

Оригинальные исследования

© Коллектив авторов, 2025

УДК 612.438:616-006.66:616-085:616-089:616-092.9

Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р.

Влияние фотодинамической терапии и оперативного лечения экспериментального РМЖ на взаимосвязь микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой тимуса

«НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» СО РАН, 630060, Новосибирск, Россия, ул. Тимакова, д. 2

Цель исследования: выявить влияние фотодинамической терапии (ФДТ) и ее сочетания с оперативным лечением РМЖ на взаимосвязь количества микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой данной железы крыс-самок Вистар.

Методика. Исследование проведено на половозрелых самках крыс Вистар ($n=80$). Оценку взаимосвязи структуры тимуса с уровнями микроРНК в тимусе проводили после: ФДТ РМЖ (интрамаммарное введение N-метил-N-нитрозомочевины); после ФДТ и последующего оперативного лечения РМЖ.

Результаты. После ФДТ РМЖ выявлены взаимосвязи только проонкогенных микроРНК (-21, -27a, -221) с клетками кортико-медиуллярной зоны и центральной части мозгового вещества в сравнении с интактной группой и с РМЖ без лечения. Морфологические преобразования в тимусе свидетельствуют о влиянии ФДТ на процессы как позитивной, так и негативной селекции. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в тимусе могут свидетельствовать о влиянии ФДТ РМЖ на ослабление пролиферативной активности, дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса по сравнению с РМЖ без лечения. После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении с только ФДТ РМЖ, в тимусе значительно увеличивается количество микроРНК (-21, -27a, -429). Выявлены взаимосвязи: в субкапсулярной зоне – иммунобластов с микроРНК-21, малых лимфоцитов с микроРНК-429; в кортико-медиуллярной зоне – малых лимфоцитов с микроРНК-27a; в центральной части мозгового вещества – иммунобластов с микроРНК-21. В субкапсулярной зоне и центральной части коркового вещества уменьшается количество иммунобластов и средних лимфоцитов. В корковом веществе количество малых лимфоцитов увеличивается, а в мозговом веществе и кортико-медиуллярной зоне уменьшается. Снижается количество эпителиоретикулярных клеток в корковом и мозговом веществе.

Заключение. После ФДТ и хирургического удаления опухоли, в сравнении с только ФДТ РМЖ и наряду с морфологическими данными, выявленные взаимосвязи клеток структурных компонентов тимуса с количественными изменениями микроРНК в тимусе могут быть обусловлены снижением его пролиферативной активности, активности процессов как позитивной, так и негативной селекции Т-клеток, а также снижением активности процессов дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

Ключевые слова: тимус; рак молочной железы; фотодинамическая терапия; оперативное лечение; опыты на животных

Для цитирования: Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р. Влияние фотодинамической терапии и оперативного лечения экспериментального РМЖ на взаимосвязь микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой тимуса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 2025; 69(3): 4–11.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.4-11

Для корреспонденции: Казаков Олег Васильевич, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Казаков О.В., Повещенко А.Ф.; сбор и обработка материала – Казаков О.В., Кабаков А.В., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р.; статистическая обработка материала – Казаков О.В., Кабаков А.В.; написание текста – Казаков О.В., Повещенко А.Ф.; редактирование – Повещенко А.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Cherkas V.N., Bodrova N.R.

The effect of photodynamic therapy and surgical treatment of experimental breast cancer on the relationship of microRNAs (-21, -27a, -221, -429) of thymic mRNA with the thymus structure

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, a Branch of the Institute of Cytology and Genetics Federal Research Center, 2 Timakova St., Novosibirsk, 630060, Russian Federation

Aim. To identify the effect of photodynamic therapy (PDT) and its combination with surgical treatment of breast cancer on the relationship of thymic microRNA (-21, -27a, -221, -429) with the thymus structure in female Wistar rats.

Methods. The study was conducted on 80 anesthetized mature female Wistar rats. The relationship between the thymus structure and the amount of microRNA in the thymus was assessed after PDT for breast cancer (intramammary administration of N-methyl-N-nitrosourea) and after PDT and surgical treatment for breast cancer.

Results. After PDT, relationships were found only between pro-oncogenic microRNAs (-21, -27a, -221) and cells in the corticomedullary zone and the central part of the medulla compared with the intact group and with breast cancer without treatment. Morphological changes in the thymus indicated the effect of PDT on the processes of both positive and negative selection. The relationships between thymic microRNAs and morphological changes in the thymus may indicate the effect of PDT on the attenuation of proliferative activity, differentiation and migration of T lymphocytes from the thymus compared to untreated breast cancer. PDT and subsequent surgical treatment of breast tumor, as compared to the PTD therapy, induced a significant increase in thymic microRNAs (-21, -27a, -429). The following relationships were found: in the subcapsular zone, immunoblasts with microRNA-21 and small lymphocytes with microRNA-429; in the corticomedullary zone, small lymphocytes with microRNA-27a; in the central part of the medulla, immunoblasts with microRNA-21. Compared with PDT, the number of immunoblasts and medium lymphocytes decreased in the subcapsular zone and the central part of the cortical substance. The number of small lymphocytes increased in the central part of the cortical substance, and the number of small lymphocytes decreased in the central medulla and the cortico-medullary zone. The number of epithelial reticular cells in the central part of the cortical substance and medullary substance was reduced.

Conclusion. This study revealed relationships of cells in thymus structural components with quantitative changes in thymic microRNA after PDT and surgical removal of the tumor, in comparison with PDT alone and along with morphological data. These relationships may be due to a decrease in the thymus proliferative activity, the activity of the processes of both positive and negative selection of T cells, as well as decreased activity of the processes of differentiation and migration of T lymphocytes from the thymus.

Keywords: thymus gland; breast cancer; photodynamic therapy; surgical treatment; animal experiments

For citation: Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Cherkas V.N., Bodrova N.R. The effect of photodynamic therapy and surgical treatment of experimental breast cancer on the relationship of microRNAs (-21, -27a, -221, -429) of thymic mRNA with the thymus structure. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy. Russian Journal)*. 2025; 69(3): 4–11. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.4-11

Author's **contribution:** concept and design of the study – Kazakov O.V., Poveshchenko A.F.; collection and processing of material – Kazakov O.V., Kabakov A.V., Cherkas V.N., Bodrova N.R.; statistical processing – Kazakov O.V., Kabakov A.V.; writing the text – Kazakov O.V., Poveshchenko A.F.; editing the text – Poveshchenko A.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Oleg V. Kazakov, Candidate of Biological Sciences, leading researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, a Branch of the Institute of Cytology and Genetics Federal Research Center, 2 Timakova St., Novosibirsk, 630060, Russian Federation, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru

Information about the authors:

Kazakov O.V., <https://orcid.org/0000-0003-3947-4038>
 Kabakov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-4741-6674>
 Poveshchenko A.F., <https://orcid.org/0000-0002-4433-7110>
 Cherkas V.N., <https://orcid.org/0000-0002-0380-9273>
 Bodrova N.R., <https://orcid.org/0009-0009-4231-647X>

Financing. The study had no sponsorship

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 04.04.2025

Accepted: 25.08.2025

Published: 30.09.2025

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований у женщин во всем мире. Одним из методов лечения злокачественных образований является фотодинамическая терапия (ФДТ), действие которой направлено на угнетение функции и пролиферативной активности опухолевых клеток, на разрушение микроциркуляторного русла, индукцию апоптоза и развитие некроза в месте воздействия [1, 2].

Т-клетки считаются основными участниками противоопухолевого иммунитета. Тимус является центральным лимфоидным органом для развития Т-клеток, и от его структурного состояния зависят поддержание гомеостаза в организме и обеспечение стабильности его антигенных структур [3]. Тимус вырабатывает наивные Т-клетки, способные дифференцироваться в популяции эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти, обеспечивая долгосрочные иммунные реакции на различные опухолевые антигены [3, 4]. В регуляции иммунного ответа участвуют миРНК, которые воздействуют на процессы созревания, пролиферации, дифференцировки и активации клеток иммунной системы, влияя на онкогенные или опухоль-супрессирующие механизмы [5]. При РМЖ проведенные исследования показали изменения в экспрессии миРНК в опухоли молочной железы, в сыворотке крови, лимфе и тимусе. Рассматривается также роль миРНК в развитии и инволюции тимуса [6, 7]. МиРНК играют важную регуляторную роль в развитии тимоцитов, в том числе в развитии лимфоидных клеток-предшественников в костном мозге, а также в DN/DP и положительном и отрицательном отборе тимоцитов [8]. Дальнейшее изучение влияния миРНК на иммунную систему расширит понимание функций миРНК в механизме регуляции развития тимоцитов. Этому может способствовать выявление взаимосвязей между экспрессией миРНК в тимусе и структурными преобразованиями в самой вилочковой железе.

Интересным для понимания участия миРНК в регуляции иммунного ответа может быть изучение взаимосвязей между уровнями проонкогенных миРНК (miR-21, miR-27a, miR-221) и опухоль-супрессирующей миРНК (miR-429) в тимусе после ФДТ РМЖ и после оперативного лечения РМЖ. Эти взаимосвязи в литературе не рассматривались. Выявленные взаимосвязи могут представлять интерес, поскольку ФДТ способна оказывать стимулирующее влияние на иммунную систему, что может приводить к снижению пролиферативного потенциала, метастазирования и инвазивности клеток РМЖ [9].

Цель исследования – сравнить уровни миРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе с преобразованиями его структуры при РМЖ, после ФДТ РМЖ и после ФДТ и оперативного лечения РМЖ.

Методика

Работа выполнена на половозрелых самках крыс линии Вистар ($n=80$) с соблюдением принципов надлежащей лабораторной практики и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Возраст крыс на начало эксперимента – 3 месяца (масса 250-300 г). Были сформированы 4 группы животных: 1-я – интактные ($n=20$); 2-я – РМЖ ($n=20$); 3-я – ФДТ РМЖ ($n=20$); 4-я – ФДТ РМЖ с последующим оперативным лечением ($n=20$, операция через 14 дней после ФДТ под наркозом – 40 мг/кг нембутал внутрибрюшинно; Sigma-Aldrich, США).

РМЖ моделировали пяти-кратным подкожным введением N-метил-N-нитрозомочевины (Sigma) с интервалом 7 суток в область второй молочной железы справа. На основании результатов гистологического и иммuno-гистохимического исследований верифицировали аналог люминального В-типа РМЖ человека.

ФДТ РМЖ проводили через 6 месяцев от момента индукции РМЖ лазерным аппаратом «ЛАХТА-МИЛОН» (Группа компаний «МИЛОН»). Фотосенсибилизатор «Радахлорин» вводили крысам в затемнённой комнате однократно внутрибрюшинно (1,2 мг/кг) за 2 ч до лазерного облучения опухоли. После проведения ФДТ в течение 1 недели соблюдался ограниченный световой режим (крысы находились в затемнённой комнате). Световое воздействие на опухоль молочной железы проводили излучением с длиной волны 662 нм в дозе 300 Дж/см². Всех животных из эксперимента выводили в возрасте 9 месяцев и 3 недель под наркозом (нембутал, «Sigma», 40 мг/кг внутрибрюшинно).

Тотальную РНК выделяли из тимуса с использованием набора реагентов «Вектор-Бест» по инструкции производителя. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию (ОТ) по матрице миРНК. Для определения уровней проонкогенных миРНК-21, миРНК-27a, миРНК-221 и опухоль-супрессирующей миРНК-429 в биологических образцах проводили ОТ-ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Lab). В качестве гена сравнения использовали малую РНК U6 («Вектор-Бест»). Количество миРНК в опытных образцах выражалось в относительных единицах и вычислялось по формуле:

$$2^{-\Delta\Delta Ct}$$

где $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{опытный образец}} / (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{контрольный образец}}$

Гистологические препараты изучали с помощью окулярной тестовой системы при увеличении 32, 400 и 1000 раз. В разных структурных компонентах тимуса подсчитывали абсолютное количество клеток на стандартной площади 2025 мкм². Клетки тимуса подсчитывались в четырех зонах: субкапсулярной, внутренней зоне коркового и мозгового вещества, а также в кортико-медиуллярной зоне.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 10.0. Меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (Q1) и верхним (Q3) квартилем; достоверность различий рассчитывали по *U*-критерию Манна–Уитни при $p \leq 0,05$.

Результаты

После ФДТ РМЖ в тимусе крыс-самок Вистар, как и в группе с РМЖ без лечения, уровни микроРНК-21, микроРНК-27а и микроРНК-429 были снижены по сравнению с интактной группой (табл. 1).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении с только ФДТ, возросло количество микроРНК-21 в тимусе в 15 раз, микроРНК-27а – в 58 раз, микроРНК-221 – на 36%, а микроРНК-429 – в 19 раз (табл. 1).

После ФДТ РМЖ в тимусе крыс-самок Вистар выявлены взаимосвязи в кортико-медиуллярной зоне: иммунобластов с микроРНК-21; средних лимфоцитов и макрофагов с микроРНК-27а. Отмечаются взаимосвязи в центральной части мозгового вещества: иммунобластов с микроРНК-21; малых лимфоцитов с микроРНК-221 (табл. 2).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ выявлены взаимосвязи (табл. 2): в субкапсулярной зоне – иммунобластов с микроРНК-21 и микроРНК-429, малых лимфоци-

тов с микроРНК-429; в кортико-медиуллярной зоне – малых лимфоцитов с микроРНК-27а; в центральной части мозгового вещества – иммунобластов с микроРНК-21.

После ФДТ РМЖ, в сравнении с РМЖ без лечения, в субкапсулярной зоне коркового вещества и в кортико-медиуллярной зоне тимуса уменьшается количество иммунобластов и увеличивается количество средних (на 23%) и малых лимфоцитов (на 20%) (табл. 3). В центральной части коркового вещества увеличивается количество иммунобластов на 40% и митотически делящихся клеток на 50%, уменьшается количество клеток с пикнотическими ядрами на 50%. В центральной части коркового и мозгового вещества, кортико-медиуллярной зоне возрастает количество макрофагов и эпителиоретикулярных клеток (табл. 3).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении только с ФДТ, в субкапсулярной зоне и центральной части коркового вещества уменьшается количество иммунобластов, и средних лимфоцитов и митотически делящихся клеток (табл. 3). При этом в центральной части коркового вещества увеличивается количество малых лимфоцитов на 18%, а в центральной части мозгового вещества, наоборот, количество малых лимфоцитов снижается на 38%. В кортико-медиуллярной зоне уменьшено количество малых лимфоцитов на 32%, митотически делящихся клеток – на 50%, а также клеток с пикнотическими ядрами.

Обсуждение

В тимусе при РМЖ, по сравнению с интактной группой, уменьшается количество как проонкогенных микроРНК (-21, -27а, -221), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429.

Таблица 1/Table 1

Количество микроРНК в тимусе в норме (интактные), при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), после фотодинамической терапии (ФДТ) РМЖ, после сочетания ФДТ и последующего оперативного лечения РМЖ (Me (Q1–Q3); усл. ед.)

The amount of microRNA in the thymus in normal (intact) conditions in chemically induced breast cancer (BC), after photodynamic therapy (PDT) of BC, after a combination of PDT and subsequent surgical treatment (ST) of BC (Me (Q1–Q3); conventional units)

Параметр Parameter	Интактная группа Intact group (1)	РМЖ Breast cancer (2)	ФДТ РМЖ PDT BC (3)	ФДТ+резекция РМЖ PDT + ST BC (4)
МикроРНК-21 miRNA-21	4,86 (3,04–5,28)	0,43 (0,38–0,67) ¹	0,49 (0,23–0,56) ¹	7,47 (7,03–7,57) ^{1,2,3}
МикроРНК-27а miRNA-27а	1,32 (0,96–2,54)	0,2 (0,06–0,31) ¹	0,1 (0,07–0,28) ¹	5,89 (3,40–5,33) ^{1,2,3}
МикроРНК-221 miRNA-222	0,85 (0,63–0,96)	0,29 (0,11–0,46) ¹	0,53 (0,21–0,71)	0,72 (0,7–1,19) ²
МикроРНК-429 miRNA-429	1,62 (0,38–3,12)	0,2 (0,11–0,29) ¹	0,17 (0,15–0,43) ¹	3,26 (2,08–4,07) ^{2,3}

Примечание. Цифрами 1, 2 и 3 обозначены статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от величин соответствующих экспериментальных групп.
Note. Numbers 1, 2 and 3 indicate statistically significant differences ($p < 0,05$) from the values of the corresponding experimental groups.

Таблица 2/Table 2

Положительные взаимосвязи клеток структурно-функциональных зон тимуса с микро-РНК в тимусе крыс Вистар интактной группы (Инт), при химически индуцированном РМЖ, после фотодинамической терапии (ФДТ РМЖ), после ФДТ и последующей резекции опухоли молочной железы (ФДТ+опер). Приведен коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r)

Positive relationships between cells of the structural and functional zones of the thymus and microRNA in the thymus of Wistar rats of the intact group (Int), with chemically induced breast cancer, after photodynamic therapy (PTD BC), after PDT and subsequent resection of the breast tumor (PDT+ST). The Spearman rank correlation coefficient (r) is given

Группы / Groups	Клетки / Cells	Микро РНК-21/ miRNA-21	Микро РНК-27а/ miRNA-27a	Микро РНК-221/ miRNA-221	Микро РНК-429/ miRNA-429
Субкапсулярная зона коркового вещества / Subcapsular zone of the cortical substance					
Инт / Int	МЛ / SL	–	–	$r=0,598$	–
РМЖ / BC	МФ / MF	–	–	$r=0,841$	–
	Мит / Mit	–	$r=0,971$	–	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	ИМ / IM	$r=0,552$	–	–	$r=0,553$
	МЛ / SL	–	–	–	$r=0,559$
Центральная часть коркового вещества / Central part of the cortical substance					
Инт / Int	Мит / Mit	$r=0,926$	–	–	–
	МФ / MF	$r=0,926$	–	–	–
РМЖ / BC	ИМ / IM	$r=0,602$	–	–	–
Кортико-медуллярная зона / Cortico-medullary zone					
Инт / Int	ИМ / IM	$r=0,745$	–	–	–
РМЖ / BC	ИМ / IM	$r=0,493$	–	–	–
ФДТ / PDT	ИМ / IM	$r=0,902$	–	–	–
	СЛ / ML	–	$r=0,739$	–	–
	МФ / MF	–	$r=0,851$	–	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	МЛ / SL	–	$r=0,459$	–	–
Центральная часть мозгового вещества / Central part of the medulla substance					
Инт / Int	ИМ / IM	$r=0,509$	–	–	–
	КПЯ/CNP	$r=0,878$	–	–	–
РМЖ / BC	МФ / MF	–	–	–	$r=0,828$
	КПЯ/CNP	–	$r=0,841$	–	–
ФДТ / PDT	ИМ / IM	$r=0,575$	–	–	–
	МЛ / SL	–	–	$r=0,514$	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	ИМ / IM	$r=0,534$	–	–	–

Примечание. ИМ – иммунобласты, СЛ – средние лимфоциты, МЛ – малые лимфоциты, Мит – митозы, КПЯ – клетки с пикнотическими ядрами, МФ – макрофаги.

Note. IM – immunoblasts, ML – medium lymphocytes, SL – small lymphocytes, Mit – mitoses, CNP – cells with nuclear pycnosis, MF – macrophages.

МикроРНК-21 связана с широким спектром раковых заболеваний, включая РМЖ, так как большинство мишней микроРНК-21 являются супрессорами опухолей. Как известно из литературы, нокаут микроРНК-21 у мышей замедлял пролиферацию как CD4⁺, так и CD8⁺ клеток, снижал выработку ими цитокинов и ускорял рост приви-

той опухоли. Эта микроРНК, и известная своей онкогенной активностью, также необходима для реализации иммунных ответов против опухоли [10].

По данным литературы, микроРНК-27а оказывает влияние на клеточный цикл, регулируя активность опухолевых клеток, и может действовать как супрессор при РМЖ

[11]. По-видимому, отмечаемое снижение уровня микроРНК-27а в тимусе при РМЖ может быть также обусловлено тем, что микроРНК-27а нацеливается на ТМЕМ170В (трансмембранный белок 170В, который участвует в негативной регуляции канонического сигнального пути Wnt), подавляет его, ингибируя сигнальный путь Wnt/β-катенина и подавляя пролиферацию клеток РМЖ [12].

Отмечаемое снижение уровня микроРНК-221 в тимусе может быть вызвано тем, что микроРНК-221, связываясь с p53-зависимым модулятором апоптоза (PUMA), блокирует индуцированный белком p53 апоптоз, влияя на трансформацию клетки и активацию клеточной пролиферации [13].

После проведения ФДТ РМЖ количество микроРНК (-21, -27а, -429) в тимусе сохраняется уменьшенным, как и в группе РМЖ без лечения. Интересно, что в самих тканях РМЖ после проведения ФДТ нами ранее было также выявлено уменьшение количества проонкогенных микроРНК (-21, -27а, -221). Это может указывать на снижение пролиферативного потенциала, метастазирования и инвазивности клеток РМЖ после ФДТ [10]. При этом, в отличие от РМЖ без лечения, выявлено отсутствие положительных взаимосвязей между проонкогенными и опухоль-супрессирующими микроРНК в тимусе и клетками субкапсулярной зоны и центральной части коркового вещества. По-видимому, отсутствие взаимосвязей между всеми исследуемыми микроРНК тимуса, куда входит и микроРНК-21 и клетками коркового вещества тимуса может быть обусловлено как снижением экспрессии микроРНК в тимусе, так и снижением пролиферативной активности Т-клеток.

По данным литературы, микроРНК-21 влияет на процессы пролиферации и миграции клеток, путем ингибирования гена *Smad7* через сигнальные пути эпидермального фактора роста (EGF) и трансформирующий фактор роста TGF-β [14]. На уменьшение пролиферативной активности в субкапсулярной зоне коркового вещества тимуса после проведения ФДТ РМЖ, может указывать снижение количества иммунобластов субкапсулярной зоны, при увеличении количества малых лимфоцитов и сохраняющемся, как в группе РМЖ без лечения, уменьшенном количестве малых лимфоцитов в центральной части коркового вещества.

Увеличение количества эпителиоретикулярных клеток в корковом веществе может быть связано со способностью эпителиоретикулоцитов участвовать в процессах как позитивной, так и негативной селекции Т-лимфоцитов [15]. В мозговом веществе тимуса происходит созревание и дифференцировка Т-клеток [16]. На это могут указывать взаимосвязи малых лимфоцитов с микроРНК-221 тимуса, а также увеличение количества эпители-

оретикулярных клеток и макрофагов, которые принимают участие в процессах дифференцировки Т-лимфоцитов [17, 18]. Макрофаги также важны для клиренса апоптотических тимоцитов, о чём может свидетельствовать увеличение их количества в центральной части коркового и мозгового вещества на фоне уменьшения в этих зонах числа с пикнотическими ядрами. В тимусе большинство дважды негативных предшественников CD4+/CD8- (DN) развиваются в линию αβ-Т-клеток, а затем проходят стадии дважды положительных CD4+/CD8+ (DP) и однократно положительных (CD4+CD8-) или (CD4-CD8+) (SP), которые мигрируют в периферические лимфоидные органы через посткапиллярные венулы, расположенные в кортико-медуллярной зоне тимуса.

По данным литературы микроРНК-21 активируют CD4+ и CD8+ Т-клетки через сигнальный путь PTEN/Akt [10]. При этом уровни экспрессии микроРНК-21 на разных стадиях развития Т-клеток указывают на регуляторную функцию в этом процессе: она заметно экспрессируется в незрелых тимоцитах (DN), а в более зрелых клетках снижается [19]. Уменьшением количества микроРНК-21 в тимусе после ФДТ может быть и обусловлено отсутствие в кортико-медуллярной зоне взаимосвязей микроРНК-21 с малыми лимфоцитами, а отмечается только взаимосвязь иммунобластов с микроРНК-21, средних лимфоцитов – с микроРНК-27а. По-видимому, отсутствие взаимосвязей с малыми лимфоцитами наряду с увеличением в кортико-медуллярной зоне количества малых лимфоцитов может указывать на ослабление миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

ФДТ и последующее оперативное лечение первичной опухоли молочной железы, в сравнении только с ФДТ РМЖ, вызывают значительное увеличение количества как проонкогенных микроРНК (-21, -27а), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в тимусе. Взаимосвязи иммунобластов с микроРНК-21, а также иммунобластов и малых лимфоцитов – с микроРНК-429 в субкапсулярной зоне тимуса могут быть вызваны снижением пролиферативной активности Т-клеток и процессами положительного отбора Т-клеток. На снижение лимфопоэтической функции в тимусе после ФДТ и оперативного вмешательства, в сравнении только с ФДТ, могут указывать уменьшение количества иммунобластов и средних лимфоцитов в субкапсулярной зоне, а также уменьшение количества иммунобластов, средних лимфоцитов и митотически делящихся клеток в центральной части коркового вещества. При этом увеличение количества микроРНК-21 в тимусе может быть вызвано также тем, что микроРНК-21 действует как ключевой регулятор развития и функционирования регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). МикроРНК-21 более высоко экспрессируется в Treg по сравнению с обычны-

ми Т-клетками, регулирует пролиферацию Treg и экспрессию транскрипционного фактора FOXP3 регулирующего транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток, экспрессию цитокинов, а также факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа. При этом увеличение количества микроРНК-27 в тимусе также может отрицательно влиять на индукцию FOXP3 и развитие Treg в тимусе [20, 21]. МикроРНК-21 влияет на процессы пролиферации и миграции раковых клеток путем ингибирования гена *Smad7*, который ингибирует активацию сигнальных путей NF-кВ и TGF-β, ослабляет фиброз, апоптоз, воспаление и дифференцировку Т-лимфоцитов [14, 22].

МикроРНК-429 участвует в регуляции пролиферации и метастатического потенциала РМЖ [23]. Увеличение количества микроРНК-21 в тимусе в послеоперационном периоде может быть связано с воздействием на опухолевые супрессоры, такие как PTEN, PDCD4 и FBXO11 [24, 25]. По-видимому, хирургическим вмешательством также может быть вызвано увеличение микроРНК-27а в тимусе. Эта микроРНК может действовать как супрессор при РМЖ. Она способна подавлять трансмембранный белок 170B (TMEM170B), ингибируя сигнальный путь Wnt/β-катенина и подавляя пролиферацию клеток [11]. При этом выявленное уменьшение количества малых лимфоцитов как в центральной части мозгового вещества тимуса, так и в кортико-медуллярной зоне (количества малых лимфоцитов уменьшено до значений интактной группы) наряду с выявленными взаимосвязями количества микроРНК-27а в тимусе с малыми лимфоцитами кортико-медуллярной зоны может быть обусловлено ослаблением активности процессов позитивной и негативной селекции Т-клеток [26]. На это может указывать взаимосвязь микроРНК-21 тимуса с иммунобластами коркового и мозгового вещества на фоне уменьшения количества иммунобластов, митотически делящихся клеток в центральной части коркового вещества, и клеток с пикнотическими ядрами в корковом веществе и кортико-медуллярной зонах тимуса. При этом после ФДТ и последующего оперативного лечения отмечаемое уменьшение количества эпителиоретикулярных клеток в центральной части мозгового вещества до значений интактной группы может быть обусловлено как снижением активности процессов дифференцировки Т-лимфоцитов, так и снижением активности миграции Т-лимфоцитов из тимуса в сравнении с только ФДТ РМЖ.

Заключение

После проведения ФДТ количество микроРНК (-21, -27а, -429) в тимусе сохраняется уменьшенным, как и в группе РМЖ без лечения. Выявлены взаимосвязи только проонкогенных микроРНК (-21, 27а, -221) с клетками

кортико-медуллярной зоны и центральной части мозгового вещества в сравнении с интактной группой и с РМЖ без лечения. Морфологические преобразования в тимусе свидетельствуют о влиянии ФДТ РМЖ на процессы как позитивной, так и негативной селекции. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в данной железе могут указывать на ослабление пролиферативной активности, дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов по сравнению с РМЖ без лечения.

После ФДТ с последующего оперативного удаления опухоли значительно увеличивается количество как проонкогенных микроРНК (-21, -27а), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в тимусе в сравнении с только ФДТ РМЖ. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в тимусе после ФДТ РМЖ и последующей резекции опухоли молочной железы, по сравнению с только ФДТ РМЖ, а также структурные преобразования в тимусе могут быть обусловлены снижением его пролиферативной активности, активности процессов как позитивной, так и негативной селекции Т-клеток, а также снижением активности процессов дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

Литература (п.п. 1-5; 7-26 см. References)

6. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Конончук В.В., Стрункин Д.Н., Гуляева Л.Ф. и др. Влияние фотодинамической терапии на уровень микроРНК в тканях рака молочной железы крыс-самок Вистар. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(4): 452–55. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-4-452-455>

References

1. Aniogo E.C., Plackal Adimuriyil George B., Abrahamse H. The role of photodynamic therapy on multidrug resistant breast cancer. *Cancer Cell Int.* 2019; 19: ID 91. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0815-0>
2. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy. *J. Biochem.* 2016; 473(4): 347–64. <https://doi.org/10.1042/BJ20150942>
3. Wang W., Thomas R., Sizova O., Su D-M. Thymic function associated with cancer development, relapse, and antitumor immunity – a mini-review. *Front. Immunol: Sec. T cell biology*. 2020; 11: 773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00773>
4. Savino W., Lepletier A. Thymus-derived hormonal and cellular control of cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1168186. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1168186>
5. Wengong Si., Jiaying S., Huilin Z., Weimin F. The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. *Clinical Epigenetics*. 2019; 11: 25. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0587-8>
6. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Kononchuk V.V., Strunkin D.N., Gulyaeva L.F. et al. Effect of photodynamic therapy on the level of microRNA in breast cancer tissues of female Wistar rats.

- Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2022; 173(4): 452–5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-4-452-455> (In Russian)
7. Xu M., Gan T., Ning H., Wang L. MicroRNA Functions in Thymic Biology: Thymic Development and Involution. *Front. Immunol. Sec. Immunological Tolerance and Regulation.* 2018; 9: 2063. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02063>
 8. Hu L., Mao L., Liu S., Zhao J., Chen C., Guo M., et al. Functional Role of MicroRNAs in Thymocyte Development. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019; 178(4): 315–22. <https://doi.org/10.1159/000496093>
 9. Michael R.H., Heidi A. Factors Affecting Photodynamic Therapy and Anti-Tumor Immune Response. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry.* 2021; 21(2): 123–36. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200318101037>
 10. He W., Wang C., Mu R., Liang P., Huang Z., Zhang J., et al. MiR-21 is required for anti-tumor immune response in mice: an implication for its bi-directional roles. *Oncogene.* 2017; 36(29): 4212–23. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.62>
 11. Li X., Xu M., Ding L., Tang J. MiR-27a: A Novel Biomarker and Potential Therapeutic Target in Tumors. *J Cancer.* 2019; 10(12): 2836–48. <https://doi.org/10.7150/jca.31361>
 12. Li M. Han Y. Zhou H., Li X., Lin C., Zhang E., et al. Transmembrane protein 170b is a novel breast tumorigenesis suppressor gene that inhibits the Wnt/β-catenin pathway. *Cell Death & Disease.* 2018; 9(2). ID 91. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0128-y>
 13. Matsuzaki J., Suzuki H. Role of microRNAs-221/222 in digestive systems. *J. Clin. Med.* 2015; 4(8): 1566–77. <https://doi.org/10.3390/jcm4081566>
 14. Han M., Wang F., Gu Y., Pei X., Guo G., Yu C., et al. MicroRNA-21 induces breast cancer cell invasion and migration by suppressing Smad7 via EGF and TGF-β pathways. *Oncology Reports.* 2016; 35(1): 73–80. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4360>
 15. Shi Y.Y., Ming Z.Z. Medullary thymic epithelial cells. the indispensable player in central tolerance. *Science China Life Sciences.* 2013; 56(5): 392–8. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4482-4>
 16. Thapa P., Farber D.L. The Role of the thymus in the immune response. *Thorac. Surg. Clin.* 2019; 29(2): 123–31. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2018.12.001>
 17. Wang H., Zúñiga-Pflücker J.C. Thymic Microenvironment: Interactions Between Innate Immune Cells and Developing Thymocytes. *Front. Immunol: Sec. T cell biology.* 2022; 13: 885280. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.885280>
 18. Fujimori S., Ohigashi I. The role of thymic epithelium in thymus development and age-related thymic involution. *J Med Invest.* 2024; 71(1.2): 29–39. <https://doi.org/10.2152/jmi.71.29>
 19. Kunze-Schumacher H., Winter S.J., Imelmann E., Krueger A. miRNA miR-21 Is Largely Dispensable for Intrathymic T-Cell Development. *Front. Immunol. Sec. T Cell Biology.* 2018; 9: ID 2497. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02497>
 20. Liu C., Li N., Liu G. The Role of MicroRNAs in Regulatory T Cells. *Journal of Immunology Research.* 2020; (3):1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/3232061>
 21. Hippen K.L., Loschi M., Nicholls J., MacDonald K.P.A., Blazar B.R. Effects of MicroRNA on Regulatory T Cells and Implications for Adoptive Cellular Therapy to Ameliorate Graft-versus-Host Disease. *Front. Immunol.* 2018; 9: ID57. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00057>
 22. Hu Y., He J., He L., Xu B., Wang Q. Expression and function of Smad7 in autoimmune and inflammatory diseases. *Journal of Molecular Medicine.* 2021; 99: 1209–20 <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02083-1>
 23. Cava1 C., Novello C., Martelli C., Lo Dico A., Ottobrini L., Piccotti F., et al. Theranostic application of miR-429 in HER2+ breast cancer. *Theranostics.* 2020; 10(1): 50–61. <https://doi.org/10.7150/thno.36274>
 24. Yang C.H., Pfeffer S.R., Sims M., Yue J., Wang Y., Linga V.G., et al. The oncogenic microRNA-21 inhibits the tumor suppressive activity of FBXO11 to promote tumorigenesis. *Journal of Biological Chemistry.* 2015; 290(10): 6037–46. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.632125>
 25. Schieber M., Marinaccio C., Bolanos L.C., Haffey W.D., Greis K.D., Starczynowski D.T., et al. FBXO11 is a candidate tumor suppressor in the leukemic transformation of myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J.* 2020; 10(98): <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00362-7>
 26. Wang H.-X., Pan W., Zheng L., Zhong X.-P., Tan L., Liang Z., et al. Thymic Epithelial cells contribute to thymopoiesis and T cell development. *Front. Immunol. Sec. T Cell Biology.* 2020; 10: 3099. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03099>

Сведения об авторах:

Казаков Олег Васильевич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru;

Кабаков Алексей Васильевич, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: kabakov_av85@mail.ru;

Повещенко Александр Федорович, доктор мед. наук, руководитель лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru;

Черкас Валерия Николаевна, канд. вет. наук, науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: valeriya_korol@mail.ru;

Бодрова Наталья Романовна, мл. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: bodrova-frolova@yandex.ru