

На правах рукописи



САМАКИНА Екатерина Станиславовна

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОИДНЫХ СТРУКТУР СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС
ПРИ ВВЕДЕНИИ ЭТИЛКАРБАМАТА
НА ФОНЕ ПРИЕМА СЕЛЕНА**

1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Оренбург – 2026

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

Научный руководитель – Меркулова Лариса Михайловна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Ельчанинов Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий лабораторией роста и развития научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

Бахмет Анастасия Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры анатомии человека Института анатомии и морфологии имени академика Ю.М. Лопухина федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.049.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (460014, г. Оренбург, ул. Советская, 6).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, на официальном сайте университета (<https://www.orgma.ru/dissertatsionnye-sovety/21-2-049-02/dissertatsii/item/8898-morfologicheskaya-i-immunogistohimicheskaya-harakteristika-limfoidnyh-struktur-selezenki-krys-pri-vvedenii-etilkarbamata-na-fone-priema-selena>) и на официальном сайте ВАК (<https://vak.gisnauka.ru>).

Автореферат диссертации разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Галеева Эльвира Науфатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Иммунная система выполняет широкий спектр важнейших физиологических функций, включая модуляцию воспалительных реакций и подавление опухолевых процессов (Cole K. E. et al. 2020). Известно, что адаптивные возможности и уровень иммунореактивности организма напрямую зависят от состояния и активности иммунных органов, которые обеспечивают генерацию как специфических, так и неспецифических ответов на разнообразные внешние и внутренние воздействия (Jia S. Z. et al., 2021, Lee S. H. et al., 2019).

Селезенка является паренхиматозным органом иммунной системы, играющим ключевую роль в ответ на любые воздействия и развитие патологического процесса (Dzhililova D. S. et al., 2018, Cole K. E. et al., 2020, Makhmudova G. F., 2023). Это реализуется благодаря ее уникальному строению, где происходит дифференцировка и активация Т- и В-клеток (Kim C. H., Liu Q., 2020, Sixt M., Lämmermann T., 2020). Исследования подтверждают, что данные клетки ответственны за гуморальный и клеточный иммунные ответы. Научно доказано, что после спленэктомии возникает вторичный иммунный дефицит, который приводит к увеличению риска развития неопластических процессов в организме крыс (Арлашкина О. М., 2021).

Хроническое воспаление любого органа связано с повышенным онкогенным риском (Wen Y. et al., 2022), так как высвобождаются воспалительные цитокины (Sozio F. et al., 2021). В последние года зафиксирован рост воспалительных заболеваний дыхательной системы (Антонов Н. С. и др., 2023), особенно в связи с пандемией SARS-COVID 19 (Карелина С. И. и др., 2023). В некоторых исследованиях указано, что клетки, участвующие в воспалении, могут высвобождать цитокины для непосредственной стимуляции онкогенной сигнализации в раковых клетках, включая ядерный фактор Каппа-β (NF)-κB, тем самым способствуя пролиферации рака (Stathopoulos G. T. et al., 2007, Narayan C., Kumar A. et al., 2012).

Таким образом, воспаление следует рассматривать как одно из ключевых патогенетических звеньев, включенных в причинно-следственный каскад, способствующий развитию опухолевой трансформации. Веществом, которое способствует развитию данных процессов в легких, является этилкарбамат (Li S., MacAlpine D. M., Counter C. M., 2020), содержащийся в продуктах питания, в качестве промежуточного продукта при производстве фармацевтических препаратов, сшивающих агентов в текстиле и в качестве реагента в лабораториях биохимических исследований (Sozio F. et al., 2021), в стоматологии в составе композитов (Martim G. C. et al., 2014). Также имеются данные, что этилкарбамат обладает генотоксическим действием и вызывает мутацию в гене Kras (Li S., MacAlpine D. M., Counter C. M., 2020).

В наше время возрос интерес к участию микроэлементов в регуляции иммунного ответа. Научные исследования за последние 5 лет указывают, что

нутриенты играют важную роль в регуляции как воспалительных процессов, так и способствуют противоопухолевому ответу (Rataan A. O. et al., 2022). Особая заинтересованность имеется в изменении структур селезенки на фоне приема селена, поскольку он относится к эссенциальным микроэлементам с доказанным иммуностимулирующим и противоопухолевым действием (Barchielli G., CaPerucci A., Tanini D., 2022). Данный микроэлемент является составным компонентом ферментов семейства селенопротеинов, включая глутатионпероксидазы и тиреодоксинредуктазы (Al-Mubarak A. A., van der Meer P., Vomer N., 2021), которые опосредуют регуляцию воспалительного ответа посредством изменения внутриклеточного пула активных форм кислорода, что, в свою очередь, приводит к модификации уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов. Их дисрегуляция, включая сверхэкспрессию, ассоциирована с усилением пролиферации опухолевых клеток и поддержанием протеостаза через распознавание и утилизацию развернутых и неправильно свернутых белков (Santesmasses D., Mariotti M., Gladyshev V. N., 2021). Кроме этого, селен способен усиливать пролиферацию Т-лимфоцитов в Т-зависимых зонах в ответ на попадание мутагенов (Fairweather-Tait S. J., FiliPini T., Vinceti M., 2023).

Наше исследование направлено на выявление морфологических перестроек селезенки крыс при последовательном приеме селена и инъекции этилкарбамата. В литературе отсутствуют систематические данные об их последовательном влиянии на клеточную архитектуру селезенки, включая ретикулярные клетки, лимфоциты, клетки мезенхимального происхождения, что делает наше исследование значимым.

Степень разработанности темы.

Роль органов иммунной системы, включая селезенку, в патогенезе воспаления и онкогенезе активно изучается (Wu C., et al, 2020, Fan R. F. et al., 2020, Pereira A. V. et al., 2019), при этом показано, что длительное воспаление сопровождается перестройкой белой пульпы с преимущественной вовлеченностью В-зон. Так, при продолжительной циркуляции SARS-CoV-2 у детей описана атрофия белой пульпы (Перепелица С.А., 2024), тогда как введение 1,2-диметилгидразина у потомства спленэктомированных животных приводило к гиперплазии ее компарментов (Арлашкина О.М., 2021). Этилкарбамат на фоне изменений в легких вызывал очень ранее увеличение IFN- γ -продуцирующих эффекторных и CD11b⁺Gr-1⁺/CD4⁺Foxp3⁺ супрессорных клеток, что указывает на ранее подавление иммунитета (Rosin F.C.P. et al., 2014). Однако иммуногистохимические и ультрамикроскопические изменения в селезенке при хроническом воспалении с последующим развитием неопластического процесса в легких остаются неизученными.

В тоже время в литературе уже описаны иммуностимулирующие эффекты селена после завершения его поступления (Окладникова Е.В., 2022), а также снижение частоты злокачественных новообразований легких (Cui J. et al., 2022, Rataan A.O. et al., 2022). Но отсутствуют данные о структурно-функциональных перестройках селезенки после полного выведения

микроэлемента и при его предварительном поступлении перед инъекцией этилкарбамата, что не позволяет оценить возможно протективное или модифицирующее влияние селена на гистоархитектонику органа.

Цель и задачи исследования.

Цель исследования – выявить особенности морфофункционального состояния селезенки крыс при пероральном поступлении селена, при внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата и при последовательном их воздействии.

Задачи исследования:

1. Определить морфологические изменения селезенки крыс-самцов через 1, 2 и 6 месяцев с момента завершения поступления селена, после однократной внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата, а также после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

2. Изучить особенности Т-клеточного звена (*CD2*, *CD3* и *Vimentin*) в селезенке крыс-самцов через 1, 2 и 6 месяцев с момента завершения поступления селена, после однократной внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата, а также после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

3. Оценить количественное распределение макрофагов (*CD68*) и В-лимфоцитов (*CD21*) в селезенке крыс-самцов через 1, 2 и 6 месяцев с момента завершения поступления селена, после однократной внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата, а также после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

4. Провести анализ ультрамикроскопических особенностей селезенки крыс-самцов через 1, 2 и 6 месяцев с момента завершения поступления селена, после однократной внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата, а также после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

5. Оценить пролиферацию клеток (*Ki67*) и содержание белка p53 в селезенке крыс-самцов через 1, 2 и 6 месяцев с момента завершения поступления селена, после однократной внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата, а также после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

Научная новизна исследования.

Установлено, что однократная инъекция этилкарбамата в дозировке 1 г/кг массы тела крыс через 1 и 2 месяца привела к гиперплазии белой пульпы селезенки с увеличением площади лимфоидных узелков и толщины периартериолярной лимфоидной муфты, а через 6 месяцев – возникла ее атрофия с отсутствием лимфоидных узелков и уменьшением параметров периартериолярной лимфоидной муфты. Отмечено, что возникает периартериолярный отек с уменьшением просвета центральной артериолы селезенки и снижением кровотока в ней.

Полученные данные демонстрируют, что через 2 месяца после инъекции этилкарбамата возникает подавление клеточного иммунного ответа: снижаются Т-клетки, макрофаги и увеличиваются В-клетки и лимфоидный коэффициент. Через 6 месяцев наблюдается выраженное снижение всех исследуемых клеток в белой и красной пульпе селезенки.

Впервые на ультраструктурном уровне установлены признаки увеличения синтетической активности эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи в плазматических клетках белой и красной пульпы через 1 и 2 месяца после инъекции этилкарбамата. Увеличено количество митохондрий в лимфоцитах, в их ядрах выявлено перераспределение гетерохроматина. Через 6 месяцев в селезенке преобладали эритроциты и отмечены макрофаги в различных стадиях фагоцитоза и лимфоциты с увеличенным количеством митохондрий и липидными включениями в клетках.

Установлено, что поступление селена в дозировке 20 мкг/кг массы тела крыс с питьевой водой с последующей инъекцией этилкарбамата не вызывает изменения массы селезенки, приводят к уменьшению индекса Керногана и увеличению количества Т-клеток. Впервые выявлено, что через 2 месяца при предварительном поступлении селена перед инъекцией этилкарбамата повышены индекс Керногана, толщина периартериолярной муфты и площадь лимфоидных узелков, а также повышено количество Т- и В-клеток, макрофагов и клеток мезенхимального происхождения.

Через 6 месяцев после последовательного поступления веществ сохранены лимфоидные узелки как с герминативным центром, так и без него. В работе выявлено, что при последовательном приеме селена и инъекции этилкарбамата индекс Керногана не отличался от контрольной группы животных, это указывает на сохранение пропускной способности центральной артериолы селезенки. Впервые обнаружено, что через 6 месяцев после поступления селена с последующим введением этилкарбамата в белой пульпе селезенки отмечалось увеличение количества CD3⁺-, CD68⁺- и Ki67⁺-клеток. На ультраструктурном уровне определяли лишь единичные набухшие митохондрии в лимфоцитах селезенки.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты проведенного исследования дополняют имеющуюся научную базу о морфологических изменениях в селезенке после приема селена и инъекции этилкарбамата. Полученные данные представляют интерес для аспирантов и магистрантов, специализирующихся в области клеточной биологии. Материалы работы могут быть использованы при разработке лекционных курсов и проведения лабораторных практикумов в медицинских вузах, а также в программах профессиональной переподготовки специалистов в области биомедицины. Кроме того, они могут быть интегрированы в учебные издания, способствуя повышению качества подготовки будущих специалистов.

Полученные данные обладают определенной прикладной ценностью для специалистов в различных областях, таких как морфология, иммунология, онкология и профпатология, занимающихся изучением структурно-функциональных преобразований лимфоидных органов под влиянием различных факторов.

Методология и методы исследования.

Морфологическое исследование селезенки крысы выполнено с применением комплекса современных методов, включая гистологический,

электронномикроскопический, иммуногистохимический, морфометрический, а также математический и статистический. Объектом исследования служили 106 самцов крыс линии Wistar в возрасте от $60 \pm 1,5$ до $270 \pm 1,5$ дней, с исходной массой $122 \pm 8,9$ г. Экспериментальные животные подвергались воздействию следующих факторов: прием селена с водой в течении месяца в дозировке 20 мкг/кг массы тела, однократное внутрибрюшинное введение этилкарбамата в дозировке 1 г/кг массы тела крысы и последовательное поступлением этих двух веществ. Материал исследования – легкие и селезенка.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Однократная внутрибрюшинная инъекция этилкарбамата приводит к изменениям в морфологии селезенки с наиболее выраженной трансформацией через 6 месяцев: отсутствие лимфоидных узелков, уменьшение толщины периаартериолярной муфты, увеличение липидных включений в лимфоцитах, уменьшение количества Т-клеток (*CD2*, *CD3*), В-клеток (*CD21*), макрофагов (*CD68*) и клеток мезенхимального происхождения (*Vimentin*) в органе.

2. Введение этилкарбамата на фоне предварительного поступления селена не вызывает столь значимых изменений в селезенке: сохраняется структура лимфоидных узелков, количество Т-клеток (*CD2*, *CD3*), что подтверждает защитные и адаптивные свойства селена.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных результатов определяется достаточным количеством крыс-самцов (106 особей), применением современных гистологических и статистических методов исследования.

Результаты научной работы были представлены на Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова «Медицинская наука и практика: междисциплинарный диалог» (Чебоксары, 2022); на XXIV Международной научно-практической конференции «Фундаментальная и прикладная наука: состояние и тенденции развития» (Петрозаводск, 2022); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Морфологические школы сегодня» (Воронеж, 2022); на XXIX международной научно-практической конференции (Бангалор, 2022); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения доктора медицинских наук, профессора Д.С. Гордон (Чебоксары, 2022), на Всероссийском морфологическом форуме с международным участием «Сталинградская сирень» (Волгоград, 2023), на международном медицинском форуме «Медицинская наука без границ» (Ставрополь, 2024), на IX Международной научной конференции «Донецкие чтения 2024: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности» (Донецк, 2024), на IX международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых «Морфологические науки - фундаментальная основа медицины» (Новосибирск, 2024), на 78-й межвузовской (XIII Всероссийской) итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием

(Челябинск, 2024), на Международной научно-практической конференции, приуроченной 95-летию профессора П.И. Лобко «Достижения современной морфологии» (Минск, 2024), на Всероссийской научной конференции «Достижение отечественной морфологии» (Сибирский морфологический форум-2025), посвященный 50-летию кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (Томск, 2025), на Всероссийском научном форуме с международным участием «Медицина будущего – 2025». (Тюмень, 2025), на IX Всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов России с международным участием фундаментальная и прикладная морфология в XXI веке (Оренбург, 2025), на Международной научно-практической конференции «Клиническая фармакология: интеграция науки и практики» (Чебоксары, 2025).

Личный вклад.

Автор принимал непосредственное участие совместно с научным руководителем на всех этапах диссертационного исследования – от формулировки цели и постановки задач до разработки дизайна эксперимента и научных положений.

Автор выражает искреннюю благодарность и глубокую признательность первому научному руководителю, доктору медицинских наук, профессору Стручко Глебу Юрьевичу, безвременно ушедшему из жизни, за активное вовлечение в научно-исследовательскую деятельность и существенный вклад в формировании научного мировоззрения.

Диссертант самостоятельно распределил экспериментальных животных по группам, проводил и контролировал введение исследуемых веществ (этилкарбамат, селен), выполнял забор и фиксацию материала, изготавливал гистологические препараты и проводил их описание. Морфометрический анализ и статистическая обработка, интерпретация полученных результатов сделаны лично автором. Текст диссертации и иллюстративный материал подготовлены автором самостоятельно. Диссертант совместно с соавторами подготовил и представил к публикации научные статьи, отражающие основные результаты выполненного исследования.

Соответствие диссертации паспорту заявленной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 1.5.2. Клеточная биология (медицинские науки):

– Клеточные компартменты и органеллы, их пространственная и структурно-функциональная организация. Цитоплазма, ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, эндосомы, лизосомы и лизосомоподобные органеллы, пероксисомы, хлоропласты и другие пластиды, плазматическая мембрана, клеточная оболочка. Рибосомы. Протеасомы. Немембранные органеллы и структуры, формируемые внутренне неупорядоченными белками и РНК (п. 2).

– Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в

том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели (п. 13).

– Исследование адаптации клеток и тканей к действию различных факторов внешней среды (п. 14).

Внедрение результатов исследования.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» при чтении лекций и проведении лабораторных занятий со студентами 1-3-го курсов. Также результаты исследования используются в практической деятельности БУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии.

Публикация результатов исследования.

Основные положения диссертации отражены в 21 научной публикации, 5 из них напечатаны в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, утвержденные приказом Минобрнауки России.

Структура и объем диссертации.

Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка сокращения и условных обозначений, списка литературы, включающего 334 источника, из них 90 – отечественных и 224 – зарубежных авторов. Общий объем диссертации составляет 190 страницы компьютерного текста, содержит 15 таблиц и 40 рисунков, включая микрофотографии и диаграммы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования.

В исследовании использовали крыс-самцов линии Wistar в количестве 106 штук, исходный средний возраст которых составил $60 \pm 1,5$ дней и вес $122 \pm 8,9$ гр.

Этическая экспертиза. В течении всего эксперимента животные получали сбалансированное питание, имели свободный доступ к питьевой воде и находились в стандартных условиях вивария с соблюдением правил и стандартов. Эксперимент проведен согласно нормативно-правовой документации: Приказ Минздрава России №199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальное исследование согласовано и единогласно одобрено на заседании локального этического комитета медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования РФ (протокол №2 от 16.03.2026 г.).

Для индукции воспалительного процесса с последующим неопластическим преобразованием в легочной ткани в качестве канцерогена использовали этилкарбамат (уретан).

Крысы были разделены на 4 группы:

1 группа – контрольные, которые включают две подгруппы: интактные крысы (n=8) и крысы с однократным введением 0,9% раствора хлорида натрия (n=8) для исключения постинъекционного стресса;

2 группа – крысы, которые принимали селен в питьевой форме в дозе 20 мкг/кг массы тела крысы в течении 1 месяца (суточное потребление селена на крысу через питьевую воду составляло $4 \pm 0,4$ мкг) (n=30);

3 группа – крысы с однократным внутрибрюшинным введением этилкарбамата в дозе 1 г/кг массы тела крысы (n=30);

4 группа – крысы с последовательным поступлением селена и этилкарбамата в тех же дозировках и длительности поступления (n=30).

Животные контрольной и опытных групп выводились из эксперимента через 1, 2 и 6 месяцев путем применения телазола из расчета 15 мг на 1 кг массы внутримышечно с последующей декапитацией. Для исключения возрастных изменений брали интактных крыс соответствующего возраста. Материалом исследования служила селезенка и легкие. Патоморфологическое исследование легких включало оценку частоты новообразований, их морфологических характеристик и топографии в паренхиме. Анализу подвергались селезенки животных с выявленными изменениями в легких.

В работе использовали следующие методы исследования:

1. Измерение массы тела крыс с помощью порционных весов SW-02 (производитель Cas, страна Южная Корея) и массы селезенки с помощью лабораторных электронных весов серии «Эва» Ска-120В (производитель ООО «Скейл-КАС», страна Россия) с перерасчетом в относительную массу органа по следующей формуле:

$$\text{относительная масса селезенки (\%)} = \frac{\text{масса селезенки, мг}}{\text{масса тела, мг}} \times 100\%.$$

2. Гистологический метод – окраска гематоксилином и эозином, для изучения морфологии структур селезенки и легких и проведения морфометрии.

3. Электронная микроскопия: изучение ультратонких срезов селезенки на электронном микроскопе Hitachi HT7700 Exalens (Hitachi, Япония), которые были получены с помощью ультрамикротомы Leica UC7 толщиной 60-80 нм.

4. Иммуногистохимические методы с использованием моноклональных и поликлональных антител:

- CD68 – маркер макрофагов в ткани селезенки;
- CD3 – маркер зрелых Т-лимфоцитов;
- CD2 – общий Т-клеточный маркер;
- CD21 – маркер фолликулярных дендритных клеток, зрелых В-клеток;
- Ki67 – маркер клеточной пролиферации;
- p53 – проапоптотический белок p53;
- Vimentin – маркер клеток мезенхимального происхождения, включая фибробласты, эндотелиальные клетки, гладкие мышцы, меланоциты.

В паренхиме селезенки подсчитывали число CD68⁺-, CD3⁺-, CD2⁺-, CD21⁺-, Ki67⁺-, p53⁺-, Vimentin⁺-клеток в 10-ти полях зрения при увеличении в

100 и в 400 раз, затем методом автоматического выделения и вычисления площади конкретного цветового сектора (окрашенного DAB) была определена площадь участков, отражающих иммуногистохимические реакции цитоплазмы и мембраны. Результирующие данные были переведены в процентное соотношение от общей площади изображения.

5. Морфометрический метод с применением автоматизированного морфометрического комплекса, включающий микроскоп МИКРОМЕД 3 ЛЮМ, цифровую фотокамеру и персональный компьютер с программным обеспечением «Микроанализ» (Россия) для количественной оценки иммуногистохимической реакции и морфометрического анализа структур белой и красной пульпы:

- площади лимфоидного узелка селезенки, мкм²;
- толщины периартериолярной муфты селезенки, мкм;
- площади и толщины маргинальной и мантийной зон лимфоидного узелка селезенки, мкм² и мкм;
- толщины стенки и внутреннего диаметра центральной артериолы селезенки, мкм.

6. Оценка морфологических индексов:

– *Лимфоидный коэффициент (ЛК)* – вычислялся для оценки соотношения В- и Т- зависимых зон. Соотношение и интенсивность иммунологических реакций гуморального и клеточного ответа объективно описывает ЛК. Снижение ЛК косвенно свидетельствует о подавлении клеточной формы иммунного ответа и преобладании гуморальной формы иммунологического ответа и наоборот. Вычислялся коэффициент по следующей формуле:

$$ЛК = D_{лу} / L_{пм},$$

где $D_{лу}$ – диаметр лимфоидных узелков, $L_{пм}$ – толщина периартериолярных лимфоидных муфт.

– *Индекс Керногана (ИК)* – отражает степень пропускной способности микрососудов:

$$ИК = (2 \times L) / D,$$

где L – толщина стенки центральной артериолы, D – внутренний диаметр центральной артериолы.

7. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием лицензионного пакета программ STATISTICA 10. В каждой подгруппе рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (SE). Анализ распределения выборок осуществлялся с применением критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Сравнение независимых групп по количественному признаку проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни и критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения селезенки крыс после завершения приема селена.

Через 1 месяц с момента завершения приема селена выявили преобладание лимфоидных узелков без герминативного центра (первичные лимфоидные узелки), увеличение толщины периартериолярной муфты и увеличение лимфоидного коэффициента по сравнению с группой контроля. Через 2 месяца эти изменения сохранялись, но отмечено снижение лимфоидного коэффициента. Через 6 месяцев наблюдали дальнейшее увеличение толщины периартериолярных муфт и слияние их между собой (рисунок 1), снижение площади лимфоидных узелков, увеличение количества артериол в поле зрения и уменьшение лимфоидного коэффициента, выявлялись незначительные признаки инволюции белой пульпы селезенки.

На ультрамикроскопическом уровне выявлялись лимфоциты на разных стадиях созревания.

Иммуногистохимическое исследование выявило, что через 1 и 2 месяца с момента завершения поступления селена увеличилось содержания маркеров CD2 и CD3 во всех исследуемых структурах селезенки (рисунок 2), а также увеличение маркера пролиферации и Vimentin⁺-клеток по сравнению с контрольными группами данных возрастов. Через 6 месяцев сохранялось повышение антител к CD3 (рисунок 3) и к Vimentin в белой пульпе селезенки.

Изменение селезенки крыс после инъекции этилкарбамата.

Через 1 месяц после введения этилкарбамата выявили, что площадь лимфоидных узелков без герминативных центров увеличилась в 1,4 раза ($p < 0,0168$), тогда как с герминативным центром (вторичные лимфоидные узелки), напротив, снизилась в 1,5 раза. Также выявили сливающиеся лимфоидные узелки между собой (рисунок 4).

Преобладание количества узелков с герминативным центром на единицу площади сочеталось со снижением лимфоидного коэффициента. Наблюдали увеличение толщины периартериолярных муфт и толщины стенки центральной артериолы при одновременном сужении ее просвета, что сопровождалось повышением индекса Керногана с $1,84 \pm 0,82$ до $4,63 \pm 1,9$ ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

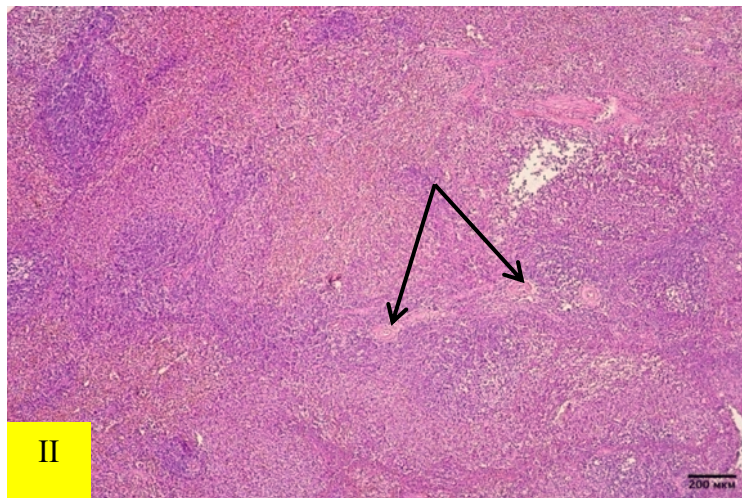
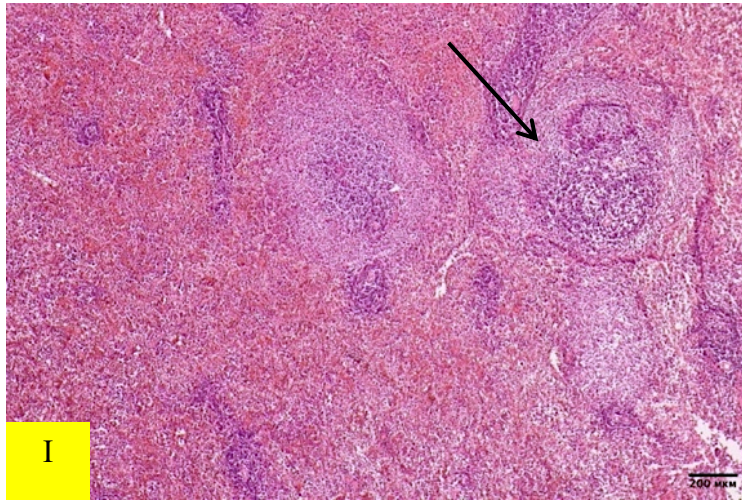


Рисунок 1 – Селезенка крыс.

I – контрольной группы. Увеличение площади лимфоидного узелка с нечеткими границами между его зонами и между красной пульпой.

II – 6 месяцев с момента завершения приема селена. Слияние ПМ между собой. Множество артериол (указаны стрелками).

Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100/100$

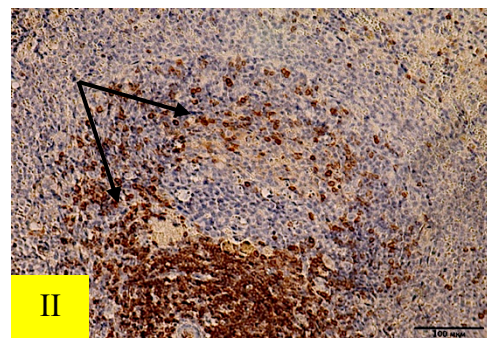
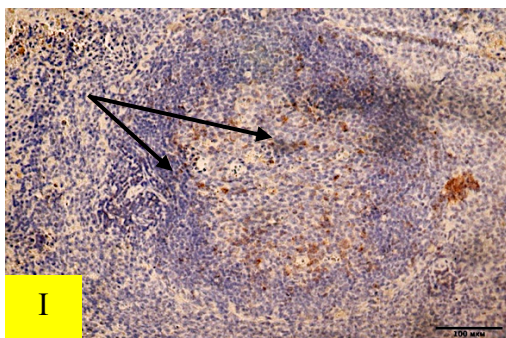


Рисунок 2 – Селезенка крыс. Лимфоидные узелки с герминативным центром.

I – контрольной группы. Зрелые Т-лимфоциты (указаны стрелками) расположены в герминативном центре и в мантийной зоне. *II – 2 месяца с момента завершения приема селена.* Увеличено количество CD3⁺-клеток (указаны стрелками) в

периартериолярной муфте и в мантийной зоне.

Иммуногистохимическая реакция к CD3. Ув. $\times 400/400$

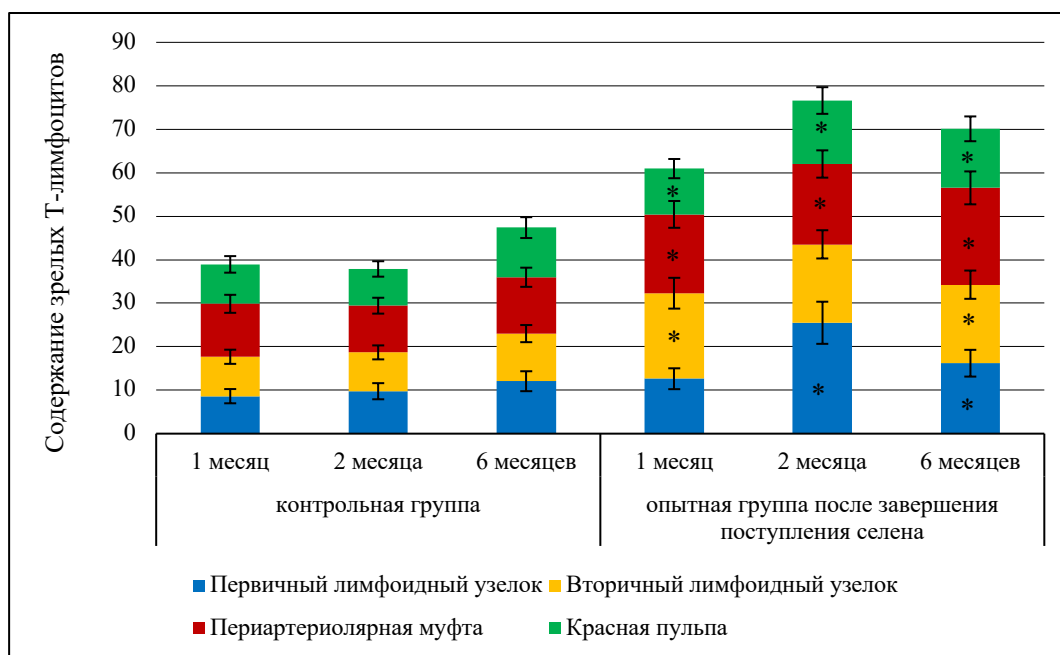


Рисунок 3 – Динамика изменений зрелых Т-лимфоцитов селезенки у контрольных крыс и у крыс после завершения поступления селена.

* – $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста

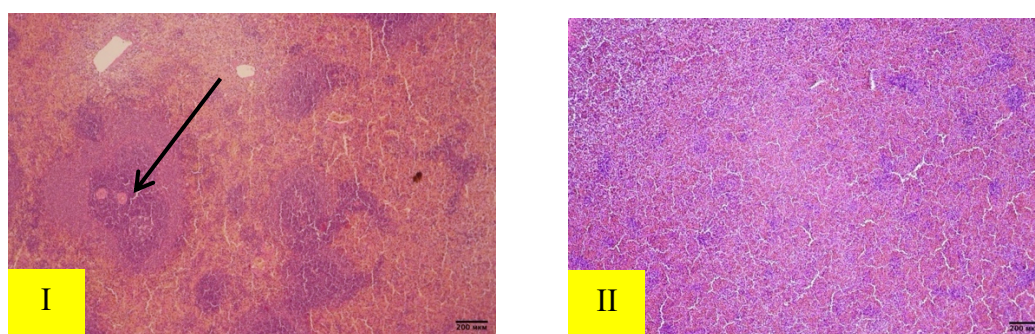


Рисунок 4 – Селезенка крыс:

I – 1 месяц после инъекции этилкарбамата. Сливающиеся лимфоидные узелки между собой (указаны стрелкой). *II* – 6 месяцев после инъекции этилкарбамата. Отсутствуют лимфоидные узелки. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

Через 2 месяца после инъекции этилкарбамата сохранялось увеличение площади лимфоидных узелков без герминативного центра и одновременно отмечалось снижение числа узелков с герминативным центром по сравнению с контрольной группой. Соотношение между узелками без и с герминативным центром изменялось и составило 1:2,6. Также выявлено утолщение мантийной и маргинальной зон и увеличение индекса Керногана с $1,41 \pm 0,46$ до $3,18 \pm 0,77$ ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля.

Через 6 месяцев лимфоидные узелки вообще не определялись (рисунок 4), толщина периартериолярной муфты снизилась в 1,6 раза ($p < 0,0004$), выявили утолщение стенки и сужение просвета центральной артериолы, что также сопровождалось увеличением индекса Керногана (рисунок 5).

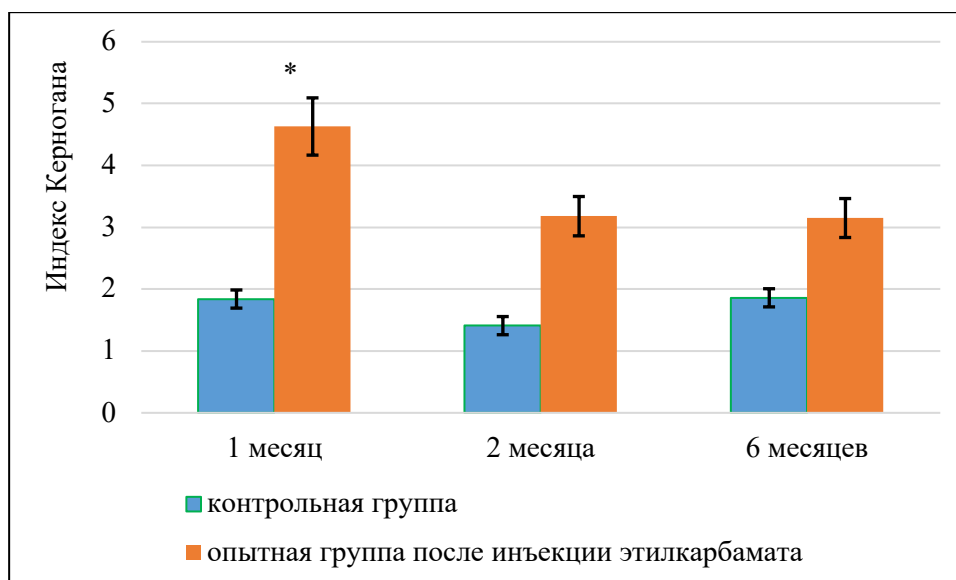


Рисунок 5 – Изменение индекса Керногана контрольной и опытной групп крыс-самцов на разных сроках с момента инъекции этилкарбамата

* – $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста

На ультрамикроскопическом уровне через 1 месяц после инъекции этилкарбамата в селезенке крыс выявлялись макрофаги в стадии фагоцитоза, увеличение числа митохондрий в лимфоцитах в 2 раза, а также усиление активности плазматических клеток. Через 2 месяца после инъекции в лимфоцитах отмечались отечные митохондрии (рисунок 6), нарушение ядерной структуры, наличие макрофагов с фагосомами, а также наблюдали изменение хроматина и в плазматических клетках увеличилось количество рибосом и выявлялась ЭПС (рисунок 7).

Через 6 месяцев вся ткань была представлена эритроцитами, а лимфоциты содержали липидные включения и отечные митохондрии (до 9-11 шт.) (рисунок 8).

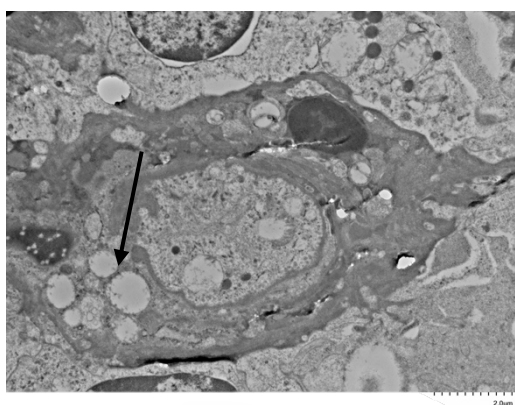


Рисунок 6 – Ультраструктура селезенки крысы. 2 месяца после инъекции этилкарбамата. Темный лимфоцит с отечными митохондриями (указаны стрелкой). Ув. $\times 5\ 000$

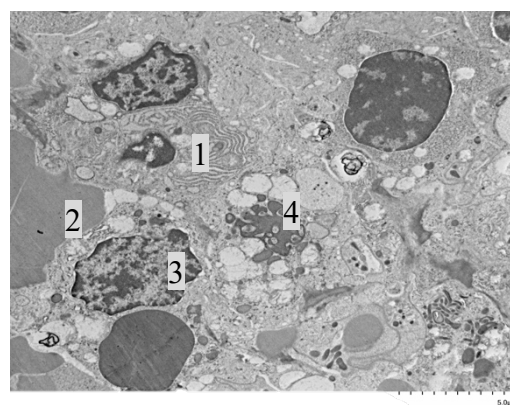


Рисунок 7 – Ультраструктура селезенки крысы. 2 месяца после инъекции этилкарбамата. 1 – плазматическая клетка с ЭПС и рибосомами; 2 – эритроцит; 3 – лимфоцит; 4 – продукты фагоцитоза. Ув. $\times 3\ 000$

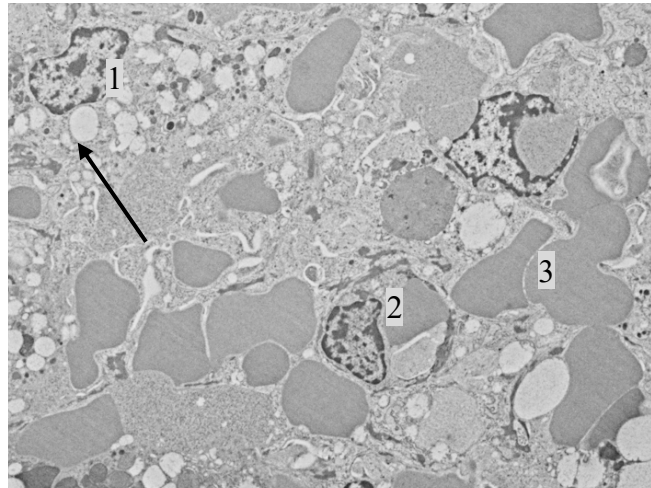


Рисунок 8 – Ультраструктура селезенки крысы. 6 месяцев после инъекции этилкарбамата. В лимфоцитах определялись липидные включения (указаны черной стрелкой). 1 – светлый лимфоцит; 2 – фагосома; 3 – эритроцит. Ув. $\times 1\ 000$

Через 1 месяц после инъекции этилкарбамата в селезенке выявили снижение Т-клеток и клеток мезенхимального происхождения в среднем на 20% в лимфоидных узелках и в периартериолярных муфтах (рисунок 9). Кроме этого, снизилось количество Ki67⁺-клеток на 29% ($p < 0,02$) по сравнению с группой контроля (рисунок 10). Также определили уменьшение макрофагов, белка p53 и пролиферации клеток в периартериолярных муфтах и красной пульпе.

Через 2 месяца сохранялось снижение Т-клеток в периартериолярной муфте и красной пульпе селезенки на 20% ($p < 0,05$), а также Ki67⁺-клеток в этих компартаментах на 30% ($p < 0,00001$) по сравнению с контролем.

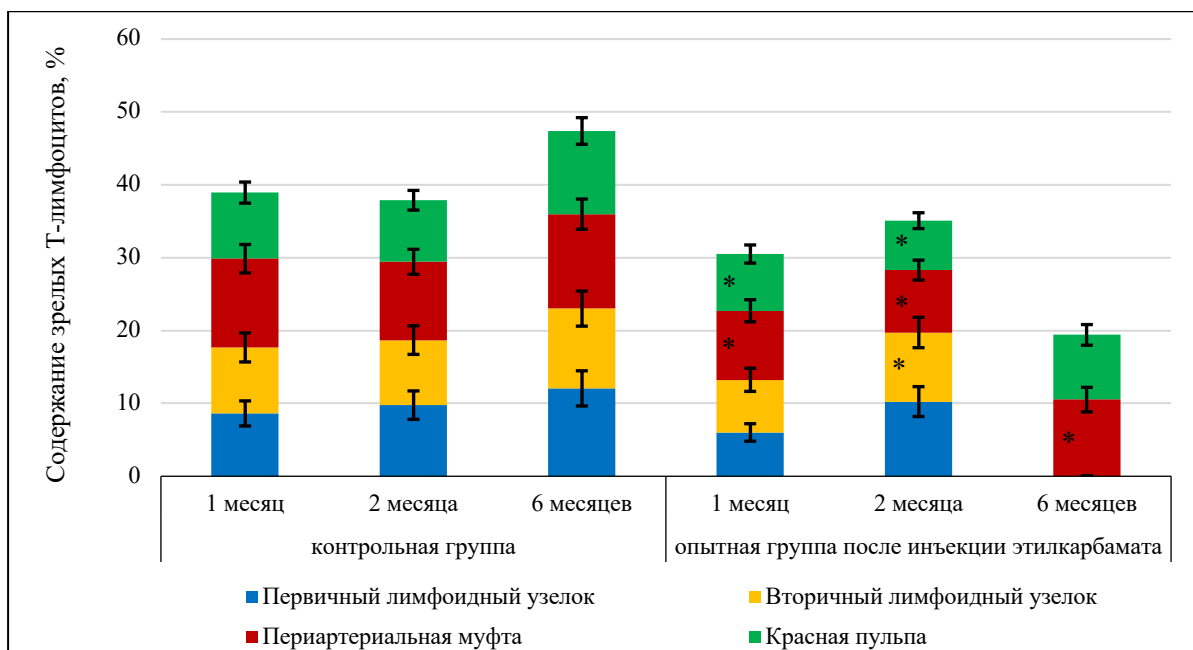


Рисунок 9 – Динамика изменений зрелых Т-лимфоцитов селезенки у контрольных крыс и у крыс после инъекции этилкарбамата.

* – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста

Через 6 месяцев наблюдали снижение доли CD2⁺-, CD3⁺-, CD21⁺-, CD68⁺- и Vimentin⁺-клеток и белка p53 в периартериолярной муфте и красной пульпе селезенки.

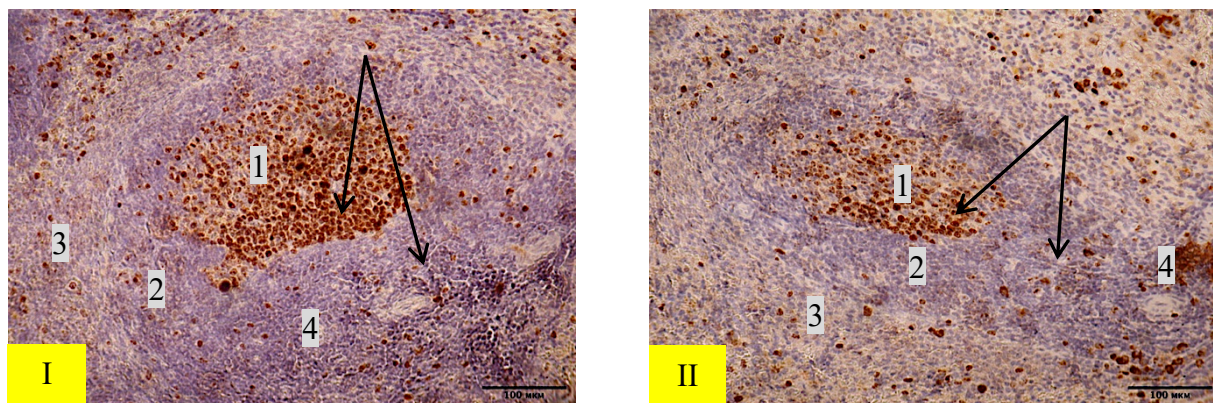


Рисунок 10 – Селезенка крыс. Лимфоидный узелок с герминативным центром.

I – контрольной группы. Ki67⁺-клетки расположены в герминативном центре и в мантийной зоне селезенки (указаны стрелками). 1 – герминативный центр; 2 – мантийная зона; 3 – маргинальная зона; 4 – периартериолярная муфта.

II – 1 месяц после инъекции этилкарбамата. Доля Ki67⁺-клеток (указаны стрелками) снижена в герминативном центре. 1 – герминативный центр; 2 – мантийная зона; 3 – маргинальная зона; 4 – периартериолярная муфта.

Иммуногистохимическая реакция к Ki67⁺-клеткам. Ув. ×400/400

Изменение селезенки крыс после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата.

Через 1 месяц после последовательного поступления селена и этилкарбамата толщина периартериолярной муфты увеличилась на 26% ($p < 0,002$), а при сравнении с группой крыс, получавших только инъекцию этилкарбамата, этот показатель оказался ниже на 32,4% ($p < 0,001$). При этом количество артериол в муфте увеличилось до 3-5 штук по сравнению с 1-2 в контрольной группе. Средняя площадь лимфоидных узелков статистически значимо возросла: в 1,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля и в 1,5 раза ($p < 0,001$) относительно группы через 1 месяц после инъекции этилкарбамата. Толщина стенки и внутренний просвет центральной артериолы селезенки увеличились, что сопровождалось незначительным увеличением индекса Керногана. Через 2 и 6 месяцев после последовательного поступления селена и этилкарбамата толщина периартериолярной муфты и площадь лимфоидных узелков были увеличены. Через 6 месяцев индекс Керногана снизился.

Через 2 месяца на ультрамикроскопическом уровне не было выявлено существенных отличий от группы контроля. Однако через 6 месяцев – в белой пульпе лимфоциты располагались рыхло, в них определялись 4-5 шт. отечных митохондрий и липидные включения (рисунок 11). В красной пульпе – увеличение плазматических клеток с выраженной шероховатой ЭПС.

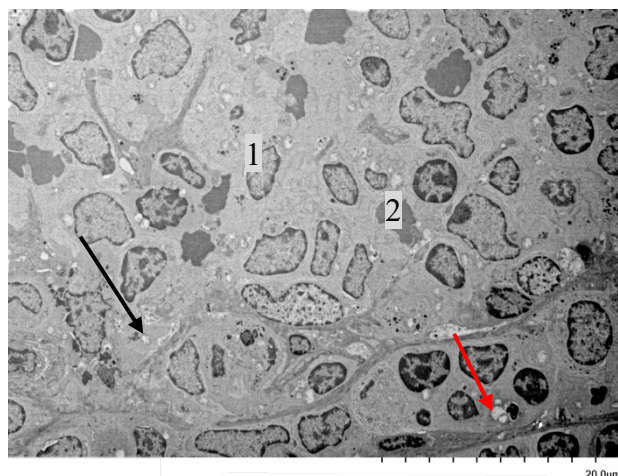


Рисунок 11 – Ультраструктура селезенки крысы. 6 месяцев после последовательного приема селена и инъекции этилкарбамата. Маргинальная зона лимфоидного узелка селезенки с лимфоцитами и единичными эритроцитами. В лимфоцитах набухшие митохондрии (указаны черной стрелкой) и липидные включения (красная стрелка). 1 – лимфоцит; 2 – эритроцит.
Ув. $\times 1\ 000$

Иммуногистохимическое исследование определило, что через 2 месяца после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата содержание Т- и В-клеток, макрофагов и белка p53 в лимфоидных узелках, в периартериолярной муфте и в красной пульпе увеличились на 50-90% ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Кроме того, выявили увеличение количества Т- и В-клеток, макрофагов и пролиферации клеток по сравнению с группой, получавших изолированное введение этилкарбамата. Через 6 месяцев в периартериолярной муфте количество Т-клеток (рисунок 12), пролиферирующих и мезенхимальных клеток также было увеличено на 30%-70% ($p < 0,05$) по сравнению как с контрольной группой, так и с группой после введения этилкарбамата.

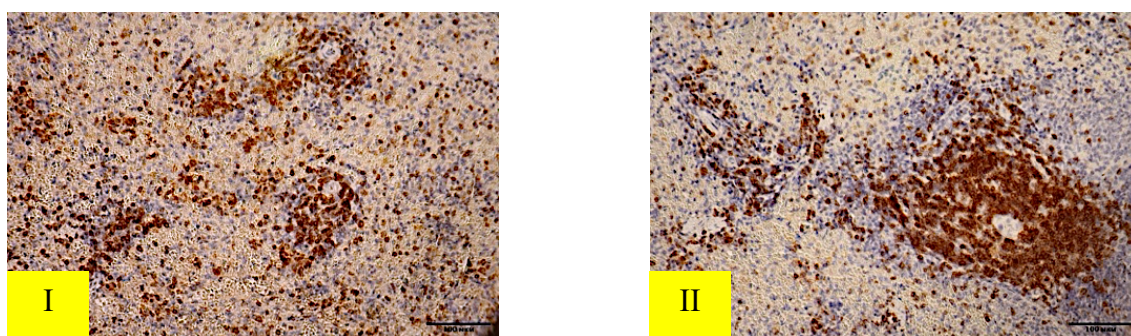


Рисунок 12. Селезенка крыс. ПМ. *I* – 6 месяцев после инъекции этилкарбамата.

Количество $CD3^+$ -клеток уменьшено по всей площади ПМ.

II – 6 месяцев после последовательного приема селена и инъекции этилкарбамата.

Количество $CD3^+$ -клеток увеличено по всей площади ПМ.

Иммуногистохимическая реакция к $CD3^+$ -клеткам. Ув. $\times 400/400$

Закключение. Проведенное исследование установило, что прием селена в дозировке 20 мкг/кг влияет на морфологическую характеристику селезенки: повышено количество первичных лимфоидных узелков, увеличивается толщина

периартериолярных муфт и пропускная способность центральной артериолы селезенки, определяются лимфоциты на разных стадиях созревания, в которых выявляются митохондрии в незначительном количестве без признаков их деформации. После завершения приема селена уменьшаются проявления возрастной инволюции белой пульпы селезенки. При иммуногистохимическом исследовании определяется увеличение количества маркеров CD2 и CD3, пролиферации и Vimentin. Также отмечается повышение зрелых Т-лимфоцитов и Ki67 через 6 месяцев после завершения поступления селена.

После внутрибрюшинной инъекции этилкарбамата в дозировке 1 г/кг выявлено снижение массы селезенки на всех сроках исследования. После инъекции этилкарбамата определили морфологические изменения селезенки крыс: увеличение площади лимфоидных узелков и толщины периартериолярной муфты, преобладание лимфоидных узелков с герминативным центром, что указывает на гиперпластические процессы (К. А. Васянина и др., 2019). Кроме этого, выявили «слияние» узелков между собой. Также происходит уменьшение пропускной способности центральной артериолы селезенки. На ультрамикроскопическом уровне определяли увеличенное количество митохондрий в лимфоцитах в 2 раза и последующую их дезорганизацию. Вероятно, это связано с повышенным окислительным процессом в клетке в ответ на воспаление, локализованное в легких (К. Zhang et al., 2023). Отмечали неправильной формы ядро в лимфоцитах и выраженную ЭПС и аппарат Гольджи в плазматических клетках, что свидетельствует об усиленном синтезе и повышенной секреторной активности клеток (Нужная Е.К. и др., 2011). Отмечено снижение числа Т-клеток в Т-зависимой зоне селезенки, а также макрофагов и белка p53. Выявленные изменения могут свидетельствовать о снижении функциональной активности Т-лимфоцитов и/или изменении их популяционного состава, что, в свою очередь, способно приводить к ослаблению клеточного звена иммунного ответа (Гринько Е.К. и др., 2020, Binder С. Et al., 2020).

Через 6 месяцев после инъекции этилкарбамата в селезенке формируется выраженная атрофия белой пульпы: определяется снижение массы селезенки, отсутствие лимфоидных узелков и уменьшение толщины периартериолярных муфт. На ультраструктурном уровне определяются липидные включения в клетках, а также преобладание эритроцитов. Определили снижение Т- и В-клеток, макрофагов и белка p53 в периартериолярной муфте и красной пульпе. Данные изменения указывают на дезорганизацию ткани селезенки, связанные с инволюцией белой пульпы селезенки.

Положительное иммуномодулирующее воздействие селена выявлено при последовательном поступлении микроэлемента и этилкарбамата. Мы выявили, что через 1 месяц увеличилась площадь лимфоидных узелков и толщина периартериолярной муфты; увеличилась пропускная способность центральной артериолы селезенки, в равных количествах определялись лимфоидные узелки с герминативным и без герминативных центров; происходит более позднее появление включений и отек митохондрий в лимфоцитах. Увеличиваются Т- и

В-клетки, макрофаги и белок p53 в лимфоидных узелках, периартериолярной муфте и красной пульпе. Эти изменения указывают на высокую иммунную реактивность органа после завершения приема селена (Тишин А. Л., 2014).

Через 6 месяцев после последовательного поступления селена и инъекции этилкарбамата отсутствовали признаки выраженной атрофии белой пульпы. Определялись лимфоидные узелки и увеличение толщины периартериолярных муфт, сохраняется пропускная способность центральной артериолы селезенки. Также установлено увеличение численности маркеров CD3, Ki67 и Vimentin.

Таким образом, поступление селена вызывает отсроченные изменения в селезенке и не приводит к атрофии белой пульпы.

ВЫВОДЫ

1. Поступление селена сопровождается увеличением пропускной способности центральной артериолы селезенки (*индекс Керногана с $1,84 \pm 0,82$ до $1,5 \pm 0,94$*), утолщением периартериолярных муфт и преобладанием лимфоидных узелков без сформированных герминативных центров. Однократное внутрибрюшинное введение этилкарбамата приводит к нарушению пропускной способности центральной артериолы селезенки на всех сроках исследования (*индекс с Керногана $1,84 \pm 0,82$ до $4,63 \pm 1,5$*), через 6 месяцев – к исчезновению лимфоидных узелков и уменьшению толщины периартериолярных муфт, что может расцениваться как проявление атрофии белой пульпы селезенки. Предварительное поступление селена перед инъекцией этилкарбамата способствует сохранению пропускной способности центральной артериолы селезенки, толщины периартериолярных муфт и лимфоидных узелков.

2. Поступление селена приводит к увеличению количества лимфоцитов в селезенке без изменения ее ультраструктуры. Однократное введение этилкарбамата вызывает увеличение числа митохондрий через 1 месяц, через 6 месяцев – их набухание и дезорганизация крист, выраженная деструкция органелл с появлением липидных включений. При последовательном поступлении селена и инъекции этилкарбамата отмечается протективный эффект, проявляющийся в отсутствии ранних нарушений и изменений митохондрий и рибосом лимфоцитов только через 6 месяцев.

3. Поступление селена увеличивает число Т-клеток (*CD2, CD3*) и клеток мезенхимального происхождения (*Vimentin*) в белой пульпе (*↑ в 1,5 раза*), а инъекция этилкарбамата, наоборот, снижает количество Т-клеток и клеток мезенхимального происхождения в красной пульпе и периартериолярной муфте (*↓ в 1,5 раза*). Последовательное поступление селена и инъекция этилкарбамата сопровождается стойким ростом зрелых Т-клеток (*CD3*) и мезенхимальных клеток в 1,5 раза в белой пульпе, что, скорее всего, указывает на усиление иммунного ответа.

4. Поступление селена активизирует антигенпрезентирующие клетки и клетки гуморального звена иммунитета, что проявляется увеличением макрофагов (*CD68*) и В-клеток (*CD21*) в белой пульпе селезенки в 1,5 раза. Инъекция этилкарбамата сопровождается угнетением указанных популяций:

через 6 месяцев их число снижается в 1,4 раза в красной пульпе и в периартериолярной муфте при полном отсутствии лимфоидных узелков. Последовательное поступление селена и инъекция этилкарбамата приводит к умеренному повышению числа В-клеток (*CD21*) и макрофагов (*CD68*) в 1,3 раза, а через 6 месяцев происходит их снижение во всех структурах селезенки, что, возможно, связано с последствием выведения селена из организма животных.

5. Через 2 месяца после приема селена во всех структурах селезенки обнаруживается увеличение белка p53 в 2 раза и клеточной пролиферации (*Ki67*) в 1,4 раза. Инъекция этилкарбамата, напротив, вызывает уменьшение белка p53 и *Ki67*. При предварительном поступлении селена перед инъекцией этилкарбамата отмечается умеренное снижение белка p53 при одновременном увеличении пролиферации клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Экспериментально подтвержденный факт, что поступление селена оказывает положительное воздействие на морфологию селезенки при инъекции этилкарбамата, имеет определенную клиническую значимость. Результаты могут быть использованы при проведении доклинических исследований в качестве обоснования для разработки ведомственных профилактических программ, направленных на охрану здоровья работников предприятий, где осуществляется контакт с этилкарбаматом.

2. Учитывая выявленные иммунозащитные свойства селена при его предварительном применении до воздействия этилкарбамата, рекомендуется использовать данную модель в качестве экспериментального прототипа для дальнейшего изучения механизмов действия микроэлементов с иммуностимулирующим и иммуномодулирующим свойствами, направленных на разработку новых подходов в профилактике онкогенеза и коррекции иммунных дисфункций.

3. Теоретические положения, научные выводы и эмпирические результаты, полученные в рамках диссертационного исследования, могут быть интегрированы в образовательный процесс на профильных кафедрах медицинских вузов. В частности, они успешно внедрены в учебный процесс кафедры биохимии, клеточной биологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет». Представленные материалы используются при преподавании теоретических дисциплин и проведении практических и лабораторных занятий со студентами 1-3 курсов медицинских специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации:

1. Бубнова, Н.В. Биологическая роль селена (обзор литературы) / Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Котёлкина А.А., **Самакина Е.С.** // Acta Medica Eurasica. – 2023. – № 2. – С. 114-123.
2. Тимофеева, Н.Ю. Роль тучных клеток в канцерогенезе (обзор литературы) / Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В., **Самакина Е.С.**, Стоменская И.С., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Котёлкина А.А. // Acta Medica Eurasica. – 2023. – № 1. – С. 147-159.
3. Самакина, Е.С. Оценка структуры селезенки крысы при изолированном и комбинированном действии селена и этилкарбамата / **Самакина Е.С.**, Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М. [и др.] // Acta Medica Eurasica. – 2024. – № 4. – С. 64-75.
4. Самакина, Е. С. Оценка влияния этилкарбамата на CD21+-клетки селезёнки / **Самакина Е.С.** // Биомедицина. – 2024. – Т. 20, № 4. – С. 78-86.
5. Влияние приема селена на морфометрические показатели и клеточный состав селезенки / **Самакина Е. С.**, Стручко Г. Ю., Меркулова Л. М. [и др.] // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2025. – Т. 14, № 4. – С. 54-62. – DOI 10.18499/2225-7357-2025-14-4-54-62.

Статьи и материалы, опубликованные в прочих изданиях:

1. Тимофеева, Н.Ю. Влияние селена на показатели периферической крови крыс / Тимофеева Н.Ю., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Стоменская И.С., Котёлкина А.А., Бубнова Н.В., **Самакина Е.С.**, Прокопьева М.А. // Медицинская наука и практика: междисциплинарный диалог: сборник статей Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, 08–09 апреля 2022 года / Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова. – Чебоксары: Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, 2022. – С. 70-73
2. Бубнова, Н.В. Популяция тучных клеток в тимусе и в селезенке при введении уретана на фоне применения селена / Бубнова Н.В., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., **Самакина Е.С.**, Тимофеева Н.Ю., Котелкина А.А. // Морфологические школы сегодня: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Москва, 20 мая 2022 года. – Воронеж: Издательско-полиграфический центр "Научная книга", 2022. – С. 77-80.
3. Тимофеева, Н.Ю. Тучноклеточная популяция селезенки, печени и надпочечников при экспериментальном канцерогенезе / Тимофеева Н.Ю., Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., **Самакина Е.С.**, Прокопьева М.А. // Наука в современном информационном обществе: материалы XXIX международной научно-практической конференции, Bengaluru, India, 11–12 июля 2022 года. – Бангалор: Pothi.com, 2022. – С. 16-19.
4. Тимофеева, Н.Ю. Реакция тучных клеток тимуса, селезенки, печени и надпочечников при введении селена / Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В., **Самакина Е.С.**, Прокопьева М. А. // Фундаментальная и прикладная наука:

состояние и тенденции развития: Сборник статей XXIV Международной научно-практической конференции, Петрозаводск, 31 октября 2022 года. – Петрозаводск: Международный центр научного партнерства «Новая Наука» (ИП Ивановская И.И.), 2022. – С. 108-112

5. Тимофеева, Н.Ю. Влияние приема селена на канцерогенез легких / Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В., **Самакина Е.С.**, Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю. // Международная научно-практическая конференция «Болезни современной цивилизации: междисциплинарные исследования»: сборник материалов. – Самарканд: Типография Самаркандского государственного медицинского университета, 2023. – С. 22.

6. Самакина, Е.С. Морфологическая характеристика белой пульпы селезенки через 90 дней после экспериментального канцерогенеза / Самакина Е.С., Прокопьева М.А., Тимофеева Н.Ю. // Всероссийский морфологический форум с международным участием "Сталинградская сирень": Сборник статей форума, Волгоград, 19–20 мая 2023 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2024. – С. 74-76.

7. Самакина, Е.С. Оценка лимфоидного коэффициента в селезенке через 2 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С.**, Прокопьева М.А. // Материалы IX Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых "Морфологические науки - фундаментальная основа медицины": Материалы конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика Ю.И. Бородина, Новосибирск, 05 декабря 2024 года. – Новосибирск: ИПЦ НГМУ, 2024. – С. 293-296.

8. Самакина, Е.С. Изменения CD2+-клеток селезенки крыс через 3 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С.**, Кострова О.Ю., Стручко Г.Ю., Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю. // Медицинская наука без границ: Сборник материалов международного молодежного форума, Ставрополь, 13–15 ноября 2024 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, 2024. – С. 279-280.

9. Самакина, Е.С. Оценка пролиферативной активности клеток селезенки через 3 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С.**, Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю., Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю. // Донецкие чтения 2024: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: материалы IX Международной научной конференции, Донецк, 15–17 октября 2024 года. – Донецк: Донецкий национальный университет, 2024. – С. 247-249.

10. Самакина, Е.С. Исследование CD21+-клеток селезенки через 3 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С.**, Кострова О.Ю., Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В., Прокопьева М.А. // Достижения современной морфологии: Сборник статей Международной научно-практической конференции, приуроченной 95-летию профессора П.И. Лобко, Минск, Республика Беларусь, 27 сентября 2024 года. – Минск, Республика Беларусь, 2024. – С. 191-194.

11. Самакина, Е.С. Изменения индекса Керногана центральной артерии селезенки через 1 и 2 месяца с момента завершения приема селена / **Самакина**

Е.С., Кострова О.Ю., Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю. // Достижения современной морфологии : Сборник статей Международной научно-практической конференции, приуроченной 95-летию профессора П.И. Лобко, Минск, Республика Беларусь, 27 сентября 2024 года. – Минск, Республика Беларусь, 2024. – С. 187-190.

12. Самакина, Е.С. Оценка белой пульпы селезенки через 2 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С., Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю.** // 78-я Межвузовская (XIII Всероссийская) итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием: Сборник 78-й межвузовской (XIII Всероссийской) итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием, Челябинск, 21 октября 2024 года. – Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2024. – С. 18.

13. Самакина, Е.С. Влияние этилкарбамата на лимфоидный коэффициент через 2 месяца после инъекции этилкарбамата / **Самакина Е.С., Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю.** // Достижения отечественной морфологии: Материалы Всероссийской научной конференции «Достижения отечественной морфологии» (Сибирский морфологический форум-2025), посвященной 50-летию кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, 03-04 апреля 2025 г – Томск: Изд-во СибГМУ, 2025 – С. 252-253

14. Самакина, Е.С. Реакция макрофагов селезенки крыс через месяц после введения этилкарбамата / **Самакина Е.С.** // Медицина будущего - 2025: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 27–29 марта 2025 года. – Тюмень: РИЦ "Айвекс", 2025. – С. 450-451.

15. Самакина, Е.С. Реакция макрофагов селезенки крыс через 2 месяца после введения этилкарбамата / **Самакина Е.С., Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю., Бубнова Н.В., Тимофеева Н.Ю.** // Оренбургский медицинский вестник. – 2025. – Т. 13, № S2(50). – С. 268-269.

16. Морфологические изменения селезенки крыс при поступлении селена / **Самакина Е. С., Меркулова Л. М., Прокопьева М. А., Бубнова Н. В.** // Клиническая фармакология: интеграция науки и практики : сборник статей Международной научно-практической конференции, Чебоксары, 13–14 ноября 2025 года. – Чебоксары: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», 2025. – С. 90-97.