

ИЗМЕНЕНИЯ АПОПТОЗА И ПРОЛИФЕРАЦИИ ТИМОЦИТОВ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ДОЗ ДИХЛОРОДИФЕНИЛТРИХЛОРЕТАНА

DOI: 10.17691/stm2017.9.1.07

УДК 577.125/.152.6

Поступила 7.12.2015 г.



Н.В. Яглова, д.м.н., зав. лабораторией развития эндокринной системы;
В.В. Яглов, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы;
Е.П. Тимохина, младший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы;
С.В. Назимова, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы;
С.С. Обернихин, д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы

НИИ морфологии человека, Москва, 117418, ул. Цюрупы, 3

Цель исследования — изучение процессов апоптоза и пролиферации тимомитов крыс при воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), предусмотренных максимально допустимыми уровнями его содержания в продуктах питания.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 64 самцах крыс линии Wistar, получавших ДДТ в дозах $1,890 \pm 0,086$ и $7,77 \pm 0,17$ мкг/кг/сут в течение 6 и 10 нед. Проводили гистологическое исследование препаратов тимуса, иммуногистохимическое определение экспрессии проапоптотических белков Вах и р53, оценку пролиферативной активности клеток тимуса радиоизотопным методом и концентрации кортикостерона и интерлейкина-2 в сыворотке крови крыс методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Исследование тимуса крыс контрольной и опытных групп через 6 нед после начала эксперимента показало, что ДДТ в выбранных дозах активирует синтез проапоптотических белков и запускает р53-зависимый апоптоз как низко-, так и высококодифференцированных тимомитов, что приводит к очаговому опустошению коркового вещества тимуса. Это вызывает реактивное повышение продукции интерлейкина-2 и пролиферацию клеток тимуса, что, однако, не приводит к восстановлению клеточной популяции тимомитов. В последующем с аккумуляцией ДДТ и увеличением времени его воздействия усиливается гибель как лимфоцитов, так и ретикулярных эпителиоцитов, пролиферативная активность клеток тимуса подавляется, несмотря на снижение секреции глюкокортикоидов надпочечниками, что является основным механизмом ускорения наблюдаемых инволютивных изменений органа.

Ключевые слова: тимус; дихлордифенилтрихлорэтан; ДДТ; апоптоз тимомитов; пролиферация тимомитов.

Как цитировать: Yaglova N.V., Yaglov V.V., Timokhina E.P., Nazimova S.V., Obornikhin S.S. Rat thymocyte apoptosis and proliferation variations in chronic exposure to low-dose dichlorodiphenyltrichloroethane. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(1): 62–67, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.07>

English

Rat Thymocyte Apoptosis and Proliferation Variations in Chronic Exposure to Low-Dose Dichlorodiphenyltrichloroethane

N.V. Yaglova, MD, DSc, Head of the Laboratory of Endocrine System Development;
V.V. Yaglov, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Endocrine System Development;
E.P. Timokhina, Junior Researcher, Laboratory of Endocrine System Development;
S.V. Nazimova, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Endocrine System Development;
S.S. Obornikhin, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Endocrine System Development

Research Institute of Human Morphology, 3 Tsurupa St., Moscow, 117418, Russian Federation

The aim of the investigation was to study apoptosis and proliferation of rat thymocytes when exposed to low-dose dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) provided for by its maximum allowable level in food products.

Materials and Methods. The experiment was carried out on 64 Wistar male rats administered DDT at doses of 1.890 ± 0.086 and 7.77 ± 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ within 6 and 10 weeks. We performed a histological study of thymus preparations, immunohistochemistry of pro-

Для контактов: Яглова Наталья Валентиновна, e-mail: yaglova@mail.ru

apoptotic proteins Bax and p53, the assessment of the proliferative activity of thymocytes by a radionuclide method, and the corticosterone and interleukin-2 concentrations in rat blood serum using an enzyme immunoassay.

Results. The study of thymus of control and experimental rats 6 weeks after the experiment start showed the selected doses of DDT to activate the synthesis of pro-apoptotic proteins and initiate p53-dependent apoptosis of both low- and high-grade differentiated thymocytes resulting in focal depletion of thymic cortex. It causes a reactive increase of interleukin-2 production and thymocyte proliferation, however, results in no thymocyte population recovery. Subsequently, with DDT accumulation and exposure time increase, there is the enhanced death of both lymphocytes and reticular epithelial cells, and proliferative activity of thymocytes is suppressed despite the decreased secretion of glucocorticosteroids by adrenals, it being the basic acceleration mechanism of observable involutory changes of thymus.

Key words: thymus; dichlorodiphenyltrichloroethane; DDT; thymocyte apoptosis; thymocyte proliferation.

Пролиферация, дифференцировка и апоптоз тимоцитов — основополагающие процессы морфогенеза и регенерации тимуса. На этапе антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток в тимусе происходит их массовая гибель путем апоптоза. В связи с этим изучение влияния экологических факторов на основные морфогенетические процессы — процессы пролиферации и апоптоза клеток в тимусе — является одной из основ иммунотоксикологических исследований. В последние десятилетия эндокринологами и иммунологами активно исследуется влияние на организм низких доз эндокринных дисрапторов. Наиболее распространенным дисраптором на планете является дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), который встречается во всех экосистемах материков и океанов, включая Арктику и Антарктиду, и способен длительно сохраняться в почве и воде [1–3].

Цель исследования — изучение процессов апоптоза и пролиферации тимоцитов крыс при воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана, предусмотренных максимально допустимыми уровнями его содержания в продуктах питания.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 64 самцах крыс линии Wistar массой тела 80–100 г, которых разделили на опытные и контрольную группы. Животные содержались в виварии, уход за ними осуществляли по нормам и правилам обращения с лабораторными животными в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 №267) и законом «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г. Эксперимент проведен в соответствии с правилами работы с использованием экспериментальных животных, утвержденными приказом Минздрава СССР №577 от 12.08.1977 г.

Животные опытных групп вместо воды получали растворы *o,p*-ДДТ (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 20 и 80 мкг/л. Выбор данных доз обусловлен разным фоновым содержанием ДДТ на различных географических территориях и разным максимально допустимым уровнем в продуктах питания (мясная продукция — 0,1 мг/кг; молочная продукция — 0,05 мг/кг; зерновые культуры — 0,02 мг/кг) [4]. По

расчетам потребляемые среднесуточные дозы ДДТ составили $1,890 \pm 0,086$ и $7,77 \pm 0,17$ мкг/кг/сут.

Животные контрольной группы получали водопроводную воду. Доступ к воде и пище у крыс был свободным.

Первую половину животных контрольной и опытных групп выводили из эксперимента через 6 нед, вторую половину — через 10 нед. Проводили забор тимуса и крови. После стандартной гистологической проводки с помощью автоматизированного гистопроцессора Tissue-Tek VIP 5 Jr (Hygesc, Франция) изготавливали срезы тимуса, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение гистологических препаратов проводили методом световой микроскопии с использованием микроскопа Leica DM2500 и компьютерной морфометрии с помощью программы ImageScore (Leica Microsystems GmbH, Австрия). В гистологических препаратах тимуса определяли соотношение коркового и мозгового вещества. Иммуногистохимическое исследование экспрессии проапоптотических белков p53 и Bax выполняли с использованием первичных кроличьих поликлональных антител (Santa Cruz Biotechnology, США). Визуализацию реакции осуществляли с помощью набора реактивов UltraVision Detection System (Thermo Scientific, США). Препараты докрашивали гематоксилином Майера. В сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов определяли концентрацию кортикостерона (IBL, Германия) и ИЛ-2 (Bender Medsystems, Австрия). Проводили определение пролиферации тимоцитов *ex tempore* [5] с использованием ^3H -тимидина.

Статистическую обработку осуществляли с помощью пакета программ Statistica (StatSoft Inc., США), использовали параметрические и непараметрические методы. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты. Тимус крыс контрольной группы через 6 нед после начала эксперимента имел типичное дольчатое строение. Доля коркового вещества составляла в среднем три четверти паренхимы органа. В корковом веществе лимфоциты плотно прилежали друг к другу. В мозговом веществе встречались единичные тимические тельца. Экспрессия белка p53 выявлялась приблизительно в 10% лимфоцитов тимуса (рис. 1). p53-позитивные клетки обнаруживались как

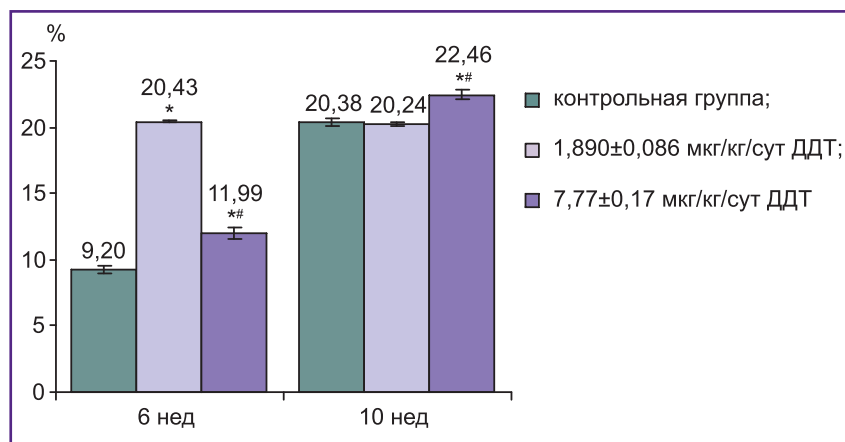


Рис. 1. Содержание клеток тимуса, экспрессирующих белок р53, в контрольной и опытных группах крыс, потреблявших ДДТ в дозах 1,890±0,086 и 7,77±0,17 мкг/кг/сут в течение 6 и 10 нед. * — статистически значимое отличие значений от контрольной группы; # — от группы, потреблявшей меньшую дозу ДДТ

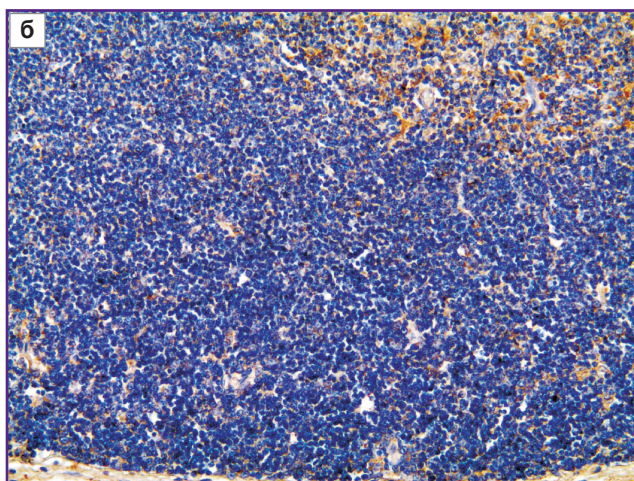
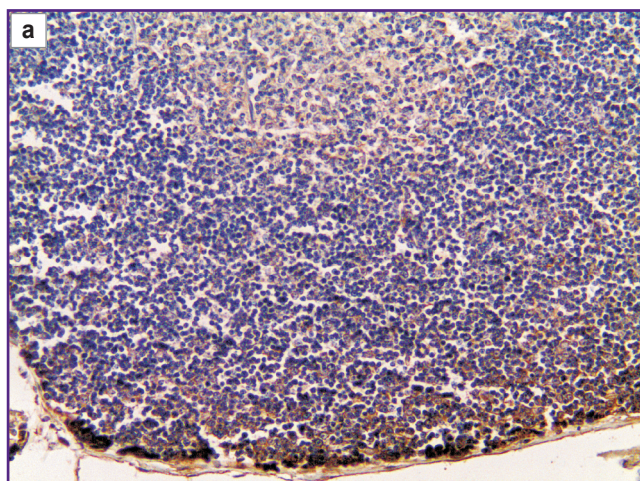


Рис. 2. Экспрессия белка Вах клетками тимуса: а — у крыс контрольной группы через 6 нед после начала эксперимента; Вах-позитивные клетки визуализируются только в субкапсулярном слое; докраска гематоксилином; ×200; б — у крыс опытной группы, потреблявших ДДТ в дозе 7,77±0,17 мкг/кг/сут в течение 6 нед; Вах-позитивные клетки значительно чаще встречаются в мозговом веществе и почти не встречаются в субкапсулярном слое коркового вещества; докраска гематоксилином; ×200

в субкапсулярном слое, так и на границе коркового и мозгового вещества. Вах-позитивные клетки визуализировались только в субкапсулярном слое (рис. 2, а).

После потребления ДДТ в дозе 1,890±0,086 мкг/кг/сут в течение 6 нед в тимусе граница между корковым и мозговым веществом стала менее четкой. Процентное содержание клеток, экспрессирующих белок р53, в два раза превышало соответствующие значения контрольной группы (см. рис. 1). р53-позитивные клетки располагались диффузно в корковом веществе, а также встречались и в мозговом веществе. Увеличилось количество Вах-позитивных клеток в субкапсулярном слое, а также отмечено их появление в более глубоких слоях коркового вещества (рис. 2, б). Единичные Вах-позитивные клетки выявлены в мозговом веществе. Исследование пролиферативной активности клеток тимуса крыс показало статистически значимое усиление пролиферации *ex tempore* тимоцитов по сравнению с контрольной группой

(рис. 3). Установлено статистически значимое снижение концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс по сравнению со значениями контрольной группы аналогичного срока исследования (см. таблицу). Отмечалось также повышение концентрации ИЛ-2, но оно не достигло статистической значимости.

У крыс, потреблявших ДДТ в дозе 7,77±0,17 мкг/кг/сут в течение 6 нед, структура тимуса не имела выраженных отличий. Доля клеток, экспрессирующих белок р53, превышала значения контрольной группы, но была меньше, чем в группе крыс, потреблявших ДДТ в дозе 1,890±0,086 мкг/кг/сут в течение аналогичного срока (см. рис. 1). р53-позитивные клетки располагались в основном на границе коркового и мозгового вещества. Вах-позитивные клетки значительно чаще встречались в мозговом веществе и почти не встречались в субкапсулярном слое коркового вещества (см. рис. 2, б). Отмечалось значительное усиление пролиферации *ex tempore* как по сравне-

нию с контрольной, так и по сравнению с предыдущей опытной группой более чем в три раза (см. рис. 3). Отмечено снижение концентрации кортикостерона в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой и по сравнению с опытной группой, получавшей меньшую дозу ДДТ, наблюдалось снижение концентрации ИЛ-2 (см. таблицу).

Строение тимуса крыс контрольной группы через 10 нед после начала эксперимента не имело существенных различий по сравнению с предыдущим сроком исследования. Соотношение коркового и мозгового вещества не изменялось. При этом количество клеток, экспрессирующих белок р53, увеличилось более чем в два раза (см. рис. 1), что связано с развитием возрастной инволюции. р53-позитивные клетки располагались в основном субкапсулярно. Значительно выросло количество Вах-позитивных клеток. Они располагались диффузно как в корковом, так и в мозговом веществе. Встречались Вах-позитивные клетки среди ретикулярных эпителиоцитов. Значения показателей пролиферации тимоцитов в контрольной группе через 10 нед не отличались от предыдущего срока исследования. Возрастная динамика также выразилась в снижении содержания ИЛ-2 в сыворотке крови (см. таблицу).

Через 10 нед потребления ДДТ в дозе 1,890±0,086 мкг/кг/сут доля коркового вещества тимуса крыс не отличалась от показателей контрольной группы, а также группы, потреблявшей ДДТ в этой же дозе в течение 6 нед. Очаговое опустошение коркового вещества тимуса, обусловленное гибелью лимфоцитов, стало более заметным в сравнении с группой, получавшей такую же дозу ДДТ в течение меньшего срока. Процентное содержание клеток, экспрессирующих белок р53, не изменилось по сравнению с контрольной группой. р53-позитивные клетки располагались диффузно в корковом, а также группами в мозговом веществе. Количество и локализация Вах-

позитивных клеток также не изменились по сравнению с контрольной группой. Было отмечено снижение пролиферации *ex tempore* тимоцитов по сравнению с контрольными значениями. Также отмечено статистически значимое снижение концентрации кортикостерона в сыворотке крови по сравнению со значением контрольной группы и существенное увеличение концентрации ИЛ-2.

После потребления крысами ДДТ в дозе 7,77±0,17 мкг/кг/сут в течение 10 нед отмечали уменьшение размеров долек тимуса. В корковом слое наблюдались участки гибели лимфоцитов и клетки с гиперхромными пикнотичными ядрами. Экспрессия белка р53 клетками тимуса возросла по сравнению с контрольной и опытной группой аналогичного срока исследования. р53-позитивные клетки обнаруживались в корковом и мозговом веществе, отмечалось увеличение их количества в субкапсулярном слое. Отмечено увеличение количества Вах-позитивных клеток в мозговом веществе, как лимфоцитов, так и ретикулярных эпителиоцитов. Однако в корковом веществе у этих животных Вах-позитивные лимфоциты встречались реже, чем в других группах исследования. Пролиферативная активность тимоцитов уменьши-

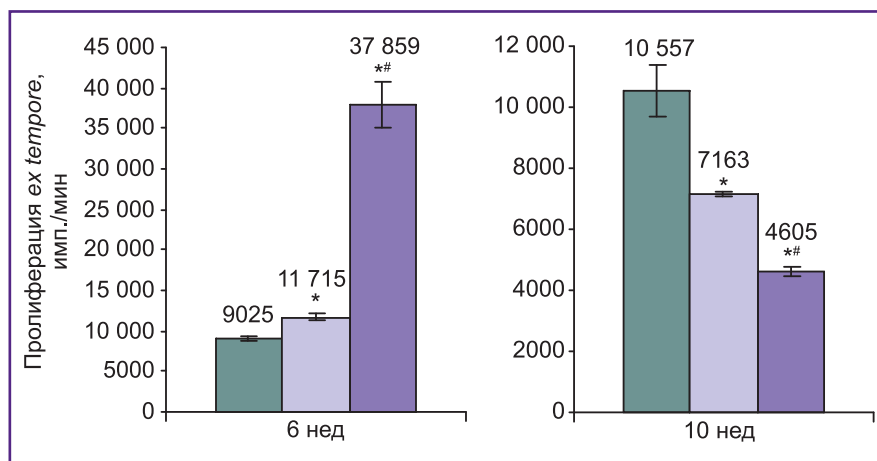


Рис. 3. Пролиферативная активность *ex tempore* клеток тимуса контрольной и опытных групп через 6 и 10 нед после начала эксперимента; * — статистически значимое отличие от контрольной группы; # — от группы, потреблявшей меньшую дозу ДДТ

Изменения концентрации ИЛ-2 и кортикостерона в сыворотке крови крыс, потреблявших ДДТ в различных дозах в течение 6 и 10 нед (M±m)

Показатели	Потребление ДДТ 6 нед			Потребление ДДТ 10 нед		
	Контрольная группа	1,890±0,086 мкг/кг/сут	7,77±0,17 мкг/кг/сут	Контрольная группа	1,890±0,086 мкг/кг/сут	7,77±0,17 мкг/кг/сут
ИЛ-2, пг/мл	118,39±16,14	129,17±33,15	76,07±9,25*	69,07± 9,58^	249,24±24,48*^	121,94±12,68*^#
Кортикостерон, нг/мл	139,09±10,99	108,41±1,94*	103,25±6,61*	127,12±8,99	108,09±2,75*	97,36±5,61*

Пр и м е ч а н и е. * — статистически значимое отличие значений от контрольной группы; # — от группы, потреблявшей меньшую дозу ДДТ; ^ — от группы меньшего срока исследования.

лась в сравнении как с контрольной, так и с опытной группой, получавшей меньшую дозу в течение 10 нед (см. рис. 3). Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс этой группы не отличалась от предыдущего срока исследования, при этом была значительно ниже, чем в контрольной группе. Уровень сывороточного ИЛ-2 повысился по сравнению с контрольным, но был значительно ниже, чем в группе сравнения.

Обсуждение. На сегодняшний день известны по меньшей мере две формы апоптоза тимоцитов, одна из которых обусловлена действием глюкокортикоидов [6]. Вторая форма апоптоза тимоцитов происходит при участии белка р53, экспрессируемого тимоцитами [7, 8].

При изучении гистологических препаратов тимуса крыс всех опытных групп в первую очередь была отмечена гибель тимоцитов, проявляющаяся наличием участков опустошения коркового вещества. Для установления механизмов запуска апоптоза тимоцитов при действии на них низких доз ДДТ было проведено определение концентрации кортикостерона в сыворотке крови, являющегося основным глюкокортикоидом у крыс. В нашем исследовании во всех опытных группах отмечено снижение уровня кортикостерона по сравнению с контрольными значениями. Этот факт позволяет утверждать, что в тимусе крыс под действием ДДТ задействован не глюкокортикоид-индуцируемый путь апоптоза.

Потребление ДДТ крысами в дозе $1,890 \pm 0,086$ мкг/кг/сут в течение 6 нед приводило к усилению апоптоза тимоцитов, которое выражалось в двукратном увеличении по сравнению с контрольной группой процентного содержания клеток, экспрессирующих белок р53, и Вах-позитивных клеток. При этом более чувствительными к воздействию ДДТ оказались дифференцированные лимфоциты, располагающиеся в мозговом веществе, что подтверждалось «смещением» экспрессии Вах из субкапсулярного в более глубокие слои коркового вещества и мозговое вещество.

В группе, потреблявшей ДДТ в дозе $7,77 \pm 0,17$ мкг/кг/сут в течение 6 нед, как и в группе крыс, потреблявших ДДТ в дозе $1,890 \pm 0,086$ мкг/кг/сут, отмечалась гибель лимфоцитов в корковом веществе. Значительное усиление апоптоза клеток, выявленное в группе, потреблявшей меньшую дозу ДДТ в течение того же срока исследования, дает возможность предположить, что при данной, более высокой, дозе ДДТ массовая гибель клеток могла наблюдаться ранее, что и приводило к появлению участков опустошения коркового вещества. Гибель клеток вызывала увеличение концентрации ИЛ-2, являющегося фактором пролиферации лимфоцитов [9, 10], что в свою очередь приводило к реактивному усилению пролиферации тимоцитов. Увеличение пролиферации активирует р53-зависимый путь апоптоза тимоцитов, однако при воздействии ДДТ связь между этими параметрами не прослеживалась, что подтверждает роль низких доз инсектицида в гибели тимоцитов. Таким образом, ДДТ даже в низ-

кой дозе способен усиливать гибель клеток в тимусе преимущественно р53-зависимым путем апоптоза.

Через 10 нед после начала эксперимента в тимусе крыс наблюдали отличия, связанные как с воздействием ДДТ, так и с возрастными изменениями. У животных контрольной группы отмечалось усиление гибели лимфоцитов, о чем свидетельствует двукратное увеличение доли р53-позитивных клеток и появление в корковом веществе участков гибели лимфоцитов. Эти факты говорят о начале возрастной инволюции тимуса у крыс, которая развивается после наступления периода полового созревания [11].

В отличие от контрольной группы, где апоптозу подвергались в основном лимфоциты субкапсулярного слоя, в группе, потреблявшей ДДТ в дозе $1,890 \pm 0,086$ мкг/кг/сут в течение 10 нед, отмечали апоптоз как дифференцирующихся, так и высоко дифференцированных лимфоцитов, что и приводило к увеличению очагов опустошения коркового вещества. Тот факт, что процентное содержание р53-позитивных клеток не отличалось от значений контрольной группы, можно объяснить значительной гибелью тимоцитов на более раннем сроке. Это в сочетании со снижением их пролиферативной активности не дает возможности восстановить численность данной клеточной популяции, несмотря на повышение синтеза ростового фактора лимфоцитов ИЛ-2.

В тимусе крыс, потреблявших ДДТ в течение 10 нед в дозе $7,77 \pm 0,17$ мкг/кг/сут, увеличивалась экспрессия белка р53 клетками тимуса по сравнению с контрольной и опытной группой аналогичного срока исследования, потреблявшей меньшую дозу ДДТ. Вах-позитивные клетки также встречались чаще, в том числе и среди ретикулярных эпителиоцитов. В более ранних наших исследованиях [12, 13] мы обнаруживали увеличение количества тимических телец в стадии распада; данный факт также подтверждает увеличение гибели ретикулярного эпителия, что в свою очередь является фактором, способствующим снижению пролиферации и дифференцировки тимоцитов. Сравнение морфологических и функциональных изменений органа через 10 нед после начала эксперимента показало, что их характер одинаков в контрольной и опытных группах, но темпы гибели клеток тимуса при потреблении ДДТ были ускорены. Поскольку в контрольной группе более длительного срока исследования наблюдались возрастные изменения тимуса, то схожесть показателей может говорить о более быстром течении инволютивных процессов у крыс, получавших низкие дозы ДДТ, несмотря на уменьшение секреции кортикостероидов и повышение синтеза ИЛ-2.

Заключение. Хроническое воздействие низких доз дихлордифенилтрихлорэтана в пределах максимального допустимых уровней его содержания в продуктах питания вызывает апоптотическую гибель тимоцитов, в основном при участии р53-зависимого пути апоптоза. Активация апоптоза тимоцитов приводит к реактивному усилению их пролиферативной активности,

но более длительное воздействие инсектицида подавляет пролиферативный потенциал клеток. Увеличение дозы и времени воздействия дихлордифенилтрихлорэтана усиливает гибель как лимфоцитов, так и ретикулярных эпителиоцитов, что приводит к росту инволютивных изменений органа, несмотря на снижение синтеза кортикостерона.

Финансирование исследования. Исследование выполнено в рамках государственного задания, номер госрегистрации 01201158024.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Bachman M.J., Keller J.M., West K.L., Jensen B.A. Persistent organic pollutant concentrations in blubber of 16 species of cetaceans stranded in the Pacific Islands from 1997 through 2011. *Sci Total Environ* 2014; 488–489: 115–123, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.073>.
2. Velasco A., Hernández S., Ramírez M., Ortíz I. Detection of residual organochlorine and organophosphorus pesticides in agricultural soil in Rio Verde region of San Luis Potosi, Mexico. *J Environ Sci Health B* 2014; 49(7): 498–504, <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.896670>.
3. Bouwman H., Booyens P., Govender D., Pienaar D., Polder A. Chlorinated, brominated, and fluorinated organic pollutants in Nile crocodile eggs from the Kruger National Park, South Africa. *Ecotoxicol Environ Saf* 2014; 104: 393–402, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.005>.
4. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПин 2.3.2.1078-01. 2008. *Gigienicheskie trebovaniya bezopasnosti i pishchevoy tsennosti pishchevykh produktov. SanPin 2.3.2.1078-01* [Hygienic safety and nutrition value requirements of food products. Sanitary Regulations and Norms 2.3.2.1078-01]. 2008.
5. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Влияние активации иммунной системы материнского организма в ранние сроки беременности на постнатальный морфогенез органов иммунной системы потомства. Проблемы репродукции 2013; 19(1): 73–77. Yaglova N.V., Obernikhin S.S. The influence of maternal immune system activation in early

pregnancy on offspring immune system development. *Problemy reproduksii* 2013; 19(1): 73–77.

6. Takai K., Shiraishi K., Fujikawa K., Hiragino T., Konishi M., Aoki A., Suga A., Fujimoto M., Nakamura K., Naito K. Effects of glucocorticoids on rat thymus and apoptosis. *Transplant Proc* 2000; 32(7): 2082–2085, [https://doi.org/10.1016/s0041-1345\(00\)01578-5](https://doi.org/10.1016/s0041-1345(00)01578-5).

7. Линькова Н.С., Полякова В.О., Кветной И.М. Соотношение апоптоза и пролиферации клеток тимуса при его инволюции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2011; 151(4): 442–444. Lin'kova N.S., Polyakova V.O., Kvetnoy I.M. The relationship of thymocyte apoptosis and proliferation in thymolysis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* 2011; 151(4): 442–444.

8. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35(4): 495–516, <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>.

9. Porter B.O., Malek T.R. Thymic and intestinal intraepithelial T lymphocyte development are each regulated by the gammac-dependent cytokines IL-2, IL-7, and IL-15. *Semin Immunol* 2000; 12(5): 465–474, <https://doi.org/10.1006/smin.2000.0264>.

10. Liao W., Lin J.-X., Leonard W.J. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol* 2011; 23(5): 598–604, <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2011.08.003>.

11. Shanley D.P., Aw D., Manley N.R., Palmer D.B. An evolutionary perspective on the mechanisms of immunosenescence. *Trends Immunol* 2009; 30(7): 374–381, <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.05.001>.

12. Родиченко Е.П., Яглова Н.В., Яглов В.В., Обернихин С.С. Влияние хронического воздействия низких доз ДДТ на морфофункциональное состояние тимуса крыс. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова 2013; 2: 36–41. Rodichenko E.P., Yaglova N.V., Yaglov V.V., Obernikhin S.S. Changes in rat thymus morphology and function after chronic exposure to low doses of DDT. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik im. akademika I.P. Pavlova* 2013; 2: 36–41.

13. Yaglova N.V., Timokhina E.P., Yaglov V.V. Effects of low-dose dichlorodiphenyltrichloroethane on the morphology and function of rat thymus. *Bull Exp Biol Med* 2013; 155(5): 701–704, <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2230-1>.