

На правах рукописи

Кабаков Алексей Васильевич

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАКА
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.03.02 – патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск).

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

Коненков Владимир Иосифович

доктор медицинских наук

Повещенко Александр Федорович

Официальные оппоненты:

Кливер Евгений Эдуардович, доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н.Мешалкина» Минздрава России (Новосибирск), заведующий патологоанатомическим отделением.

Майбородин Игорь Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН (Новосибирск), главный научный сотрудник лаборатории технологий управления здоровьем Отдела «Центр новых медицинских технологий».

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (Барнаул).

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2019 г. в ____ час. на заседании совета Д 001.048.05 в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» по адресу 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» [http:// frcftm.ru](http://frcftm.ru)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
доктор биологических наук,
профессор

Молодых Ольга Павловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Рак молочной железы (РМЖ) является одной из самых распространенных патологий во всем мире среди женщин (Кулигина Е.Ш., 2010; Стенина М.Б., 2011; Косоротиков Н.И., 2012; Jemal A. et al., 2010; Ferlay J., 2015). Высокая частота заболеваемости РМЖ и низкая эффективность лучевой, хирургической и лекарственной терапии диктуют необходимость поиска новых методов ранней диагностики РМЖ, прогнозирования риска рецидива РМЖ и определения чувствительности к противоопухолевой терапии (Кулигина Е.Ш., 2010; Стенина М.Б., 2011; Родионова М.В., 2015). Улучшение ранней диагностики РМЖ с целью выявления пациентов с низким риском рецидива и на ранних стадиях РМЖ является актуальной научной задачей (Родионова М.В., 2015).

В научных исследованиях для изучения различных аспектов биологии опухолей используют различные химические вещества, которые могут индуцировать рост злокачественных образований различной локализации. Одним из таких химических веществ является N-метил-N-нитрозомочевина (МНМ) – алкилирующий агент, способный вызывать развитие опухолей при введении в организм лабораторных животных, в том числе и РМЖ, имеющего общие черты с РМЖ у человека (Чочиева А.Р., 2008; Чочиева П.Р., 2010; Lu J., 1998; Liska J., 2000; Esendagi G., 2009; El-Abd E., 2014). Моделирование злокачественных опухолей необходимо прежде всего для разработки новых методов их диагностики и экспериментальной терапии с учетом фенотипической характеристики клеток, в том числе и при РМЖ, потому что выбор терапии РМЖ зависит от фенотипического типа рака молочной железы (Стенина М.Б., Фролова М.А., 2011; Завьялова М.В. и др., 2013; Слонимская Е.М. и др., 2014; Holowatyj A.N. et al., 2016).

Одним из новых перспективных диагностических маркеров опухолевого роста, интенсивно изучаемых в последнее время, являются микроРНК, которые имеют также существенное значение в патогенезе различных заболеваний. МикроРНК – это класс некодирующих РНК, длиной около 22 нуклеотидов (Косоротиков Н.И., 2012; Ahmed F.E., 2007; Abue M., 2015; Bertoli G., 2015). МикроРНК являются посттранскрипционными регуляторами, блокируют синтез белка за счет комплементарного связывания с мРНК. Показано, что микроРНК регулируют экспрессию многих генов, вовлеченных в ключевые процессы жизнедеятельности клетки. Наряду с метилированием, микроРНК-регуляцию относят к одному из ведущих фундаментальных механизмов эпигенетического управления внутриклеточными процессами в организме человека и животных (Bartel D.P., 2004).

Кроме того, микроРНК участвуют в развитии и прогрессировании опухолей, влияя на онкогенные или опухоль-супрессирующие механизмы, в том числе и при РМЖ. Установлено, что дисрегуляторные влияния микроРНК опосредуют развитие опухолей разной локализации (Palmero E.I. et al., 2011). Все это позволяет рассматривать исследования роли молекул микроРНК в патологии как наиболее перспективные для поиска диагностических маркеров, а также маркеров эффективности проводимого лечения.

В отдельных исследованиях показано увеличение количества некоторых микроРНК в опухолях молочной железы (Fulci V., 2007; Pang Y., 2010; Waters P.S., 2012), однако нет единого мнения относительно того, можно ли рассматривать микроРНК в качестве диагностического маркера РМЖ, маркера опухолевой прогрессии, маркера эффективности проводимой противоопухолевой терапии. Отсутствуют сравнительные исследования количества микроРНК в крови, лимфе и опухоли. Мало исследованы и количественные различия микроРНК в здоровой ткани и опухолях молочной железы, а также взаимосвязь количества микроРНК в сыворотке крови и, особенно в лимфе, с параметрами сторожевых, передних средостенных и брыжеечных лимфатических узлов (ЛУ). Другими словами, не ясно, существуют ли взаимосвязи между изменениями количества микроРНК в сыворотке крови, лимфе, молочной железе, опухоли и морфологическими изменениями в ЛУ в процессе онкогенеза и лечения.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время известно несколько тысяч микроРНК, каждая из которых регулирует работу большого количества генов на уровне

трансляции. Кроме того, микроРНК является негативным регулятором экспрессии генов на посттранскрипционном уровне (Федянин М.Ю. и др., 2013; Grosshans H., Filipowicz W., 2008). Причем одна микроРНК может регулировать работу более сотни разных генов, а разные микроРНК имеют возможность выступать как онкогены и супрессоры опухолей. Показана вовлеченность микроРНК в патогенез широкого круга патологий, в том числе и РМЖ (Федянин М.Ю. и др., 2013; Sayed D., Abdellatif M., 2011; McClelland A.D., Kantharidis P., 2014; Femminella G.D. et al., 2015; Kondkar A.A., Abu-Amero K.K., 2015). Однако по причине многочисленности микроРНК роль некоторых микроРНК (-21, -221, -222, -429) в патогенезе РМЖ изучена недостаточно. Так, микроРНК принимают участие в процессах регуляции уровней экспрессии многих генов, в частности, при взаимодействии микроРНК-221/микроРНК-222 с РУМА происходит блокирование апоптоза, что приводит к трансформации клетки и усилению клеточной пролиферации (Zhang C., 2010). Противоречивые результаты исследований роли различных микроРНК, в том числе микроРНК (-21, -221, -222, -429), в патогенезе РМЖ, а также изучение взаимосвязи количества микроРНК (-21, -221, -222, -429) с параметрами цитоархитектоники ЛУ позволит расширить имеющиеся представления о роли данных микроРНК в диагностике и прогнозе онкопатологии, в частности при раке молочной железы.

Нерешенными остаются вопросы специфичности микроРНК как маркеров различных патологий. В том числе нет однозначного мнения о значимости микроРНК (-21, -221, -222, -429) как маркеров диагностики и эффективности лечения РМЖ. Актуальным представляется изучение микроРНК как возможных онкомаркеров, количество которых может быть специфичным для опухолей на разных этапах развития, а также после разных видов лечения. Противоречивость данных не позволяет составить четкие представления об изменении тех или иных микроРНК-маркеров под влиянием разных видов лечения. Кроме того, возможно, что микроРНК могут быть маркерами сопряженных морфологических изменений лимфоидных органов на разных этапах онкогенеза.

В связи с вышеизложенным, изучение роли микроРНК (-21, -221, -222, -429) в патогенезе РМЖ и морфологических изменениях ЛУ в процессе онкогенеза представляет бесспорный научный интерес, и может служить основой для разработки новых методов диагностики и терапии.

Цель исследования – изучить иммуногистохимические фенотипы индуцированного N-метил-N-нитрозомочевинной рака молочной железы и структурные изменения лимфатических узлов в сопоставлении с количеством микроРНК-маркеров в сыворотке крови, лимфе и опухоли при оперативном и химиотерапевтическом лечении.

Задачи исследования.

1. Изучить патоморфологические характеристики индуцированного введением N-метил-N-нитрозомочевины рака молочной железы у крыс-самок Вистар.

2. Изучить структурно-функциональную организацию и цитоархитектонику подмышечных (I порядка), передних средостенных и брыжеечных лимфатических узлов в норме и при химически индуцированном раке молочной железы при разных способах терапии.

3. Оценить количество микроРНК (-21, -221, -222, -429) в молочной железе в норме, при индуцированном N-метил-N-нитрозомочевинной раке молочной железы и после разных способов терапии.

4. Выявить взаимосвязи между микроРНК (-21, -221, -222, -429) в сыворотке крови и лимфе у интактных животных и животных с химически индуцированным раком молочной железы при разных способах терапии.

5. Выявить взаимосвязи между количеством микроРНК (-21, -221, -222, -429) в биологических образцах с клеточными изменениями подмышечных, передних средостенных и брыжеечных лимфатических узлов в норме и при химически индуцированном раке молочной железы после разных способов терапии.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное патоморфологическое и молекулярно-биологическое изучение структурной организации подмышечных (I порядка), передних

средостенных и брыжеечных ЛУ в норме и при химически индуцированном РМЖ при разных способах терапии с оценкой количества микроРНК (-21, -221, -222, -429) в различных биологических субстратах и выявлением корреляционных связей между микроРНК и структурными изменениями ЛУ в эксперименте.

Впервые показано, что введение N-метил-N-нитрозомочевины в область молочной железы крыс-самок приводит к развитию умеренно дифференцированной протоковой аденокарциномы люминального В типа, характеризующейся экспрессией рецепторов к прогестерону и высокой пролиферативной активностью, отсутствием экспрессии рецепторов к эстрогену и эпидермальному фактору роста человека Her-2/neu. Лимфогенное метастазирование, сохраняющееся после всех видов терапии, обнаружено в аксиллярных и брыжеечных ЛУ.

Впервые показано, что при экспериментальном РМЖ в ЛУ происходят однонаправленные структурные изменения, наиболее значительные в передних средостенных ЛУ: снижение доли иммунобластов и средних лимфоцитов в паракортикальной зоне на фоне уменьшения ее относительного объема, снижение доли зрелых плазмочитов в мозговых тяжах при увеличении относительного объема тяжей. В условиях полихимиотерапии (ПХТ) и при оперативном лечении изменения доли иммунобластов, зрелых плазмочитов и относительного объема соответствующих зон сохраняются.

Впервые выявлено, что при оперативном лечении рака молочной железы с последующим курсом ПХТ в передних средостенных ЛУ происходит более выраженное снижение доли иммунобластов и средних лимфоцитов в паракортикальной зоне, а также снижение доли клеток лимфоидного ряда вторичных лимфоидных узелков на фоне уменьшения относительного объема этих зон. Кроме того, наблюдается уменьшение доли малых лимфоцитов, иммунобластов, зрелых плазмочитов и рост доли незрелых плазмочитов в мозговых тяжах.

Впервые установлен рост митотической активности клеток вторичных лимфоидных узелков передних средостенных ЛУ и мозговых тяжей подмышечных лимфоузлов I порядка при всех видах лечения, а также клеток вторичных лимфоидных узелков и мозговых тяжей брыжеечных узлов во всех группах, кроме ПХТ, что свидетельствует об активации регенераторных реакций.

Впервые показано, что индуцирование РМЖ приводит к росту количества проонкогенной микроРНК-221 и снижению количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в опухоли, сыворотке крови и лимфе. Наибольшие изменения количества микроРНК-221 и -429 при индуцировании РМЖ найдены в опухоли. Впервые показано, что ПХТ приводит к снижению количества проонкогенной микроРНК-221 и увеличению количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в опухоли молочной железы, сыворотке крови и лимфе.

Впервые по данным корреляционного анализа выявлен ряд средних и сильных взаимосвязей между параметрами клеточного состава различных групп ЛУ и количеством микроРНК (-21, -221, -222, -429) в сыворотке крови и лимфе (по 6,3% и 8,4% пар признаков, соответственно).

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены новые знания о том, что лечение РМЖ обуславливает структурные преобразования в подмышечных, брыжеечных и передних средостенных ЛУ, отражающих в разной степени изменения их барьерно-фильтрационных свойств.

Получены данные о роли микроРНК в канцерогенезе, гормональном статусе опухоли и пролиферативном статусе опухолевых клеток при химически индуцированном РМЖ – установлено увеличение количества проонкогенной микроРНК-221 и уменьшение количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в сыворотке крови, лимфе и опухоли молочной железы у животных-опухоленосителей. Изучение взаимосвязи количества микроРНК (-21, -221, -222, -429) с параметрами цитоархитектоники ЛУ позволяет расширить имеющиеся представления о роли данных микроРНК в диагностике и прогнозе РМЖ.

Результаты исследования могут служить основой для разработки новых подходов к терапии РМЖ и новых методов контроля эффективности оперативного и терапевтического лечения РМЖ.

Методология и методы исследования. Диссертационная работа носит экспериментальный характер. Методологически работа основана на применении принципов системного анализа комплекса данных, методов морфологического анализа патологических процессов, использовании теоретических разработок и обобщений типовых патологических процессов. В исследование включены современные методы морфологического (световая микроскопия, морфометрия, иммуногистохимия) и молекулярно-биологического (ПЦР в реальном времени) анализа и интерпретации полученных данных. Проведена статистическая обработка полученных данных. Объект исследования – молочная железа, сыворотка крови, лимфа, лимфатические узлы крыс. Предмет исследования – особенности морфологии химически-индуцированной опухоли молочной железы и структурных изменений лимфатических узлов, количественные изменения микроРНК (-21, -221, -222, -429) в биологических образцах, корреляционные взаимосвязи микроРНК с морфологическими изменениями в ЛУ при оперативном и химиотерапевтическом лечении РМЖ.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Введение N-метил-N-нитрозомочевина в область молочной железы индуцирует развитие РМЖ люминального В типа.

2. При экспериментальном РМЖ в подмышечных ЛУ I порядка, брыжеечных и передних средостенных ЛУ происходят однонаправленные структурные изменения, наиболее значительные в средостенных ЛУ: угнетение Т-клеточного и В-клеточного звена иммунитета и рост доли ретикулярных клеток и макрофагов.

3. Индуцирование РМЖ приводит к росту количества проонкогенной микроРНК-221 и снижению количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в опухоли, сыворотке крови и лимфе. ПХТ приводит к снижению количества микроРНК-221 и увеличению количества микроРНК-429 во всех биологических образцах.

Степень достоверности результатов. Полученные результаты имеют высокую степень достоверности, которая подтверждается достаточным объемом экспериментального материала (110 животных), использованием современных методических приемов и высокоинформативных методов патоморфологического анализа (иммуногистохимия, световая микроскопия), молекулярно-клеточной биологии (ПЦР в реальном времени), высокотехнологичного оборудования и адекватных критериев для статистической обработки полученных результатов.

Апробация результатов работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на V Российской научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых (Новосибирск, 2014); VI Российской научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых (Новосибирск, 2015); Международной научно-практической конференции «Репродуктивные технологии в онкологии» (Обнинск, 2015); XII Международной конференции «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям» (Новосибирск, 2016); форуме «Биомедицина-2016» (Новосибирск, 2016); Международной научной конференции STEMCELLBIO-2016 «Фундаментальная наука как основа клеточных технологий» (Санкт-Петербург, 2016); «Санкт-Петербургском лимфологическом форуме» (Санкт-Петербург, 2017); 11th International Conference Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology (Novosibirsk; Russian Federation, 2018); Международной научно-практической 11 конференции "Бородинские чтения", посвященной 90-летию академика РАН Юрия Ивановича Бородин (Новосибирск, 2018); заседании Ученого совета Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (Новосибирск, 2018).

Внедрение. Результаты диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую работу и учебный процесс кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», в практическую и научно-исследовательскую работу Научно-исследовательского института клинической и

экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»

Публикации. По теме диссертации опубликованы 15 работ, из них 8 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации материалов диссертационных исследований, в том числе 5 – в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 190 страницах компьютерного текста, включает 40 рисунков, 27 таблиц. Список цитируемой литературы состоит из 327 источников, из которых 103 на русском и 224 на английском языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 110 крысах-самках породы Вистар массой 220–250 г, в возрасте 3 мес. РМЖ у 90 крыс-самок Вистар индуцировали введением N-метил-N-нитрозомочевина (МНМ) по методике (Чочиева А.Р. и др., 2010). МНМ (Sigma-Aldrich, США), разведенная в воде для инъекций, вводилась пятикратно с интервалом в 7 дней подкожно в область одной и той же молочной железы с правой стороны (2-я молочная железа) у основания правой лапки в дозе 2,5 мг на крысу в 0,2 мл, общая доза – 12,5 мг.

Дизайн исследования: 1-я группа – контроль (интактные особи) (n=20); 2-я группа – РМЖ (группа сравнения по РМЖ через 6 мес роста опухоли) (n=30); 3-я группа – РМЖ + ПХТ (n=20); 4-я группа – РМЖ + оперативное удаление опухоли (n=20); 5-я группа – РМЖ + оперативное удаление опухоли + ПХТ (n=20). В группе 2 у 10 животных после индукции РМЖ не развился.

Курс ПХТ при РМЖ проводили по схеме CMF (циклофосфан + метотрексат + фторурацил): циклофосфан (3 мг/кг, ОАО «Биохимия», Саранск) внутривенно с 1-й по 14-й день; метотрексат (2,5 мг/кг, Ebewe, Австрия) внутривенно на 1-й и 8-й день курса терапии; 5-фторурацил (15 мг/кг, Ebewe, Австрия) внутривенно на 1-й и 8-й день курса терапии. ПХТ начинали через 6 мес от момента индукции опухоли. Оперативное лечение осуществляли через 6 мес от момента индукции РМЖ. При сочетанном лечении ПХТ начинали в день оперативного лечения.

Животных из эксперимента выводили через 6,5 мес, производили забор: лимфы из грудного лимфатического протока, периферической крови, образцов молочной железы и опухоли, подмышечных регионарных ЛУ I порядка (каудальный из 4-х узлов) для МЖ, брыжеечных ЛУ, передних средостенных ЛУ.

Морфологическое исследование образцов молочной железы, лимфатических узлов и морфометрический анализ. В качестве объекта морфологических исследований были выбраны: образцы интактной молочной железы, образцы с РМЖ, подмышечные регионарные ЛУ I порядка для молочной железы крыс, брыжеечный ЛУ, передний средостенный ЛУ. Гистологический материал проводили по общепринятой методике и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 – 7 мкм окрашивали азур II – эозином (по Нохту-Максимову) и гематоксилином – эозином (по Майеру). (Ромейс Б., 1954; Волкова О.В., Елицкий Б.К., 1971; Саркисов Д.С., Перов Ю.Л., 1996).

Морфометрический анализ проводили с использованием методик, основанных на подсчете числа точек тестовой системы, попавших в профиль исследуемой структуры (Pi) и числа пересечений тестовой линии с границами этой структуры (Ci) (Непомнящих Л.М. и др., 1981; Бородин Ю.И., Григорьев В.Н., 1986; Автандилов Г.Г., 1990). Для морфометрического анализа лимфатических узлов брали каждый 15-й срез (из полной серии срезов), проходящий через середину ЛУ, вдоль их продольной оси. Для определения динамики

структурных изменений определяли абсолютную площадь сагиттального среза ЛУ, проходящего через его середину вдоль продольной оси (в мм²).

Определяли относительный объем отдельных структурно-функциональных зон ЛУ (капсулы, паракортикальной зоны, мозговых тяжей, краевого и мозговых синусов, первичных и вторичных лимфоидных узелков). Рассчитывали отношение относительного объема коркового вещества (к) к относительному объему мозгового вещества (м) и выражали как корково/мозговой индекс (к/м) (Бородин Ю.И., Григорьев В.Н., 1986).

Иммуногистохимическое исследование. В опухоли иммуногистохимически исследовали уровни экспрессии рецепторов к эстрогену-альфа (ER), прогестерону (PgR), эпидермальному фактору роста человека (Her-2/Neu) и маркера пролиферации клеток (Ki-67) на автоматической платформе Autostainer Link48 (Dako, Дания).

Уровни экспрессии рецепторов оценивали с использованием полуколичественной системы «Allred Scoring Guidline», направленной на выявление процента окрашенных клеток (proportion score, PS) и интенсивности окраски клеток (intensity score, IS), которые затем суммировали: TS (total score) = PS + IS. Уровни экспрессии Her-2 оценивали по степени мембранного окрашивания (полное, неполное) и интенсивности окрашивания. Оценку производили в баллах в соответствии с правилами HercepTest: 0 – полное отсутствие продукта реакции или выявление его на мембранах (Rakha E.A. et al., 2014). Индекс пролиферации (в %) определяли на 1000 клетках по формуле: Ki-67% = n (количество ядер иммунопозитивных к Ki-67) / n_1 (общее количество ядер, окрашенных гематоксилином) x 100% (Dowsett M. et al., 2011).

Молекулярно-биологическое исследование. Количество микроРНК определяли в неизменной молочной железе, опухоли молочной железы, сыворотке крови и лимфе грудного протока. Для определения количества микроРНК (-21, -221, -222, -429) проводили ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (ThermoScientific, США). В качестве внутреннего контроля использовали малую РНК U6, которая стабильно экспрессируется как в норме, так и в опухоли. Изменение количества микроРНК в опытном образце по отношению к контрольному вычисляли по формуле: $2^{-\Delta\Delta Ct}$, где $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{опытный обр.}} - (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{контр.}}$

Статистическая обработка данных. Результаты обрабатывали при использовании пакета программ Statistica 6.0. Полученные данные проверяли на нормальность распределения значений согласно *W*-критерию Шапиро – Уилкса: в случае нормального распределения признаков результаты были представлены в виде средней (*M*) и ошибки средней (*m*), а в случае параметров, отличающихся от нормального распределения, – медианой (*Me*), нижним (*LQ*) и верхним (*UQ*) квартилями. Значимость различий параметров с нормальным распределением оценивали по *t*-критерию Стьюдента, а в случае распределения параметров, отличного от нормального – по *U*-критерию Манна – Уитни. Статистическая значимость различий параметров между группами принималась при значении $p < 0,05$. Сопряженности между исследуемыми параметрами оценивали по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена (Гланц С., 1998).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Верификация опухоли молочной железы, индуцированной введением N-метил-N-нитрозомочевины. На 24-й неделе после индукции МНМ у 80 из 90 крыс-самок Вистар пальпаторно были выявлены очаги опухолевого роста в молочной железе. В 10 случаях введение МНМ не приводило к развитию опухоли молочной железы у крыс-самок Вистар. Макроскопически у этих животных в молочной железе просматривались фиброзные тяжи с небольшими включениями жировой ткани. В то же время у животных с развившейся опухолью молочной железы вновь сформированная ткань имела вид узла с нечеткими границами, а у некоторых животных – с очагами изъязвления и кальцификации, прорастания опухоли в кожу и мышцы груди.

При морфологическом исследовании РМЖ нами отмечено формирование протоковых, железистых, криброзных структур, выстланных умеренно полиморфным эпителием с варибельной митотической активностью; преобладание тубулярных структур и наличие отдельных участков опухоли с перемешанными гнездами, цугами и группами отдельных клеток с менее оформленными протоками, вплоть до их полного исчезновения. Фиброзная ткань развита слабо, паренхима преобладает над стромой. В некоторых образцах опухоли молочной железы, индуцированной внутримаммарным введением МНМ, выявлены очаги некроза и кровоизлияний. Гистологический вариант вновь сформировавшейся опухоли молочной железы верифицирован как инфильтративный протоковый рак с предраковыми изменениями в краевых зонах, внутрипротоковой пролиферацией. С учетом выраженности формирования протоков, митотической активности и клеточного полиморфизма выставлена градация в 6 баллов, что соответствует опухоли с умеренной дифференцировкой.

Иммуногистохимически не выявлено экспрессии рецепторов к эстрогену в клетках аденокарциномы. В то же время в 66,6% случаев клетки аденокарциномы экспрессировали рецептор к прогестерону. Общий балл экспрессии PgR был равен 6. В клетках аденокарциномы не выявлены рецепторы к Her-2/Neu. Кроме этого, при оценке пролиферативной активности клеток аденокарциномы, индуцированной внутримаммарным введением МНМ, экспрессия Ki-67 выявлена в 45% случаев.

На основании уровня экспрессии гормонов, ростового фактора и интенсивности пролиферативного потенциала клеток аденокарциномы установлен люминальный В тип опухоли молочной железы при соотнесении с типами опухолей молочной желез у человека (El-Abd E. et al., 2014).

Морфологический анализ подмышечных лимфатических узлов I порядка при экспериментальном раке молочной железы и различных методах лечения

Морфологический анализ подмышечных лимфатических узлов I порядка при экспериментальном раке молочной железы без лечения. Площадь сагитального среза подмышечного ЛУ у животных с экспериментальным РМЖ была увеличена на 63% в сравнении с интактными крысами ($4,97 \pm 0,49$ мм² против $3,05 \pm 0,21$ мм²). Относительный объем коркового вещества уменьшился на 31%, мозговых синусов и мозговых тяжей – на 14%. Объем коркового вещества был сокращен за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 30%, коркового плато – на 50%, герминативных центров – на 20%, первичных лимфоидных узелков – на 34%. Объем мозгового вещества был увеличен на 14% за счет как мозговых тяжей (на 12%), так и мозговых синусов (на 18%). Объем синусной системы был увеличен: объем мозговых синусов – на 18%, краевого синуса – на 68% (табл. 1).

В светлых центрах вторичных лимфоидных узелков было выявлено уменьшение числа иммунобластов на 27% на фоне увеличения количества макрофагов на 53%, ретикулярных клеток – на 48% (табл. 2). В паракортикальной зоне отмечалось уменьшение числа иммунобластов на 60%, средних лимфоцитов – на 39%, при увеличении числа макрофагов на 18%. Кроме того, обнаруживались опухолевые клетки.

В мозговых тяжях отмечалось уменьшение числа средних лимфоцитов на 20% и зрелых плазматических клеток на 10% при увеличении числа митотически делящихся клеток в 2,2 раза и ретикулярных клеток – на 26%. Выявлялись опухолевые клетки, количество которых было больше, чем в паракортикальной зоне (в 1,8 раза). В мозговых синусах отмечалось увеличение числа ретикулярных клеток на 52%, незрелых плазматических клеток – на 28%, иммунобластов – на 64%, макрофагов – на 45% при уменьшении числа средних (на 21%) и малых лимфоцитов (на 32%). Количество опухолевых клеток было увеличено в 3 раза по сравнению с мозговыми тяжями.

Таблица 1. Относительный объем (%) структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов I порядка крыс Вистар в экспериментальных группах (M±m)

Зоны лимфатических узлов	Интактная (1)	PMЖ (2)	PMЖ + ПХТ (3)	PMЖ+операция (4)	PMЖ+операция + ПХТ (5)
Капсула ЛУ	2,28±0,11	2,56±0,11	1,65±0,10 ^{1,2}	2,69±0,07 ^{1,3}	2,00±0,06 ^{1,2,3,4}
Краевой синус	0,90±0,09	1,51±0,07 ¹	1,23±0,06 ^{1,2}	1,88±0,06 ^{1,2,3}	1,26±0,08 ^{1,4}
Трабекулы	0,43±0,08	1,00±0,09 ¹	0,39±0,05 ²	0,79±0,05 ^{1,3}	0,92±0,07 ^{1,3}
<i>Корковое вещество:</i>	33,89±0,68	23,46±0,74 ¹	22,21±0,38 ¹	27,87±1,34 ^{1,2,3}	25,49±0,98 ^{1,3}
- корковое плато	2,18±0,11	1,09±0,11 ¹	0,79±0,06 ^{1,2}	2,90±0,10 ^{1,2,3}	2,00±0,06 ^{2,3,4}
- лимфоидные узелки со светлыми центрами:	3,62±0,12	2,91±0,16 ¹	2,62±0,12 ¹	3,97±0,10 ^{1,2,3}	3,26±0,16 ^{3,4}
<i>светлый центр</i>	1,24±0,09	0,87±0,09 ¹	0,97±0,07 ¹	1,29±0,04 ^{2,3}	1,28±0,08 ^{2,3}
<i>мантий</i>	2,38±0,09	2,04±0,11	1,65±0,08 ^{1,2}	2,68±0,09 ^{1,2,3}	1,98±0,09 ^{1,3,4}
- лимфоидные узелки без светлых центров	2,27±0,12	1,49±0,12 ¹	0,91±0,07 ^{1,2}	2,09±0,07 ^{2,3}	2,04±0,10 ^{2,3}
- паракортикальная зона	25,83±0,7	17,97±0,61 ¹	17,89±0,32 ¹	18,91±0,7 ¹	18,19±0,47 ¹
<i>Мозговое вещество:</i>	62,50±0,47	71,48±1,0 ¹	74,52±0,7 ¹	66,76±1,64 ³	70,33±1,64 ¹
- мозговые тяжи	35,60±0,66	39,78±0,76 ¹	43,92±0,36 ^{1,2}	39,81±0,84 ^{1,3}	41,91±1,14 ¹
- мозговые синусы	26,89±0,47	31,70±0,6 ¹	30,60±0,28 ¹	26,95±0,7 ^{2,3}	28,42±0,8
- В-зона (узелки + мозговые тяжи)	41,49±0,96	44,18±1,6	47,45±0,33 ¹	45,87±1,57	47,21±1,26 ¹
Корково/мозговой индекс	0,56±0,02	0,33±0,01 ¹	0,30±0,01 ¹	0,42±0,01 ^{1,2,3}	0,37±0,01 ^{1,2,3,4}

Примечание. Здесь и в других таблицах: 1, 2, 3, 4, 5 – сравниваемые группы по *t*-критерию Стьюдента, *p* < 0,05; PMЖ – рак молочной железы, PMЖ + ПХТ – полихимиотерапия без оперативного удаления опухоли, PMЖ + операция – оперативное удаление опухоли, PMЖ + операция + ПХТ – полихимиотерапия после удаления опухоли.

Морфологический анализ подмышечных лимфатических узлов I порядка у крыс Вистар с PMЖ после проведения курса полихимиотерапии. В сравнении с интактными животными площадь среза аксиллярного ЛУ у животных с PMЖ после ПХТ увеличилась на 77% (3,05±0,21 мм² против 5,4±0,32 мм²). Относительно интактных крыс увеличилась объемная плотность мозгового вещества (на 19%) и уменьшилась коркового вещества (на 35%). Сокращение объемной плотности коркового вещества произошло за счет уменьшения объема паракортикальной зоны (на 31%), коркового плато (на 64%), герминативных центров (на 28%), первичных лимфоидных узелков (на 60%). Увеличение относительного объема мозгового вещества происходило за счет увеличения объемов мозговых синусов на 14% и мозговых тяжей – на 23%. Объем краевого синуса был увеличен на 37% (см. табл. 1). Морфофункциональная организация аксиллярных ЛУ у крыс этой группы, как и у интактных, соответствовала фрагментированному типу (к/м индекс – 0,3).

В светлых центрах вторичных лимфоидных узелков аксиллярных ЛУ в сравнении с интактными животными выявлено уменьшение числа иммунобластов на 45%, митотически делящихся клеток – на 48%, средних лимфоцитов – на 15% и увеличение: числа малых лимфоцитов на 10%, макрофагов – на 28%, ретикулярных клеток – на 71% (см. табл. 2). В паракортикальной зоне было отмечено уменьшение числа иммунобластов на 50%, малых лимфоцитов – на 10% при увеличении числа средних лимфоцитов на 72% и ретикулярных клеток – на 45%. В мозговых тяжах было увеличено число иммунобластов в 2,6 раза, незрелых плазматических клеток – на 18%, ретикулярных клеток – на 43,5% и уменьшено число зрелых плазматических клеток на 16% и малых лимфоцитов – на 10%. В мозговых синусах возрастало число иммунобластов на 99%, незрелых плазматических клеток – на 23% и ретикулярных клеток – на 52%, а также уменьшалось число малых лимфоцитов на 28%.

Таблица 2. Цитоархитектоника структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов I порядка у крыс Вистар в экспериментальных группах (M±m)

Клеточные элементы (в %)	Интактная (1)	PMЖ (2)	PMЖ + ПХТ (3)	PMЖ + операция (4)	PMЖ + операция + ПХТ (5)
Светлый центр вторичных лимфоидных узелков					
Иммунобласты	13,84 ± 0,54	10,18 ± 0,33 ¹	7,64 ± 0,52 ^{1,2}	4,51 ± 0,17 ^{1,2,3}	5,57 ± 0,18 ^{1,2,3,4}
Средние лимфоциты	18,21 ± 0,53	17,73 ± 0,72	15,54 ± 0,57 ^{1,2}	14,59 ± 0,53 ^{1,2}	18,06 ± 0,42 ^{3,4}
Малые лимфоциты	55,03 ± 0,83	54,42 ± 1,22	60,12 ± 0,80 ^{1,2}	69,54 ± 0,78 ^{1,2,3}	59,77 ± 0,65 ^{1,2,4}
Макрофаги	5,22 ± 0,22	7,99 ± 0,55 ¹	6,65 ± 0,18 ^{1,2}	4,78 ± 0,12 ^{2,3}	5,29 ± 0,29 ^{2,3}
Ретикулярные клетки	5,01 ± 0,38	7,40 ± 0,45 ¹	8,55 ± 0,36 ^{1,2}	5,29 ± 0,11 ^{2,3}	9,51 ± 0,24 ^{1,2,3,4}
Митозы	2,69 ± 0,23	2,07 ± 0,29	1,40 ± 0,16 ^{1,2}	1,26 ± 0,08 ^{1,2}	1,81 ± 0,09 ^{1,3,4}
Опухолевые клетки	0,00 ± 0,00	0,21 ± 0,10 ¹	0,10 ± 0,07	0,04 ± 0,04	0,02 ± 0,01 ²
Паракортикальная зона					
Иммунобласты	1,88 ± 0,16	0,76 ± 0,11 ¹	0,95 ± 0,16 ¹	1,63 ± 0,16 ^{2,3}	0,51 ± 0,09 ^{1,3,4}
Средние лимфоциты	8,46 ± 0,43	5,15 ± 0,19 ¹	14,58 ± 0,44 ^{1,2}	15,35 ± 0,48 ^{1,2}	13,32 ± 0,27 ^{1,2,4}
Малые лимфоциты	79,95 ± 0,64	82,92 ± 1,1	72,43 ± 0,53 ^{1,2}	74,09 ± 0,81 ^{1,2}	74,06 ± 0,47 ²
Макрофаги	4,33 ± 0,18	5,11 ± 0,27 ¹	4,45 ± 0,22	3,00 ± 0,21 ^{1,2,3}	3,75 ± 0,19 ^{1,2,3,4}
Ретикулярные клетки	5,04 ± 0,46	5,45 ± 0,21	7,26 ± 0,24 ^{1,2}	4,41 ± 0,19 ^{2,3}	8,15 ± 0,22 ^{1,2,3,4}
Тучные клетки	0,35 ± 0,07	0,11 ± 0,06	0,23 ± 0,09	0,54 ± 0,08 ^{2,3}	0,21 ± 0,07 ⁴
Опухолевые клетки	0,00±0,00	0,51 ± 0,14 ¹	0,10 ± 0,07 ²	0,97 ± 0,14 ^{1,2,3}	0,04 ± 0,03 ^{2,4}
Мозговые тяжи					
Средние лимфоциты	11,37 ± 0,46	9,08 ± 0,42 ¹	11,01 ± 0,31 ²	9,48 ± 0,32 ^{1,3}	8,70 ± 0,26 ^{1,3}
Малые лимфоциты	27,76 ± 1,19	28,50 ± 0,53	25,06 ± 0,53 ^{1,2}	21,36 ± 0,73 ^{1,2,3}	20,77 ± 0,34 ^{1,2,3}
Иммунобласты	1,89 ± 0,19	1,76 ± 0,15	4,98 ± 0,48 ^{1,2}	2,60 ± 0,16 ^{1,2,3}	1,56 ± 0,11 ^{3,4}
Незрелые плазмциты	12,90 ± 0,72	14,36 ± 0,59	15,17 ± 0,38 ¹	14,63 ± 0,64	20,57 ± 0,59 ^{1,2,3,4}
Зрелые плазмциты	35,25 ± 0,93	31,62 ± 0,69 ¹	29,77 ± 0,46 ¹	31,08 ± 0,68 ¹	31,34 ± 0,64 ¹
Макрофаги	4,43 ± 0,36	5,00 ± 0,23	4,73 ± 0,25	6,54 ± 0,29 ^{1,2,3}	5,43 ± 0,20 ^{1,3,4}
Ретикулярные клетки	5,89 ± 0,33	7,52 ± 0,24 ¹	8,45 ± 0,29 ^{1,2}	12,21 ± 0,45 ^{1,2,3}	10,75 ± 0,35 ^{1,2,3,4}
Митозы	0,43 ± 0,14	0,93 ± 0,17 ¹	0,59 ± 0,15	0,72 ± 0,16	0,59 ± 0,10
Опухолевые клетки	0,00 ± 0,00	0,91 ± 0,17 ¹	0,11 ± 0,07 ²	1,06 ± 0,15 ^{1,3}	0,06 ± 0,04 ^{2,4}
Нейтрофилы	0,08 ± 0,06	0,30 ± 0,12	0,13 ± 0,09	0,33 ± 0,12	0,29 ± 0,09
Мозговые синусы					
Средние лимфоциты	9,65 ± 0,45	7,65 ± 0,35 ¹	9,41 ± 0,49 ²	9,58 ± 0,41 ²	5,64 ± 0,33 ^{1,2,3,4}
Малые лимфоциты	33,44 ± 0,80	22,62 ± 0,96 ¹	24,01 ± 0,78 ¹	21,89 ± 0,56 ¹	23,46 ± 0,46 ¹
Иммунобласты	1,96 ± 0,25	3,21 ± 0,32 ¹	3,89 ± 0,41 ¹	1,63 ± 0,15 ^{2,3}	0,55 ± 0,16 ^{1,2,3,4}
Незрелые плазмциты	9,12 ± 0,46	11,65 ± 0,38 ¹	11,17 ± 0,69 ¹	12,84 ± 0,85 ¹	8,85 ± 0,30 ^{2,3,4}
Зрелые плазмциты	31,27 ± 1,05	31,21 ± 0,74	32,34 ± 0,73	34,80 ± 0,84 ¹	39,57 ± 0,61 ^{1,2,3,4}
Макрофаги	4,38 ± 0,51	6,34 ± 0,24 ¹	4,0 ± 0,24 ²	4,45 ± 0,22 ²	5,62 ± 0,26 ^{2,3,4}
Ретикулярные клетки	9,07 ± 0,47	13,77 ± 0,53 ¹	13,77 ± 1,02 ¹	8,98 ± 0,59 ^{2,3}	13,50 ± 0,69 ^{1,4}
Тучные клетки	0,73 ± 0,19	0,39 ± 0,14	0,55 ± 0,16	1,16 ± 0,16 ^{2,3}	0,77 ± 0,18
Опухолевые клетки	0,00 ± 0,00	2,78 ± 0,28 ¹	0,46 ± 0,16 ^{1,2}	3,71 ± 0,32 ^{1,2,3}	1,17 ± 0,26 ^{1,2,3,4}
Нейтрофилы	0,38 ± 0,14	0,39 ± 0,15	0,40 ± 0,15	0,97 ± 0,18 ^{1,2,3}	0,88 ± 0,18 ^{1,2,3}

Морфологический анализ подмышечных лимфатических узлов I порядка у крыс-самок Вистар с PMЖ после проведения оперативного лечения. В сравнении с интактными животными площадь среза аксиллярного ЛУ у крыс с PMЖ после оперативного лечения увеличилась в 2,7 раза (3,05±0,21 мм² против 8,33±0,66 мм²). В сравнении с интактными крысами относительный объем коркового вещества уменьшился на 18% за счет снижения объема паракортикальной зоны (на 27%). Объем герминативных центров и коркового плато, напротив, увеличился (на 10 и 33%) (см. табл. 1). Относительный объем мозгового вещества был увеличен за счет увеличения объема мозговых тяжей на 12%, также был увеличен относительный объем В-зоны (на 11%). Отмечалось расширение краевого синуса и увеличение его относительного объема в 2 раза и, соответственно, усиление транспорта лимфы через лимфатический узел. Следовательно, тип морфофункциональной организации аксиллярных ЛУ у крыс с PMЖ после оперативного лечения, как и у интактных животных, соответствовал фрагментированному типу (к/м индекс – 0,42).

В аксиллярных ЛУ у животных с РМЖ после оперативного лечения в сравнении с интактными крысами выявлено уменьшение числа иммунобластов в светлых центрах вторичных лимфоидных узелков в 3 раза, средних лимфоцитов – на 20%, митотически делящихся клеток – в 2 раза и увеличение количества малых лимфоцитов на 26% (см. табл. 2). В паракортикальной зоне количество обнаруженных опухолевых клеток было максимальным из всех групп и составляло 0,97%. Отмечалось уменьшение количества макрофагов на 31% и малых лимфоцитов на 17% при увеличении количества средних лимфоцитов на 81%. В мозговых тяжах увеличилось количество макрофагов на 48%, иммунобластов – на 38%, ретикулярных клеток – в 2 раза, уменьшилось количество средних (на 16%) и малых (на 23%) лимфоцитов, а также зрелых плазматических клеток (на 12%). Количество опухолевых клеток в мозговых тяжах было максимальным среди всех групп наблюдения и составляло 1,06%. В мозговых синусах выявлялось увеличение количества незрелых (на 41%) и зрелых (на 11%) плазматических клеток, нейтрофилов – в 2,6 раза, уменьшалось количество малых лимфоцитов (на 35%). Количество обнаруженных опухолевых клеток также было максимальным из всех групп наблюдения и составляло 3,71%.

Морфологический анализ подмышечных лимфатических узлов I порядка у крыс с РМЖ после проведения оперативного лечения с последующим курсом полихимиотерапии. В сравнении с интактными животными площадь среза аксиллярного ЛУ у крыс данной группы увеличилась в 2 раза ($3,05 \pm 0,21$ мм² против $6,5 \pm 0,45$ мм²). Объем коркового вещества уменьшился на 25% (преимущественно за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 30%), а мозгового вещества – увеличился на 13% (см. табл. 5). Морфофункциональная организация аксиллярных ЛУ у крыс этой группы, как и у интактных животных, соответствовала фрагментированному типу (к/м индекс – 0,37).

В герминативных центрах было выявлено незначительное число иммунобластов и митотически делящихся клеток, обилие малых лимфоцитов. По сравнению с интактными животными было снижено число иммунобластов (в 2,5 раза), митозов (на 33%), увеличено число ретикулярных клеток (на 90%) и малых лимфоцитов (на 9%) (см. табл. 2). В паракортикальной зоне возрастало число ретикулярных клеток на 63% и средних лимфоцитов на 57%, уменьшалось количество макрофагов на 13% и иммунобластов на 73%. В мозговых тяжах по сравнению с интактными животными увеличивалось количество незрелых плазматических клеток на 60%, ретикулярных клеток – на 83%, макрофагов – на 23%, уменьшалось количество малых и средних лимфоцитов (на 25 и 24%), зрелых плазматических клеток (на 11%). В мозговых синусах возрастало количество нейтрофилов в 2,3 раза, ретикулярных клеток – на 49%, зрелых плазматических клеток – на 27%, уменьшалось количество средних (на 42%) и малых лимфоцитов (на 30%), иммунобластов (на 78%).

Морфологический анализ брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном раке молочной железы и различных методах лечения

Морфологический анализ брыжеечных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ без лечения. В сравнении с интактными крысами площадь сагиттального среза брыжеечного ЛУ у животных с РМЖ без лечения увеличилась на 26% ($10,3 \pm 0,61$ мм² против $12,96 \pm 0,64$ мм²).

Объем брыжеечного ЛУ у животных с РМЖ без лечения в сравнении с интактными крысами увеличивался на 26%. У крыс с РМЖ без лечения относительный объем коркового вещества брыжеечных ЛУ уменьшался на 20%, а объем мозговых синусов и мозговых тяжей увеличивался на 11% в сравнении с интактными животными. Уменьшение объема коркового вещества происходило за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 26% и первичных лимфоидных узелков на 24%, при этом увеличивался объем коркового плато на 13% и герминативных центров – на 31%. Увеличивался относительный объем синусной системы брыжеечных ЛУ: объем мозговых синусов – на 24%, краевого синуса – на 37%

(табл. 3). Тип структурно-функциональной организации брыжеечных ЛУ у крыс с РМЖ без лечения, как и у интактных животных, соответствовал фрагментированному типу (к/м индекс – 0,43).

Таблица 3. Относительный объем (в %) структурно-функциональных зон брыжеечных лимфатических узлов крыс в норме и при экспериментальном раке молочной железы (M±m)

Зоны лимфатических узлов	Интактная (1)	РМЖ (2)	РМЖ + ПХТ (3)	РМЖ+операция (4)	РМЖ+операция + ПХТ (5)
Капсула ЛУ	1,31±0,06	1,32±0,05	1,25±0,06	1,10±0,06 ^{1,2}	0,89±0,05 ^{1,2,3,4}
Крайевой синус	0,92±0,05	1,26±0,06 ¹	0,92±0,10 ²	0,99±0,04 ²	0,67±0,06 ^{1,2,3,4}
Трабекулы	0,11±0,03	0,29±0,04 ¹	0,18±0,06	0,10±0,03 ²	0,04±0,02 ^{2,3}
<i>Корковое вещество:</i>	36,46±1,0	29,12±0,9 ¹	26,84±0,73 ¹	25,71±0,94 ^{1,2}	28,91±0,63 ^{1,4}
- корковое плато	1,68±0,10	1,89±0,05	1,88±0,09	1,17±0,10 ^{1,2,3}	0,75±0,04 ^{1,2,3,4}
- лимфоидные узелки со светлыми центрами:	2,72±0,08	3,56±0,08 ¹	2,04±0,10 ^{1,2}	1,53±0,11 ^{1,2,3}	1,12±0,05 ^{1,2,3}
<i>светлый центр</i>	0,87±0,05	1,66±0,04 ¹	0,78±0,05 ²	0,55±0,04 ^{1,2,3}	0,36±0,03 ^{1,2,3,4}
<i>мантий</i>	1,84±0,08	1,91±0,06	1,26±0,07 ^{1,2}	0,98±0,08 ^{1,2,3}	0,76±0,04 ^{1,2,3,4}
- лимфоидные узелки без светлых центров	1,82±0,10	1,39±0,07 ¹	1,68±0,07 ²	1,27±0,08 ^{1,3}	1,26±0,05 ^{1,3}
- паракортикальная зона	30,25±0,7	22,27±0,61 ¹	21,24±0,47 ¹	21,73±0,42 ^{1,2}	25,78±0,56 ^{1,3,4}
<i>Мозговое вещество:</i>	61,20±1,0	68,01±0,96 ¹	70,81±0,97 ¹	72,10±1,87 ¹	69,49±1,0 ¹
- мозговые тяжи	34,87±0,87	35,45±0,6	38,79±0,67 ¹	40,05±0,48 ^{1,2}	34,51±0,54 ^{3,4}
- мозговые синусы	26,33±0,35	32,56±0,46 ¹	32,02±0,63 ¹	32,05±0,74 ¹	34,98±0,72 ¹
- В-зона (узелки + мозговые тяжи)	39,40±0,96	40,41±0,68	42,51±0,85	42,86±1,0	36,89±0,6 ^{2,3,4}
Корково/мозговой индекс	0,60±0,01	0,43±0,01 ¹	0,38±0,00 ^{1,2}	0,36±0,01 ^{1,2,3}	0,42±0,01 ^{1,3,4}

В герминативных центрах брыжеечных ЛУ у животных с РМЖ без лечения в сравнении с интактными животными возрастало число макрофагов на 75%, иммунобластов – на 29% и митотически делящихся клеток – на 71% на фоне уменьшения количества малых лимфоцитов на 17% (табл. 4). В паракортикальной зоне отмечалось увеличение числа макрофагов в 2 раза, ретикулярных клеток – на 28%. В мозговых тяжах возрастало число средних лимфоцитов на 27%, незрелых плазматических клеток – на 38%, макрофагов – в 2,4 раза, ретикулярных клеток – на 90%, уменьшалось число малых лимфоцитов на 29%, зрелых плазматических клеток – на 25%.

В мозговых синусах было отмечено обилие опухолевых и ретикулярных клеток, макрофагов, средних лимфоцитов. Возрастало число иммунобластов в 1,9 раза, макрофагов – в 2 раза, ретикулярных клеток – на 45%, средних лимфоцитов на 24%, уменьшалось число зрелых плазматических клеток на 14% и малых лимфоцитов на 21%.

Морфологический анализ брыжеечных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после проведения курса полихимиотерапии. Площадь среза брыжеечных ЛУ у животных с РМЖ после ПХТ уменьшилась на 45% в сравнении с интактными крысами (5,7±0,4 мм² против 10,3±0,61 мм²).

У крыс с РМЖ после ПХТ в сравнении с интактными животными в брыжеечных ЛУ объем мозгового вещества возрастал на 16%, а объем коркового вещества уменьшался на 26%. Уменьшение объема коркового вещества происходило за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 30%, герминативных центров – на 25%. Увеличение относительного объема мозгового вещества происходило за счет увеличения объема мозговых синусов (на 22%) и мозговых тяжей (на 11%) (см. табл. 3). Тип морфофункциональной организации брыжеечных ЛУ у крыс с РМЖ после курса ПХТ, как и у интактных животных, соответствовал фрагментированному типу (к/м индекс – 0,38).

Таблица 4. Цитоархитектоника структурно-функциональных зон брыжеечных лимфатических узлов у крыс Вистар в экспериментальных группах (M±m)

Клеточные элементы (в %)	Интактная (1)	РМЖ (2)	РМЖ + ПХТ (3)	РМЖ + операция (4)	РМЖ + операция + ПХТ (5)
Светлый центр вторичных лимфоидных узелков					
Иммунобласты	10,68 ± 0,49	13,77 ± 0,91 ¹	6,53 ± 0,35 ^{1,2}	8,28 ± 0,40 ^{1,2,3}	14,64 ± 1,01 ^{1,3,4}
Средние лимфоциты	22,13 ± 0,69	23,52 ± 0,88	18,88 ± 0,74 ^{1,2}	16,06 ± 0,59 ^{1,2,3}	19,80 ± 0,79 ^{1,2,4}
Малые лимфоциты	52,81 ± 1,12	43,67 ± 1,31 ¹	61,98 ± 0,95 ^{1,2}	60,91 ± 1,05 ^{1,2}	47,44 ± 1,10 ^{1,3,4}
Макрофаги	4,80 ± 0,29	8,38 ± 0,48 ¹	3,31 ± 0,22 ^{1,2}	4,94 ± 0,18 ^{2,3}	5,52 ± 0,34 ^{2,3}
Ретикулярные клетки	7,49 ± 0,34	7,09 ± 0,55	8,96 ± 0,48 ^{1,2}	7,29 ± 0,20 ³	8,55 ± 0,26 ^{1,2,4}
Митозы	2,09 ± 0,19	3,57 ± 0,33 ¹	0,34 ± 0,19 ^{1,2}	2,51 ± 0,14 ^{2,3}	4,06 ± 0,24 ^{1,3,4}
Паракортикальная зона					
Иммунобласты	1,09 ± 0,12	0,99 ± 0,21	0,30 ± 0,12 ^{1,2}	0,77 ± 0,16 ³	0,28 ± 0,13 ^{1,2,4}
Средние лимфоциты	5,38 ± 0,28	5,26 ± 0,32	4,75 ± 0,27	6,83 ± 0,54 ^{1,2,3}	8,45 ± 0,41 ^{1,2,3,4}
Малые лимфоциты	86,08 ± 1,64	81,79 ± 1,67	89,46 ± 1,39	82,19 ± 1,96	77,43 ± 1,98 ^{1,3}
Макрофаги	3,06 ± 0,20	6,28 ± 0,35 ¹	1,13 ± 0,13 ^{1,2}	2,73 ± 0,20 ^{2,3}	2,57 ± 0,14 ^{2,3}
Ретикулярные клетки	4,27 ± 0,27	5,47 ± 0,41 ¹	4,01 ± 0,16 ²	7,28 ± 0,52 ^{1,2,3}	11,03 ± 0,58 ^{1,2,3,4}
Тучные клетки	0,12 ± 0,08	0,22 ± 0,12	0,36 ± 0,12	0,20 ± 0,11	0,24 ± 0,13
Мозговые тяжи					
Средние лимфоциты	10,50 ± 0,53	13,32 ± 0,94 ¹	11,84 ± 0,85	10,32 ± 0,59 ²	10,77 ± 0,40 ²
Малые лимфоциты	29,48 ± 0,62	20,73 ± 0,96 ¹	21,1 ± 0,63 ¹	25,66 ± 0,67 ^{1,2,3}	19,81 ± 0,57 ^{1,4}
Иммунобласты	2,44 ± 0,21	2,71 ± 0,24	1,83 ± 0,30	3,12 ± 0,29 ³	2,97 ± 0,28 ³
Незрелые плазмоциты	8,49 ± 0,43	11,72 ± 1,33 ¹	18,03 ± 0,40 ^{1,2}	15,46 ± 0,70 ^{1,2,3}	17,43 ± 0,43 ^{1,2,4}
Зрелые плазмоциты	38,10 ± 0,67	28,68 ± 1,07 ¹	30,23 ± 0,99 ¹	30,14 ± 0,70 ¹	30,91 ± 0,72 ¹
Макрофаги	4,37 ± 0,34	10,60 ± 0,52 ¹	5,25 ± 0,29 ²	3,86 ± 0,22 ^{2,3}	5,71 ± 0,21 ^{1,2,4}
Ретикулярные клетки	5,81 ± 0,32	11,02 ± 0,58 ¹	10,87 ± 0,54 ¹	9,69 ± 0,43 ¹	10,74 ± 0,44 ¹
Митозы	0,53 ± 0,18	1,04 ± 0,24	0,53 ± 0,20	1,24 ± 0,24 ^{1,3}	0,59 ± 0,22
Опухолевые клетки	0,00 ± 0,00	0,15 ± 0,05	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,03 ± 0,02
Нейтрофилы	0,29 ± 0,16	0,28 ± 0,16	0,28 ± 0,13	0,52 ± 0,22	1,05 ± 0,18 ^{1,2,3}
Мозговые синусы					
Средние лимфоциты	8,31 ± 0,40	9,3 ± 0,74 ¹	8,02 ± 0,49 ²	13,80 ± 0,51 ^{1,2,3}	15,21 ± 0,40 ^{1,2,3,4}
Малые лимфоциты	36,27 ± 0,70	28,67 ± 0,72 ¹	24,47 ± 0,71 ^{1,2}	15,67 ± 0,72 ^{1,2,3}	24,1 ± 0,55 ^{1,2,4}
Иммунобласты	1,49 ± 0,23	2,87 ± 0,46 ¹	0,73 ± 0,26 ^{1,2}	0,93 ± 0,32 ²	0,68 ± 0,44 ^{1,2}
Незрелые плазмоциты	9,40 ± 0,39	7,94 ± 0,48	10,81 ± 0,59 ²	7,98 ± 0,67 ³	9,98 ± 0,25 ⁴
Зрелые плазмоциты	27,98 ± 0,78	24,01 ± 0,90 ¹	33,33 ± 0,89 ^{1,2}	34,35 ± 1,13 ^{1,2}	32,76 ± 0,45 ^{1,2}
Макрофаги	4,05 ± 0,29	8,16 ± 0,47 ¹	5,85 ± 0,40 ¹	7,00 ± 0,44 ¹	6,25 ± 0,46 ¹
Ретикулярные клетки	11,56 ± 0,74	16,76 ± 0,87 ¹	14,63 ± 0,71 ¹	19,06 ± 0,81 ^{1,3}	10,18 ± 0,32 ^{2,3,4}
Тучные клетки	0,60 ± 0,23	0,42 ± 0,23	0,47 ± 0,22	0,44 ± 0,24	0,26 ± 0,14
Опухолевые клетки	0,00 ± 0,00	1,59 ± 0,42 ¹	1,06 ± 0,38 ¹	0,05 ± 0,03 ^{2,3}	0,04 ± 0,02 ^{2,3}
Нейтрофилы	0,33 ± 0,18	0,27 ± 0,19	0,63 ± 0,25	0,76 ± 0,3	0,59 ± 0,18

В сравнении с интактными крысами в герминативных центрах брыжеечных ЛУ у животных с РМЖ после ПХТ выявлено уменьшение числа иммунобластов на 39%, митотически делящихся клеток – в 6 раз, макрофагов – на 31%, средних лимфоцитов – на 15%, увеличение количества ретикулярных клеток на 20%, малых лимфоцитов на 17% (см. табл. 4). В паракортикальной зоне отмечено уменьшение числа иммунобластов в 3,6 раза, макрофагов – в 2,7 раза. В мозговых тяжах число незрелых плазматических клеток было увеличено в 2 раза. Отмечался рост числа ретикулярных клеток (в 1,9 раза), уменьшалось количество зрелых плазматических клеток на 21% и малых лимфоцитов на 28%. В мозговых синусах отмечалось уменьшение количества малых лимфоцитов на 33%, иммунобластов – на 51%, увеличение количества зрелых плазматических клеток на 19%, ретикулярных клеток – на 27%, макрофагов – на 46%. Опухолевые клетки обнаруживались только в мозговых синусах.

Морфологический анализ брыжеечных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после оперативного лечения. Площадь среза брыжеечных ЛУ у животных с РМЖ после оперативного лечения уменьшилась на 20% в сравнении с интактными животными

($8,2 \pm 0,73$ мм² против $10,3 \pm 0,61$ мм²). Тип морфофункциональной организации брыжеечных ЛУ у животных этой группы, как и у интактных животных, соответствовал фрагментированному типу (к/м индекс – 0,36). В сравнении с интактными животными относительный объем коркового вещества уменьшался (на 30%) за счет снижения объема паракортикальной зоны (на 28%), коркового плато (на 30%), герминативных центров (на 44%) и первичных лимфоидных узелков (на 30%) (см. табл. 3). Увеличение относительного объема мозгового вещества на 18% происходило за счет увеличения объема мозговых синусов на 22% и мозговых тяжей на 15%.

В герминативных центрах брыжеечных ЛУ у крыс этой группы в сравнении с интактными крысами выявлено уменьшение количества средних лимфоцитов на 27%, иммунобластов – на 23% и увеличение количества малых лимфоцитов на 15% (см. табл. 8). В паракортикальной зоне возросло количество средних лимфоцитов на 27% и ретикулярных клеток на 71%. В мозговых тяжах увеличивалось число незрелых плазматических клеток – в 1,8 раза, митотически делящихся клеток – в 2,3 раза, ретикулярных клеток – на 67% и уменьшалось число зрелых плазматических клеток на 21% и малых лимфоцитов на 13%.

Морфологический анализ брыжеечных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после оперативного лечения с последующим курсом полихимиотерапии. Площадь среза брыжеечных ЛУ у животных с РМЖ после оперативного лечения с последующей ПХТ в сравнении с интактными крысами достоверно не изменялась ($10,8 \pm 1,08$ мм² против $10,3 \pm 0,61$ мм²). Морфофункциональная организация брыжеечных ЛУ у животных этой группы, как и у интактных крыс, соответствовала фрагментированному типу (к/м индекс – 0,42).

В сравнении с интактными животными у крыс этой группы относительный объем коркового вещества уменьшался на 21% за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 15%, коркового плато – на 55%, герминативных центров – на 59% и первичных лимфоидных узелков – на 31%. Увеличение относительного объема мозгового вещества на 14% происходило за счет увеличения объема мозговых синусов на 33%. Краевой синус уменьшился на 27% (см. табл. 3).

В герминативных центрах в сравнении с интактными животными возросло число митотически делящихся клеток на 94%, иммунобластов – на 37%, ретикулярных клеток – на 14%, уменьшилось число средних (на 11%) и малых лимфоцитов (на 10%) (см. табл. 4). В паракортикальной зоне увеличилось число ретикулярных клеток в 2,6 раза и средних лимфоцитов на 57%, а также снизилось число иммунобластов на 74% и малых лимфоцитов на 10%. В мозговых тяжах возросло количество незрелых плазматических клеток в 2 раза, макрофагов – на 31%, ретикулярных клеток – на 85% и уменьшилось число малых лимфоцитов на 33%, зрелых плазматических клеток – на 19%. В мозговых синусах возросло количество средних лимфоцитов на 83%, зрелых плазматических клеток – на 17%, макрофагов – на 54%, снизилось число иммунобластов на 54%, малых лимфоцитов – на 34%.

Морфологический анализ передних средостенных лимфатических узлов при экспериментальном раке молочной железы и различных методах лечения

Морфологический анализ передних средостенных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ без лечения. При исследовании передних средостенных ЛУ у животных с РМЖ без лечения было выявлено, что площадь сагиттального среза лимфатических узлов увеличивается в 2 раза в сравнении с интактными животными ($9,25 \pm 0,55$ мм² против $4,59 \pm 0,13$ мм²). Выявлено увеличение общего объема средостенных ЛУ в 2 раза в сравнении с интактными животными. Объем коркового вещества ЛУ уменьшался на 48%, а мозгового вещества увеличивался на 65% (табл. 5). Уменьшение объема коркового вещества происходило за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 52% и герминативных центров – на 29%. Объем мозгового вещества увеличивался за счет увеличения объема мозговых синусов на 93% и

мозговых тяжей на 47%, при этом объем краевого синуса уменьшался на 32%, объем В-зоны увеличивался на 35% (см. табл. 5). У интактных животных тип морфофункциональной организации передних средостенных ЛУ соответствовал промежуточному типу (к/м индекс – 1,29), при этом у животных с РМЖ без лечения тип структурно-функциональной организации передних средостенных ЛУ соответствовал фрагментированному типу (к/м индекс – 0,4).

Таблица 5. Относительный объем (в %) структурно-функциональных зон передних средостенных лимфатических узлов крыс Вистар в экспериментальных группах (M±m)

Зоны лимфатических узлов	Интактная (1)	РМЖ (2)	РМЖ + ПХТ (3)	РМЖ+операция (4)	РМЖ+операция + ПХТ (5)
Капсула ЛУ	2,32±0,13	1,26±0,06 ¹	1,11±0,06 ¹	1,23±0,07 ¹	1,67±0,05 ^{1,2,3,4}
Краевой синус	1,22±0,11	0,83±0,04 ¹	0,74±0,08 ¹	1,49±0,09 ^{2,3}	1,62±0,05 ^{1,2,3}
Трабекулы	0,32±0,08	0,35±0,05	0,26±0,07	0,26±0,07	0,07±0,03 ^{1,2,3,4}
<i>Корковое вещество:</i>	53,93±0,52	27,81±0,38 ¹	31,17±0,45 ^{1,2}	38,09±0,45 ^{1,2,3}	26,12±0,41 ^{1,3,4}
- корковое плато	1,65±0,10	1,45±0,05	1,69±0,07 ²	2,79±0,09 ^{2,3}	1,60±0,06 ⁴
- лимфоидные узелки со светлыми центрами:	3,80±0,21	2,69±0,08 ¹	2,40±0,13 ¹	4,00±0,08 ^{2,3}	2,15±0,10 ^{1,2,4}
<i>светлый центр</i>	1,41±0,12	1,03±0,05 ¹	0,86±0,10 ¹	1,76±0,07 ^{1,2,3}	0,95±0,06 ^{1,4}
<i>мантий</i>	2,39±0,13	1,66±0,08 ¹	1,53±0,08 ¹	2,25±0,07 ^{2,3}	1,20±0,06 ^{1,3,4}
- лимфоидные узелки без светлых центров	1,50±0,09	1,32±0,06	1,69±0,10 ²	2,60±0,09 ^{1,2,3}	1,75±0,06 ^{1,4}
- паракортикальная зона	46,98±0,56	22,36±0,35 ¹	25,39±0,59 ^{1,2}	28,69±0,47 ^{1,2,3}	20,63±0,33 ^{1,3,4}
<i>Мозговое вещество:</i>	42,22±0,54	69,74±0,33 ¹	66,73±0,42 ^{1,2}	58,92±0,50 ^{1,2,3}	70,52±0,45 ^{1,4}
- мозговые тяжи	25,49±0,66	37,46±0,23 ¹	40,33±0,27 ¹	33,93±0,37 ^{1,3}	35,75±0,29 ^{1,3}
- мозговые синусы	16,73±0,39	32,28±0,21 ¹	26,40±0,53 ^{1,2}	24,99±0,26 ^{1,2}	34,77±0,28 ^{1,3,4}
- В-зона (узелки + мозговые тяжи)	30,79±0,61	41,46±0,22 ¹	44,41±0,23 ^{1,2}	40,53±0,41 ^{1,2,3}	39,64±0,25 ^{1,3}
Корково/мозговой индекс	1,29±0,03	0,40±0,01 ¹	0,47±0,01 ^{1,2}	0,65±0,01 ^{1,2,3}	0,37±0,01 ^{1,2,3,4}

В герминативных центрах возрастало число митотически делящихся клеток в 4,6 раза и ретикулярных клеток в 4,9 раза, макрофагов – в 3,3 раза, иммунобластов – на 18% на фоне уменьшения количества малых лимфоцитов на 28% (табл. 6). В паракортикальной зоне выявлено уменьшение числа иммунобластов на 90%, средних лимфоцитов – на 72% и увеличение количества макрофагов в 3 раза, ретикулярных клеток – в 4,3 раза, малых лимфоцитов – на 17%. В мозговых тяжях обнаруживалось снижение числа иммунобластов на 80%, средних лимфоцитов – на 33%, зрелых плазматических клеток – на 20% и возрастало количество незрелых плазматических клеток в 2 раза, макрофагов – в 6 раз и ретикулярных клеток – в 7,8 раза. Кроме того, в мозговых синусах отмечалось увеличение числа ретикулярных клеток в 4,4 раза, макрофагов – в 2,5 раза, зрелых плазматических клеток на 31%, а также уменьшение числа иммунобластов на 93%, малых лимфоцитов – на 34%, незрелых плазматических клеток – на 26%, средних лимфоцитов – на 16%.

Морфологический анализ передних средостенных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после курса полихимиотерапии. Площадь среза передних средостенных ЛУ у крыс Вистар с РМЖ после курса ПХТ увеличивалась на 18,5% в сравнении с интактными животными (5,44±0,21 мм² против 4,59±0,13 мм²). В сравнении с интактными животными относительный объем коркового вещества уменьшался на 42% за счет снижения объема паракортикальной зоны на 46% и герминативных центров – на 37%. Увеличение относительного объема мозгового вещества на 58% происходило за счет увеличения объема мозговых синусов (на 58%) и мозговых тяжей (на 58%). Относительный объем В-зоны увеличивался на 44%. Объем краевого синуса уменьшался на 39% (см. табл. 5). Структурно-функциональная организация передних средостенных ЛУ у животных с РМЖ после ПХТ соответствовала фрагментированному типу (к/м индекс – 0,47).

Таблица 6. Цитоархитектоника передних средостенных лимфатических узлов у крыс Вистар в разных экспериментальных группах (M±m)

Клеточные элементы (в %)	Интактная (1)	РМЖ (2)	РМЖ + ПХТ (3)	РМЖ + операция (4)	РМЖ + операция + ПХТ (5)
Светлый центр вторичных лимфоидных узлов					
Иммунобласты	10,92±0,80	12,92±0,56 ¹	8,55±0,25 ^{1,2}	19,58±0,75 ^{1,2,3}	11,79±0,64 ^{3,4}
Средние лимфоциты	19,07±1,40	20,15±0,64	17,57±0,70	23,00±0,64 ^{1,2,3}	22,40±0,60 ^{1,3}
Малые лимфоциты	65,18±1,80	46,91±1,13 ¹	53,57±0,64 ^{1,2}	37,91±0,94 ^{1,2,3}	49,45±1,02 ^{1,3,4}
Макрофаги	2,20±0,15	7,37±0,25 ¹	6,50±0,2 ^{1,2}	4,52±0,26 ^{1,2,3}	4,55±0,22 ^{1,2,3}
Ретикулярные клетки	1,83±0,31	8,90±0,30 ¹	11,24±0,22 ^{1,2}	9,47±0,22 ^{1,3}	9,67±0,42 ^{1,3}
Митозы	0,80±0,22	3,74±0,29 ¹	2,58±0,21 ^{1,2}	5,53±0,44 ^{1,2,3}	2,13±0,25 ^{1,2,4}
Паракортикальная зона					
Иммунобласты	3,13±0,31	0,30±0,12 ¹	0,28±0,13 ¹	0,15±0,08 ¹	0,29±0,13 ¹
Средние лимфоциты	24,17±1,01	6,88±0,26 ¹	5,79±0,34 ¹	6,75±0,38 ¹	4,83±0,26 ^{1,2,3,4}
Малые лимфоциты	69,28±1,84	81,04±1,48 ¹	82,55±1,1 ¹	82,59±1,1 ¹	81,66±1,28 ¹
Макрофаги	1,39±0,23	4,21±0,22 ¹	2,63±0,14 ^{1,2}	2,22±0,14 ^{1,2,3}	2,22±0,25 ^{1,2}
Ретикулярные клетки	1,71±0,37	7,39±0,32 ¹	8,55±0,36 ^{1,2}	8,13±0,28 ¹	10,82±0,38 ^{1,2,3,4}
Тучные клетки	0,33±0,18	0,19±0,10	0,20±0,11	0,16±0,08	0,19±0,10
Мозговые тяжи					
Средние лимфоциты	13,80±0,76	9,24±0,38 ¹	8,60±0,38 ¹	13,88±0,55 ^{2,3}	12,14±0,36 ^{1,2,3,4}
Малые лимфоциты	21,37±0,83	19,97±0,93	18,33±0,78 ¹	15,76±0,59 ^{1,2,3}	15,89±0,48 ^{1,2,3}
Иммунобласты	14,99±0,54	3,06±0,18 ¹	1,86±0,46 ^{1,2}	1,57±0,25 ^{1,2}	0,59±0,18 ^{1,2,3,4}
Незрелые плазмоциты	7,79±0,23	16,11±0,86 ¹	18,25±0,52 ^{1,2}	24,58±0,80 ^{1,2,3}	21,62±0,83 ^{1,2,3,4}
Зрелые плазмоциты	38,29±1,03	30,40±0,66 ¹	27,13±0,59 ^{1,2}	27,69±0,68 ¹	29,29±0,71 ¹
Макрофаги	1,24±0,23	7,53±0,29 ¹	9,53±0,46 ^{1,2}	4,67±0,23 ^{1,2,3}	5,26±0,28 ^{1,2,3}
Ретикулярные клетки	1,56±0,25	12,13±0,40 ¹	14,86±0,51 ^{1,2}	10,97±0,35 ^{1,3}	13,93±0,50 ^{1,2,4}
Митозы	0,57±0,20	0,98±0,21	0,37±0,20	0,17±0,12 ²	0,17±0,12
Нейтрофилы	0,38±0,17	0,57±0,18	1,08±0,30	0,72±0,21	1,11±0,2 ¹
Мозговые синусы					
Средние лимфоциты	14,47±0,52	12,21±0,59 ¹	8,64±0,51 ^{1,2}	6,62±0,51 ^{1,2,3}	6,29±0,44 ^{1,2,3}
Малые лимфоциты	34,82±0,96	22,90±0,85 ¹	27,18±0,89 ^{1,2}	25,15±0,86 ¹	24,07±0,82 ^{1,3}
Иммунобласты	6,22±0,36	0,43±0,24 ¹	0,38±0,21 ¹	0,40±0,18 ¹	0,96±0,30 ¹
Незрелые плазмоциты	13,66±0,57	10,13±0,69 ¹	6,23±0,36 ^{1,2}	4,74±0,41 ^{1,2,3}	3,90±0,36 ^{1,2,3}
Зрелые плазмоциты	23,74±0,88	31,05±0,57 ¹	30,88±0,76 ¹	39,95±0,73 ^{1,2,3}	35,29±1,15 ^{1,2,3,4}
Макрофаги	3,21±0,53	8,17±0,46 ¹	8,28±0,38 ¹	5,68±0,35 ^{1,2,3}	9,47±0,38 ^{1,2,4}
Ретикулярные клетки	3,00±0,37	13,33±0,82 ¹	17,01±0,48 ^{1,2}	15,70±0,43 ^{1,2}	17,97±0,59 ^{1,2,4}
Тучные клетки	0,36±0,20	0,95±0,30	0,51±0,23	0,39±0,18	0,77±0,27
Нейтрофилы	0,51±0,23	0,83±0,29	0,89±0,32	1,37±0,21 ¹	1,28±0,34

В герминативных центрах ЛУ у животных с РМЖ после ПХТ в сравнении с интактными животными возрастало количество макрофагов в 3 раза, митотически делящихся клеток – в 3,2 раза, количеств иммунобластов снижалось на 22%, а малых лимфоцитов – на 17% (см. табл. 6). В паракортикальной зоне количество ретикулярных клеток снижалось в 5 раз, иммунобластов – в 11 раз, макрофагов – на 89%, средних лимфоцитов – в 4,2 раза, количеств малых лимфоцитов возрастало на 19%. В мозговых установлено уменьшение числа иммунобластов (в 8 раз), средних (на 38%) и малых лимфоцитов (на 14%), зрелых плазматических клеток на 29%, рост количества макрофагов в 7,7 раз, ретикулярных клеток – в 9,5 раза и незрелых плазматических клеток – в 2,3 раза в мозговых тяжах. В мозговых синусах возрастало число ретикулярных клеток в 5,7 раза, макрофагов – в 2,6 раза, зрелых плазматических клеток – на 30%, снижалось число иммунобластов (в 16 раз), средних (на 40%) и малых лимфоцитов (на 22%), незрелых плазматических клеток (в 2,2 раза).

Морфологический анализ передних средостенных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после оперативного лечения. Площадь среза передних средостенных ЛУ у животных с РМЖ после оперативного лечения в сравнении с интактными животными достоверно не изменялась (4,9±0,39 мм² против 4,59±0,13 мм²). В сравнении с интактными крыса-

ми относительный объем коркового вещества уменьшался на 44% за счет уменьшения объема паракортикальной зоны на 38%. Объем мозгового вещества был увеличен на 40% за счет увеличения объема как мозговых синусов (на 49%), так и мозговых тяжей (на 33%). Относительный объем В-зоны увеличивался на 32% (см. табл. 5). По морфофункциональной организации передние средостенные ЛУ в этой группе соответствовали фрагментированному типу (к/м индекс – 0,65). При этом корково-мозговой индекс был увеличен в сравнении с аналогичными показателями как у животных с РМЖ без лечения, так и с РМЖ после ПХТ.

В герминативных центрах найдено увеличение количества митотически делящихся клеток в 7 раз, ретикулярных клеток – в 5,2 раза, макрофагов – в 2 раза, иммунобластов – на 79%, средних лимфоцитов – на 21% на фоне уменьшения числа малых лимфоцитов на 42% (см. табл. 6). В паракортикальной зоне обнаружено уменьшение числа иммунобластов в 21 раз, средних лимфоцитов – в 3,6 раз, увеличение количества ретикулярных клеток в 4,8 раза, макрофагов – на 59% и малых лимфоцитов на 19%. В мозговых тяжах выявлялось уменьшение числа иммунобластов в 9,5 раз, зрелых плазматических клеток – на 27%, малых лимфоцитов – на 26%, увеличение количества ретикулярных клеток в 7 раз, макрофагов – в 3,8 раза, незрелых плазматических клеток в 3,2 раза. В мозговых синусах выявлено увеличение числа ретикулярных клеток в 5,2 раза, нейтрофилов – в 2,7 раза, макрофагов – на 77%, зрелых плазматических клеток – на 68%, уменьшение числа иммунобластов в 15 раз, незрелых плазматических клеток – в 3 раза, средних лимфоцитов – в 2 раза, малых лимфоцитов – на 28%.

Морфологический анализ передних средостенных лимфатических узлов у крыс-самок Вистар с РМЖ после оперативного лечения с последующим курсом полихимиотерапии. Площадь среза передних средостенных ЛУ у животных с РМЖ после оперативного лечения с последующей ПХТ увеличивалась на 55% относительно интактных животных ($7,11 \pm 0,49$ мм² против $4,59 \pm 0,13$ мм²). По сравнению с интактными животными относительный объем коркового вещества уменьшался на 52% за счет уменьшения объема паракортикальной зоны в 2,3 раза и герминативных центров – на 43% (см. табл. 5). Объем мозгового вещества увеличивался на 67% за счет увеличения объема как мозговых тяжей – на 40%, так и мозговых синусов – в 2 раза. Относительный объем В-зоны увеличивался на 29%. При этом корково-мозговой индекс снижался в сравнении с интактными животными в 3,4 раза и был снижен по сравнению с аналогичным показателем у групп РМЖ без лечения, РМЖ после ПХТ и РМЖ после оперативного лечения на 7 – 43%.

У крыс данной группы в сравнении с интактными животными выявлено увеличение количества митотически делящихся клеток в герминативных центрах в 2,7 раза, ретикулярных клеток – в 5,3 раза, макрофагов – в 2 раза и средних лимфоцитов – на 18% и уменьшение числа малых лимфоцитов на 24% (см. табл. 6). В паракортикальной зоне снижалось количество иммунобластов в 11 раз, средних лимфоцитов – в 5 раз и возрастало количество ретикулярных клеток в 6,3 раза, макрофагов – на 59,7% и малых лимфоцитов – на 18%. В мозговых тяжах наблюдалось увеличение количества незрелых плазматических клеток в 2,8 раза, макрофагов – в 4,2 раза, ретикулярных клеток – в 9 раз и снижение количества иммунобластов в 25 раз, малых лимфоцитов – на 26%, зрелых плазматических клеток – на 24%. В мозговых синусах выявлено увеличение количества зрелых плазматических клеток на 49%, макрофагов – в 3 раза, ретикулярных клеток – в 6 раз, уменьшение количества средних лимфоцитов в 2,3 раза, малых лимфоцитов – на 31%, иммунобластов – в 6,5 раз и незрелых плазматических клеток – в 3,5 раза.

Оценка количества микроРНК и корреляционных взаимосвязей с параметрами архитектоники

Количество микроРНК в ткани молочной железы в норме и при химически индуцированном раке молочной железы с учетом проведенного лечения. У крыс с РМЖ без лечения выявлено увеличение количества проонкогенных микроРНК (-221, -222) в образцах

опухоли молочной железы в 4,3 ($p=0,006$) и 3,1 раза ($p=0,028$), соответственно, в сравнении с интактными животными (табл. 7). Индуцирование РМЖ приводило к снижению количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в 3,3 раза ($p=0,049$).

У животных с РМЖ после ПХТ количество микроРНК-221 снижалось в 5 раз ($p=0,003$), количество микроРНК-222 – в 11,7 раз в сравнении с интактными животными; соответственно, в сравнении с животными с РМЖ без лечения количество микроРНК-221 снижалось более значительно – в 22,2 раза ($p=0,0001$), а количество микроРНК-222 – в 36,7 раз ($p=0,0003$). У животных с РМЖ после ПХТ количество микроРНК-429 достоверно не отличалось от интактной группы и было увеличено в 5 раз ($p=0,002$) в сравнении с группой с РМЖ без лечения.

Количество микроРНК в сыворотке крови в норме и при химически индуцированном раке молочной железы с учетом проведенного лечения. В сыворотке крови у крыс при индуцировании РМЖ без лечения найдено увеличение количества проонкогенной микроРНК-221 в 2,45 раза ($p=0,011$) и снижение количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в 1,2 раза ($p=0,001$) по сравнению с интактными животными (табл. 8). Динамика изменений количества микроРНК-221 и микроРНК-429 в сыворотке крови при РМЖ без лечения была аналогична таковой в опухоли, но менее выражена. После курса ПХТ в сыворотке крови количество проонкогенной микроРНК-21 снижалось в 2,2 раза ($p=0,04$) в сравнении с интактными животными, а проонкогенных микроРНК (-221, -222) достоверно не отличалось. В сравнении с РМЖ без лечения количество проонкогенных микроРНК (-221, -222) снижалось в 3,8 ($p=0,004$) и в 2,4 раза ($p=0,01$), соответственно.

Количество онкосупрессирующей микроРНК-429 в сравнении с интактными животными и с крысами с РМЖ без лечения увеличивалось в 2,9 ($p=0,01$) и в 3,6 раза ($p=0,001$), соответственно. Динамика изменений количества микроРНК-221, -222 и микроРНК-429 в сыворотке крови при ПХТ была аналогична их динамике в опухоли, но менее выражена. После оперативного лечения РМЖ в сыворотке крови в сравнении с интактными животными увеличивалось количество микроРНК-221 в 3,6 раза ($p=0,0006$) и микроРНК-222 – в 4,4 раза ($p=0,01$), а количество микроРНК-429 достоверно не отличалось от интактной группы. Количество проонкогенных микроРНК (-21, -221, -222) после оперативного лечения достоверно не отличалось от группы с РМЖ без лечения, а количество микроРНК-429 увеличивалось в 1,4 ($p=0,001$). В сравнении с ПХТ количество проонкогенных микроРНК (-21, -221, -222) в сыворотке крови возрастало в 2,7 ($p=0,03$); 5,6 ($p=0,001$) и в 5,7 раза, а опухоль-супрессирующей микроРНК-429 снижалось в 2,6 раза ($p=0,00005$). В сыворотке крови крыс с РМЖ после оперативного лечения с последующей ПХТ выявлено уменьшение количества микроРНК-21 в 2,1 раза ($p=0,02$) и увеличение количества микроРНК-221 в 2 раза ($p=0,0001$) в сравнении с интактными животными, а количество микроРНК-429 не отличалось от интактной группы. Количество проонкогенных микроРНК (-21, -221, -222) не отличалось от группы с РМЖ без лечения, а количество микроРНК-429 увеличивалось в 1,2 раза ($p=0,02$). В сравнении только с ПХТ выявлено увеличение количества микроРНК-221 в 3 раза и снижение количества микроРНК-429 в 2,9 раза. В сравнении с РМЖ после оперативного лечения выявлено уменьшение проонкогенных микроРНК-21 в 2,7 раза ($p=0,01$) и микроРНК-222 – в 3,1 раза ($p=0,02$).

Количество микроРНК в лимфе в норме и при химически индуцированном раке молочной железы с учетом проведенного лечения. В лимфе у животных с РМЖ без лечения возрастало количество проонкогенных микроРНК-21 и микроРНК-221 в 7,6 ($p=0,0001$) и 1,9 раза ($p=0,02$), соответственно, а количество онкосупрессирующей микроРНК-429 снижалось в 2,9 раза ($p=0,01$) по сравнению с интактными животными (см табл. 9). Динамика изменений количества микроРНК-221 и микроРНК-429 в лимфе при РМЖ без лечения была аналогична таковой в опухоли и сыворотке крови. После ПХТ выявлено снижение количества проонкогенной микроРНК-222 в 3,3 раза ($p=0,003$), увеличение количества проонкогенной микроРНК-21 в 3,1 раза ($p=0,004$) в сравнении с интактными животными, количество микроРНК-429 было увеличено в 19 раз. В сравнении с РМЖ без лечения

в лимфе снижалось количество проонкогенных микроРНК (-21, -221, -222) в 2,4 ($p=0,001$), в 3,8 ($p=0,001$) и в 6 раз ($p=0,00003$), соответственно, а количество опухоль-супрессирующей микроРНК-429 увеличивалось в 53,3 раза ($p=0,00003$). Динамика изменений количества микроРНК-221,-222 и микроРНК-429 в лимфе при ПХТ была аналогична таковой в опухоли и сыворотке крови.

При оперативном лечении рака молочной железы у животных в лимфе не установлено достоверных отличий от интактной группы по всем микроРНК. В сравнении с РМЖ без лечения найдено снижение количества проонкогенных микроРНК (-21, -222) в 2,2 ($p=0,02$) и в 2,5 раза ($p=0,005$), а количество онкосупрессирующей микроРНК-429 увеличивалось в 18,5 раза ($p=0,04$). В сравнении с РМЖ после ПХТ количество проонкогенных микроРНК (-221, -222) в лимфе крыс после оперативного лечения увеличивалось в 3 ($p=0,005$) и в 2,4 раза ($p=0,01$), соответственно, а количество микроРНК-429 достоверно не отличалось. В лимфе у животных с РМЖ после оперативного лечения с последующей ПХТ не установлено достоверных отличий от интактной группы по всем микроРНК. В сравнении с РМЖ без лечения количество проонкогенных микроРНК (-221, -222) было снижено в 2,1 ($p=0,001$) и в 3,3 раза ($p=0,0001$), соответственно. В сравнении с РМЖ после ПХТ не установлено достоверных отличий по всем микроРНК. В сравнении с РМЖ после оперативного лечения в лимфе выявлено снижение количества микроРНК-221 в 1,7 раза ($p=0,03$).

Корреляционные взаимосвязи параметров цитоархитектоники лимфатических узлов и количества микроРНК

Анализ корреляционных взаимосвязей (здесь и далее $R \geq 0,7$ или $R \leq -0,7$) *между количеством микроРНК в лимфе и клеточным составом T-зависимых зон* выявил:

- в подмышечных ЛУ I порядка – положительную корреляцию между микроРНК-221 и количеством макрофагов, отрицательные – между микроРНК-222 и количеством средних лимфоцитов (при РМЖ), между микроРНК-429 и количеством ретикулярных клеток (РМЖ + оперативное лечение + ПХТ);

- в брыжеечных лимфоузлах – положительную корреляцию между микроРНК-222 и количеством малых лимфоцитов, отрицательную – между микроРНК-222 и количеством средних лимфоцитов (РМЖ+оперативное лечение).

- в передних средостенных ЛУ – положительные корреляции между микроРНК-21 и количеством средних лимфоцитов (РМЖ+оперативное лечение), между микроРНК-221 и количеством тучных клеток, микроРНК-222 и количеством ретикулярных клеток и малых лимфоцитов (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ), отрицательную корреляцию между микроРНК-222 и количеством иммунобластов (РМЖ+ПХТ).

Анализ корреляционных взаимосвязей между *микроРНК и клеточным составом B-зависимой зоны подмышечных лимфоузлов I порядка* выявил:

- *положительную корреляцию* между микроРНК-21 в лимфе и количеством макрофагов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение), *отрицательные корреляции* – между микроРНК-21 в опухоли и количеством иммунобластов в мозговых синусах (РМЖ+ПХТ), между микроРНК-21 в лимфе и количеством макрофагов (РМЖ+ПХТ), ретикулярных клеток, малых лимфоцитов и митозов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение), иммунобластов в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-221 в сыворотке крови и количеством средних лимфоцитов светлых центров (РМЖ), малых лимфоцитов мозговых синусов (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ), между микроРНК-221 в лимфе и количеством макрофагов в светлых центрах, иммунобластов в мозговых синусах, зрелых плазмоцитов в мозговых тяжах (РМЖ), ретикулярных клеток в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ), *отрицательные* – между микроРНК-221 в лимфе и количеством незрелых плазмоцитов в мозговых тяжах, зрелых плазмоцитов в мозговых синусах (РМЖ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-222 в сыворотке крови и количеством средних лимфоцитов в мозговых тяжах (РМЖ+ПХТ), между микроРНК-222 в лимфе и количеством макрофагов в мозговых синусах (РМЖ+ПХТ), митозов в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение), иммунобластов в светлых центрах и мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

- *положительную корреляцию* между микроРНК-429 в сыворотке крови и количеством малых лимфоцитов светлых центров (РМЖ); *отрицательные корреляции* – между микроРНК-429 в сыворотке крови и количеством митозов в светлых центрах (РМЖ), ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ+ПХТ), между микроРНК-429 в лимфе и количеством иммунобластов в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ).

Анализ корреляционных взаимосвязей *между микроРНК и клеточным составом В-зависимой зоны брыжеечных ЛУ* выявил:

- *положительные корреляции* между микроРНК-21 в лимфе и количеством зрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ), макрофагов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение);

- *положительные корреляции* между микроРНК-221 в сыворотке крови и количеством иммунобластов в светлых центрах (РМЖ+ПХТ), макрофагов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение), ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ); *отрицательные* – между микроРНК-221 в опухоли и количеством зрелых плазмочитов в мозговых тяжах, между микроРНК-221 в лимфе и количеством нейтрофилов в мозговых тяжах, малых лимфоцитов и зрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-222 в сыворотке крови и количеством малых лимфоцитов в мозговых тяжах (РМЖ), иммунобластов в светлых центрах и ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ+ПХТ), между микроРНК-222 в лимфе и количеством макрофагов и ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ+ПХТ); *отрицательные* – между микроРНК-222 в сыворотке крови и количеством средних (РМЖ) и малых (РМЖ+ПХТ) лимфоцитов в мозговых синусах;

- *положительные корреляции* между микроРНК-429 в сыворотке крови и количеством средних лимфоцитов в мозговых тяжах (РМЖ), малых лимфоцитов (РМЖ+оперативное лечение) и ретикулярных клеток (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ) в мозговых синусах, между микроРНК-429 в лимфе и количеством ретикулярных клеток в мозговых тяжах (РМЖ+ПХТ); *отрицательные* – между микроРНК-429 в сыворотке крови и количеством незрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение), между микроРНК-429 в лимфе и количеством незрелых плазмочитов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

Анализ корреляционных взаимосвязей *между микроРНК и клеточным составом В-зависимой зоны передних средостенных ЛУ* выявил:

- *положительные корреляции* между микроРНК-21 в лимфе и количеством средних лимфоцитов и незрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение), иммунобластов в светлых центрах и макрофагов в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ); *отрицательные* – между микроРНК-21 в опухоли и количеством средних лимфоцитов в мозговых синусах (РМЖ), между микроРНК-21 в лимфе и количеством ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ), малых лимфоцитов в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-221 в сыворотке крови и количеством митозов в светлых центрах (РМЖ+ПХТ), между микроРНК-221 в лимфе и количеством малых лимфоцитов в светлых центрах и незрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ + оперативное лечение), иммунобластов в светлых центрах и тучных клеток в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ); *отрицательные* – между микроРНК-221 в лимфе и количеством малых лимфоцитов и незрелых плазмочитов в мозговых тяжах (РМЖ + ПХТ), малых лимфоцитов в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение), зрелых плазмочитов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-222 в сыворотке крови и количеством иммунобластов в светлых центрах (РМЖ), между микроРНК-222 в лимфе и количеством незрелых плазмочитов в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение), *отрицательные* – между микроРНК-222 в сыворотке крови и количеством малых лимфоцитов в мозговых синусах (РМЖ), между микроРНК-222 в лимфе и количеством макрофагов в светлых центрах (РМЖ+оперативное лечение) и мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ);

- *положительные корреляции* между микроРНК-429 в лимфе и количеством незрелых плазмочитов в мозговых тяжах (РМЖ) и мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение), количеством митозов в светлых центрах, малых лимфоцитов в мозговых тяжах и ретикулярных клеток в мозговых синусах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ), *отрицательную* – между микроРНК-429 в лимфе и количеством зрелых плазмочитов в мозговых тяжах (РМЖ+оперативное лечение+ПХТ).

ВЫВОДЫ

1. Введение N-метил-N-нитрозомочевины в область молочной железы крыс-самок приводит к развитию умеренно дифференцированной протоковой аденокарциномы люминального типа В молочной железы, характеризующейся экспрессией рецепторов к прогестерону и высокой пролиферативной активностью, отсутствием экспрессии рецепторов опухолевых клеток к эстрогену и эпидермальному фактору роста человека Her-2/neu. Лимфогенное метастазирование, сохраняющееся после всех видов терапии, обнаружено в аксиллярных и брыжеечных лимфатических узлах.

2. При экспериментальном раке молочной железы в лимфатических узлах происходят односторонние структурные изменения, наиболее значительные в средостенных лимфоузлах: в Т-зоне обнаружены снижение доли иммунобластов (в 10 раз) и средних лимфоцитов (в 3 раза) в паракортикальной зоне на фоне уменьшения ее относительного объема в 2 раза; в В-зоне – снижение доли зрелых плазмочитов в мозговых тяжах (на 20%) при увеличении относительного объема тяжей на 47%. Во всех лимфоузлах происходит рост доли ретикулярных клеток (в 1,1 – 8 раз) и макрофагов (в 1,1 – 6 раз).

3. Лечение рака молочной железы обуславливает структурные преобразования в подмышечных (I порядка), брыжеечных и передних средостенных лимфатических узлах, отражающие в разной степени изменения их барьерно-фильтрационных свойств. При полихимиотерапии и при оперативном лечении рака молочной железы во всех лимфоузлах сохраняются структурные изменения: снижение доли иммунобластов в паракортикальной зоне (в 2 – 11 раз) на фоне уменьшения ее относительного объема на 30 – 46%, а также снижение доли зрелых плазмочитов в мозговых тяжах (на 16 – 30%) при увеличении относительного объема тяжей на 10 – 60%. При полихимиотерапии во всех лимфоузлах доля ретикулярных клеток и макрофагов сохраняется на уровне группы с РМЖ без лечения. При оперативном лечении наибольшее увеличение доли ретикулярных клеток (в 5 – 7 раз) и макрофагов (в 2 – 4 раз) сохраняется в передних средостенных узлах.

4. При оперативном лечении рака молочной железы с последующим курсом полихимиотерапии в подмышечных (I порядка) и брыжеечных лимфатических узлах структурные изменения сохраняются. В передних средостенных лимфоузлах происходит дальнейшее снижение доли иммунобластов и средних лимфоцитов в паракортикальной зоне (в 11 и 5 раз) на фоне уменьшения ее относительного объема на 60%; снижение доли клеток лимфоидного ряда вторичных лимфоидных узелков при уменьшении объема последних; снижение доли малых лимфоцитов, иммунобластов, зрелых плазмочитов (на 26%, в 25 раз, на 24%) и рост доли незрелых плазмочитов (в 3 раза) в мозговых тяжах при увеличении их относительного объема на 40%. Наибольшее увеличение доли ретикулярных клеток (в 5 – 9 раз) и макрофагов (в 2 – 4 раза) сохраняется в передних средостенных узлах.

5. Во всех группах лечения установлена активация регенераторных реакций в лимфати-

ческих узлах – рост митотической активности клеток вторичных лимфоидных узелков передних средостенных узлов (в 3 – 7 раз) и мозговых тяжей аксиллярных узлов (на 37 – 116%). Рост митотической активности клеток вторичных лимфоидных узелков и мозговых тяжей брыжеечных узлов (на 20 – 130%) выявлен во всех группах, кроме полихимиотерапии.

6. Индуцирование рака молочной железы приводит к росту количества проонкогенной микроРНК-221 и снижению количества опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в опухоли, сыворотке крови и лимфе. Наибольшие изменения количества микроРНК-221 и -429 (более чем в 3 раза) зафиксированы в опухоли. Полихимиотерапия приводит к снижению количества микроРНК-221 в опухоли в 5 раз, при этом количество микроРНК-429 восстанавливается до исходного уровня, что свидетельствует об эффективности проведенной терапии. В сыворотке крови и лимфе количество микроРНК-221 соответствует уровню интактных животных, а количество микроРНК-429 превышает уровень интактной группы в 3 и 19 раз.

7. После оперативного удаления опухоли и оперативного удаления с последующей химиотерапией количество микроРНК (-21, -221, -222) в сыворотке крови не отличается от группы с РМЖ без лечения, а количество микроРНК-429 восстанавливается до уровня интактных животных. В лимфе после обоих видов лечения количество всех исследуемых микроРНК достоверно не отличается от уровня интактных животных.

8. При корреляционном анализе выявлены средние и сильные взаимосвязи ($R \geq 0,5$ или $R \leq -0,5$) между параметрами клеточного состава различных групп лимфатических узлов и количеством микроРНК (-21, -221, -222, -429) в сыворотке крови и лимфе по 6,3% и 8,4% пар признаков, соответственно.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кабаков А.В., Казаков О.В., Райтер Т.В., Миллер Т.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И., Чепик В.И. Регионарные лимфатические узлы и тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы // **Вестник Уральской медицинской академической науки.** – 2014. – № 3 (49). – С. 25-26.

2. Кабаков А.В., Райтер Т.В., Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков В.И. МикроРНК, как маркеры опухолевой прогрессии и супрессии экспериментального рака молочной железы у крыс Wistar // *Исследования и практика в медицине.* – 2015. – Т. 2, № S1. – С. 62.

3. Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков И.В. Уровни микроРНК в лимфе при экспериментальной модели рака молочной железы // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2015. – № 6-3. – С. 445-452.

4. Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф., Коненков В.И. Уровни микроРНК в тканях молочной железы при экспериментальной модели рака молочной железы // *Успехи современного естествознания.* – 2015. – № 2. – С. 81-83.

5. Кабаков А.В., Казаков О.В., Лыков А.П., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Уровни экспрессии микроРНК в лимфе у крыс-самок Wistar с экспериментальной моделью опухоли молочной железы с учетом вида проведенного лечения // *Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям материалы XII международной конференции, посвященной 25-летию НИИ клинической и экспериментальной лимфологии.* – Новосибирск, 2016. – С. 94-97.

6. Лыков А.П., Кабаков А.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Райтер Т.В., Казаков О.В., Стрункин Д.Н., Повещенко А.Ф., Орлов Н.Б., Коненков В.И. Уровни гормонов,

микроРНК и цитокинов в лимфе в норме и при раке молочной железы в эксперименте // **Сибирский онкологический журнал.** – 2016. – Т. 15, № 5. – С. 33-39.

7. Коненков В.И., Лыков А.П., Кабаков А.В., Райтер Т.В., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Стрункин Д.Н., Колмыков С.К., Чанышев М.Д., Гуляева Л.Ф. Сопряженность уровней микроРНК в сыворотке крови с количеством и функциональной активностью клеток гемо- и лимфопоэза при экспериментальном раке молочной железы // **Вопросы онкологии.** – 2016. – Т. 62, № 3. – С. 519-524.

8. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Лыков А.П., Коненков В.И. Аксиллярные лимфатические узлы при разных способах лечения экспериментального рака молочной железы // **Трансляционная медицина.** – 2017. – Т. 4, № S3. – С. 19-20.

9. Kabakov A.V., Lykov A.P., Morozov D.V., Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Raiter T.V., Strunkin D.N., Konenkov V.I. Phenotypical characteristics of chemically induced mammary tumor // **Bulletin of experimental biology and medicine.** – 2017. – Vol. 163, № 4. – P. 490-492. doi.org/10.1007/s10517-017-3835-6

10. Lykov A.P., Kabakov A.V., Kazakov O.V., Bondarenko N.A., Poveshchenko O.V., Raiter T.V., Poveshchenko A.F., Strunkin D.N., Konenkov V.I. Levels of miRNA and hormones in thoracic duct lymph in rats with experimental breast cancer induced by n-methyl-n-nitrosourea // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.** – 2017. – Vol. 162, № 3. – P. 387-390. doi.org/10.1007/s10517-017-3622-4

11. Lykov A.P., Kabakov A.V., Kazakov O.V., Bondarenko N.A., Poveshchenko O.V., Raiter T.V., Poveshchenko A.F., Strunkin D.N., Bogashev S.S., Pokushalov E.A., Konenkov V.I. Feature of Experimental Breast Cancer Induced by Intermammary Administration of N-Methyl-N-Nitrosourea in Wistar Rat // *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine.* – 2017. – Vol. 6. – P. 54-71. doi.org/10.18 052/www.scipress.com/IJPPE.6.54.

12. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Raiter T.V., Strunkin D.N., Poveshchenko O.V., Lykov A.P., Konenkov V.I. Effect of neoadjuvant and adjuvant therapy of experimental breast cancer on the structure of mesenteric lymph nodes // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.** – 2018. – Vol. 166, № 2. – P. 245-249. doi.org/10.1007/s10517-018-4324-2.

13. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Raiter T.V., Strunkin D.N., Bogachev S.S., Ishchenko I.Y., Lykov A.P., Michurina S.V., Konenkov V.I. Effect of various treatment modes of experimental mammary gland tumor on structure of anterior mediastinal lymph nodes // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.** – 2018. – Vol. 164, № 5. – P. 661-665. doi.org/10.1007/s10517-018-4054-5.

14. Kabakov A.V., Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Lykov A.P., Reiter T.V., Strunkin D.N., Gulyaeva L.F., Konenkov V.I. MicroRNA in Lymph in Experimental Breast Cancer // 11th International Conference Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology. – Novosibirsk, 2018. – P. 44-46. № 8544812.

15. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Райтер Т.В., Стрункин Д.Н., Лыков А.П., Лятыгин А.Ю., Коненков В.И. Морфологическое исследование аксиллярных лимфатических узлов и тимуса после оперативного лечения химически индуцированного рака молочной железы и после неoadьювантной терапии // В сборнике: Материалы Международной научно-практической конференции "Бородинские чтения", посвященной 90-летию академика РАН Юрия Ивановича Бородина. – Новосибирск, 2019. – С. 144-158.