

На правах рукописи

Котёлкина Анастасия Андреевна

**ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ТИМУСА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ
В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология
(медицинские науки)

**Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Москва -2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Меркулова Лариса Михайловна

Официальные оппоненты:

Диндяев Сергей Валерьевич, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, заведующий кафедрой

Логинова Наталья Павловна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, профессор кафедры

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Оренбургский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «21» декабря 2020 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.01 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, Трубецкая ул., д.8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d. 37/1 и на сайте www.sechenov.ru

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2020 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, доцент



Блинова Екатерина Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Рост злокачественных новообразований во всем мире является одной из ведущих проблем в медицине. В 2016 году в Российской Федерации выявлено 599 348 случаев злокачественных опухолей, при этом 325 763 случая приходится на долю женского населения (Каприн А.Д. и др., 2017). В России ежегодный прирост больных раком различной локализации составляет 600 000 человек, почти половина случаев заканчивается летальным исходом (Тюляндин С.А., Жуков Н.В., 2018). Рак молочной железы занимает первое место по заболеваемости и смертности у женщин в мире и в Российской Федерации, составляя 46 пациенток на 100 000 населения (Назриев Д.К. и др., 2018; Зикиряходжаев А.Д. и др., 2019).

По данным литературы, 90% впервые диагностированного рака приходится на эпителиальные формы, из них первое место занимает рак молочной железы (Исмаилова Г.Н. и др., 2014; Каприн А.Д. и др., 2017).

Все факторы риска можно разделить на экзогенные и эндогенные. Среди экзогенных факторов риска выделяют ионизирующее излучение, курение, употребление алкоголя в больших дозах, нарушение питания, избыточный вес, стресс, употребление оральных контрацептивов, заместительная гормональная терапия. К эндогенным факторам относят эндогенный гормональный дисбаланс (гиперэстрогемия), генетические мутации, функциональные особенности и заболевания репродуктивной системы организма (Федоров В.Э., Чебукаева М.Ю., 2015; Широкова И., Прожерина Ю., 2016).

Исследования последних лет выявили негативное влияние на здоровье человека стресса, однако четко определить механизмы влияния острого и хронического стресса на организм до сих пор не удастся (Захарова И.Н. и др., 2018). Ряд исследований подтверждают огромное влияние стресса на иммунитет, что характеризуется подавлением иммунной системы при подобном воздействии (Картушина И.А., 2017). Есть данные, что иммунные реакции зависят от типа стрессового воздействия. Однако до сих пор остается не выясненным, каким образом это ведет к развитию соматических заболеваний и увеличению смертности.

Особенности образа жизни, факторы окружающей среды, нарушение психоэмоционального состояния – всё может привести к развитию хронического стресса. Известно, что хронический стресс приводит к истощению психо – нейро – эндокринно – иммунной оси (Бухтояров О.В., 2007). Среди трех известных ранее химического,

физического и биологического канцерогенеза на первое место выходит новый вид - психогенный канцерогенез (Бухтяров О.В., Пономарев С.Б., 2017). Запускается механизм этого канцерогенеза в условиях хронического психоэмоционального стресса, сопровождающегося состоянием постоянной тревоги, депрессией, а также состояниями беспомощности и безысходности в жизненных ситуациях (Бухтяров О.В., Самарин Д.М., 2010).

Иммунная и нейроэндокринная системы играют ведущую роль в реализации канцерогенного эффекта (Самотруева М.А. и др., 2017). На функцию центральных органов иммунитета влияет экспрессия из мозгового слоя надпочечников в кровь адреналина, а также синтез клетками иммунной системы биогенных аминов (Кострова О.Ю. и др., 2016). Все чаще на ранних стадиях заболевания у онкологических больных в периферической крови обнаруживается высокий уровень андрогенов, кортизола, прогестерона и эстрогенов (Франциянц Е.М. и др., 2012; Sakoda LC et al., 2008).

Определение иммунного статуса помогает точно оценить состояние онкологического больного и прогнозировать тактику ведения пациент (Тилляшайхов М.Н., Камышов С.В., 2018).

Тимус является центральным органом, регулирующим процессы иммунитета, однако до сих пор остается одним из загадочных и до конца не изученным. Известно, что регуляторные пептиды и биогенные амины вырабатываются нейронами и клетками глиии головного мозга, а также источниками этих веществ могут являться и иммунокомпетентные клетки (Кузьменко Л.Г., Киселева Н.М., 2011). Уникальность тимуса заключается в том, что его структуры – тимические лимфоциты и эпителиальные клетки, непосредственно участвуют в обеспечении нейроэндокринных процессов (Пальцев М.А., Кветной И.М., 2006).

Известно, что тимус принимает непосредственное участие в адаптационном синдроме, и уже в его первую фазу – фазу тревоги возникают начальные процессы акцидентальной инволюции. В ходе исследований было установлено, что акцидентальная инволюция является закономерным явлением, возникающим на фоне стресса, случайной может быть только причина, вызвавшая стресс (Кузьменко Л.Г., Киселева Н.М., 2011).

Степень разработанности темы исследования.

Существуют экспериментальные работы, которые изучали центральные органы иммунитета при канцерогенезе в условиях нормального функционирования иммунной системы (Кострова О.Ю., 2013) и канцерогенезе в сочетании с исходной вторичной

недостаточностью иммунитета (Москвичев Е.В., 2013), а также канцерогенеза на фоне врожденного иммунодефицита (Драндрова Е.Г., 2015).

Известны работы, в которых изучались воздействие психоэмоциональных стрессовых факторов на рецидив развития рака молочной железы и динамику смертности (Тарабрина Н.В. и др., 2008). Но мы не встречали данных об экспериментальном изучении взаимодействия иммунной системы и процесса канцерогенеза на фоне стрессового воздействия.

Цель исследования. Изучить морфофункциональное состояние тимуса крыс при экспериментальном канцерогенезе молочной железы, после воздействия водно-иммобилизационного стресса и сочетанного влияния этих факторов.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Измерить массу тимуса, толщину коркового и площадь мозгового вещества через 1, 2, 3 месяца после прекращения изолированного введения канцерогена и изолированного воздействия водно-иммобилизационного стресса.
2. Измерить массу, толщину коркового и площадь мозгового вещества тимуса через 1, 2 и 3 месяца после окончания сочетанного введения канцерогена и воздействия водно-иммобилизационного стресса.
3. Провести иммуногистохимический анализ и дать характеристику количественного распределения дендритных клеток, CD3⁺, CD68⁺, Bcl-2⁺, Pan-cytokeratin⁺ клеток тимуса у крыс через 1, 2, 3 месяца во всех экспериментальных моделях.
4. Изучить люминесцирующие структуры тимуса, определить в них уровень биогенных аминов (серотонина, гистамина, катехоламинов) и вычислить соотношение (серотонин + гистамин)/ катехоламины через 1, 2, 3 месяца после прекращения введения канцерогена, воздействия водно-иммобилизационного стресса и сочетанного воздействия канцерогена и водно-иммобилизационного стресса.
5. Исследовать популяцию тучных клеток тимуса у крыс после введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина, воздействия водно-иммобилизационного стресса и сочетанного влияния этих факторов.
6. Сделать анализ и сравнить полученные результаты эксперимента для выявления особенностей развивающихся изменений в тимусе в изучаемых экспериментальных группах.

Научная новизна работы:

1. Впервые в динамике зафиксированы морфологические изменения в структуре тимуса при введении N-метил-N-нитрозомочевина, индуцирующей рак молочной железы,

и сочетанном воздействии канцерогена и водно-иммобилизационного стресса. Это сопровождается уменьшением массы тимуса, изменением формы тимических долек, заполнением междольковых промежутков жировой тканью, что развивается раньше при сочетанном воздействии факторов.

2. Все воздействия в изученных моделях вызывают разнонаправленные изменения числа S-100⁺ клеток, CD3⁺, CD68⁺, Bcl-2⁺, Pan-cytokeratin⁺ клеток.
3. Показано волнообразное изменение уровня гистамина. При изолированном введении канцерогена его увеличение происходит через 1 и 3 месяца, снижение - через 2 месяца. При сочетанном воздействии двух факторов, напротив, уровень гистамина через 1 и 3 месяца незначительно снижается, через 2 месяца – возрастает. Уровень серотонина и катехоламинов остается сниженным на всех сроках исследования.
4. Впервые при этих воздействиях определено соотношение (серотонин + гистамин)/катехоламины, позволяющее косвенно судить о функциональной активности клеток. Показано, что оно изменяется также волнообразно. Через 1 и 3 месяца после изолированного введения канцерогена наблюдается увеличение этого показателя. При сочетанном воздействии двух факторов наблюдается увеличение этого показателя в Т-клетках коркового вещества, в остальных структурах его значение изменяется неоднозначно.
5. Установлено, что и введение N-метил-N-нитрозомочевина, и сочетанное воздействие двух факторов вызывает рост числа тучных клеток за счет дегранулированных и полностью опустошенных форм на всех сроках исследования. Стресс приводит к снижению общего количества тучных клеток, при этом большую часть составляют дегранулированные формы.

Научно-теоретическая значимость:

Результаты диссертационного исследования расширяют сведения о цитоархитектонике тимуса на разных этапах канцерогенеза, воздействии стресса и сочетанного влияния этих факторов на иммунный ответ организма, представляют данные о возможных вариантах взаимодействия тимуса и развивающегося злокачественного образования на фоне влияния хронического стресса. Полученные материалы исследования имеют фундаментальное значение, могут быть интересны для специалистов в области гистологии, онкологии, патофизиологии.

Практическая значимость:

Работа носит экспериментально-теоретическое направление, однако, благодаря проведенным исследованиям, дополнен механизм развития инволюции тимуса при

экспериментальном канцерогенезе молочной железы на фоне стрессового воздействия. Полученные результаты могут быть полезны для врачей целого ряда специальностей. Материалы диссертации используются в образовательном процессе при чтении лекций, проведении семинаров и практических занятий на кафедре общей и клинической морфологии и судебной медицины, кафедре общей хирургии и онкологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Итоги исследования отражены в статьях и тезисах печатных изданий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение канцерогена приводит к снижению массы тимуса, замещению жировой тканью его паренхимы, особенно проявляющееся через 3 месяца после окончания воздействия. Отмечается количественное изменение тучных и дендритных клеток, Т-лимфоцитов и макрофагов, волнообразное изменение уровня гистамина и стабильное снижение серотонина и катехоламинов, волнообразное изменение функциональной активности клеточных элементов. Это может быть расценено как развитие признаков 2 фазы акцидентальной инволюции тимуса.
2. Сочетанное воздействие канцерогена и водно-иммобилизационного стресса вызывает более раннюю и выраженную дезорганизацию морфофункционального состояния тимуса, которая сопровождается уменьшением в динамике площади мозгового и толщины коркового вещества, снижением CD3⁺, S-100⁺ и Pan-cytokeratin⁺ клеток, выраженным уменьшением функциональной активности клеток (в 2 раза) по сравнению с изолированным введением канцерогена, с характерным началом развития атрофии и склероза органа уже через 1 месяц, прогрессирующее по мере увеличения срока наблюдения. Все это может свидетельствовать о развитии признаков 4 фазы акцидентальной инволюции тимуса.

Степень достоверности и апробация работы. Степень достоверности результатов определяется достаточным количеством лабораторных животных (168 белых нелинейных крыс-самок), оптимальными условиями их содержания, формированием групп контроля и сравнения, адекватными общегистологическими и иммуногистохимическими методами исследования и корректными методами статистической оценки полученных данных.

Результаты научной работы были презентованы на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения доцента Бриллиантовой Анны Николаевны (Чебоксары, 2015); Международной научной конференции «Современные проблемы медицины и естественных наук» (Йошкар-Ола,

2016); Межрегиональной научно-практической конференции, посвященной памяти зав. кафедрой госпитальной терапии №1 д.м.н., профессора Саперова В.Н. «Спешите делать добро» (Чебоксары, 2016); 89-й Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Симферополь, 2017); Международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Асфандиярова Растяма Измайловича «Структурные преобразования органов и тканей в норме и при воздействии антропогенных факторов» (Астрахань, 2017); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 95-летию со дня рождения доктора медицинских наук, профессора Дины Семеновны Гордон «Морфология в теории и практике» (Чебоксары, 2017); Всероссийской научной конференции «Гистогенез, реактивность и регенерация тканей», посвященной 150-летию кафедры гистологии с курсом эмбриологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (Санкт-Петербург, 2018); Международной научно-практической конференции «Единство науки, образования и практики - медицине будущего» (Москва, 2018); научно-практической конференции с международным участием «Общегистологические аспекты современной медицины», посвященной 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко и преподавания гистологии (Воронеж, 2018); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Морфологические науки и клиническая медицина», посвященной 100-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РСФСР и ЧАССР, доктора медицинских наук, профессора Амосовой В.В. (Чебоксары, 2019).

Внедрение результатов исследования. Полученные материалы используются в образовательном процессе для обучающихся при чтении лекций, проведении семинаров и практических занятий на кафедре общей и клинической морфологии и судебной медицины, кафедре общей хирургии и онкологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Личный вклад автора. Данная научная работа представляет личный труд Котёлкиной Анастасии Андреевны. Автор выбрал модель и провел все эксперименты, забор исследуемого материала, изготовление гистологических препаратов, статистическую обработку и анализ данных собственных результатов. При написании главы по обзору литературы проведены сбор и анализ результатов исследований в работах отечественных и зарубежных авторов. Данные диссертационного исследования опубликованы в личных

печатных работах и в соавторстве. Все микрофотографии, рисунки и графики, представленные в диссертационном исследовании, выполнены автором лично.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Работа выполнена в соответствии с паспортом специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки) согласно пункту 5 области исследования (исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 12 научных работ, из них 3 – в центральных рецензируемых изданиях и научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Структура и объем диссертации. Научный труд включает введение и 6 глав: обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов и заключение, выводы, список литературы. Диссертация изложена на 180 страницах машинописного текста, содержит 76 рисунков, из них 40 микрофотографии и 8 таблиц. Список литературы состоит из 294 литературных источников, в том числе 94 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 168 белых нелинейных крысах – самках в возрасте от 3 до 7 месяцев, массой 150-350 г. Экспериментальные животные содержались в условиях вивария в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами» (Каркищенко Н.Н., Грачев С.В., 2010). Проведенное научное исследование согласовано и единогласно одобрено на заседании Локального этического комитета медицинского факультета ФГБОУ ВО «ЧГУ имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ (протокол № 19-01 от 04.12.2019 г.).

Животные были разделены на 4 группы:

I группа. Интактные (контрольные) (n = 24).

II группа. Крысы, которым вводили канцероген N-метил-N-нитрозомочевину в дозе 2,5 мг на крысу подкожно в область одной и той же 2-ой молочной железы слева 1 раз в неделю в течение 5 недель (n = 48).

III группа. Экспериментальные животные, подвергавшиеся воздействию водно-иммобилизационного стресса (n = 48). Стресс моделировали путем фиксирования

животных в специальных пластиковых пеналах, которые вертикально погружались в ёмкости с водой (температура 16-17 °C) до уровня головы на 1 час на протяжении 10 дней (Шаляпина В.Г. и др., 2006).

IV группа. Экспериментальные животные с сочетанным воздействием введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины (по схеме II группы) и последующем воздействием водно-иммобилизационного стресса (по схеме III группы) (n = 48).

Выведение животных из эксперимента проводилось через 1, 2 и 3 месяца путем декапитации после применения золетилового наркоза из расчета 5 мг на 100 г в соответствии с международными правилами проведения работ с экспериментальными животными (Counsil of Europe, 1986).

При патоморфологическом исследовании учитывали развитие предраковых изменений и новообразований в молочной железе и их морфологические характеристики.

Объект исследования - тимус. Тимус иссекали через 1, 2 и 3 месяца после окончания воздействий, определяли массу, после этого часть органа фиксировалась в 10% нейтральном забуференном формалине и использовалась для окраски общегистологическими методами и в постановке иммуногистохимических реакций, из другой части материала изготавливали криостатные срезы толщиной 10 мкм для проведения люминесцентно-гистохимических методов.

Для исследования срезов тимуса использовали методы:

1. *Метод окраски гематоксилином и эозином* - для измерения морфометрических параметров органа – толщины коркового и площади мозгового вещества.
2. *Иммуногистохимические методы* с использованием моноклональных (МКАТ) и поликлональных (ПКАТ) антител фирмы Santa Cruze (США) (Dabbs D.J., 2002):
 - а) ПКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 3 типа - CD3 (для идентификации зрелых Т-лимфоцитов);
 - б) МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 68 типа – CD68 (для определения макрофагов в структурах микроокружения тимических долек), клон ED-1(Abscam, Великобритания);
 - в) ПКАТ к белку S-100 – служит маркером клеток нейроэктодермального происхождения и дендритных клеток, Rtu (DAKO, Дания);
 - г) МКАТ к Pan-cytokeratin, клон AE1/AE3 (NovoCastra, Великобритания) – для неселективного распознавания эпителиальных клеток долек тимуса;
 - д) ПКАТ к белку Bcl-2 (Santa Cruze, США) - маркер долгоживущих клеток, ингибитор апоптоза.

Для выявления иммуногистохимических реакций в работе применялась система визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND. С целью внутреннего контроля реакции использовали неиммунизированную кроличью сыворотку. Результаты реакций оценивали с применением микроскопа МИКРОМЕД 3 ЛЮМ. Положительной иммуногистохимической реакцией на антитела к кластерам дифференцировки CD служила коричневая окраска мембран клеток, положительная реакция на Bcl-2, Pan-cytokeratin и S -100 - коричневая окраска цитоплазмы. Результаты оценивали путем подсчета позитивно окрашенных клеток в 10 полях зрения при увеличении 400х, результаты отображали в процентах и единицах в поле зрения.

3. *Люминесцентно-гистохимические методы: метод Фалька-Хилларпа* (Falk B., Hillarp N., 1962) в модификации Е.М. Крохиной (Крохина Е.М., Александров П.Н., 1969) - для выявления серотонина и катехоламинов; *метод Кросса, Эвена, Роса* (Cross S.A. et al., 1971) - для идентификации гистамина в люминесцирующих структурах тимуса.
4. *Метод цитоспектрофлуориметрии* (Юденфренд С., 1965; Карнаухов В.Н., 1978; Калмыков В.Л., 1982) - для количественного определения уровней биологически активных аминов - серотонина, катехоламинов и гистамина в клеточных элементах исследуемого органа. Уровень биоаминов (в усл.ед.) измеряли с помощью спектрофлуориметрической насадки ФМЭЛ-1А на люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-4. Выходное напряжение при всех измерениях составляло 600 В.
5. Для оценки суммарно-направленного действия биогенных аминов рассчитывалось соотношение *(серотонин + гистамин)/катехоламины*. Повышение этого соотношения косвенно свидетельствует о подавлении функционального состояния клеток, снижение соотношения - о его стимуляции (Стручко Г.Ю., 2003).
6. *Метод окраски полихромным толудиновым синим по Унна* — для качественной и количественной оценки популяции тучных клеток тимуса. Тучные клетки подсчитывали в десяти полях зрения микроскопа (объектив 40 и окуляр 15). По степени дегрануляции классифицируют 4 типа клеток: Т-0 — тучные клетки с плотно заполненными неразличимыми гранулами и ядром; Т-1 — клетки с отдельно различимыми гранулами и неполностью замаскированным ядром; Т-2 — клетки с хорошо различимыми гранулами как внутри, так и вокруг клетки и отчетливым ядром; Т-3 — опустошенные тучные клетки с единичными гранулами внутри и рассеянными гранулами вокруг клетки (Пирс Э., 1962; Линднер Д.П. и др., 1980; Кострова О.Ю., 2013).
7. Оценку функциональной активности популяции тучных клеток производили, вычисляя индекс дегрануляции по формуле $ИД = ((A \times 0) + (B \times 1) + (B \times 2) + (Г \times 3)) / n$ (Линднер Д.П. и др., 1980; Бирюкова Т.И., 2009), где А — число недегранулирующих клеток (Т0);

Б – слабодегранулирующие тучные клетки, (Т1); В – клетки с умеренной степенью дегрануляции, (Т2); Г – клетки высокой степени дегрануляции, (Т3); n – общее количество исследуемых клеток.

8. *Морфометрический метод* выполняли с помощью автоматизированного морфометрического комплекса, включавшего микроскоп МИКРОМЕД 3 ЛЮМ, цифровую фотокамеру и персональный компьютер с набором прикладных программ. Использовались программы «Микро-Анализ» для измерения размеров люминесцирующих клеток, определения толщины коркового и площади мозгового вещества тимуса, а также количественных характеристик иммуногистохимических реакций.
9. *Статистическая обработка.* Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием стандартных методов параметрической и непараметрической статистики. Тип распределения устанавливали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса (Siegel, S., 1988) Для описания данных применяли такие стандартные статистические показатели как среднее (M), стандартная ошибка среднего (SE), минимальное и максимальное значения Δ (min - max). Различия средних групп определяли с помощью дисперсионного анализа (two-way ANOVA). Последующее множественное сравнение проводили с помощью LSD-критерия Фишера. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изолированном введении канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина структура молочной железы через 1 и 2 месяца соответствует строению интактной. И только через 3 месяца обнаруживаются многочисленные солитарные, реже мультифокальные очаги пролиферации долек и протоков, с признаками клеточной атипии в очагах пролиферации.

Сочетанное введение канцерогена и воздействие водно-иммобилизационного стресса приводит к более ранним изменениям в молочной железе. Уже через 2 месяца появляются мультифокальные пролифераты протоков с перидуктальным фиброзом и атипией клеток, которые через 3 месяца сменяются признаками неинвазивного и инвазивного дуктального рака (рисунок 1).

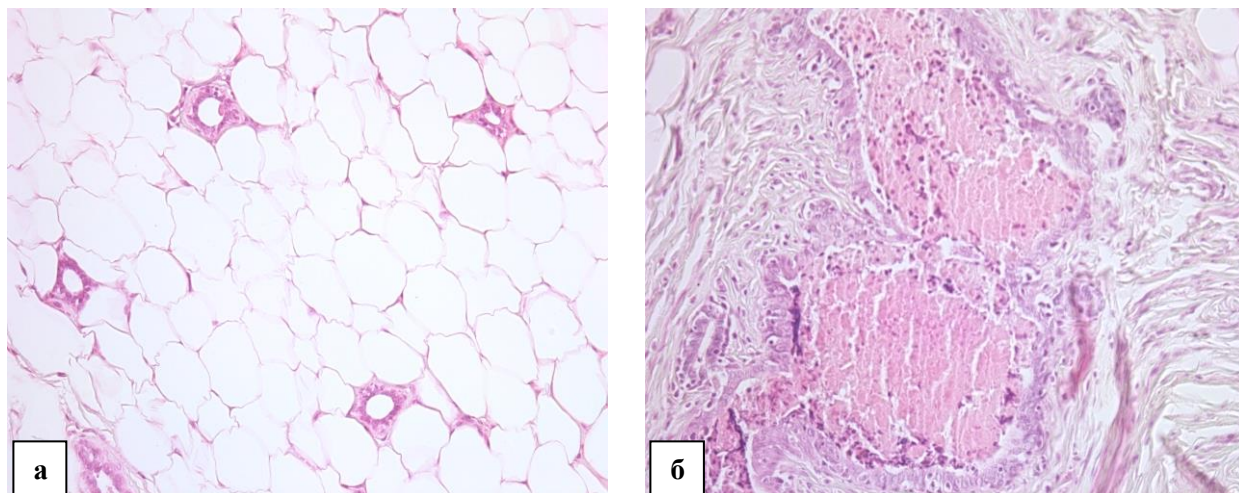


Рисунок 1. Молочная железа. а - ткань молочной железы интактной крысы; б – развитие неинвазивной комедокарциномы через 3 месяца после сочетанного действия канцерогена и водно-иммобилизационного стресса. Окраска гематоксилином и эозином, Leica DFC. Ув. X200.

Морфофункциональное состояние тимуса после введения канцерогена.

Тимус через 1 месяц наблюдения визуально повторяет строение у контрольных крыс. Однако, при морфометрии зафиксировано увеличение площади мозгового и толщины коркового вещества в 3 и 2 раза соответственно.

Клетки мозгового вещества и премедуллярной зоны дают позитивную реакцию на белок S-100, количество этих клеток снижается в мозговом веществе в 2 раза, в кортико-медуллярной зоне – в 3 раза по сравнению с контролем. Уменьшается число $CD68^+$ и $Bcl-2^+$ клеток. Число $CD3^+$ клеток достоверно увеличивается почти в 1,5 раза и в корковом, и в мозговом веществе долики.

Параллельное исследование люминесцирующих гранулярных клеток позволило выявить увеличение их количества в 1,5 раза. Отмечается двукратное снижение уровня серотонина в клетках премедуллярной и субкапсулярной зоны, Т-лимфоцитах коркового и мозгового вещества. Содержание гистамина в этих же структурах, напротив, в 1,5 раза превышает показатели интактных крыс. Увеличение соотношения (СТ+ГСТ)/КА в клетках субкапсулярной зоны и в Т-клетках мозгового вещества (рисунок 2) свидетельствует об угнетении функциональной активности клеточных элементов (Стручко Г.Ю., 2018).

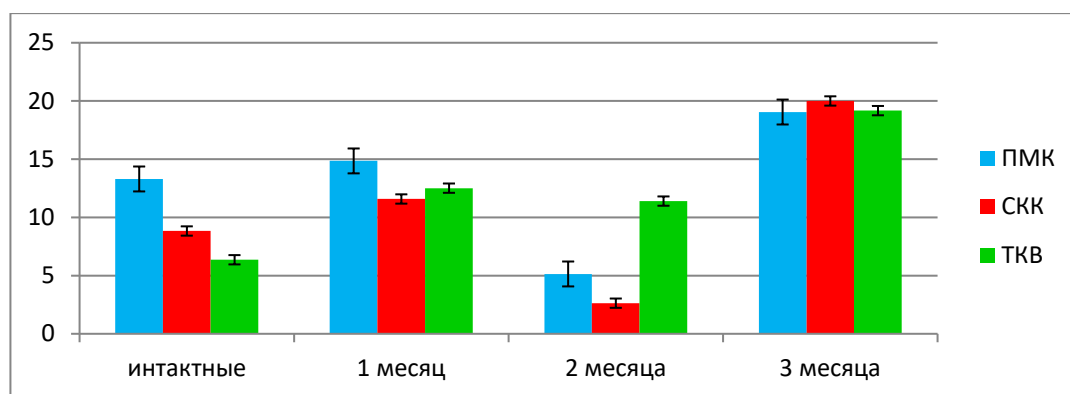


Рисунок 2. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в премедуллярных, субкапсулярных клетках и тимocyтaх коркового вещества интактных крыс и после введения канцерогена через 1, 2 и 3 месяца.

Количество тучных клеток незначительно возрастает, они локализуются в соединительнотканых септах с преобладанием дегранулированных и полностью опустошенных форм (рисунок 3).

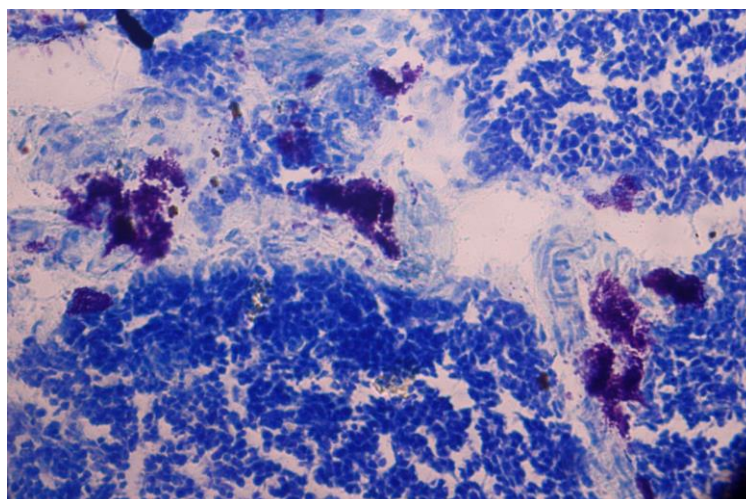


Рисунок 3. Тимус. 1 месяц после введения канцерогена. Преобладание дегранулированных форм тучных клеток. Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна. Микромед 3 Люм.Ув. X600.

Через 2 месяца по сравнению с предыдущим сроком исследования снижается толщина коркового вещества (в 1,6 раза). Визуализируются единичные участки включений жировой ткани.

Отмечено достоверное возрастание количества Bcl-2⁺ клеток, числа Pan-cytokeratin⁺ клеток и макрофагов по всей тимической дольке. Однако, количество CD3⁺ клеток в корковом веществе снижается в 2 раза, что позволяет предположить их миграцию из тимуса.

В биоаминсодержащих структурах прослеживается снижение уровня серотонина и гистамина. Наиболее достоверно снижение показателя соотношения (СТ+ГСТ)/КА происходит в премедуллярных клетках в 2,6 раза и в субкапсулярных клетках - в 3,4 раза. В тучноклеточной популяции продолжают преобладать дегранулирующие формы.

Через 3 месяца после окончания воздействия в тимусе выявляются более заметные изменения по сравнению с предыдущим сроком исследования. Масса тимуса в динамике возрастает, расширяются междольковые промежутки, долики приобретают вытянутую форму. Мозговое вещество различной формы, его площадь по сравнению с предыдущим сроком снижается.

Возрастание числа $CD3^+$ клеток на этом сроке исследования позволяет предположить их недостаточную миграцию из тимуса. Вероятно, это могло послужить стимулом для опухолевого роста в молочной железе, поскольку известно, что зрелые Т-лимфоциты, покидая тимус, на периферии принимают участие в противоопухолевой защите (Москвичев Е.В., 2013).

Вдвое увеличилось число $CD68^+$ клеток и дендритных клеток по всей дольке. В мозговом веществе число $Pan-cytokeratin^+$ клеток возрастает в 6 раз (рисунок 4). Эти количественные изменения позволяют говорить о напряженности иммунного ответа.

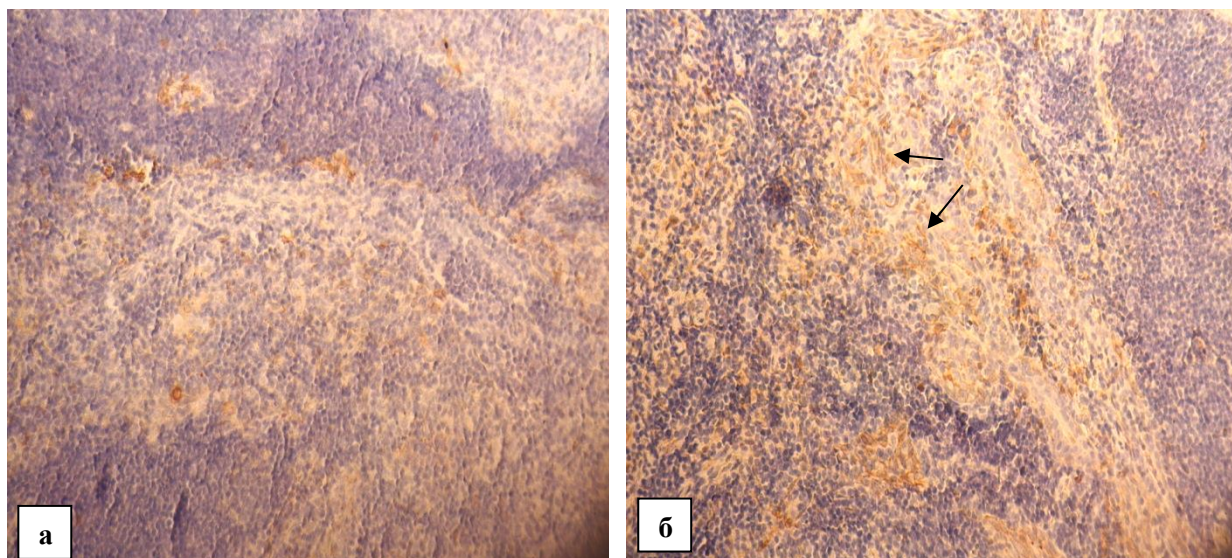


Рисунок 4. Тимус. Иммуногистохимическая реакция на Pan-cytokeratin. а – интактная крыса; б - 3 месяца после окончания введения канцерогена. Увеличение числа $Pan-cytokeratin^+$ клеток в мозговом веществе дольки. Микромед 3 Люм. Ув. X400.

Наблюдаемое уменьшение числа Bcl-2⁺ клеток на данном сроке исследования может говорить о наступившем преобладании клеточной гибели, поскольку известно, что белок Bcl-2 является значимым в процессе ингибции апоптоза (Marsden V., Strasser A., 2003).

Уровень гистамина в люминесцирующих структурах возрастает и по сравнению с интактной группой, и предыдущим сроком. Возрастание показателя соотношения (СТ+ГСТ)/КА свидетельствует об угнетении функциональной активности клеток тимуса.

Морфофункциональное состояние тимуса при воздействии водно-иммобилизационного стресса.

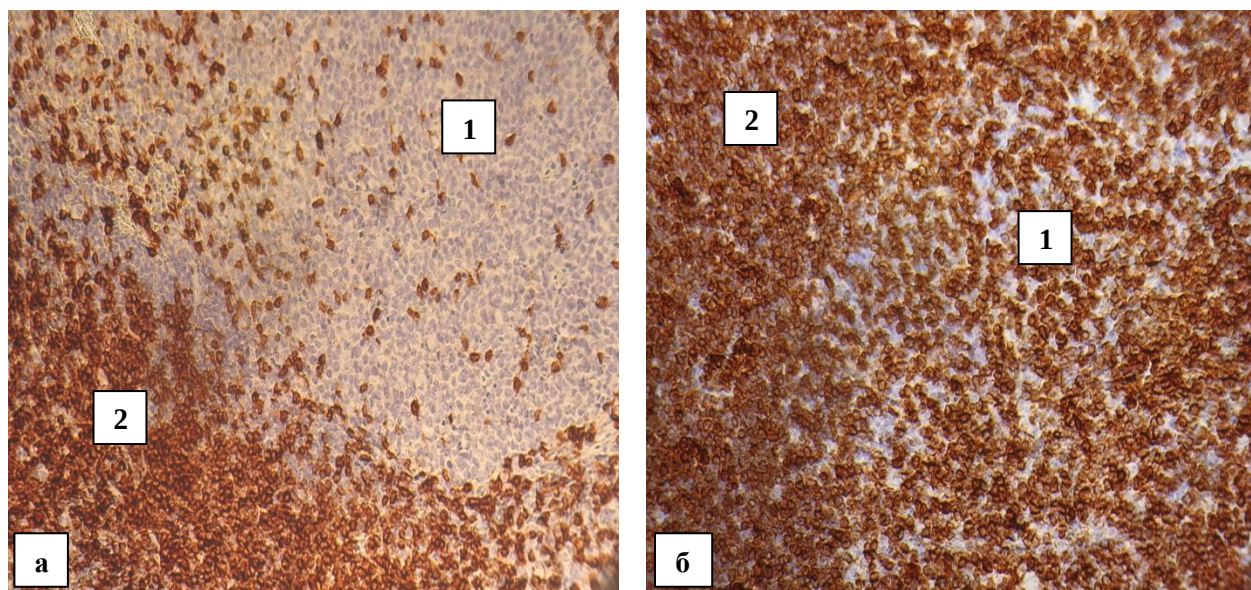
После воздействия стресса в тимусе прослеживаются те же неспецифические изменения, что и в группе с изолированным введением канцерогена, но есть и некоторые особенности. Уже через 1 месяц в единичных долях тимуса визуализируются области с расширенными междольковыми промежутками, заполненными включениями жировой ткани, её количество нарастает с увеличением срока исследования. По мере наблюдения снижается площадь мозгового и толщина коркового веществ.

Отличие реакции тимуса состоит и в том, что через 1 месяц вдвое снижается количество Bcl-2⁺ клеток, но через 2 месяца наблюдения их количество увеличивается в 12 раз. Высокая экспрессия белка Bcl-2 характерна для дважды негативных Т-лимфоцитов (DN-клеток), что обеспечивает их защиту от апоптоза (Старская И.С., Полевщиков А.В., 2013).

Что касается CD3⁺ клеток, то в мозговом веществе их количество через месяц возрастает (рисунок 5), а через 3 месяца достоверно снижается. Причиной этого может служить либо их гибель, либо миграция в кровеносное русло в ответ на стресс-реакцию. Процентное содержание Pan-cytokeratin⁺ и количества S-100⁺ клеток с увеличением срока исследования возрастает по всему веществу долики. Количество макрофагальных клеток в корковом и мозговом веществе достоверно изменяется через три месяца, превышая показатели контроля и предыдущего срока исследования. Эти клетки способны не только синтезировать биогенные амины, но и поглощать, а также дезактивировать избыточное содержание моноаминов (Диндяев С.В., Виноградов С.Ю., 2007).

Содержание биогенных аминов во всех люминесцирующих структурах через 1 и 2 месяца достоверно снижается более чем в 1,5 раза. Через 3 месяца, напротив, наблюдается их возрастание. Общее количество тучных клеток в данной группе уменьшается, однако продолжают преобладать их дегранулированные формы.

Вызванные стрессом признаки атрофии тимуса индуцированы действием гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, оказывающей непосредственное влияние на процессы, происходящие в тимусе. По данным литературы, эндогенная выработка глюкокортикоидов при стресс-реакции может приводить к гибели зрелых Т-клеток с последующей атрофией органа. Однако не существует доказательства гибели всех клеток тимуса (Brewer J.A. et al., 2002).



**Рисунок 5. Тимус. Иммуногистохимическая реакция на CD3.
а – интактная крыса; б - 1 месяц после окончания воздействия водно-иммобилизационного стресса. Увеличение числа CD3⁺ клеток в мозговом (1) и корковом (2) веществе дольки. Микромед 3 Люм. Ув. X400.**

Морфофункциональное состояние тимуса при сочетанном введении канцерогена и воздействии водно-иммобилизационного стресса.

Через 1 месяц после сочетанного воздействия факторов дольки тимуса приобретают веретенообразную форму, визуализируются расширенные участки междольковых промежутков, заполненные жировой тканью. Площадь мозгового и толщина коркового веществ увеличены в 2,8 и 2,3 раза соответственно. Выявлено достоверное увеличение числа CD3⁺ клеток, что может быть следствием усиления дифференцировки Т-лимфоцитов в зрелые формы. Возможно, это связано с активацией процесса канцерогенеза, что могло привести к активному выходу клеток предшественников из костного мозга.

Необходимо отметить увеличение S-100⁺ и Pan-cytokeratin⁺ клеток в мозговом веществе, чего не было через 1 месяц после изолированного введения канцерогена. Число

Bcl-2⁺ клеток также возрастает, причем их число в корковом веществе в 4 раза больше, чем при изолированном введении канцерогена.

Уровень серотонина и катехоламинов практически во всех люминесцирующих клетках снижается, но отмечается достоверное увеличение гистамина в 1,8 и 1,4 раза в тучных клетках и в их микроокружении. Повышение соотношения (СТ+ГСТ)/КА свидетельствует о снижении функциональной активности клеток. Как и при изолированном введении канцерогена, отмечено увеличение общего количества тучных клеток, среди них - большое количество дегранулирующих форм.

Через 2 месяца вдвое уменьшается площадь мозгового и толщина коркового вещества. Нарастает количество жировой ткани, замещающей паренхиму долек.

Количество S-100⁺ клеток и в кортико-медуллярной зоне, и в мозговом веществе возрастает практически в 2 раза по сравнению с предыдущим сроком исследования. Эти клетки, как правило, локализуются в кортико-медуллярной зоне и мигрируют в мозговое вещество, где участвуют в дифференцировке и негативной селекции Т-клеток, презентируют на своей поверхности антигены, продуцируют цитокины и участвуют в запуске иммунного ответа (Пащенко М.В., Пиненин Б.В., 2006; Москвичев Е.В., 2015). Зрелые дендритные клетки, локализуясь в мозговом веществе, теряют способность захватывать антигены, но продолжают нести информацию об антигенах созревающим Т-лимфоцитам (Луговцов Н.А. и др., 2012). Возрастает количество CD3⁺ клеток. Прослеживаемый в динамике рост числа CD3⁺ и дендритных клеток может говорить о стимуляции иммунитета в ответ на сочетанное воздействие факторов. Количество CD68⁺ клеток достоверно снижается, особенно резко по сравнению с изолированным введением канцерогена (в 10 раз) (рисунок 6).

Продолжает расти количество Pan-cytokeratin⁺ клеток в мозговом веществе, вдвое превышая данные при изолированном воздействии канцерогена. Выстраивая трехмерный каркас, эпителиоциты участвуют в формировании гемато-тимического барьера, обеспечивают оптимальные условия для созревания Т-лимфоцитов, участвуют в синтезе и презентации тканеспецифических антигенов (Логинова Н.П. и др., 2013).

Уровень гистамина, по сравнению с изолированным введением канцерогена, достоверно возрастает во всех клеточных структурах железы, а не только в тучных клетках. Снижается общее количество тучных клеток по сравнению с предыдущим сроком почти в 4 раза, продолжают преобладать дегранулирующие формы клеток.

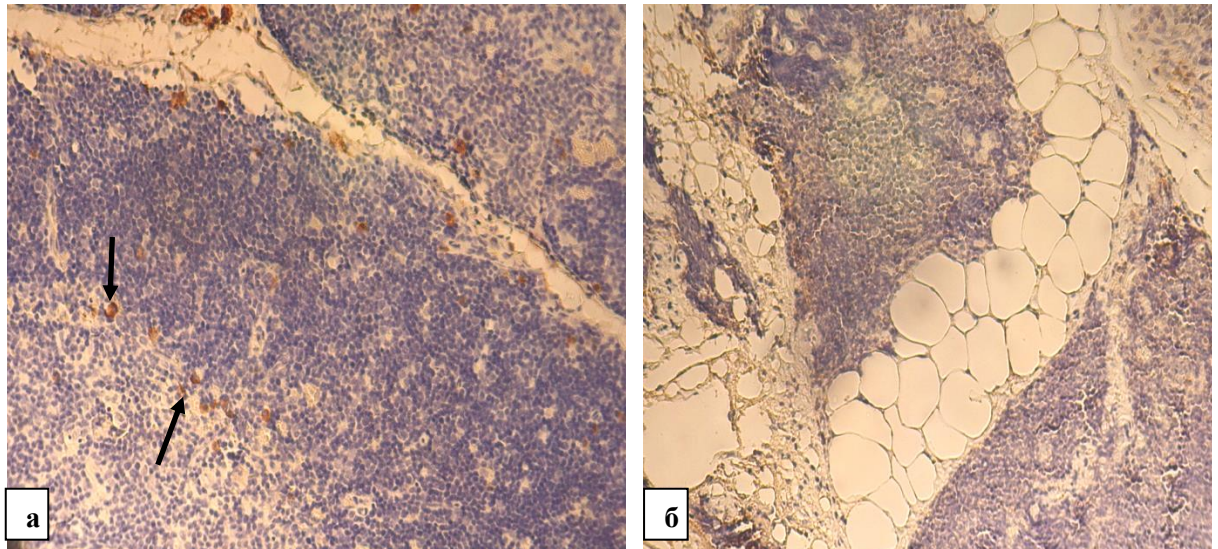


Рисунок 6. Тимус. Иммуногистохимическая реакция на CD68.
а - интактная крыса; б - 2 месяца после окончания сочетанного воздействия факторов. Снижение количества CD68⁺ - лимфоцитов. Расширение междольковых промежутков, заполненных жировой тканью. Микромед 3 Люм. Ув. X400.

Через 3 месяца структура тимуса значительно изменена, продолжает уменьшаться площадь мозгового вещества, большая часть паренхимы заменяется жировой и соединительной тканью (рисунок 7).

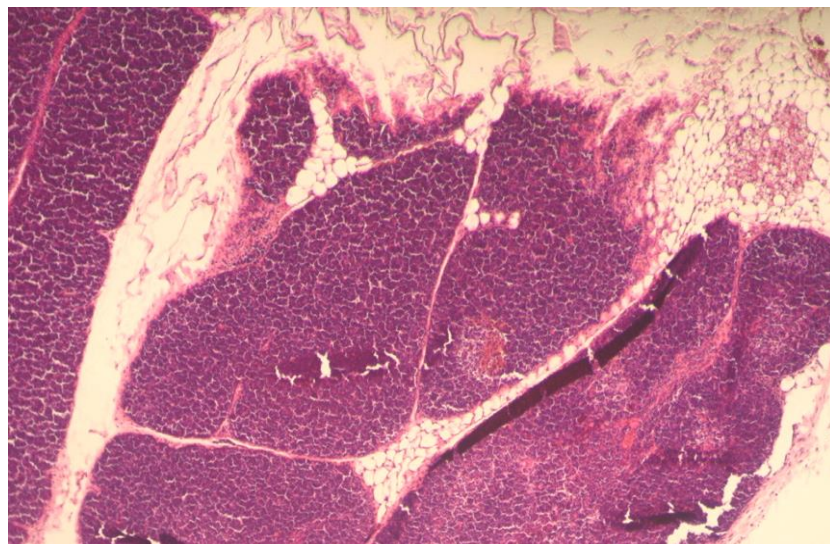


Рисунок 7. Тимус. 3 месяца после окончания сочетанного воздействия факторов. Мозговое вещество в виде небольших включений округлой формы, замещение паренхимы тимуса жировой и соединительной тканью. Окраска гематоксилином и эозином. Микромед 3 Люм. Ув. X100.

Число CD3⁺ клеток в мозговом веществе снижается в 2 раза. Происходит уменьшение числа дендритных клеток более чем в 2 раза, что может говорить об их

миграции в место локализации патологического процесса. Количество CD68⁺ клеток достоверно возрастает в мозговом веществе (в 12 раз). Известно, что CD68 - трансмембранный гликопротеин, который экспрессируется, главным образом, тканевыми макрофагами и моноцитами. Он относится к семейству лизосомально-эндосомальных белков и способствует утилизации продуктов клеточного распада, стимулирует фагоцитоз (Сантимов А.В. и др., 2016). В тимусе белок CD68 участвует не только в механизме созревания Т-лимфоцитов (Navarro et al., 1991), но и в процессе элиминации погибших в результате дифференцировки Т-клеток (Кащенко С.А. и др., 2010, Wood G.W., 1985). Количество Pan-cytokeratin⁺ клеток начинает убывать по всей длине.

Отмечено достоверное снижение уровня серотонина и гистамина в Т-лимфоцитах мозгового вещества. Соотношение биоаминов в разных структурах изменяется неоднозначно. Популяция тучных клеток представлена всеми формами практически в равных соотношениях. Так, недегранулированные и частично дегранулированные формы составляют 25,7% и 26,6%, дегранулированные и полностью опустошенные формы клеток – 23% и 24,7% соответственно.

Таким образом, проведенные исследования показали, что введение канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина, воздействие водно-иммобилизационного стресса и сочетанное воздействие двух факторов вызывают в тимусе развитие неспецифических процессов в виде изменения массы, клеточного состава железы, уровня биогенных аминов, тучноклеточной популяции. Но в каждой серии выраженность этих изменений и их направленность имеет свои некоторые особенности. Особенно ярко это проявляется в группе сочетанного воздействия факторов. Здесь выраженные изменения в морфологии тимуса наступают в более ранние сроки (уже через 1 месяц после воздействия) и четко свидетельствуют о развитии признаков акцидентальной инволюции тимуса. Это проявляется в изменении формы долек, замещении паренхимы жировой тканью, дисбалансе биогенных аминов, снижении количества CD3⁺, Pan-cytokeratin⁺ клеток. Скорее всего, это связано с воздействием на организм стресса, который повлиял и на более раннее (через 2 месяца) развитие опухоли в молочной железе (продукты метаболизма которой оказывают токсическое влияние на иммунитет).

ВЫВОДЫ

1. Изолированное введение канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина и воздействие стресса через 1 месяц приводят к увеличению толщины коркового и площади мозгового вещества долек тимуса в разной степени выраженности. При дальнейшем наблюдении отмечается

достоверное снижение этих показателей и замещение паренхимы органа соединительной и жировой тканями.

2. При сочетанном воздействии этих двух факторов особенности изменений выявляются в раннем появлении жировой ткани в соединительнотканых прослойках и значительном замещении ею паренхимы тимуса. Уже через 1 месяц дольки приобретают веретенообразную форму, граница между корковым и мозговым веществом становится нечеткой. С увеличением срока исследования уменьшается площадь мозгового и толщина коркового вещества.
3. Введение канцерогена приводит к количественному изменению клеточных элементов в тимусной долке: через 1 месяц наблюдения отмечается снижение $S-100^+$ дендритных клеток и $CD68^+$ макрофагов на фоне достоверного увеличения $CD3^+$ лимфоцитов коркового и мозгового веществ. Через 3 месяца - значительный рост дендритных клеток, макрофагов и эпителиоцитов. При сочетанном воздействии двух факторов выраженный клеточный дисбаланс регистрируется уже через 2 месяца: увеличение $S-100^+$ клеток (в 1,9 раза), эпителиальных клеток (в 8,8 раз), а через 3 месяца - еще и увеличение $Bcl-2^+$ клеток (более, чем в 11 раз).
4. Изолированное введение канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина и воздействие стресса вызывают волнообразные изменения уровня биогенных аминов в люминесцирующих структурах тимуса. При введении канцерогена максимальное содержание гистамина и серотонина регистрируется через 3 месяца наблюдения, при воздействии водно-иммобилизационного стресса - через 3 месяца достоверно возрастает только уровень гистамина. При сочетанном воздействии уровень всех биогенных аминов снижается через 1 и 3 месяца наблюдений. Максимальный уровень гистамина отмечен через 2 месяца. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА во всех экспериментальных группах изменяется также волнообразно.
5. Популяция тучных клеток тимуса на изолированное введение канцерогена и сочетанное воздействие двух факторов отвечает увеличением числа тучных клеток в соединительнотканых септах (в 1,5 раза) с преобладанием дегранулированных и полностью опустошенных форм. Индекс дегрануляции увеличивается в 2 раза. При стрессовом воздействии общее количество тучных клеток снижается (в 2 и более раз), преобладают дегранулированные формы.
6. Сравнительный анализ данных показал, что цитоморфологические изменения долек тимуса отмечены во всех трех группах эксперимента, но при сочетанном воздействии канцерогена и стресса эти изменения более выражены и наступают уже через 1 месяц наблюдения.

Это проявляется снижением массы тимуса, увеличением количества CD3⁺, S-100⁺ и Papan-cytokeratin⁺ клеток через 1 и 2 месяца. Через 3 месяца отмечено уменьшение количества CD3⁺ лимфоцитов в корковом веществе, снижение S-100⁺ клеток, Bcl-2⁺, эпителиальных клеток, значительное повышение уровня гистамина в лимфоцитах коркового и мозгового веществ, опустошение коркового слоя на фоне замещения паренхимы жировой тканью через 3 месяца. Все это свидетельствует о развитии признаков акцидентальной инволюции тимуса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При изучении цитоархитектоники тимуса на фоне введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины необходимо учитывать гистологически обоснованные признаки неинвазивного и инвазивного дуктального рака молочной железы. Это позволит стандартизировать и обосновать последующие результаты исследований для формирования исчерпывающей базы знаний о канцерогенезе и морфологических изменениях в иммунных органах.
2. Данные об изменении фенотипа антигенпрезентирующих клеток тимуса еще на этапе развития предопухолевых признаков можно трактовать как способность иммунной системы к ответной реакции на начальном этапе канцерогенеза. Эти сведения могут послужить основой при разработке схем противоопухолевой иммунотерапии и иммунопрофилактики.
3. Полученные данные о том, что стресс усугубляет течение канцерогенеза, вызывая при этом более ранние и выраженные изменения в тимусе, необходимо учитывать в практической онкологии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Михайлова М.Н., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю., **Котёлкина А.А.** Нейроиммуноэндокринная реакция на развитие опухоли молочной железы при хроническом стрессе // Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V съезда биохимиков России, конференции ADFLIM.- ACTA NATURAE / Спецвыпуск Т.1 – под ред. А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили, А.Г. Габибова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого - 2016. - С.102.
2. **Котёлкина А.А.**, Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю., Москвичев Е.В., Михайлова М.Н. Тучные клетки тимуса на фоне введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины // Спешите делать добро: материалы межрегион. Науч.-практ. конф.,

посв. памяти заведующего кафедрой госпитальной терапии №1 д-ра мед.наук, проф. Владимира Николаевича Сапёрова. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2016. - С.287-292.

3. Кострова О.Ю., Меркулова Л.М., **Котёлкина А.А.**, Стоменская И.С., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н. Морфофункциональные изменения надпочечников и тимуса у крыс при введении канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина // Acta medica Eurasica. - 2016. - №3. - С.49-52. <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2016/3/8/>

4. Меркулова Л.М., **Котёлкина А.А.**, Кострова О.Ю., Драндрова Е.Г. Исследование биоаминсодержащих структур тимуса самок крыс после введения канцерогена, вызывающего развитие опухоли молочной железы // Современные проблемы медицины и естественных наук: сборник статей Международной научной конференции/ Мар. гос. ун-т. – Йошкар-Ола, 2016.- Вып. 5.- С.12-14.

5. **Котёлкина А.А.**, Меркулова Л.М., Кострова О.Ю. Реакция тучных клеток тимуса на канцерогенез, водноиммобилизационный стресс и сочетанное действие факторов // Строение организма человека и животных в норме, патологии и эксперименте. Сб. работ, посв. 85-летию со дня рождения проф. А.С. Леонтьюка, под ред. доц. Т.М. Студеникиной, И.А. Мельникова, доц. В.С. Гайдука; Бел. гос. мед. ун-т. - Минск: БГМУ, 2017. - С. 300-304.

6. **Котёлкина А.А.** Тучные клетки тимуса при экспериментальном канцерогенезе // Материалы 89-й международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых "Теоретические и практические аспекты современной медицины". – Симферополь, 2017. - С.630-632.

7. **Котёлкина А.А.**, Меркулова Л.М., Кострова О.Ю. Биогенные амины и тучные клетки тимуса при экспериментальном канцерогенезе, вызванным введением N-метил-N-нитрозомочевина // Единство науки, образования и практики медицине будущего. Посвящается 110-летию со дня рождения академика АМН СССР, профессора Д.А. Жданова и 260-летию Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. сб. статей/ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – М.: Издательство Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. 2018. - С.80-83.

8. **Котёлкина А.А.** Морфофункциональное состояние тканевых элементов тимуса при канцерогенезе различной локализации // Вестник новых медицинских технологий - 2018. - № 4. - С.255-259.

9. **Котёлкина А.А.**, Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю. Морфология акцидентальной инволюции тимуса в экспериментальном канцерогенезе // **Морфологические ведомости.** - 2019. – Т.27, выпуск 1. – С. 30-34.

10. **Котёлкина 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. – Т.8, №2. – С.47-53.

11. Кострова О.Ю., **Котёлкина А.А.**, Меркулова Л.М., Стоменская И.С., Стручко Г.Ю., Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В. Изменение содержания биогенных аминов и их соотношения в надпочечниках и тимусе при водноиммобилизационном стрессе // *Acta medica Eurasica.* - 2019. – №3. – С.53-60. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2019/3/7/>

12. **Котёлкина А.А.** Особенности морфологии тимуса крыс при индуцировании рака молочной железы N-метил-N-нитрозомочевинной, Котёлкина А.А., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Москвичев Е.В., Стоменская И.С. **Морфологические ведомости.** - 2020. – Т.28, выпуск 2. – С. 55-63.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГСТ	гистамин
КА	катехоловые амины
КМЗ	кортико-медуллярная зона
ЛГК	люминесцирующие гранулярные клетки
МКАТ	моноклональные антитела
М/О ТК	микроокружение тучных клеток
МНМ	N-метил-N-нитрозомочевина
ПКАТ	поликлональные антитела
СКЗ	субкапсулярная зона
СТ	серотонин
ТК	тучные клетки
ТКВ	Т-лимфоциты коркового вещества
ТМВ	Т-лимфоциты мозгового вещества
CD	cluster of differentiation (кластер дифференцировки)