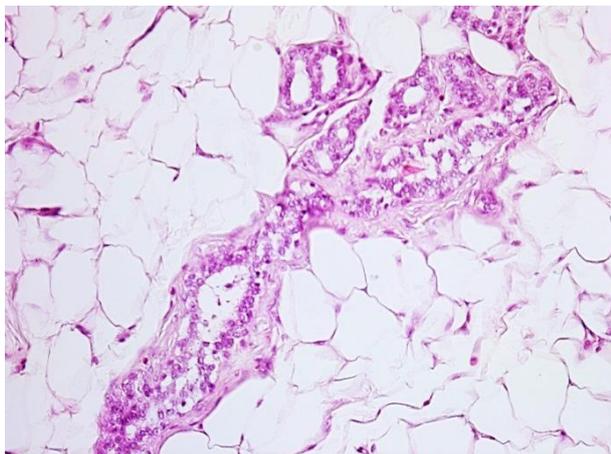


Рис. 1. Молочная железа крысы через 3 месяца после введения канцерогена. Окр.: гематоксилином-эозином. Ув.: x200.

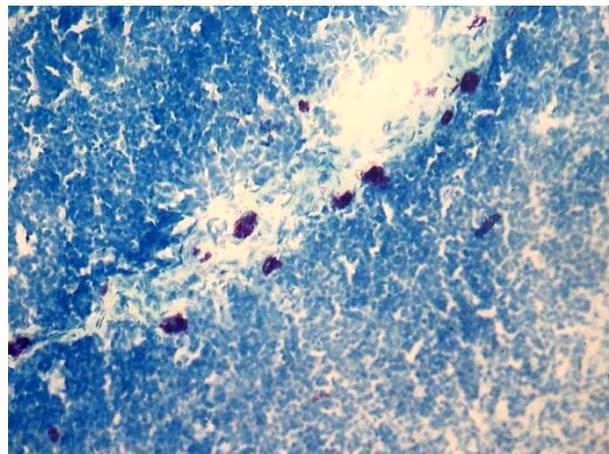


Рис. 2. Тучные клетки тимуса intactных животных. Окр.: метод Унна. Ув.: x400.

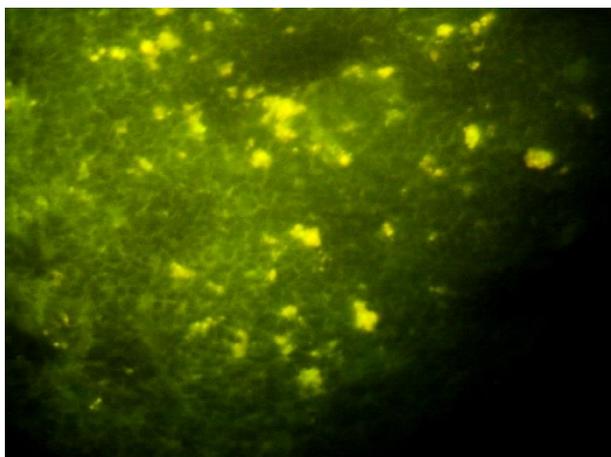


Рис. 3. Тимус крысы через 1 месяц после окончания введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины. Окр.: метод Кросса. Ув.: x400.

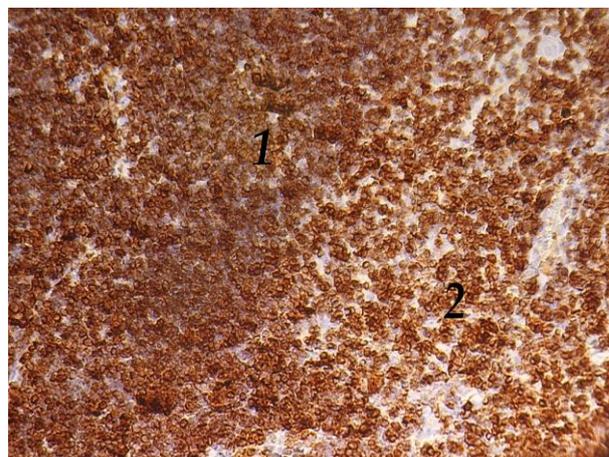


Рис. 4. Тимус крысы через 1 месяц после окончания введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины. CD3⁺-клетки в корковом (1) и мозговом веществе (2) дольки. Окр: иммуногистохимический метод. Ув.: x400.

ных перегородках определяются овальной формы тучные клетки с гранулами, обладающие беловато-желтым свечением.

На окрашенных гематоксилином и эозином срезах в дольках тимуса четко различимо светлое мозговое и темное корковое вещество. Тучные клетки на гистологических срезах располагаются преимущественно в междольковых септах, единичные клетки локализованы в корковом веществе. Среди этих клеток преобладают недегранулирующие и слабдегранулирующие формы (рис. 2). Клетки мозгового вещества и премедуллярной зоны у intactных животных дают позитивную реакцию на белок S-100. Помимо этого, в тимусе выявляются единичные макрофаги – CD68⁺. Среди всех популяций Т-лимфоцитов число CD3⁺- клеток в мозговом веществе составляет 35%, а в корковом веществе - 50%.

Через 1 месяц после введения канцерогена относительная масса тимуса по сравнению с животными интактной группы уменьшается в 1,6 раза. Площадь мозгового и толщина коркового вещества увеличивается в 3 и 2 раза, соответственно, за счет замещения паренхимы жировой тканью. Количество люминесцирующих гранулярных клеток возрастает в 1,5 раза (рис. 3). Начинает изменяться уровень биогенных аминов. Так, уровень серотонина в клетках премедуллярной зоны достоверно снижается в 2,3 раза. Содержание гистамина, напротив, увеличивается в 1,3 раза. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в клетках субкапсулярной зоны возрастает в 1,4 раза, а в тимоцитах коркового и мозгового вещества - почти в 2 раза, что по данным литературы свидетельствует об угнетении функциональной активности клеточных элементов органа [12]. Отмечается незначительное увеличение количества тучных клеток, среди которых преобладают дегранулированные и полностью опустошенные клетки. Дендритные клетки мозгового вещества и премедуллярной зоны дают позитивную реакцию на белок S-100. Их количество снижается в мозговом веществе в 2 раза, в кортико-медуллярной зоне - в 3 раза по сравнению с интактной группой. Количество CD68⁺-макрофагов снижается в зоне коркового и мозгового вещества в 4,5 и в 3,6 раза, соответственно. Число Vcl-2⁺ клеток достоверно снижается в мозговом веществе в 1,8 раза. Количество CD3-позитивных лимфоцитов достоверно увеличивается в 1,5 раза в корковом веществе долики (рис. 4).

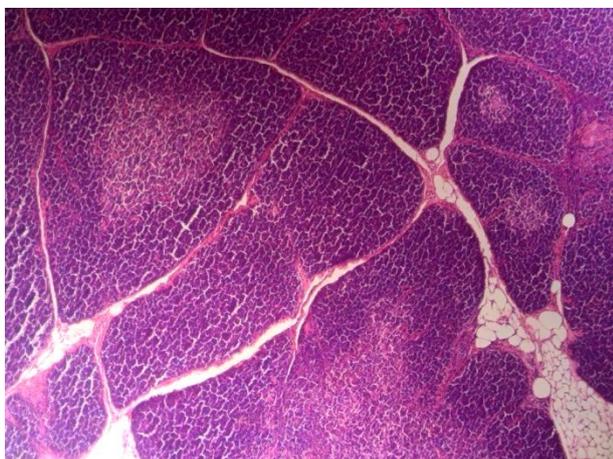


Рис. 5. Тимус крысы через 2 месяца после введения канцерогена. Уменьшение толщины коркового вещества, единичные включения жировых клеток в междольковых промежутках. Окр: гематоксилином-эозином. Ув.: x100.

увеличением срока исследования количество S-100⁺-клеток по всему веществу долики увеличивается, наиболее достоверно в мозговом веществе - в 1,7 раза, однако не достигает показателей интактных крыс. Нарастает число макрофагальных клеток, их количество увеличивается в мозговом веществе в 5 раз, а в корковом - в 2,7 раза и число Pan-cytokeratin⁺-клеток по всей долике.

Через 3 месяца масса тимуса в динамике увеличивается на 7% по сравнению с предыдущим сроком, но не достигает исходных цифр. Достоверно уменьшается площадь мозгового вещества в 1,6 раз, а толщина коркового вещества приближается к данным предыдущей группы. В тимусе при исследовании содержания биогенных аминов в клетках премедуллярной зоны и субкапсулярных клетках выявляется повышение уровня серотонина (в 2,2 и 1,6 раза, соответственно) и катехоламинов (в 1,6 и в 2 раза, соответственно). Уровень гистамина снижается в премедуллярных клетках, Т-клетках коркового и мозгового

Через 2 месяца площадь мозгового вещества практически не изменяется, толщина коркового вещества начинает уменьшаться в 1,6 раза, визуализируются единичные участки, заполненные жировой и соединительной тканью (рис. 5). Рост уровня гистамина отмечается в премедуллярных клетках, в тимоцитах коркового вещества и в тучных клетках в 1,5 и более раз. Уровень катехоламинов и серотонина также возрастает (рис. 6). Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в разных структурах тимуса изменяется неоднозначно. При обработке полихромным толуидиновым синим больше половины всех клеток составляют дегранулированные и полностью опустошенные формы, индекс дегрануляции возрастает в 2 раза по сравнению с интактными животными.

Иммуногистохимически отмечается возрастание количества Vcl-2⁺-клеток: в корковом веществе в 7 раз, а в мозговом - в 3 раза по сравнению с предыдущим сроком. С

вещества. Снижение соотношения (СТ+ГСТ)/КА в премедуллярных клетках и клетках субкапсулярной зоны происходит в 1,5 раза, тимоцитах коркового вещества - в 2 раза, что свидетельствует об увеличении функциональной активности клеточных элементов. По общему количеству тучных клеток на этом сроке исследования достоверных отличий от интактных крыс нет. При этом вновь преобладают дегранулированные и полностью опустошенные формы тучных клеток (рис. 7).

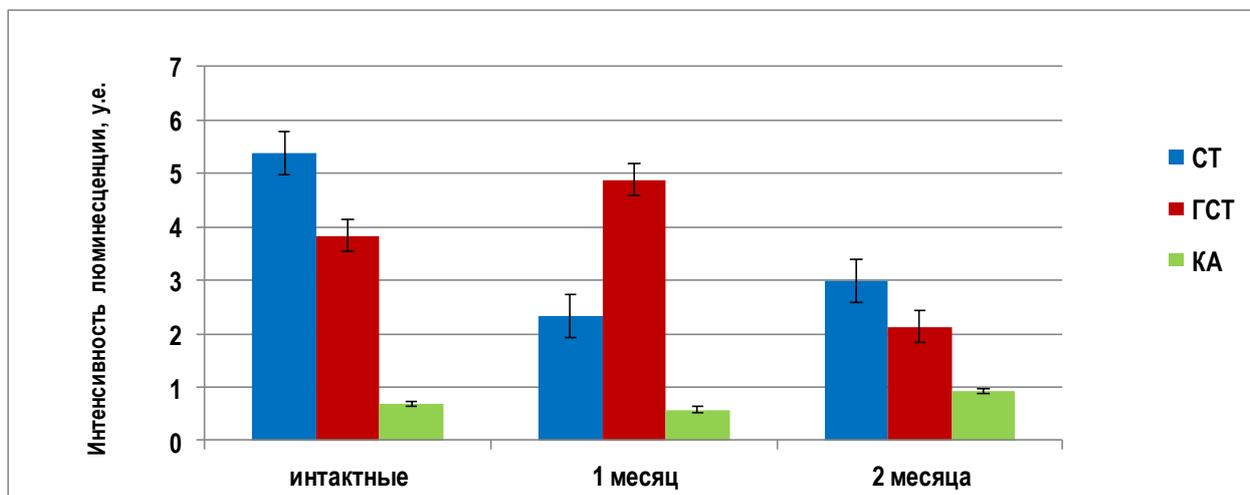


Рис. 6. Интенсивность люминесценции биогенных аминов в условных единицах в премедуллярных клетках у интактных крыс, через 1 и 2 месяца после введения канцерогена.

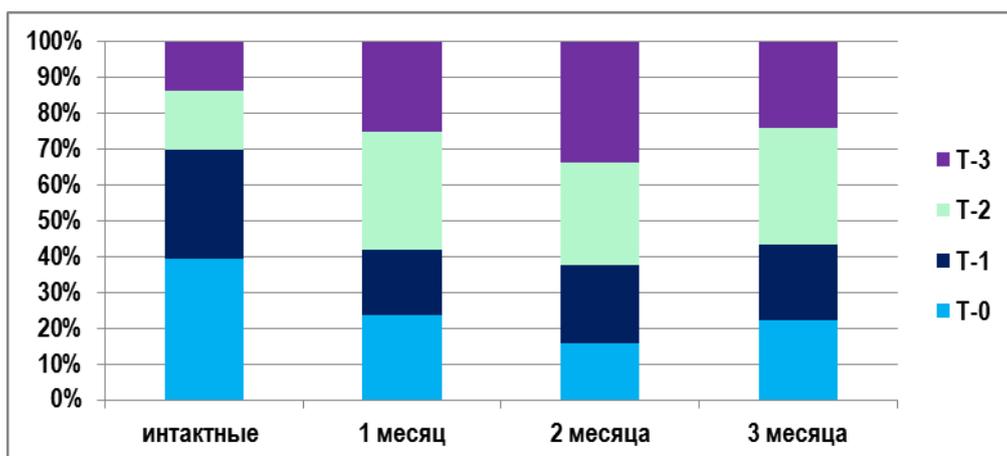


Рис. 7. Процентное содержание тучных клеток по степени дегрануляции у интактных крыс, через 1, 2 и 3 месяца после введения канцерогена.

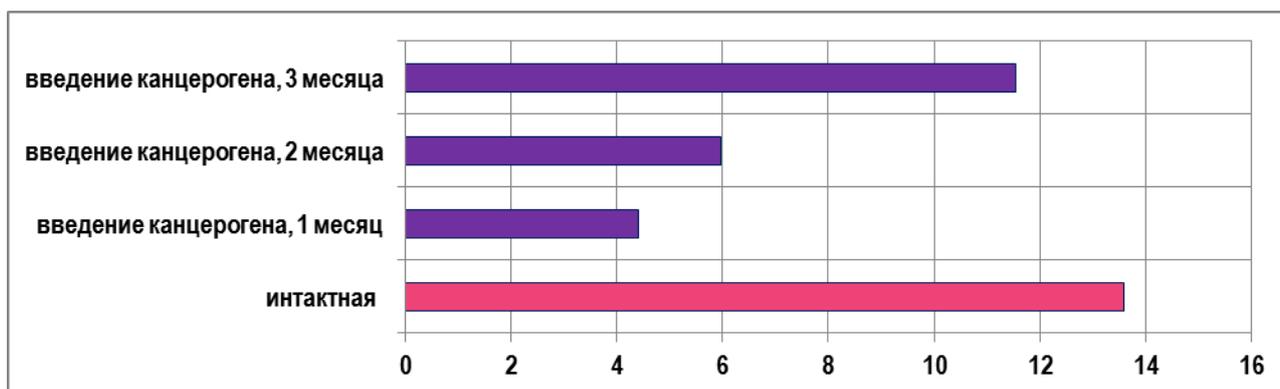


Рис. 8. Экспрессия S-100 в кортико-медуллярной зоне у интактных крыс и после введения канцерогена в условных единицах.

Иммуногистохимическое исследование показало, что количество CD3-позитивных клеток в динамике начинает возрастать в дольках тимуса в 1,3 раза, в 2 раза увеличивается число макрофагов в корковом веществе. S-100⁺-клетки по мере увеличения срока исследования продолжают возрастать, их число увеличивается вдвое (рис. 8). Отмечено достоверное снижение в 2 раза Vcl-2⁺-клеток в мозговом и корковом веществе дольки. В мозговом веществе число Pan-cytokeratin⁺-клеток превышает в 6 раз. Можно предположить, что это связано с напряженностью иммунного ответа.

Таким образом, на фоне развития опухоли молочной железы, индуцируемой введением N-метил-N-нитрозомочевина, наблюдается увеличение выброса гистамина уже на ранних сроках исследования. На позднем сроке, через 3 месяца уровень гистамина, напротив, начинает снижаться, при этом возрастают показатели серотонина и катехоламинов и все это сопровождается увеличением функциональной активности клеточных элементов на фоне развивающихся признаков акцидентальной инволюции. В нашем эксперименте именно через 3 месяца зафиксировано развитие опухоли молочной железы, что возможно послужило пусковым механизмом для активации защитных свойств иммунной системы. Дегрануляция тучных клеток, наблюдаемая в эксперименте, сопровождается выбросом биогенных аминов, что оказывает непосредственное влияние на процесс акцидентальной инволюции органа [18].

На фоне развивающихся изменений цитоархитектоники тимуса с признаками акцидентальной трансформации в динамике наблюдались волнообразные изменения количества CD3⁺-клеток: увеличение их числа через 1 и 3 месяца и снижение через 2 месяца после выведения крыс из эксперимента. Т-лимфоциты, мигрировавшие из тимуса, участвуют на периферии в образовании противоопухолевой защиты. Наблюдаемая недостаточная миграция Т-клеток, возможно, оказывает влияние на стимуляцию роста опухоли, что подтверждено морфологическим исследованием [19]. Можно предположить, что достоверное снижение Vcl-2⁺-клеток вероятнее всего указывает на уменьшение интенсивности процессов апоптоза.

Дендритные клетки способны секретировать иммунорегулирующие факторы и биогенные амины и являются посредниками во взаимодействии между иммунной и эндокринной системами, а также выступают в качестве антигенпрезентирующих клеток [20-21]. В тимусе дендритные клетки участвуют в процессах позитивной и негативной селекции. Наблюдаемое на раннем сроке достоверное снижение числа дендритных клеток в тимусе может быть связано с перераспределением клеток тимуса, а на более поздних сроках - следствием их миграции в место локализации патологического процесса [20-21]. Также отмечается постепенное возрастание числа дендритных клеток в динамике. По данным литературы известно, что увеличение количества дендритных клеток может быть связано с активацией антигенной стимуляции, связанной с процессом опухолевого роста [22]. В эксперименте было выявлено увеличение числа макрофагов, которые по данным литературы участвуют в созревании Т-лимфоцитов, а также регулируют межклеточные взаимодействия и реакции клеток на патогенные компоненты [23].

Нитрозосоединения (нитрозоэтилмочевина, нитрозометилмочевина и другие) относятся к прямым канцерогенам. Их токсическое действие на организм наступает без предварительного метаболического преобразования [24]. Кроме того, показано, что N-нитрозамины – это группа высокоактивных канцерогенов с мощным эмбриотоксическим и органоспецифическим действием [25], а N-метил-N-нитрозомочевина оказывает выраженный токсический эффект на гемопоэз, лимфоидную ткань. Ее введение у большинства крыс приводит к росту гормонозависимой опухоли молочной железы [15, 26], злокачественной эпителиальной опухоли прямой кишки [27], опухолей почек, нервной системы и крови [28]. Часть наблюдаемых в эксперименте эффектов, возможно, была вызвана прямым воздействием этого канцерогена на клетки тимуса.

Заключение. Таким образом, наиболее выраженные изменения в тимусе при экспериментальном канцерогенезе, вызванном введением N-метил-N-нитрозомочевина в ткань молочной железы крыс, наблюдаются через 2 месяца после окончания введения

канцерогена, до видимых морфологических изменений в молочной железе. В целом, можно сделать вывод о том, что введение N-метил-N-нитрозомочевины и последующее развитие опухоли молочной железы отражается на морфофункциональном состоянии тимуса и уровне содержания в нем биогенных аминов.

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

Литература References

1. Tjuljandin S.A., Zhukov N.V. *Pravda o rossijskoj onkologii: problemy i vozmozhnye reshenija, pod redakciej.*: M.: Obshherossijskaja obshhestvennaja organizacija «Rossijskoe obshhestvo klinicheskoj onkologii», 2018. 28s.
2. Grinevich V.N., Kudajbergenova A.G., Sencova E.Ju. Rak molochnoj zhelezy – geterogennoe zabolevanie *Onkopatologija*. 2018;1(2):39-43.
3. Nazliev D.K., Sudakov D.V., Belov E.V., Shevcov A.N., Tishinov E.N. Vybor implanta molochnoj zhelezy posle provedennoj radikal'noj operacij pri rake molochnoj zhelezy. *Central'nyj nauchnyj vestnik*. 2018;3(22):7-9.
4. Fedorov V.Je., Chebukaeva M.Ju. Rasprostranennost' i faktory riska raka molochnoj zhelezy. *Fundamental'nye issledovanija*. 2015;1:414-419.
5. Shirokova I. Rak molochnoj zhelezy: vzgljad jekspertov. *Zhurnal o rossijskom rynke lekarstvo i medicinskoj tehniki*. 2016;10:53-58.
6. Schiller JT, Lowy DR. *Virus infection and human cancer: an overview. Recent Results Cancer Res*. 2014;193:1-10.
7. Penn I, Starzl TE. *Immunosuppression and cancer. Transplant Proc*. 1973;5(1):943
8. I.I. Andrejashkina, V.N. Plovov. *Izmenenie kletocnogo zvena immuniteta u bol'nyh s rakom molochnoj zhelezy s metastazami v legkie. Medicinskaja immunologija*. 2011;13(4-5):446.
9. Tilljashajhov M.N., Kamyshev S.V. *Osobennosti kletocnogo statusa immuniteta u bol'nyh rakom shejki matki. European Science*. 2018;5(37):75-80.
10. Parahonskij A.P. *Mehanizmy povyshenija jeffektivnosti protivopuholevogo immuniteta. V mire nauchnyh otkrytij. Materialy XVI Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoi konferencii: sbornik nauchnyh trudov. Izd-vo «Centr nauchnoj mysli», 2015; 21-26.*
11. Pal'cev, M.A., Kvetnoj, I.M. *Rukovodstvo po nejroimmunoendokrinologii*. M.:Medicina, 2006; 384.
12. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. 52c.*
13. Krohina E.M., Aleksandrov P.N. *Simpaticheskij (adrenergicheskij) komponent jeffektornoj innervacii serdechnoj myshcy. Kardiologija*. 1969;3:97-102.
14. Cross SAM, Ewen SWB, Rost EWD. *A study of the methods available for the cytochemical Enflammatory of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde. J Histochem*. 1971;6:471-476.
15. Struchko G.Ju., Merkulova L.M., Drandrova E.G., Kostrova O.Ju., Kotelkina A.A. *Tchnokletocnaja populjacija timusa pri kancerogeneze patomstva samok so vtorichnym immunodeficitom. Vestnik novyh medicinskih tehnologij*. 2018;25(4):199-206.
16. Chochieva, A.R. *Ingibirujushhij jeffekt limonena v otnoshenii razvitija opuholej molochnoj zhelezy, inducirovannyh N-metil-N-nitrozomochevinoj u krys. Sovremennye naukoemkie tehnologii*. 2006;6:80-81.
17. Bojková B, Kajo K, Kubatka P, Solár P, Pés M, Adamkov M. *Metformin and melatonin improve histopathological outcome of NMU-induced mammary tumors in rats. Pathol Res Pract*. 2019; 215(4):722-729 <https://doi:10.1016/j.prp.2019.01.007>
18. Simbircev A.S., Totoljan A.A. *Citokiny v laboratornoj diagnostike Klinicheskaja laboratornaja diagnostika: nacional'noe Rukovodstvo, pod red. V.V. Dolgova, V.V. Men'shikova. M.: GOJeTAR-Media, 2012. C. 193-229.*

19. Clarke SL, Betts GJ, Plant A, et al. SD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells suppress anti-tumor immune responses in patients with colorectal cancer PLoS One. 2006;27(1):129.
20. Nikipelova E.A., Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Ju., Novikova I.A. Kolokancerogenez: onkoimmunologija lokal'nyh izmenenij. Zlokachestvennyye opuholi. 2016;4:81-86.
21. Pages F, Galon J, Dieu Nosjean MC, Tartour E, Saut s-Fridman C, Fridman WH. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. Oncogene. 2010;29:1093-1102. DOI: 10.1038/onc.2009.416.
22. Drandrova E.G., Struchko G.Ju., Merkulova L.M., Moskvichev E.V. Morfologija timusa pri jeksperimental'nom kancerogeneze potomstva samok s vtorichnym immunodeficitom. Cheboksary: Izd-vo Chuvash. un-ta. 2018. 140s.
23. Kashhenko S.A. Zaharov A.A. Sovremennye predstavlenija o stroenii timusa. Perspektivy medicini ta biologii. 2010;2(1):22-32.
24. Hismatullina, Z.N. Osobennosti jetapov himicheskogo, fizicheskogo i virusnogo kancerogeneza. Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta. 2013;7. URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-etapov-himicheskogo-fizicheskogo-i-virusnogo-kantserogeneza>.
25. Osipenko B.G. Poljakova L.O. Nitrozodimetilamin (NDMA) – gepatotropnyj jad i kancerogen: toksikologo-gigienicheskie aspekty ego biologicheskogo dejstviya (soobshhenie 1). Sibirskij medicinskij zhurnal. 2005;4:5-9.
26. Lykov A.P. Bondarenko N.A., Poveshhenko O.V., Kabakov A.V., Rajter T.V., Kazakov O.V., Strunkin D.N., Poveshhenko A.F., Konenkov V.I. Sravnitel'nyj analiz sodержaniya v limfe gormonov, vovlechennyh v patogenez raka molochnoj zhelezy u kryс linii Wistar. Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2015;1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyy-analiz-soderzhaniya-v-limfe-gormonov-vovlechennyh-v-patogenez-raka-molochnoy-zhelezy-u-kryс-linii-wistar>.
27. Isakova N.B., Starkova E.V. Bryzhechnye limfaticheskie uzly pri modelirovanii raka prjamoj kishki i v uslovijah himioterapii. Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2013;4:50-57.
28. Bepalov V.G. Aleksandrov V.A. Vlijanie ryb'ego zhira na razvitie opuholej molochnoj zhelezy i tolstoj kishki, vyzываемых metilnitrozmochevinoj v organah mishenjaj u kryс. Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2015;2:53-57.

Авторская справка

Котелкина Анастасия Андреевна, ассистент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: ds6426@chebnet.com

Меркулова Лариса Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: merkulova192@mail.ru

Кострова Ольга Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: evkbiz@yandex.ru

Стручко Глеб Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: glebstr@mail.ru

Москвичев Евгений Васильевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: moskvichev@rambler.ru

Стоменская Ирина Станиславовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия; e-mail: mar3007@mail.ru