

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Биологический факультет

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»

На правах рукописи

Гао Юань

**ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель

д.м.н., профессор О.В. Макарова

Москва – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
2.1. Сравнительная анатомия толстой кишки у человека и мыши	8
2.2. Характеристика экспериментальной модели колита, индуцированного декстрансульфатом натрия	17
2.3. Клинические, морфологические проявления и иммунологические нарушения при язвенном колите.....	20
2.4. Иммунологические механизмы воспалительных заболеваний кишечника и экспериментального колита	22
2.5. Роль регуляторных Т-лимфоцитов в механизмах воспалительных заболеваний кишечника	25
2.6. Половые морфофункциональные различия иммунной системы у человека и экспериментальных животных в норме и при воспалительных заболеваниях.....	29
2.7. Половые физиологические различия толстой кишки в норме	32
2.8. Влияние стероидных гормонов на эпителиальный барьер кишечника	33
2.9. Половые различия воспалительных заболеваний кишечника	39
2.10. Роль половых стероидных гормонов в механизмах язвенного колита у человека и экспериментальных животных	40
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
3.1. Материалы.....	43
3.2. Методы исследования	45
4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	49
4.1. Половые различия морфологии слизистой оболочки ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 контрольной группы.....	49

4.2. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при экспериментальном остром язвенном колите.....	62
4.2.1. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и иммунологических нарушений при экспериментальном остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН	63
4.2.2. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и иммунологических нарушений при экспериментальном тяжелом остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН	88
4.3. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при экспериментальном хроническом язвенном колите.....	105
5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	133
6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	154
7. ВЫВОДЫ	156
8. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	157
9. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	159

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Функционирование иммунной системы в норме, при адаптации и различных заболеваниях, включая инфекционно-воспалительные, зависит от генотипа и факторов окружающей среды (Klein S.L. et al., 2012), а половые различия иммунного ответа и течения воспалительных процессов определяются кариотипом и содержанием половых гормонов (Симонова Е.Ю., 2012; Sankaran-Walters S. et al., 2013). Показано, что тестостерон оказывает супрессорное, а эстрогены – активирующее действие на иммунную систему (Foo Y.Z. et al., 2016; Roved J. et al., 2017; Edwards M. et al., 2018).

Изучение механизмов развития язвенного колита является актуальной медико-биологической проблемой, так как во всем мире отмечается неуклонный рост заболеваемости, его течение сопровождается развитием тяжёлых осложнений, а у 10% больных развивается колоректарный рак (Ватутин Н.Т. и соавт., 2015; М'Кома А.Е., 2013). По данным J.J. Kim et al. (2012), у мужчин язвенный колит встречается в 1,4 раза чаще, чем у женщин. Воспалительный процесс при язвенном колите локализован в толстой кишке, однако, данные литературы о половых структурно-функциональных различиях толстой кишки, её слизистого барьера и местной иммунной системы у человека и лабораторных животных представлены в единичных работах. Показано, что в норме по сравнению с мужчинами у женщин иммунная система кишечника более активна, так как у них выше содержание $Ki67^{+}CD4^{+}$ лимфоцитов и уровень экспрессии $TGF\beta$ в слизистой оболочке тонкой кишки (Sakaran-Walters S. et al., 2013).

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови у здоровых лиц характеризуются тем, что у женщин выше содержание Т-хелперов и Т-регуляторных лимфоцитов (Das B.R. et al., 2008; Strindhall J. et al., 2013). Половые различия воспалительного процесса и иммунологических нарушений при язвенном колите у человека и экспериментальных животных не изучены. В работах, посвящённых

исследованию субпопуляций лимфоцитов у больных острым язвенным колитом без учета пола, показано снижение содержания FoxP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови и повышение их числа в ободочной кишке (Maul J. et al., 2005; Holmén N. et al., 2006; Saruta M. et al., 2007). На модели острого и хронического язвенного колита, индуцированного декстрансульфатом натрия (ДСН), только у самцов мышей C57Bl/6, были охарактеризованы морфологические особенности воспалительных реакций и нарушений эпителиального барьера (Золотова Н.А. и соавт., 2014; Золотова Н.А. и соавт., 2016).

В связи с тем, что половые различия воспалительного процесса, нарушений эпителиального барьера и иммунной системы толстой кишки в норме и при остром и хроническом колите недостаточно изучены, тема исследования является актуальной.

Цель работы: выявить половые различия воспалительного процесса, нарушений эпителиального барьера и иммунной системы при остром и хроническом язвенном колите у мышей C57Bl/6.

Задачи исследования

1. Выявить гистофизиологические различия эпителиального барьера ободочной кишки в норме у самок и самцов мышей C57Bl/6.
2. Определить субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке в норме у самок и самцов мышей.
3. Оценить различия выраженности язвенного и воспалительного процессов в ободочной кишке у самок и самцов мышей при индуцированном 1% и 5% декстрансульфатом натрия остром язвенном колите разной тяжести, и хроническом язвенном колите.
4. Провести оценку нарушений эпителиального барьера ободочной кишки у самок и самцов мышей при индуцированном 1% декстрансульфатом натрия остром и хроническом язвенном колите.

5. Определить субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишки у самок и самцов мышей при индуцированном 1% и 5% декстрансульфатом натрия острым и хроническом язвенном колите.

Основные положения, выносимые на защиту

1. По сравнению с самками у самцов мышей в норме в эпителиальной выстилке ободочной кишки больше секреторных клеток, а в слизистой оболочке лимфоидных узелков. В отличие от самцов, у самок физиологическое функционирование иммунной системы обеспечивается высокой активностью супрессорных реакций, реализуемых Т-регуляторными лимфоцитами.
2. При экспериментальном остром и хроническом язвенном колите тяжесть воспалительного процесса, выраженность нарушений эпителиального барьера и иммунной системы зависят от пола.
3. При остром колите разной тяжести язвенный и воспалительный процессы протекают тяжелее у самцов, а при хроническом – у самок.
4. При остром язвенном колите у самцов в отличие от самок в большей мере выражены нарушения эпителиального барьера, супрессия воспалительного процесса и иммунных реакций.
5. При хроническом язвенном колите у самок выявлена иммуносупрессорная недостаточность и компенсаторные изменения эпителиального барьера.

Научная новизна

1. Впервые у экспериментальных животных выявлены половые гистофизиологические различия ободочной кишки: по сравнению с самками у самцов среди эпителиальных клеток больше секреторных. В ободочной кишке, брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови содержание иммуносупрессорных Т-регуляторных лимфоцитов у самцов ниже, чем у самок.
2. По сравнению с самцами у самок тяжесть воспалительного процесса в ободочной кишке при остром язвенном колите ниже, а при хроническом – выше.

3. Содержание субпопуляций лимфоцитов в ободочной кишке, брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови зависит от пола и выраженности воспалительного процесса.
4. Тяжелое течение хронического язвенного колита у самок сопровождается снижением в периферической крови содержания Т-регуляторных лимфоцитов, а в ободочной кишке их повышением, что сочетается с увеличением количества В-лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в эксперименте результаты о половых различиях воспалительного процесса, нарушениях эпителиального барьера и субпопуляционного состава лимфоцитов в ободочной кишке, лимфатических узлах и периферической крови при остром и хроническом язвенном колите имеют важное значение для понимания общих закономерностей воспалительных реакций и иммунологических нарушений при язвенном колите у человека с учетом пола.

Данные о взаимосвязи половых различий воспалительного процесса в ободочной кишке и изменениях содержания Т-регуляторных лимфоцитов при экспериментальном колите являются базовыми для проведения исследований по изучению половых особенностей язвенного колита у человека и разработке с учётом пола новых подходов к иммунотропной терапии, влияющей на дифференцировку Т-регуляторных лимфоцитов.

Методология и методы диссертационного исследования

На экспериментальной модели острого и хронического язвенного колита, индуцированного декстрансульфатом натрия, с помощью гистологических, гистохимических и иммунологических методов проведена оценка половых различий изменений эпителиального барьера, воспалительного процесса и субпопуляционного состава лимфоцитов в ободочной кишке, брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови.

Личный вклад соискателя заключается в планировании и проведении экспериментов, статистической обработке данных, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов обоснована достаточным количеством экспериментальных групп и объемом данных для каждой из них, воспроизводимостью результатов, использованием современных адекватных методов исследования, корректным применением статистических методов анализа, критической оценкой результатов исследования и сопоставлением их с актуальными литературными данными.

Материалы диссертации доложены на Всероссийской научной конференции «Экологические аспекты морфогенеза» (Воронеж, 2015), научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016), на V-съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017), на конференции с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (Рязань, 2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 5 статей, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в Web of Science и Scopus; рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности, и 4 публикации в материалах российских и международных конференций.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Половые различия воспалительного процесса и иммунологических нарушений при экспериментальном язвенном колите

2.1. Сравнительная анатомия толстой кишки у человека и мыши

В пищеварительном тракте у человека и мыши выделяют тонкую (двенадцатиперстная, тощая, подвздошная) и толстую (слепая, ободочная, прямая) кишку (Treuting P.M. et al., 2012). Переваривание и всасывание основной части питательных веществ происходит в тонкой кишке. Общая длина тонкой кишки у человека составляет 5-6 м, у мыши – 35 см. Внутренняя поверхность имеет характерный рельеф благодаря наличию ворсинок и крипт. Число ворсинок в двенадцатиперстной и тощей кишке составляет – 22-40 на 1 мм², несколько меньше их в подвздошной кишке – 18-31 на 1 мм². Кишечные крипты представляют собой углубления эпителия в виде многочисленных трубочек, лежащих в собственной пластинке слизистой оболочки (СПСО) (Wolczuk K. et al., 2011).

Толстая кишка выполняет функцию всасывания воды из химуса, формирования каловых масс и экскреции различных веществ (Treuting P.M. et al., 2012). Абсорбция воды и солей максимально выражена в правом отделе толстой кишки у человека и проксимальном у мыши. В отличие от тонкой кишки, в толстой отсутствуют ворсинки, в криптах увеличено количество бокаловидных клеток и она обильно заселена микрофлорой. Бокаловидные клетки толстой кишки секретируют слизь, которая покрывает эпителиальную выстилку поверхности слизистой оболочки и крипт, являясь первым барьером, препятствующим контакту бактерий с эпителием. Кроме того, она является смазочным средством, облегчающим продвижение содержимого в анальном направлении (Treuting. P.M. et al., 2012). Основные анатомические различия толстой кишки у человека и мыши представлены в таблице 1.

Стенка толстой кишки состоит из внутренней слизистой оболочки (tunica mucosa), подслизистой основы (tela submucosa), внутреннего циркулярного и

внешнего продольного слоев мышечной оболочки, (*tunica muscularis*) и серозной оболочки (*tunica serosa*). У человека наружный продольный мышечный слой всех отделов толстой кишки, за исключением прямой, представлен 3-мя продольными лентами, их длина меньше длины кишки, поэтому вместе с полулунными складками они обеспечивают образование гаустр (мешотчатых вздутий). В толстой кишке у мыши, в отличие от человека, продольный мышечный слой непрерывный, поэтому гаустры отсутствуют.

Моторная деятельность кишечника, процесс всасывания питательных веществ и воды в тонкой и толстой кишке регулируется вегетативной и энтеральной нервной системами. Последняя образует в разных слоях стенки подслизистое (мейснерово) и межмышечное (ауэрбахово) сплетения. Важную роль в функционировании кишечника играют также интерстициальные клетки Кахала, выполняющие пейсмейкерную функцию (Sanders K.M., Ward S.M., 2006; Furness J.B. 2012).

Толстая кишка у мыши и человека делится на 3 отдела: слепую, ободочную и прямую кишку. Длина слепой кишки у мышей составляет около одной трети от всей длины толстой кишки, в ней обитает большое количество бактерий. Размер слепой кишки у мышей зависит от типа питания. Комменсальные бактерии толстой кишки синтезируют свободные жирные кислоты, витамин К, также некоторые витамины группы В. Мыши путем копрофагии обогащают пищевой рацион витаминами. Слизистая оболочка ободочной кишки мыши формирует складки: поперечные в проксимальном отделе и продольные в дистальном. Прямая кишка у мыши очень короткая – 1-2 мм, с резким переходом в анальный канал, выстланный плоским эпителием, она легко выпадает при патологических состояниях (Treuting P.M. et al., 2012).

Таблица 1

Сравнительная характеристика структурной организации толстой кишки у человека и мыши

Параметры	Мышь	Человек
Длина ободочной кишки	14 см	1м
Лентовидные мышечные полосы и гаустры	Нет; только гладкий серозный слой	Имеются
Аппендикс	Нет	Имеется
Слепая кишка	Слепой мешок, размерам 3-4 см; есть поперечные складки слизистой оболочки; тонкая подслизистая основа и мышечная оболочка; крипты прямые; размер зависит от типа пищи и кишечной микрофлоры. Брожение, всасывание витаминов К и В	Проксимальный отдел толстой кишки, лежащий ниже илеоцекального клапана
Ободочная кишка	В проксимальном отделе поперечные складки слизистой оболочки, в дистальном - продольные	Поперечные складки слизистой оболочки по всей длине, их выраженность в дистальном направлении увеличивается
Прямая кишка	Короткая (≈ 1 мм); склонность к пролапсу, выстлана плоским эпителием	Длина 8-15 см, расположена в полости таза, выстлана железистым эпителием
Анус	В основании хвоста, снизу, короткий	Длина около 4 см
Состав клеток в СПСО	Лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, эозинофилы, тучные клетки	Лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, эозинофилы, тучные клетки
Подслизистая основа	Тонкая	Толстая
Мышечная пластинка слизистой оболочки	Тонкая	Тонкая
Мышечная оболочка	Утолщается в дистальном отделе	Толщина одинаковая по всей длине
Слепая кишка	Богата лимфоидной тканью	Богата лимфоидной тканью
Абсорбирующие колоноциты	Присутствуют	Присутствуют
Бокаловидные клетки	Присутствуют	Присутствуют
Энтероэндокринные клетки	Присутствуют	Присутствуют
Клетки Панета	Отсутствуют	Присутствуют в слепой кишке
М клетки	Присутствуют	Присутствуют

У человека правый отдел толстой кишки представлен слепой, восходящей ободочной и правой половиной поперечно-ободочной кишки. Он соответствует слепой кишке и проксимальному отделу ободочной кишки у мыши. Слепая кишка у человека имеет относительно меньшие размеры, чем у мыши и имеет тонкий отросток – аппендикс. Левый отдел толстой кишки у человека начинается от срединной линии поперечной ободочной кишки, и включает нисходящий отдел ободочной, сигмовидную и прямую кишку, которая заканчивается анальным отверстием. Левый отдел толстой кишки у человека соответствует медиальному и дистальному отделам толстой кишки у мыши.

Различные отделы толстой кишки имеют физиологические и структурные особенности. С.Ф. Ortega-Cava et al. (2003) изучали распределение экспрессии толл-подобных рецепторов (TLR – Toll-like receptor) в ободочной кишке у мышей Balb/c и показали, что в медиальном отделе выше экспрессия TLR2, а в дистальном – TLR4 рецепторов. На материале биоптатов у здоровых лиц методом cDNA-microarray в эпителиальных клетках слизистой оболочки восходящей (правый отдел) и нисходящей (левый отдел) ободочной кишки выявлены различия по экспрессии 214 генов у взрослых лиц и 87 – у плодов (Glebov O.K. et al. 2003). Правый и левый отделы толстой кишки различаются по метаболизму глюкозы, полиаминов и масляной кислоты, концентрации желчных кислот (Glebov O.K. et al., 2003). Рак толстой кишки чаще развивается в восходящей ободочной кишке, кроме того, опухоли, локализованные в этом отделе, имеют более злокачественное течение (Glebov O.K. et al., 2003). Воспалительные процессы у человека и мышей более выражены в левом отделе толстой кишки (Glebov O.K. et al., 2003). В исследованиях Е.А. Белоусовой (2002) показано, что язвенный колит у человека поражает преимущественно нисходящий отдел ободочной кишки.

Слизистая оболочка толстой кишки состоит из трех слоев: эпителия, собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО) и мышечной пластинки слизистой оболочки. СПСО толстой кишки у человека образована соединительной тканью и содержит капилляры, лимфатические сосуды, клетки иммунной системы: лимфоциты, небольшое количество макрофагов и плазматических клеток, тучные

клетки и иногда единичные нейтрофилы и эозинофилы. В СПСО и подслизистой основе выявляются лимфоидные узелки – одиночные и агрегированные. У человека в подслизистое основе, особенно в зоне прикрепления брыжейки, определяется жировая ткань, которая отсутствует у мышей. Слизистая оболочка и подслизистая основа у мышей относительно тонкие, поэтому у них часто, особенно, при воспалении, образуются дивертикулы.

Лимфоидные узелки слизистой оболочки и подслизистой основы, рассеянные в этих слоях лимфоциты, плазмциты, нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, а также брыжеечные лимфатические узлы, через которые проходит лимфа, оттекающая от кишечника, формируют локальный компартмент иммунной системы толстой кишки. В норме он поддерживает толерантность к микрофлоре и пищевым антигенам, а при попадании в кишечник патогенов может развивать быстрый эффективный иммунный ответ (Mowat A.M., Viney J.L., 1997).

Толстая кишка выстлана однослойным призматическим эпителием. Он содержит у человека и мыши шесть основных популяций дифференцированных клеток: каёмчатые энтероциты, которые в толстой кишке называются колоноцитами, бокаловидные клетки, эндокринные клетки, щеточные клетки, а также М-клетки (Яглов В.В., Яглова Н.В., 2012). Клетки Панета у человека в норме выявляются только в слепой кишке, и они обычно отсутствуют в других отделах толстой кишки. В толстой кишке у мыши клеток Панета нет (табл. 1).

Стволовые эпителиальные клетки располагаются в глубине крипт тонкой и толстой кишки, они характеризуются высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, хроматин в их ядре распределен диффузно. В цитоплазме выявляются свободные рибосомы, мембранные органоиды развиты слабо (Bach S.P. et al., 2000). Дифференцировка стволовых клеток происходит по двум путям (Bjerknes E., Cheng H., 1999): по пути образования каёмчатых энтероцитов (колоноцитов) и пути секреторных клеток (клетки Панета, эндокринные, бокаловидные), а также щеточных клеток. Ключевую роль в процессе дифференцировки клеточного эпителия играет сигнальный путь Notch (рис. 1). С высокой экспрессией внутриклеточного Notch-домена в эпителии кишки у мышей

связано уменьшение популяции секреторных клеток (Zecchini V. et al., 2005). Напротив, ингибирование Notch-пути приводит к увеличению количества секреторных клеток в эпителиальном пласте (van Es J.H. et al., 2010). Wnt/ β -катенин сигнальный путь регулирует пролиферацию эпителия в криптах и дифференцировку эпителиальных клеток ворсинок (Kim B.M., 2007).

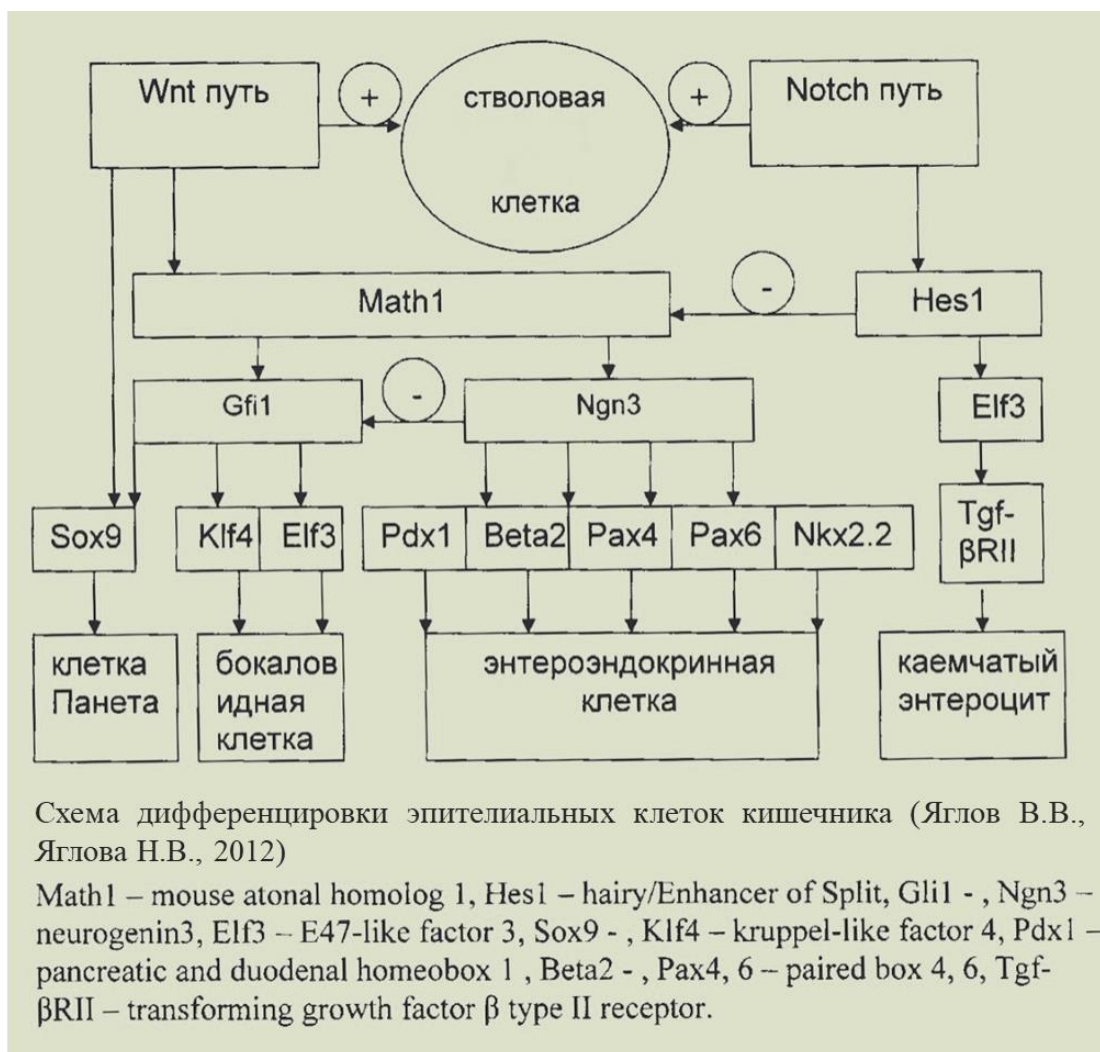


Рис. 1. Дифференцировка стволовых клеток, располагающихся в глубине крипт толстой и тонкой кишки, идет по двум путям: по пути образования энтероцитов и колоноцитов и по пути образования секреторных клеток (клетки Панета, эндокринные клетки, бокаловидные клетки).

Бескаёмчатые энтероциты — недифференцированные клетки эпителия крипт кишечника, имеют призматическую форму и базально расположенные ядра. Бескаёмчатые энтероциты обладают высокой митотической активностью и могут дифференцироваться в каёмчатые энтероциты и секреторные клетки.

Основную массу эпителиального пласта составляют каёмчатые энтероциты

или колоноциты, которые обеспечивают всасывание и транспорт питательных веществ, поступающих с пищей. Каёмчатые энтероциты имеют призматическую форму, немного расширяясь в своей верхней части. На апикальной поверхности каёмчатого энтероцита расположено от 1500 до 3000 микроворсинок, увеличивающих всасывающую поверхность кишки в 30–40 раз. Микроворсинки, покрывающий их гликокаликс и апикальная мембрана вместе образуют исчерченную каёмку. Каёмчатые энтероциты секретируют ряд ферментов и метаболитов, необходимых для пристеночного пищеварения. Они осуществляют всасывание продуктов гидролиза питательных веществ: аминокислот и пептидов, жиров, сахаров, воды и ионов (Wolczuk K. et al., 2011).

Бокаловидные клетки продуцируют слизь. Они накапливают гранулы муциногена, которые, абсорбируя воду, набухают и превращаются в муцин (основной компонент слизи). При этом клетки обретают форму бокала, суженного в базальной и расширенного в апикальной части. Затем набухшая верхняя часть бокаловидной клетки разрушается, слизь переходит в просвет органа, клетка приобретает призматическую форму и снова начинает накапливать муциноген. Слизь, выделяемая бокаловидными клетками, служит для увлажнения поверхности слизистой оболочки кишечника и способствует продвижению химуса, а также участвует в процессах пристеночного пищеварения (Маев И.В. и соавт., 2005). Содержимое толстой кишки вследствие абсорбции воды становится плотным, для его эвакуации необходим муцин, который продуцируется бокаловидными клетками, в связи с этим отношение бокаловидных клеток к каёмчатым колоноцитам возрастает по направлению от слепой к прямой кишке (Яглов В.В., Яглова Н.В., 2012).

Эндокринные клетки эпителия кишечника входят в состав диффузной эндокринной эпителиальной системы (ДЭЭС). ДЭЭС – эволюционно древнее и крупнейшее звено эндокринной системы животных и человека (Яглов В.В., Яглова Н.В., 2012). Она образована комплексом одиночно расположенных рецепторно-эндокринных клеток, которые находятся в эпителиальных тканях слизистых оболочек органов пищеварительной, дыхательной, мочеполовой систем

и кожи. Клетки ДЭЭС получают сигналы как из внешней, так и из внутренней среды организма, и в ответ реагируют выделением биогенных аминов и пептидных гормонов, реализуя широкий диапазон биологических реакций. В структурно-функциональном отношении клетки ДЭЭС подразделяют на открытый и закрытый типы. Клетки открытого типа достигают просвета органа своим апикальным полюсом. На нем имеются микроворсинки, содержащие рецепторные белки, т.е. клетки открытого типа являются хеморецепторными для содержимого полых органов. Клетки же закрытого типа не граничат с полостью органа и получают информацию о состоянии внутренней среды организма.

В толстой кишке встречаются следующие виды клеток ДЭЭС: D, D1, Ес, L, PP. D-клетки находятся в панкреатических островках, в слизистой оболочке желудка, тонкой и толстой кишок. Они относятся к клеткам закрытого типа и секретируют соматостатин. D1-клетки присутствуют в панкреатических островках поджелудочной железы, а также в стенке желудка, тонкой и толстой кишки. Они выделяют ВИП гормон (вазоактивный интестинальный полипептид). Ес-клетки - самый многочисленный вид эндокринных клеток, встречаются в поджелудочной железе, слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, воздухоносных путях и легких. Это клетки открытого типа, секретируют серотонин и субстанцию Р. L-клетки - вторая по численности популяция эндокринных клеток, они находятся в слизистой оболочке подвздошной и толстой кишки и продуцируют энтероглюкагоны: глюкагоноподобный пептид-1 (Glucagon-like peptide-1, ГПП-1) и глюкагоноподобный пептид-2 (Glucagon-like peptide-2, ГПП-2). PP-клетки содержатся в поджелудочной железе, в слизистой оболочке пилорического отдела желудка, тонкой и толстой кишки. Они выделяют панкреатический полипептид (Яглов В.В., Яглова Н.В., 2012).

Эпителиальная выстилка кишечника и продуцируемая ею слизь формируют эпителиальный барьер толстой кишки. Эпителиальный барьер механически препятствует адгезии и инвазии микроорганизмов, за счет содержащихся в слизи антимикробных пептидов и секреторных иммуноглобулинов участвует в регуляции состава микрофлоры и, благодаря наличию на эпителиальных клетках

рецепторов к бактериальным антигенам и их способности продуцировать ряд цитокинов, влияет на иммунные реакции (Roda G. et al., 2010; Merga Y. et al., 2014).

В желудочно-кишечном тракте «обитает» более 450 видов микроорганизмов (Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В., 2007). Наиболее колонизированным отделом желудочно-кишечного тракта у человека является толстая кишка, где общая популяция бактерий, культивируемых микробиологическими методами, составляет 10^{11} - 10^{13} КОЕ/мл, и они представлены преимущественно строгими анаэробами – *Bacteroides spp.*, *Clostridia*, *Ruminococcus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium spp.*, а также *Peptococcus*. Количество факультативных анаэробов примерно в 1000 раз меньше, среди них определяются *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и представители семейства *Enterobacteriaceae*. Дрожжи также составляют часть микробного сообщества, однако в относительно небольшом количестве – 10^2 - 10^4 КОЕ/мл содержимого кишечника. В просветной микрофлоре толстой кишки мыши *Mus musculus* содержание лактозоферментирующих эшерихий колеблется от 10^6 до 10^7 КОЕ/г, энтерококков *E.fecium* – от 10^5 до 10^6 КОЕ/г, лактобактерий – 10^7 - 10^8 , а энтерококки *E.faecalis* не высеваются (Strober W., 2008).

Микробные сообщества в организме человека представлены двумя основными типами – локализованными в биопленках (пристеночная микрофлора) и находящимися в свободном (суспензионном) виде (просветная микрофлора). Микроорганизмы, заключенные в биопленку, располагаются в верхней части слоя слизи. Слой слизи между биопленкой и поверхностью эпителия называется буферным, в нем содержатся антимикробные молекулы. Между микрофлорой и эпителием устанавливается равновесие, благодаря которому воспалительные процессы не развиваются, а бактерии и продукты их жизнедеятельности не имеют возможности для взаимодействия с рецепторами эпителиоцитов (Sansone P.J., 2011).

Комменсальная микрофлора препятствует колонизации кишечника условнопатогенными и патогенными микроорганизмами, ферментирует белки,

жиры, высокомолекулярные углеводы, стимулирует моторику кишечника, способствует всасыванию воды и ионов, нейтрализует многие токсические субстраты и метаболиты (нитраты, ксенобиотики, гистамин, мутагенные стероиды), синтезирует ряд необходимых человеку веществ: витамины группы В (В1, В2, В6, В12), витамины С, К, фолиевую и никотиновую кислоты, оказывает иммуномодулирующее действие (Кучумова С.Ю. и соавт., 2011).

На изменения состава нормальной микрофлоры кишечника оказывают влияние неблагоприятная экологическая обстановка, неправильный рацион питания, психоэмоциональные нагрузки, лекарственные препараты и другие воздействия. Дисбиотические состояния выявляют у 80-100% пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника (Friswell M. et al., 2010).

Таким образом, физиологическое функционирование кишечника обеспечивается кишечной микрофлорой, эпителиальным барьером, а также локальным компартментом иммунной системы и энтеральной нервной системой.

2.2. Характеристика экспериментальной модели колита, индуцированного декстрансульфатом натрия

Экспериментальный язвенный колит, индуцированный декстрансульфатом натрия (ДСН), является адекватной моделью язвенного колита у человека – заболевания неизвестной этиологии с рецидивирующим течением, поражающего слизистую оболочку толстой кишки (Тертычный А.С. и соавт., 2011; Shokrani M., 2012). При язвенном колите у больных в слизистой оболочке определяется полнокровие, множественные геморрагии, эрозии, язвы, псевдополипы. Воспаление, как правило, локализовано в слизистой оболочке и подслизистом слое, оно сопровождается инфильтрацией этих слоев плазматическими клетками и лимфоцитами. Отмечается расширение кровеносных сосудов, набухание эндотелия; разрастание грануляционной ткани, богатой сосудами (Тертычный А.С. и соавт., 2011; Shokrani M., 2012).

Модель экспериментального острого язвенного колита, индуцированного ДСН, была предложена I. Okayasu et al. (1990). Эта модель воспроизводится в 100%

случаев. ДСН вызывает острое, а в отдаленном периоде – хроническое воспаление толстой кишки с инициацией процессов канцерогенеза.

Декстраны $((C_6H_{10}O_5)_n)$ – группа бактериальных полисахаридов, состоящих из остатков α -D-глюкопиранозы и представляющих собой разветвленные цепи различной молекулярной массы. Декстраны широко используются в промышленности в качестве сорбентов, в научно-техническом производстве для создания сефадексов, а также в медицине для приготовления плазмозаменителей противошокового и гемодинамического действия. Декстрансульфат натрия (dextran sodium sulfat) – это сульфатированная модификация декстрана с противоионом Na^+ . Структура его молекулы представлена на рис. 2.

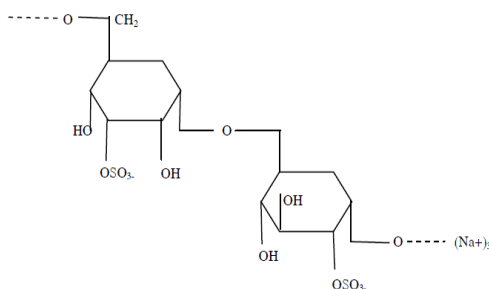


Рис. 2. Молекулярная структура декстрансульфата натрия

В работе S. Kitajima et al. (2000) показано, что использование в эксперименте ДСН разной молекулярной массы приводит к развитию колита разной тяжести в разных отделах толстой кишки. При введении ДСН с молекулярной массой 40кДа колит развивается преимущественно в дистальном отделе ободочной кишки, а использование ДСН с молекулярной массой 500кДа не приводит к развитию воспалительного процесса (Kitajima S. et al., 2000).

Колит, индуцированный приемом ДСН, характеризуется обширным повреждением слизистой оболочки толстой кишки: образованиям язв и эрозий, десквамацией эпителия, воспалительной инфильтрацией СПСО различной выраженности. В участках, где эпителиальная выстилка сохранена, отмечается гипертрофия бокаловидных клеток. В подслизистом слое наблюдается обширный отек, воспалительная инфильтрация и полнокровие кровеносных и

лимфатических сосудов (Yan Y. et al., 2009; Kim J.J. et al., 2012).

Несмотря на популярность данной модели в экспериментальных исследованиях, механизм действия ДСН остается не ясным. По данным M. Perše, A. Cerar (2012) ДСН оказывает токсическое действие на эпителиальные клетки толстой кишки, нарушает целостность эпителиального барьера, что приводит к увеличению его проницаемости для крупных молекул, включая ДСН, а также антигенов и бактерий. Кроме того, ДСН оказывает муколитическое действие, он обладает свойствами сорбента, что приводит изменению реологических свойств покровного вязко-эластического слоя слизи (Абдулаева С.О., 2011; Johansson M.E. et al., 2013).

В соответствии с литературными данными, при возникновении колита ключевую роль в развитии воспалительного процесса играет микрофлора толстой кишки, так как у гнотобиотических мышей колит не развивается даже при пролонгированном приеме ДСН различной концентрации и молекулярной массы (Gersemann M. et al., 2012). Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* показано, что пероральное введение ДСН приводит к нарушению эпителиального барьера толстой кишки. В результате этого происходит агрегация микрофлоры на поверхности эпителиальной выстилки и дальнейшая транслокация микроорганизмов и их антигенов (Smith R., Studd J.W., 2012). Взаимодействие бактерий с эпителиоцитами и макрофагами приводит к запуску воспалительных реакций. Микробные антигены активируют иммунокомпетентные клетки, что индуцирует выраженный поликлональный Т-клеточный ответ, который не может контролироваться противовоспалительными цитокинами и Т-регуляторными лимфоцитами (Smith R., Studd J.W., 2012). При ДСН-индуцированном колите усиливается секреция провоспалительных цитокинов макрофагами и лимфоцитами и миграция нейтрофилов в слизистую оболочку кишки. Вследствие образования медиаторов воспаления, таких как активные формы кислорода, оксид азота и простагландины и др., выраженность альтеративных изменений и активность воспалительного процесса увеличиваются (Bian Z. et al., 2012).

2.3. Клинические, морфологические проявления и иммунологические нарушения при язвенном колите

Этиология и патогенез язвенного колита изучены недостаточно. Заболевание считается многофакторным, оно развивается в результате комплексного взаимодействия генетических и иммунологических причин – предрасполагающие факторы, а также повышенной восприимчивости к воздействию факторов внешней среды – триггерные факторы (Ткачев А.В. и соавт., 2012).

Существует генетическая предрасположенность к заболеванию, которая связана с полигенными нарушениями. Так, на 12-ой хромосоме обнаружен ген, полиморфные варианты которого связаны с высокой частотой развития язвенного колита, тогда как на 16-ой хромосоме установлен локус, связанный с семейным вариантом болезни Крона. Локусы, предположительно связанные с развитием воспалительных заболеваний кишечника – IBD (Inflammatory bowel disease), обнаружены на хромосомах 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 16, 19-ой (локусы IBD1-8). Наиболее изученным считается локус IBD1: NOD2/CARD15, расположенный на 16-ой хромосоме. Кодированные в нем белки запускают каскад воспалительных процессов в толстой кишке (Бочков Н.П., 1999; Белоусова Е.А., 1999; Филин В.А. и соавт., 2000; Адлер Г., 2001; Schreiber S., Heining T., 1995).

По данным многоцентровых исследований участие инфекционных факторов в развитии воспалительных заболеваний кишечника (эшерихий, клостридий, иерсиний, кишечного кампилобактера, псевдотуберкулезных микобактерий и целого ряда вирусов, в том числе вируса кори) не получило признания (Адлер Г., 2001; Каншина О.А., Каншин Н.Н., 2002). Тем не менее, роль кишечной микрофлоры не отрицается: она не относится к этиологическим факторам воспалительных заболеваний кишечника, но трактуется как один из стимулов, приводящих к нарушению иммунного ответа.

В патогенезе воспалительных заболеваний ведущая роль принадлежит дисбалансу цитокинов с провоспалительным и противовоспалительным (регуляторным) действием. Воспаление при язвенном колите связывают с дефицитом интерлейкинов ИЛ-10 и ИЛ-4 и избытком цитокинов макрофагального

происхождения (Сичинава И.В., Горелов А.В., 2009).

В клинике выделяют кишечные, внекишечные и общие проявления язвенного колита. К кишечным проявлениям относят диарею (чаще) или запор, нарушение консистенции кала, патологические примеси в нем, боли в животе и снижение массы тела. Симптоматика зависит от распространенности поражения, и она не всегда коррелирует с тяжестью заболевания. При активном язвенном колите диарея почти всегда сопровождается выделением крови (Никулина И.В., 1997; Алиева Э.И., 2003; Кушнир И.Э., 2005).

Внекишечные проявления обусловлены иммунопатологическими процессами: при активном язвенном колите отмечается поражение слизистой оболочки полости рта (афтозный стоматит, глоссит, гингивит, язвенный стоматит) и кожи (узловатая эритема – множественные болезненные и воспаленные узелки на передней поверхности голеней). Описаны поражения кожи в виде гангренозной пиодермии, которая плохо поддается терапии. Отмечаются также воспалительные изменения суставов – плечевых, локтевых, лучезапястных, коленных, голеностопных.

Общие признаки воспаления характеризуются повышением температуры, слабостью, вялостью, снижением гемоглобина в результате кровопотери, уменьшением гематокрита, лейкоцитозом, тромбоцитозом, увеличением СОЭ, повышением содержания С-реактивного белка и гипоальбуминемией вследствие гиперкатаболизма, голодания, экссудации плазменных белков, а также наличием лейкоцитов и эритроцитов в копрограмме (Ткачев А.В. и соавт., 2012). Маркером язвенного колита служат pANCA – перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела, которые выявляются у 68% больных в сыворотке крови (Birimberg-Schwartz L. et al., 2016).

Язвенный колит характеризуется первичным поражением толстой кишки, которое обычно начинается в прямой кишке и распространяется в проксимальном направлении. При обширном поражении процесс может перейти на подвздошную кишку (с развитием ретроградного илеита) и аппендикс. В результате массивного

поражения толстой кишки, частых обострений и длительного течения заболевания, ее длина уменьшается по сравнению с нормой (Адлер Г., 2001; Алиева Э.И., 2003; Халиф И.Л., Лоранская И.Д., 2004). При эндоскопическом исследовании показано, что диффузное воспаление слизистой оболочки толстой кишки при язвенном колите сочетается с отеком, гиперемией и эрозиями.

Воспалительный процесс при язвенном колите затрагивает, как правило, только слизистую оболочку толстой кишки и не распространяется на подслизистый слой, хотя при тяжелых формах заболевания в воспалительный процесс могут вовлекаться все оболочки кишки (Адлер Г., 2001; Алиева Э.И., 2003). При морфологическом исследовании в активную фазу заболевания обнаруживаются отек СПСО, расширение и полнокровие капилляров, воспалительная инфильтрация, в основном, из плазмócитов, лимфоцитов и, особенно, нейтрофилов. Встречаются крипт-абсцессы, которые представляют собой скопления нейтрофилов в основании крипт. Криптит сочетается с обильным выделением слизи из бокаловидных клеток, повышенной скоростью обновления эпителия и последующим истощением бокаловидных клеток. Крипты деформированы, количество их уменьшено (Каншина О.А., Каншин Н.Н., 2002; Алиева Э.И., 2003; Никитина Н.В., 2005; Buller H. et al., 2002).

2.4. Иммунологические механизмы воспалительных заболеваний кишечника и экспериментального колита

Реакции врожденного иммунитета – первая линия защиты от антигенных, в том числе инфекционных воздействий, а также других экзогенных и эндогенных молекул. Реакции врожденного иммунитета реализуются в течение нескольких часов после инвазии микроорганизмов (Medzhitov R., Jr. Janeway. C., 2000), в результате активируются макрофаги и нейтрофилы, элиминирующие патогены. В ободочной кишке в норме количество макрофагов небольшое, но оно увеличивается даже при реактивных невоспалительных процессах и нарушении состава микрофлоры, в частности, при ожирении (Чернышева М.Б., 2017). Макрофаги слизистой оболочки толстой кишки в норме представлены

невоспалительным фенотипом с низкой экспрессией рецепторов, активирующих реакции врожденного иммунитета. Макрофаги продуцируют провоспалительные цитокины – ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ФНО α (Selby W.S. et al., 1983; Smith P.D. et al., 2005). Дендритные клетки слизистой оболочки, являющиеся антиген-презентирующими, экспрессируют рецепторы к патоген-ассоциированным молекулярным паттернам, в частности TLR. Эти клетки при активации продуцируют провоспалительные цитокины – ИЛ-6 и ИЛ-12 (Hart A.L. et al., 2005). Дендритные клетки мигрируют в неинкапсулированную лимфоидную ткань, где они активируют наивные Т-лимфоциты. TLR дендритных клеток могут быть активированы как комменсальной, так и патогенной микрофлорой. В первом случае это приводит к иммунологической толерантности, а во втором – к запуску TLR-сигналинга с последующей активацией NF-kB-пути и воспалительному ответу (Zhang S.Z. et al., 2006).

Наряду с врожденным важную роль в развитии острого и хронического колита играет адаптивный иммунитет, реакции которого развиваются в течение длительного времени. При стимуляции иммунной системы антигенами активируются процессы пролиферации, дифференцировки и миграции Т- и В-лимфоцитов. Последние дифференцируются в плазмочиты, продуцирующие антигенспецифические иммуноглобулины, главным образом, секреторные IgA. Основными субпопуляциями Т-клеток являются CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты и CD4⁺ Т-хелперы (Тх) 1 и 2 типов, FoxP3⁺ регуляторные клетки и Тх-17 лимфоциты (Silva F.A. et al., 2016).

В ответ на внутриклеточные патогены под воздействием ИФН α/β и ИЛ-12 наивные CD4⁺ Т-лимфоциты дифференцируются в Тх1-клетки, секретирующие провоспалительные цитокины – ИФН γ , ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-12, они активируют клеточный иммунитет. При паразитарных инфекциях в присутствии ИЛ-4 наивные CD4⁺ Т-клетки дифференцируются в Тх2, продуцирующие ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13, Тх2 клетки активируют гуморальный иммунитет. Тх17 лимфоциты участвуют в ответе на внеклеточные бактерии и грибы, дифференцируются под действием ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-23, TGF β (трансформирующий фактор роста β) и

продуцируют в больших количествах ИЛ-17, являющийся хемоаттрактантом для нейтрофилов (Pennock N.D. et al., 2013).

В последние десятилетия показано, что в механизмах развития язвенного колита важную роль играют Т-регуляторные лимфоциты (Treg), оказывающие противовоспалительный и иммуносупрессорный эффекты (Brighenti S., Ordway D.J., 2016). Treg подавляют воспалительные реакции, вызванные комменсальными микроорганизмами, пищевыми антигенами и эндогенными молекулами. Они способны предотвращать не только потенциально повреждающие аутоиммунные реакции, но и подавлять защитные реакции иммунитета. Количество этих клеток является решающим фактором в процессах регуляции иммунных и воспалительных процессов. При низком количестве Treg могут развиваться летальные аутоиммунные заболевания, а при высоком – иммуносупрессия (Brighenti S., Ordway D.J., 2016). Treg могут оказывать супрессорное действие на иммунные реакции в течение короткого или длительного периода. Выделяют естественные регуляторные Т-лимфоциты (natural Treg, nTreg) и индуцированные (induced Treg, iTreg) (Josefowicz S.Z. et al., 2012). Естественные регуляторные $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ nTreg дифференцируются в тимусе (Hori S. et al., 2003; Fontenot J.D. et al., 2003) и составляют от 2 до 3% среди всех лимфоцитов периферической крови (Kang S.M. et al., 2007). Антигенная стимуляция активирует процессы их дифференцировки и миграции. Индуцированные iTreg дифференцируются из незрелых Т-лимфоцитов в очагах воспаления и регионарных по отношению к ним лимфатических узлах (Huang Y., Chen Z., 2016). Treg продуцируют ИЛ-10 и $TGF\beta$, которые ингибируют активность $Tx1$, $Tx2$, $Tx17$ лимфоцитов (Huang Y., Chen Z., 2016).

В толстой кишке присутствуют миллиарды пищевых и бактериальных антигенов, но эпителиальный барьер и иммунная система предотвращают развитие воспалительного процесса. Ключевую роль в этом процессе играют Т-регуляторные лимфоциты. При воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) Регуляторные Т-лимфоциты оказывают противовоспалительное и иммуносупрессорное действие (Pedros C. et al., 2016). Поэтому в последнее

десятилетие к этой субпопуляции лимфоцитов привлечено внимание многих исследователей.

2.5. Роль регуляторных Т-лимфоцитов в механизмах воспалительных заболеваний кишечника

Идея о специфической популяции регуляторных Т-клеток возникла в 1969 году, когда Х. Nishizaka и Т. Sakakura показали, что тимэктомия, проведенная в неонатальном периоде, приводит к развитию аутоиммунных процессов, и они могут быть предотвращены адоптивным переносом Т-клеток (Sakaguchi S. et al., 1982). В последующем были определены специфические фенотипические маркеры клеток, предотвращающих развитие аутоиммунного процесса. Ряд авторов показали, что Т-лимфоциты, регулирующие функциональное состояние иммунной системы у человека, экспрессируют $CD4^+CD25^+$ кластеры дифференцировки (Sakaguchi S. et al., 1995), $CD45RB$ (Morrissey P.J. et al., 1993; Powrie F. et al., 1993), транскрипционный фактор Foxp3 (Pedros C. et al., 2016).

$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторные Т-лимфоциты играют ключевую роль в предотвращении патологического иммунного ответа, включая аутоиммунные и воспалительные процессы, в том числе воспалительные заболевания кишечника, а также аллергические реакции (Pedros C. et al., 2016).

Большинство $Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов мигрируют из тимуса с током крови в периферические органы иммунной системы – селезенку, лимфатические узлы и компартменты неинкапсулированной лимфоидной ткани барьерных органов (естественные nTreg). Однако большая часть периферических регуляторных Т-лимфоцитов дифференцируется из конвенциональных (conventional) Т-клеток (T_{conv}) желудочно-кишечного тракта, локализованных в СПСО и лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником (индуцированные iTreg). На экспериментальных моделях колита показано, что T_{conv} ингибируют развитие воспаления в кишечнике (Sakaguchi S., 2004). Кроме тимических и периферических Treg выделяет третью субпопуляцию Т-регуляторных лимфоцитов с низкой экспрессией Foxp3, они характеризуются высоким уровнем

продукции ИЛ-10 (Groux H. et al., 1997; Bacchetta R. et al., 2002; Magnani C.F. et al., 2011).

Регуляторные Т-лимфоциты контролируют врожденный и адаптивный иммунитет, модулируя активацию $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток (Piccirillo C.A., Shevach E.M., 2001), NK-клеток (Azuma T. et al., 2003), В-лимфоцитов (Lim H.W. et al., 2005) и макрофагов (Shouval D.S. et al., 2014; Zigmond E. et al., 2014).

Показано, что у $Foxp3^+$ дефицитных мышей нарушается иммунологическая толерантность к собственным и экзогенным, в частности, бактериальным антигенам, с развитием воспалительного процесса в толстой кишке, легких и коже (Rubtsov Y.P. et al., 2008). В толстой кишке большая часть $Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов продуцируют ИЛ-10 (Maynard C.L. et al., 2007).

ИЛ10 – противовоспалительный цитокин, ингибирующий пролиферацию Т-лимфоцитов и секрецию провоспалительных цитокинов (Taga K. et al., 1993; de Waal Malefyt R. et al., 1993; Schandené L. et al., 1994; Moore K.W. et al., 2001; Kalkunte S. et al., 2011; Ouyang W. et al., 2011). У ИЛ-10-дефицитных гнотобиотических мышей развивается спонтанный хронический энтероколит (Rubtsov Y.P. et al., 2008). При экспериментальном колите у мышей ИЛ-10 подавляет активацию провоспалительных макрофагов, супрессирует $Tx1$, $Tx2$ и $Tx17$ “колитогенные” Т-клетки (Huber S. et al., 2011).

Кроме того, Т-регуляторные лимфоциты продуцируют $TGF\beta$. Он представлен $TGF-\beta1$, $TGF-\beta2$ и $TGF-\beta3$ молекулами, эффекты которых сходны. В кишечнике преобладает $TGF-\beta1$. У мышей, нокаутных по гену $TGF-\beta1$, развивается генерализованный лимфопролиферативный процесс с преимущественным поражением иммунной системы кишечника (Shull M.M. et al., 1992; Kulkarni A.B. et al., 1993).

В иммунном ответе при ВЗК важную роль играет ИЛ-35 – супрессорный цитокин, также продуцируемый регуляторными Т-лимфоцитами. Предполагают, что ИЛ-35 индуцирует дифференцировку T_{conv} в периферические регуляторные Т-лимфоциты (Pedros C. et al., 2016).

Т-регуляторные клетки содержат ферменты $CD39$ и $CD73$, которые могут

метаболизировать экстрацеллюлярные молекулы АТФ в АДФ, цАМФ и аденозин, регулирующие воспалительные и иммунные реакции. Таким образом, Т-регуляторные лимфоциты способствуют образованию аденозина, который воздействует на A_{2A} рецепторы иммунных клеток (антигенпрезентирующих и Т-эффекторных) и оказывает иммуномодулирующее и противовоспалительное действие (Alam M.S. et al., 2009; Linden J. 2011). Показано, что агонист A_{2A} аденозиновых рецепторов снижает выраженность воспаления при экспериментальном остром и хроническом колите (Odashima M. et al., 2005).

Т-регуляторные лимфоциты способны к индукции апоптоза эффекторных клеток. В цитоплазме регуляторных Т-лимфоцитов присутствует гранзим В, который осуществляет киллинг эффекторных и антигенпрезентирующих клеток (Gondek D.C. et al., 2005; Zhao D.M. et al., 2006). Этот механизм достаточно хорошо изучен при отторжении трансплантата и опухолевых процессах. Роль индукции апоптоза Т-регуляторными клетками при колите не ясна.

Выявлена высокая экспрессия Gal-9 на периферических, но не тимических регуляторных Т-лимфоцитах (Wu C. et al., 2014). Gal-9-дефицитные периферические Т-регуляторные лимфоциты не способны контролировать воспалительный процесс в кишечнике при их введении мышам с экспериментальным колитом (Zhu C. et al., 2005; Chou F.C. et al., 2009).

Foxp3⁺ Т-регуляторные клетки регулируют функционирование T_H1, T_H2, T_H17 клеток и T_{fh} – фолликулярных Т-хелперов. T_H1 клетки продуцируют ИНФγ и экспрессирует транскрипционный фактор TGFβ, они усиливают фагоцитарную и бактерицидную функцию макрофагов и активность CD8⁺ Т-клеток. T_H2 клетки продуцируют ИЛ4, ИЛ5, ИЛ13, экспрессирует транскрипционный фактор GATA3 и способствуют развитию аллергических реакций. T_H17 клетки продуцируют ИЛ17А, ИЛ21 и ИЛ22, экспрессирует транскрипционный фактор RORγt и активируют миграцию нейтрофилов. T_{fh} экспрессируют CXCR5 транскрипционный фактор BCL6 (B-cell lymphoma 6 protein). Эта субпопуляция лимфоцитов играет ключевую роль в гуморальных реакциях и активирует образование герминативных центров в лимфоидных узелках (Pedros C. et al.,

2016).

Полагают, что популяция Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов гетерогенна и она, возможно, будет разделена по функциям на высокоспециализированные субпопуляции (Pedros C. et al., 2016).

В литературе обсуждается вопрос, о том, что развитие воспалительных заболеваний кишечника может быть связано также с функциональными нарушениями Т-регуляторных лимфоцитов. Описано наблюдение семейного воспалительного заболевания кишечника с мутацией Foxp3 гена со снижением супрессорной активности Т-регуляторных лимфоцитов в системе *in vitro* (Okou D.T. et al., 2014). Кроме того, к развитию язвенного колита может приводить и мутация гена IL10R (Pedros C. et al., 2016).

В ряде работ показано, что при воспалительных заболеваниях кишечника у больных содержание Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови коррелирует с активностью заболевания (Maul J. et al., 2005; Wang Y. et al., 2011), а увеличение числа регуляторных Т-лимфоцитов в слизистой оболочке толстой кишки сопровождается снижением их показателя в периферической крови (Makita S. et al., 2004; Maul J. et al., 2005; Holmén N. et al., 2006; Saruta M. et al., 2007; Wang Y. et al., 2011). Следует отметить, что в этих работах исследования выполнены на группах пациентов, не являющихся репрезентативными по полу и возрасту.

Повышение содержание в периферической крови Foxp3⁺ лимфоцитов у больных с воспалительными заболеваниями кишечника сочетаются с повышением продукции T_H17 цитокинов (Ueno A. et al., 2013). В слизистой оболочке у больных язвенным колитом выявляются Foxp3⁺IL17⁺ Т-клетки, которые, вероятно, являются промежуточным этапом дифференцировки регуляторных Т-лимфоцитов.

Следует отметить, что окончательному пониманию функции Т-регуляторных лимфоцитов в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника, во многом, препятствует отсутствие универсальных маркеров, позволяющих идентифицировать эти клетки. Показано, что классические маркеры CD25 и Foxp3 экспрессируются также активированными эффекторными Т-клетками (Kmieciak M. et al., 2009).

Перспективным направлением в лечении воспалительных заболеваний кишечника является использование аутологичных Т-регуляторных лимфоцитов. При экспериментальном колите введение регуляторных Т-клеток снижает активность воспаления (Mottet C. et al., 2003). Показана эффективность применения аутологичных Т-регуляторных лимфоцитов у больных при отторжении трансплантата и сахарном диабете I типа (Trzonkowski P. et al., 2009). Однако, терапия заболеваний Т-регуляторными клетками, оказывающая иммуносупрессорное действие, может приводить к риску развития опухолей и тяжелому течению инфекционных заболеваний.

2.6. Половые морфофункциональные различия иммунной системы у человека и экспериментальных животных в норме и при воспалительных заболеваниях

В литературе представлено большое число работ, посвященных изучению половых различий частоты возникновения и тяжести течения инфекционно-воспалительных и аутоиммунных заболеваний у человека. По данным клинических исследований у мужчин чаще развиваются и тяжелее протекают заболевания, вызванные вирусными, бактериальными, грибковыми и паразитарными инфекционными агентами (Fish E.N., 2008; Gilliver S.C. et al., 2010; Klein S.L., 2012), а у женщин – аутоиммунные воспалительные процессы (Bouman A. et al., 2005; Angele M.K. et al., 2006; Harbo H.F. et al., 2013). Так, среди пациентов с аутоиммунными заболеваниями около 80% составляют женщины, но по сравнению с женщинами у мужчин в 2,5 раз выше показатель смертности от сепсиса (Rettew J.A. et al., 2008; Klein S.L., 2012).

При инфекционных заболеваниях у женщин в отличие от мужчин реакции врожденного и адаптивного иммунитета более выражены, например, грипп H1N1 у женщин протекает тяжелее и дает больше тяжелых осложнений, чем у мужчин (Rhim J.W. et al., 2012). Женщины по сравнению с мужчинами характеризуются более выраженной предсуществующей активацией иммунной системы кишечника (Sakaran-Walters S. et al., 2013).

По данным литературы половые гистофизиологические различия иммунной системы определяются кариотипом и влиянием стероидных половых гормонов – эстрогенов, прогестерона и андрогенов (Olsen N.J., Kovacs W.J., 1996; Bouman A. et al., 2005; Angele M.K. et al., 2006; Roberts C.W., 2010; Klein S.L., 2012).

Половые различия, обусловленные кариотипом, связаны с экспрессией генов половых хромосом (Fish E.N., 2008). Эти гены кодируют специфические белки, которые участвуют в запуске и регуляции механизмов врожденного и адаптивного иммунного ответа. К таким белкам относятся рецепторы интерлейкинов, толл-подобные рецепторы, транскрипционный фактор Foxp3 и многие другие (Fish E.N., 2008).

Половой диморфизм морфофункционального состояния иммунной системы, обусловленный воздействием стероидных половых гормонов, связан с уровнем их продукции и особенностями метаболизма. Важное значение имеет выраженность экспрессии рецепторов к половым гормонам клетками иммунной системы, репродуктивный статус, фаза эстрального или менструального цикла и ряд других факторов (Gilliver S.C., 2010; Klein S.L., Roberts C.W., 2010). Эстрогеновые рецепторы экспрессируются на Т-клетках, макрофагах и других иммунокомпетентных клетках центральных и периферических органов иммунной системы (Hewagama A. et al., 2009; Bouman A. et al., 2005; Giannoni E. et al., 2011). Эстрогены модулируют активность иммунной системы, воздействуя на продукцию цитокинов, функциональную активность клеток и их пролиферацию (Bonnelye E. et al., 2008; Subramanian M. et al., 2009; Chen F.P. et al., 2009; Giannoni E. et al., 2011). По данным A. Hewagama et al. (2009) у женщин выше экспрессия генов иммунокомпетентных клеток, отвечающих за развитие воспалительного ответа и цитотоксические реакции. Однако, A. Bouman et al. (2005) половых различий в экспрессии генов иммунокомпетентными клетками не выявили. Эстрогены влияют на иммунный ответ при тканевых повреждениях (Angele M.K. et al., 2000; Gregory M.S. et al., 2000). Выявлены половые различия продукции антител, пролиферации лимфоцитов и их цитотоксической активности (Cannon J.G. et al., 1997). Эстрогены и прогестерон усиливают цитотоксическую

активность путем активации генерации реактивных форм кислорода: у женщин по сравнению с мужчинами она выше (Burger D. et al., 2002; Egger M. et al., 2008). По данным M. Walecki et al. (2015) в периферической крови количество $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Т-регуляторных лимфоцитов у здоровых женщин значительно выше, чем у мужчин. Однако, введение мышам супрафизиологической дозы тестостерона приводит к увеличению количества Т-регуляторных лимфоцитов и их функциональной активности (Walecki M. et al., 2015). Механизм действия тестостерона на субпопуляцию регуляторных Т-лимфоцитов связан с тем, что активация андрогенных рецепторов приводит к изменению ацетилирования гистона H4, в то время как CpG регион Foxp3 гена в этот процесс не вовлекается (Walecki M. et al., 2015).

Половой диморфизм частоты развития и тяжести течения инфекционно-воспалительных и аутоиммунных заболеваний особенно ярко проявляется в репродуктивный период, что, очевидно, обусловлено влиянием половых гормонов на морфофункциональное состояние иммунной системы (Bouman A. et al., 2005; Angele M.K. et al., 2006; Roberts C.W., 2010). В связи с этим исследования, посвященные анализу половых гистофизиологических различий иммунной системы у человека, в основном касаются мужчин и женщин репродуктивного возраста. В обзоре A. Bouman et al. (2005) суммированы данные по этой проблеме. По сравнению с мужчинами у женщин выше содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови и уровень продукции противовоспалительных цитокинов (Pullianainen E. et al., 2001; Latham K.A. et al., 2003; Bouman A. et al., 2005). Показано, что у женщин репродуктивного возраста выраженность клеточно-опосредованного и гуморального иммунного ответа выше, чем у мужчин (Knoferl M.W. et al., 2002; Angele M.K. et al., 2006; Fish E.N., 2008).

Морфофункциональное состояние иммунной системы у женщин изменяется циклически в зависимости от колебания уровня эстрогенов и прогестерона в сыворотке крови (Fish E.N., 2008; Lee S. et al., 2010; Gilliver S.C., 2010).

Работы по изучению половых гистофизиологических различий иммунной системы у экспериментальных животных немногочисленны. В исследовании M.A.

De León-Nava et al. (2009) показано, что у самок мышей линии Balb/c, по сравнению с самцами, уровень продукции клетками селезенки ИНФ- γ выше, а ИЛ-4 – ниже. Г.В. Ковалевский (1996) при изучении развития тимуса в постнатальном онтогенезе крыс выявил половые различия массы этого органа у животных в возрасте 2-5 недель. Е.Ю. Симоновой (2012) показано, что у крыс Вистар половые различия морфофункционального состояния иммунной системы наиболее выражены в неонатальном периоде и в половой зрелости, тогда как в препубертатном периоде различия минимальны. Иммунная система новорожденных и половозрелых самок крыс Вистар по сравнению с самцами характеризуется морфофункциональными признаками более высокой активности. По сравнению с самцами у новорожденных самок выше показатели объёмной доли коркового вещества тимуса, уровня продукции Тх-1 цитокинов ИЛ-2 и ИНФ- γ и провоспалительного цитокина ФНО- α клетками селезенки, абсолютного и относительного количества Т-хелперов, незрелых ($CD4^+CD8^+$), активированных и регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови (Симонова Е.Ю., 2012; Симонова Е.Ю., Косырева А.М., 2012)

Таким образом, стероидные половые гормоны оказывают влияние на функционирование клеток иммунной системы, экспрессирующие эстрогеновые, прогестероновые и андрогеновые рецепторы. Связывание половых гормонов с их рецепторами приводит к изменению транскрипционной активности генов, участвующих в развитии иммунного ответа.

2.7. Половые физиологические различия толстой кишки в норме

Половые структурные и функциональные различия толстой кишки у млекопитающих – человека и лабораторных животных недостаточно изучены. J.W. Lampe et al., (1993) с помощью компьютерной томографии показали, что время прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту у женщин меньше, чем у мужчин. Концентрация в кале желчных кислот – литохолевой и дезоксихолевой – у мужчин выше, чем у женщин.

Выявлены половые различия иммунной системы кишечника. По сравнению

с мужчинами у женщин выше уровень пролиферации и активации Т-лимфоцитов периферической крови и кишечника (Sankaran-Walters S. et al., 2013). Авторы показали, что у женщин в периферической крови и СПСО тонкой кишки выше содержание Ki67⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов. Кроме того, у женщин в СПСО тонкой кишки выше экспрессия ИЛ17.

В ряде работ показано, что количественный и качественный состав микрофлоры у самцов и самок мышей различается (Mueller S. et al., 2006; Li M. et al., 2008; Qin J. et al., 2010; Bolnick D.I. et al., 2014; Shastri P. et al., 2015). E. Org et al. (2016) установили, что у самок мышей C57Bl/6 по сравнению с самцами в составе микрофлоры толстой кишки в 2,2 раза выше содержание *Coprococcus*, и в 802 раза – *Bacteroides*.

Литературные данные о половых гистофизиологических различиях толстой кишки у мышей в норме отсутствуют.

2.8. Влияние стероидных гормонов на эпителиальный барьер кишечника

Стероидные половые гормоны и глюкокортикоиды модулируют функциональное состояние эпителиального барьера, течение иммунных и воспалительных реакций во всех органах, включая толстую кишку. Предшественником этих гормонов является холестерин, из которого синтезируются как глюкокортикоиды – кортикостерон у грызунов и кортизол у человека, так и эстрадиол и тестостерон (рис. 3).

Метаболизм и функция женских половых стероидов в кишечнике интенсивно исследуются. Эстрогены и прогестерон оказывают влияние на желудочно-кишечный тракт, снижают тонус сфинктера пищевода, замедляют прохождение содержимого по толстой кишке, повышают двигательную активность гладкой мускулатуры желчного пузыря, стимулируют тонус сфинктера Oddi, уменьшают ток желчи через выводное отверстие желчевыводящего протока (Eliakim R. et al., 2000). Клинические эффекты влияния женских половых стероидных гормонов на функцию кишечника представлены в работе М.М. Heitkemper et al. (1988). В период менструации, по сравнению с фолликулярной и

лютеальной фазы, у женщин чаще наблюдаются запоры (Wald A. et al., 1981). Полагают, что физиологические эффекты половых стероидов опосредованы простагландинами, уровень которых в эти фазы менструального цикла увеличивается, что вызывает повышение секреторной активности и тонуса гладкой мускулатуры толстой кишки (Kane S. et al., 2002). M.A. Kamm et al. (1989), оценивая у женщин время прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту и массу кала, выявили зависимость этих показателей от фазы менструального цикла.

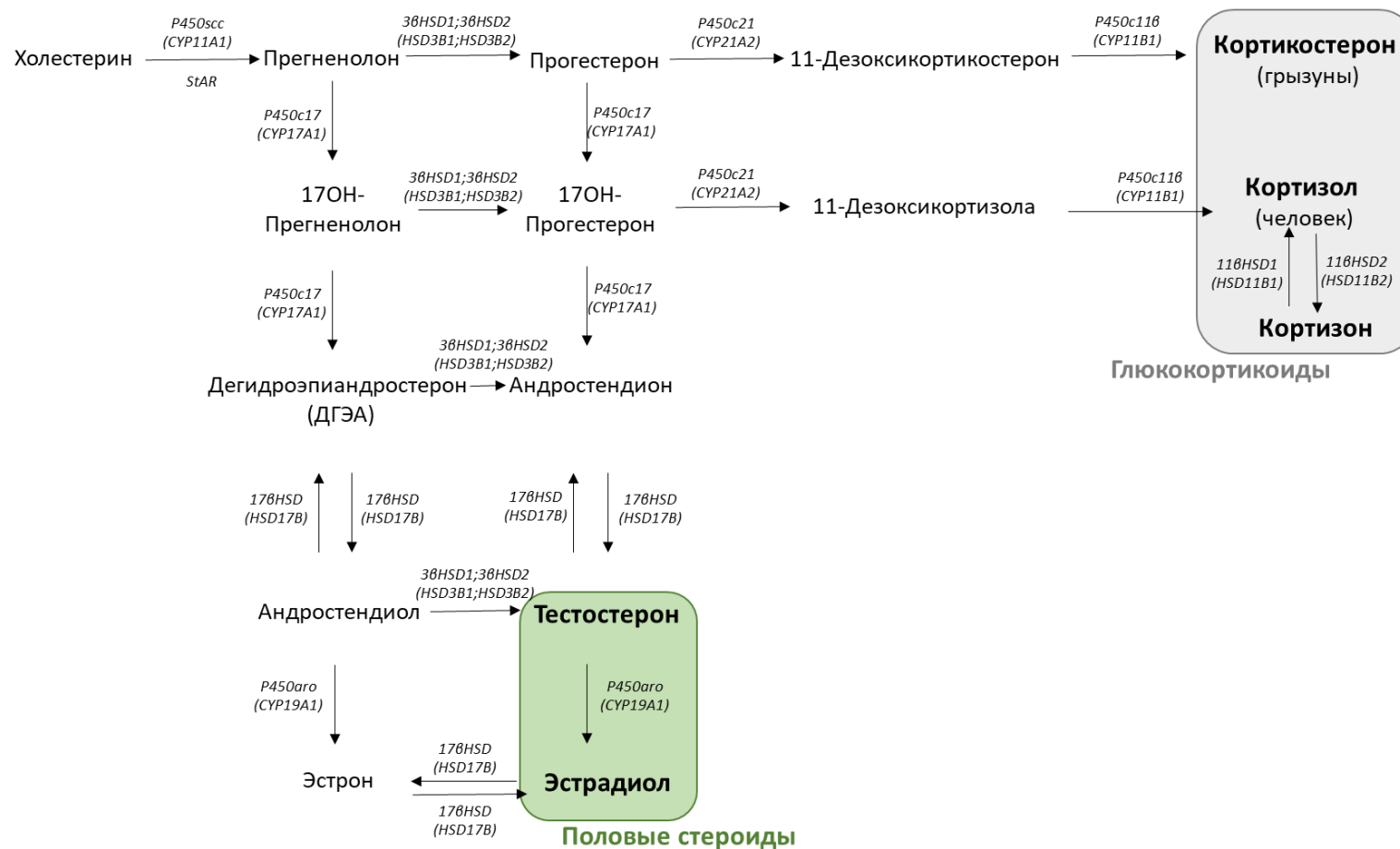


Рис. 3. Схема синтеза стероидных гормонов по G. Bouguen et al. (2015).

- Дегидрогеназы гидроксистероидов (Hydroxy steroid dehydrogenase-HSD)
- StAR белок (Signal transducer and activator of transcription) является транспортером, участвует в метаболизме холестерина в митохондриях, где катализируется P450scc

Кроме простагландинов, на моторику толстой кишки влияет также уровень серотонина (95% которого образуется Ес-клетками желудочно-кишечного тракта) и уровень экспрессии серотониновых рецепторов. У овариэктомированных самок мышей выявлено повышение уровня экспрессии рецепторов к серотонину (Camilleri M. et al., 2002; Scherl E., Frissora C.L., 2003).

Метаболизм эстрогенов, в основном эстрадиола; происходит в кишечных криптах толстого кишечника, эстрадиол оказывает существенное влияние на рост эпителиальных клеток ободочной кишки (Narayan S. et al., 1992; Sano T. et al., 2001). На эпителиальных клетках кишечника выявлен эстрогеновый рецептор- β (Estrogen receptor beta, ER β), проходящий через него сигнальный путь участвует в регуляции дифференцировки эпителиальных клеток (Campbell-Thompson M. et al., 2001; Konstantinopoulos P.A. et al., 2003; Wada-Hiraike O. et al., 2006; Looijer-van Langen M. et al., 2011, Sankaran-Walters S. et al., 2013).

В ряде работ показано, что при остром ДСН-индуцированном колите агонисты ER β -рецепторов оказывают положительный терапевтический эффект (Verdu E.F. et al., 2002).

К андрогенам относятся тестостерон, дигидротестостерон, дигидроэпиандростерон и его сульфатированная форма. Наиболее активная форма – дигидротестостерон, он образуется под влиянием фермента α -редуктазы, его количество составляет 5% от всего тестостерона. Известны 3 типа андрогенных рецепторов (Androgen Receptors – AR): цитоплазматические геномные AR, цитоплазматические негеномные AR, мембранные mAR (Sukocheva O.A. et. al., 2015). Молекулы тестостерона переносятся через цитоплазматическую мембрану и трансформируются в дигидротестостерон 5 α -редуктазой.

При активации сигнального пути геномных AR эффекты развиваются через 30-120 мин. AR локализованы в цитоплазме, где они связаны с белками теплового шока (HSPs). При взаимодействии с тестостероном и его производными происходят конформационные изменения AR и высвобождаются HSP, происходит димеризация, фосфорилирование и транслокация молекул в ядро. Микротубулярные белки и, особенно филамин А, принимают участие в

транспорте лиганд-AR комплекса в клеточное ядро. Гомо-димеризованный AR взаимодействует с транскрипционными ко-рецепторами и транскрипционным факторами, что приводит к специфической активации и супрессии генов-мишеней. Негеномные AR вызывают эффекты, которые развиваются быстро, через несколько секунд или минут после контакта андрогенов с клетками. Экстрануклеарный сигналинг AR осуществляется через цитоплазматические рецепторы, которые отличаются от традиционных ядерных AR. Происходит быстрая индукция каскада вторичных сигнальных мессенджеров – кальция и цАМФ, активация протеинкиназы С и митоген-активируемой протеинкиназы. Активация протеинкиназы С изменяет специфический профиль фосфорилирования, что приводит к изменению активности генов (Sukocheva O.A. et al., 2015). Тестостерон может связываться с мембранным mAR рецепторами. Однако эти рецепторы еще не охарактеризованы. Рецепторы mAR супрессируют пролиферацию клеток, подвижность опухолевых клеток и инициируют апоптотические пути.

Влияние андрогенов на эпителиальный барьер толстой кишки и на желудочно-кишечный тракт в целом в литературе не описано.

Глюкокортикоиды – стероидные гормоны, оказывающие иммунорегуляторное действие. Синтезируются не только в коре надпочечников, но и в других органах: в кишечнике (Cima I. et al., 2004; Sidler D. et al., 2011; Bouguen G., 2015), лёгких (Hostettler N. et al., 2012), коже (Thiboutot D. et al., 2003), мозге (Gomez-Sanchez C.E. et al., 1996; Croft A.P. et al., 2008; Little H.J., 2008), тимусе (Vacchio M.S. et al., 1994; Pazirandeh A. et al., 1999; Lechner O. et al., 2000). Возможность стероидогенеза в кишечнике была показана в 90-ых годах (Dalla-Valle L. et al., 1992). Механизмы регуляции продукции глюкокортикоидов в надпочечниках и кишечнике во много сходны. В надпочечниках синтез кортизола регулируется сложными взаимодействиями в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе. Белок SF1 (Steroidogenic Factor-1) связывается с промотором и индуцирует экспрессию StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein), стероидной гидроксилазы CYP450,

β -оксистероид-дегидрогеназы, а также рецепторов меланокортина-2 (MC2R) и рецепторов адренокортикотропного гормона (Schimmer B.P., White P.C., 2010). В отличие от надпочечников в кишечнике SF-1 не экспрессируется, вместо него эпителием кишечных крипт продуцируется его близкий гомолог LRH-1 (liver receptor homolog-1). M. Mueller et al. (2007) было показано, что LRH-1 индуцирует экспрессию ферментов CYP11A1 и CYP11B1 *in vitro* и в колоноцитах у мышей. В эпителиальных клетках ободочной кишки у человека экспрессия LRH-1 коррелирует с уровнем экспрессии генов ферментов 3β HSD и 11β HSD (3β - и 11β -гидроксистероиддегидрогеназ), которые метаболизируют у человека кортизол и кортизон, а также андростендиол в тестостерон. Показано, что LRH-1 регулирует синтез глюкокортикоидов в кишечнике при физиологических условиях (Bouguen G. et al., 2015). Активация иммунных реакций усиливает стероидогенез в кишечнике – синтез *de novo* кортикостерона во фрагментах ткани кишечника *ex vivo* повышается при активации Т-лимфоцитов (Cima I. et al., 2004). Синтез кишечных глюкокортикоидов происходит независимо от активации адаптивного звена иммунной системы (Noti M. et al., 2010).

Глюкокортикоидные гормоны надпочечников у грызунов представлены кортикостероном вследствие отсутствия CYP17 в надпочечниках, однако активность фермента CYP17 (P450c17) обнаружена у них в кишечнике. Показано, что двенадцатиперстная и толстая кишка способны продуцировать большое количество дегидроэпиандростерона (ДГЭА) (Keeney D.S. et al., 1995). Также авторы обнаружили в кишечнике эмбрионов мышей транскрипты CYP11A1 – фермента, участвующего в синтезе стероидов и 3β -гидростероид дегидрогеназу, что свидетельствует о синтезе стероидов. Стероиды и ферменты, участвующие в их синтезе, обнаружены в кишечнике у человека (Coste A. et al., 2007; Sidler D. et al., 2011; Bouguen G., 2015), грызунов (Cima I. et al., 2004), лягушек (Belvedere P. et al., 2001) и рыб (Wang Y., Ge W., 2004). I. Cima et al. (2004) впервые выявили с помощью радиоиммунологического метода синтез кортикостерона *de novo* в культивируемых *ex vivo* фрагментах кишечника мышей. Они показали, что активация Т-лимфоцитов усиливает стероидогенез.

Глюкокортикоиды кишечника регулируют дифференцировку клеток. Опосредованное воздействие глюкокортикоидов на созревание структур тонкой кишки было показано у грызунов и человека (Drozdowski L., Thomson A.B., 2009). Адреналэктомия крыс в препубертатном периоде при переходе на твердый корм приводит к замедлению созревания структур кишечной стенки, а введение гидрокортизона нормализует процессы развития. В исследованиях *in vitro* показано, что глюкокортикоиды поддерживают целостность эпителиального барьера в кишечнике. M.A. Voivin et al. (2007) на модели монослоя эпителиальных клеток кишечника человека, по данным оценки изменения трансэпителиального электрического сопротивления и проницаемости, показали, что глюкокортикоиды оказывают защитный эффект при добавлении в среду провоспалительного цитокина ФНО α . В системе *in vitro* установлено, что гидрокортизон регулирует уровень экспрессии генов, кодирующих белки и молекулы, которые участвуют в поляризации и образовании плотных контактов (Lu L. et al., 2011). A. Coste et al., (2007) установили, что при нокауте гена LRH-1 в эпителиальных клетках кишечника мыши нарушается стероидогенез, и животные становятся более предрасположенными к развитию колита.

Таким образом, стероиды надпочечников регулируют процессы постнатального развития кишечника и проницаемость эпителиального барьера. Эпителиальные клетки крипт кишечника синтезируют глюкокортикоиды, которые также оказывают действие на эпителиальный барьер. Эффекты кишечных стероидов недостаточно изучены. При нарушении стероидогенеза в кишечнике (нокаутные по LRH-1 гену мыши) экспериментальный колит протекает тяжелее (Coste A. et al., 2007).

Обобщая литературные сведения по влиянию стероидных гормонов на эпителиальный барьер следует отметить, эта проблема недостаточно изучена, а данные о половых различиях отсутствуют.

2.9. Половые различия воспалительных заболеваний кишечника

Литературные сведения по половым различиям воспалительных

заболеваний кишечника (ВЗК) представлены в литературе, главным образом, статистическими клиническими исследованиями, но их результаты неоднозначны. По данным R.M. Glickman (1991) половые различия в частоте развития язвенного колита отсутствуют, а согласно J.J. Kim et al. (2012) у мужчин это заболевание встречается в 1,4 раза чаще, чем у женщин. P. Vestergaard и L. Mosekide (2002), анализируя чистоту переломов костей у больных язвенным колитом, показали что они чаще встречаются у женщин чем у мужчин.

В эксперименте на модели ДСН-индуцированного колита у мышей, нокаутных по никотиновым и ацетилхолиновым рецепторам, показано, что их агонисты снижают выраженность язвенного и воспалительного процесса у самок, но не изменяют у самцов (Alsharari S.D. et al., 2016).

К сожалению, в подавляющем большинстве работ, посвящённых инфекционно-воспалительным заболеваниям и, в частности, язвенному колиту, исследования проводятся без учета пола больных и их репродуктивного статуса (Klein S.L., 2012). Изучение влияния половых различий на проявления и течение язвенного колита несомненно актуально, так как полученные данные, возможно, позволят проводить более успешную терапию этого заболевания.

2.10. Роль половых стероидных гормонов в механизмах язвенного колита у человека и экспериментальных животных

Выраженность иммунных реакций и воспалительных процессов зависит от пола и содержания половых стероидных гормонов. Литературные сведения о влиянии половых стероидных гормонов на течение язвенного колита у человека и экспериментальных животных фрагментарны.

У женщин установлена связь между нарушениями менструального цикла и клиническими проявлениями язвенного колита. При ВЗК у женщин нарушается менструальный цикл, отмечается большая выраженность боли, сопровождающей менструацию. При лечении ВЗК эти нарушения выявляются реже, и они менее выраженные (Saha S. et al. 2014). У женщин, принимающих оральные контрацептивы, язвенный колит развивается не чаще, чем в группе, их не

использующих (Khalili H. et al. 2013). Во время беременности у 30% женщин развивается рецидив ВЗК, особенно в ранние сроки беременности и послеродовом периоде. У 60% пациенток выраженность ВЗК при беременности сохраняется или увеличивается. При ВЗК во время беременности повышается риск развития врожденных пороков, выкидышей, задержки роста плода, преждевременных родов, гипотрофии плода (Hashash J.G., Kane S., 2015).

В экспериментальной работе E.F. Verdu et. al. (2002) показано, что на фоне супрафизиологической концентрации 17β -эстрадиола острый колит, индуцированный ДСН, протекает тяжелее. У мышей с высоким содержанием эстрадиола выше показатели клинических проявлений язвенного колита и выраженность воспалительных изменений, чем у животных с его физиологической концентрацией.

Литературные сведения о влиянии мужских половых стероидных гормонов на течение язвенного колита у человека и экспериментальных животных отсутствуют.

Таким образом, язвенный колит является широко распространенным тяжелым воспалительным заболеванием толстой кишки. Патогенетические механизмы и иммунные нарушения при язвенном колите недостаточно изучены, так как на клиническом материале подбор однородных групп по этническому составу, возрасту, полу и примененным методам лечения в значительной мере затруднен. В связи с этим представляется целесообразным использование экспериментальных моделей, воссоздающих картину этого заболевания на животных, в частности на мышах.

Гистофизиологические особенности ободочной кишки у человека и лабораторных животных исследованы мало, а сведения о влиянии половых различий на возникновение и течение воспалительного процесса ограничиваются лишь статистическими клиническими данными о встречаемости заболевания у мужчин и женщин. Изучению этих нерешенных вопросов посвящена настоящая работа, результаты которой, возможно, позволят в будущем разработать новые подходы к терапии язвенного колита иммуномодулирующими препаратами с учетом пола.

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Материалы

Работа выполнена на половозрелых мышах линии C57B1/6, самках (n=80) и самцах (n=80), полученных из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Методом случайного отбора были сформированы контрольные и опытные группы, по 20 животных в каждой (табл.2). Возраст мышей составлял 6-8 недель, масса тела – 18-22 г. При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздрава СССР №755 от 12.08.1977 г. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии ФГБНУ «НИИ морфологии человека» (протокол №15 от 16.12.2014 г.). Животные получали свободный доступ к питьевой воде и брикетированному корму ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб»).

Острый язвенный колит разной тяжести у половозрелых самок и самцов моделировали по I. Okayasu et al. (1990), а хронический по S. Melgar et al. (2005). В течение 5 дней животные получали вместо питьевой воды 1% или 5% водный раствор декстрансульфата натрия (ДСН, Mr ~40,000, BioChemica, Германия), затем в течение 2-х дней питьевую воду. Контрольные группы мышей обоего пола получали питьевую воду. В группе самцов, получавших 5% ДСН, две мыши погибли на 7-ые сутки (табл. 2, рис. 4).

Хронический язвенный колит моделировали путём трёхкратной замены на 1-4, 12-14, 22-26-ые сутки питьевой воды на 1% водный раствор ДСН. Животных выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира на 60-ые сутки (табл. 2, рис. 4).

Таблица 2

Экспериментальные группы животных

Группы животных	Пол	Количество мышей
Острый колит (1% ДСН)	Самки	20
	Самцы	20
Острый колит (5% ДСН)	Самки	20
	Самцы	20
Хронический колит	Самки	20
	Самцы	20
Контрольные группы	Самки	20
	Самцы	20
Всего		160

Острый язвенный колит

Самки n=20; Самцы n=20



Самки n=20; Самцы n=20



Выведение из эксперимента на 7-ые сутки

Хронический язвенный колит

Самки n=20; Самцы n=20

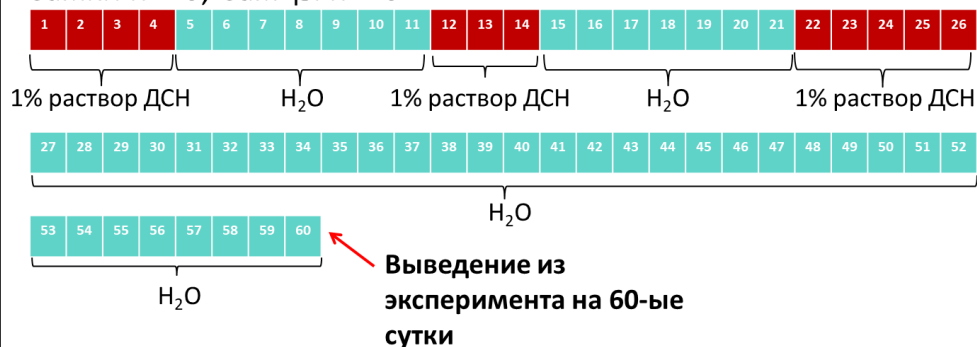


Рис. 4. Моделирование язвенного колита у мышей C57Bl/6

3.2. Методы исследования

Оценка клинических проявлений колита, определение массы тела и длины ободочной кишки

Проводили ежедневную оценку общего состояния животных, подвижности, особенностей шерстного покрова. Клинические проявления острого язвенного колита оценивали по загрязнению кожи вокруг анального отверстия в баллах: 0 – каловые массы отсутствуют; 1 – следы каловых масс желтого цвета; 2 – темно-коричневые каловые массы с примесью крови; 3 – темно-красная кровь. До начала и в конце эксперимента определяли массу тела у самок и самцов мышей всех экспериментальных групп. Ободочную кишку выделяли из брюшной полости и измеряли её длину в сантиметрах.

Гистологические методы

Для гистологического исследования у мышей всех опытных и контрольных групп проводили забор проксимального, медиального и дистального отделов ободочной кишки, брыжеечных лимфатических узлов, материал фиксировали в жидкости Буэна. Проводку материала осуществляли в аппарате Tissue-Tek VIP5Jr (Sakura, USA). Обезвоженные образцы заливали в гистомикс на аппарате Tissue-Tek TEC (Sakura, USA), изготавливали срезы толщиной 5 мкм на микротоме модели Microm HM340E (Thermo Scientific, USA), монтировали их на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ и съемку гистологических препаратов проводили на микроскопе AxioPlan 2 Imaging (Carl Zeiss, Germany) с цифровой камерой AxioCam RHC (Carl Zeiss, Germany).

Гистохимические методы

Для выявления в бокаловидных клетках нейтральных и высокосульфатированных муцинов проводили, соответственно, PAS-реакцию (“БиоВитрум”, Россия) и окраску альциановым синим pH 1.0 по Моури (Гистолайн, ООО “Элемент”, Россия). Гистологические срезы ободочной кишки опытных и контрольных животных окрашивали одномоментно с целью стандартизации условий проведения реакций.

Иммуногистохимические методы

Энтероэндокринные клетки выявляли с помощью антител к хромогранину А (Rabbit polyclonal anti-ChromograninA antibody, ab15160, Abcam, Великобритания), в разведении 1:200. В качестве вторых антител использовали коммерческий раствор синтетического полимера, сцепленного с пероксидазой хрена – Simple Stain Mouse MAX PO (R) (N-Histofine Universal Immuno-peroxidase polymer for mouse tissue Anti-Rabbit Redy-to-use, Nichirei Bioscience Inc., Япония). Связывание антител выявляли с помощью набора N-Histofine DAB-2V (Nichirei Bioscience Inc., Япония).

Морфометрические методы

Число лимфоидных узелков подсчитывали в макропрепаратах ободочной кишки, фиксированных в 2% водном растворе уксусной кислоты у животных контрольных групп, при остром 1% ДСН и хроническом язвенном колите.

С целью морфометрической оценки распространенности гиперемии и язв слизистой оболочки макропрепараты продольно рассеченной ободочной кишки мышей с язвенным колитом фотографировали и на фотографиях определяли их площадь с помощью морфометрической программы Image-Pro Plus 6.0.

Для оценки выраженности язвенно-воспалительного процесса окрашенные гематоксилином и эозином гистологические препараты трех отделов ободочной кишки мышей всех экспериментальных групп фотографировали на протяжении всей длины кишки на микроскопе Leica DM2500 (Leica Microsystems, Германия) при увлечении 100. В программе ImageScope (Leica Microsystems, Германия) полученные фотографии объединяли в панорамы и определяли длину язв без эпителизации и с эпителизацией с помощью программы Image-Pro Plus 6.0.

Методом точечного счета в гистологических срезах разных отделов ободочной кишки оценивали объемную долю структурных компонентов слизистой оболочки – бокаловидных клеток, колоноцитов, соединительной ткани, просвета крипт, сосудов и клеточных элементов в СПСО.

Под микроскопом Leica DM2500 (Leica Microsystems, Германия) при увеличении 200 на гистологических срезах всех 3 отделов ободочной кишки

подсчитывали число хромогранин А-положительных клеток на крипту.

На микроскопе Axioplan 2 imaging (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 200 при одинаковых условиях освещения получали снимки гистологических препаратов трех отделов ободочной кишки, окрашенных альциановым синим и с PAS-реакцией. Для съемки выбирали участки слизистой оболочки с продольно ориентированными криптами, при колите – без язв, но с выраженными морфологическими признаками воспаления. Измерения проводили в программе PhotoM1.21 (freeware, разработчик А. Черниговский, 2000 – 2001, http://t_lambda.chat.ru). Содержание высокосульфатированных и нейтральных муцинов в бокаловидных клетках определяли, соответственно, по интенсивности окрашивания альциановым синим и PAS-реакции. Интенсивность окрашивания рассчитывали как средний десятичный логарифм отношения яркости фона и точки объекта. Интенсивность гистохимических реакций значительно варьировала даже в пределах контрольной группы, что связано с различиями в толщине срезов, времени фиксации и окраски. Для нивелирования различий, интенсивность окрашивания бокаловидных клеток нормировали по интенсивности окрашивания расположенных рядом участков соединительной ткани.

Метод проточной цитофлуориметрии

С целью иммунофенотипического анализа лимфоцитов получали суспензию клеток из брыжеечных лимфатических узлов с помощью гомогенизатора Поттера в культуральной среде 199 с солями Хэнкса и глутамином (ПанЭко). Выделение суспензии клеток из ободочной кишки проводили по В. Weigmann et al. (2007). Фрагменты медиального отдела ободочной кишки инкубировали в растворе культуральной среды RPMI Medium 1640 (Gibco, UK) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (Sigma Aldrich, USA) и дитиотреитолом в течении 1,5 часов, затем в культуральной среде RPMI Medium 1640 (Gibco, UK), содержащей коллагеназу Д (Roche, Switzerland), выделенную из *Clostridium histolyticum*, диспазу 2 (Roche, Switzerland), полученную из *Bacillus polymyxa*, ДНКазу 1 (Thermo Scientific, США). Проводили забор крови из шейных вен, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА (5 мг/мл).

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови и суспензии клеток, полученной из брыжеечных лимфатических узлов и стенки ободочной кишки, определяли методом проточной цитофлуориметрии на приборе Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, USA), использовали антитела anti-mouse CD3e-FITC, CD4-PE-Cy5, CD8a-PE-Cy7, CD19-PE, F4/80-PE (eBioscience, USA). Выявление субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов проводили с помощью набора Mouse Regulatory T Cell Staining Kit #3 (eBioscience, USA) согласно протоколу. Абсолютное количество клеток подсчитывали в камере Горяева.

Статистические методы

Статистическую обработку показателей проводили с учетом характера распределения непараметрическими методами (U-критерий Манна-Уитни) в программе Statistica 8.0. Вычисляли медиану и интерквартильный размах – 25-75%. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Половые различия морфологии слизистой оболочки ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 контрольной группы

Половые морфологические различия ободочной кишки у мышей C57Bl/6 контрольной группы

По сравнению с самками у самцов показатели массы тела и длины ободочной кишки были выше (табл. 3).

При морфологическом исследовании в эпителиальной выстилке ободочной кишки у мышей обоего пола выявлялись колоноциты и бокаловидные клетки овальной формы. На поверхности эпителиальной выстилки и в узких просветах крипт определялась слизь. Базальная пластинка была тонкой, СПСО образована рыхлой волокнистой соединительной тканью, содержащей небольшое количество диффузно рассеянных клеточных элементов: макрофагов, лимфоцитов, единичных плазмоцитов, а также фибробластов и фиброцитов. В базальном отделе СПСО выявлялись щелевидные лимфатические сосуды. Мышечная пластинка слизистой оболочки образована 2-3 рядами продольно ориентированных гладкомышечных клеток. Подслизистая основа представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью с небольшим количеством диффузно рассеянных клеточных элементов – макрофагов, лимфоцитов, фибробластов, фиброцитов, единичных в поле зрения (увеличение 400) нейтрофилов. Кровеносные сосуды – артерии и вены, венулы и артериолы, капилляры неравномерно полнокровные. Мышечная оболочка образована внутренним циркулярным и наружным продольно ориентированным слоями. Лейомиоциты представлены темными и светлыми клетками. Серозная оболочка состояла из тонкого слоя рыхлой волокнистой соединительной ткани, выстланной мезотелием (рис. 5).

На макропрепаратах ободочной кишки, фиксированных в 2% растворе

уксусной кислоты, подсчитывали количество лимфоидных узелков в слизистой оболочке разных отделов ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6. Показатель числа лимфоидных узелков по всей ободочной кишке у самцов был выше, чем у самок (рис. 6, табл. 4).

Таблица 3

Половые различия массы тела и длины ободочной кишки, Ме (0,25; 0,75)

Параметр	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Масса тела (г)	21,0 (21,0; 22,0)	24,0 (23,0; 25,0)	0,0000001
Длина ободочной кишки (см)	5,0 (4,5; 5,3)	6,0 (5,3; 6,0)	0,02

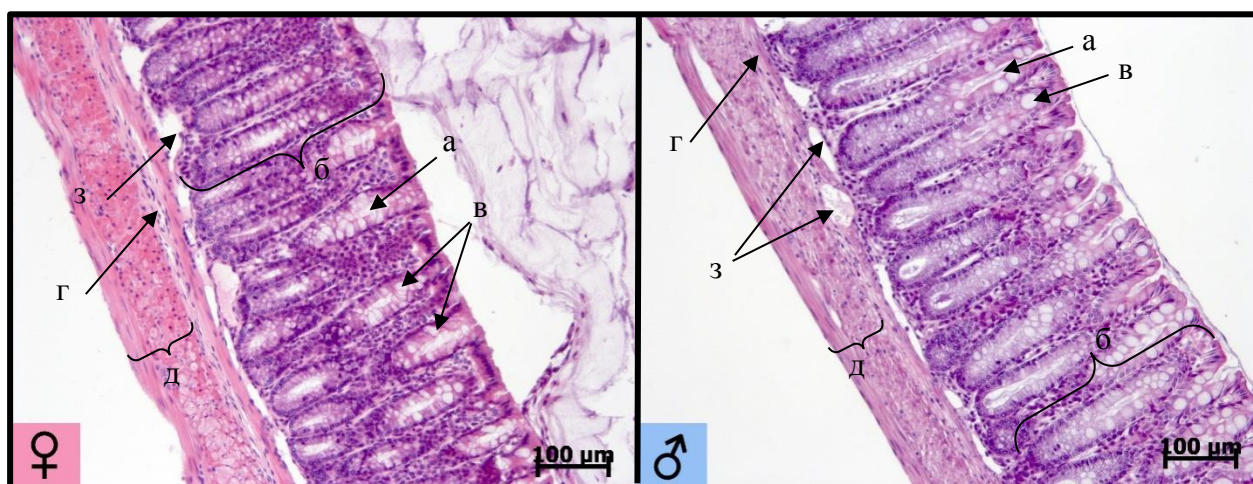


Рис. 5. Морфологическая характеристика ободочной кишки у половозрелых самок и самцов мышей C57Bl/6. Крипты глубокие с узкими просветами (а). Эпителиальная выстилка сохранена на всем протяжении (б). Цитоплазма бокаловидных клеток заполнена секретом (в). Подслизистая основа представлена узким слоем соединительной ткани (г). В базальных отделах собственной пластинки слизистой оболочки лимфатические сосуды с щелевидными просветами (з). Мышечная оболочка образована циркулярным и продольным слоями гладкой мускулатуры (д). Окраска гематоксилином и эозином.

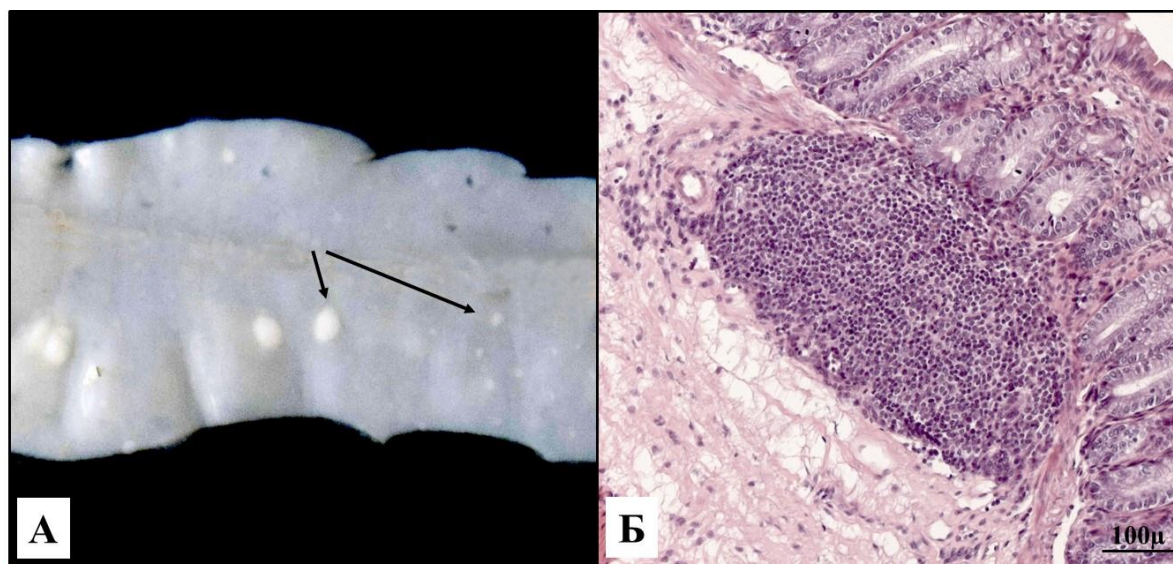


Рис. 6. Макро- (А) и микропрепарат (Б) стенки дистального отдела ободочной кишки самки мыши C57Bl/6. А – макропрепарат ободочной кишки, фиксированный в 2% уксусной кислоте, в слизистой оболочке видны выступающие над поверхностью белесоватые лимфоидные узелки (стрелки), ув.7. Б – гистологический срез стенки ободочной кишки, лимфоидный узелок в подслизистой основе, окраска гематоксилином и эозином.

Таблица 4

Половые различия числа лимфоидных узелков в ободочной кишке у мышей C57Bl/6, Ме (0,25; 0,75)

Отдел ободочной кишки	Число лимфоидных узелков на мм длины ободочной кишки		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
	Самки	Самцы	
Медиальный отдел	0,93 (0,88; 0,94)	1,43 (1,03; 1,83)	0,17
Дистальный отдел	1,55 (1,19; 1,76)	1,73 (1,53; 2,08)	0,61
*Вся кишка	1,23 (1,04; 1,33)	1,62 (1,47; 1,69)	0,05

* в проксимальном отделе оценка числа лимфоидных узелков была затруднена из-за наличия складок.

Морфометрическая оценка структурных компонентов стенки ободочной кишки по всей ее длине позволила установить, что у самок по сравнению с самцами среди клеток эпителиальной выстилки ниже показатель объемной доли бокаловидных клеток и клеточных элементов в СПСО, но выше – колоноцитов, соединительной ткани и сосудов (табл.5). В дистальном отделе ободочной кишки у самок по сравнению с самцами среди клеток эпителиальной выстилки был ниже показатель объемной доли бокаловидных клеток и клеточных элементов (табл.5). Объемная доля соединительной ткани и сосудов в СПСО у самок была выше, по сравнению с самцами в дистальном отделе.

Таблица 5

Морфометрическая характеристика структурных компонентов слизистой оболочки ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Объемная доля (%)	Дистальный отдел			Вся кишка		
	Самки	Самцы	P	Самки	Самцы	P
Колоноциты	51,28 (47,43; 56,25)	48,72 (44,31; 60,56)	0,78	57,71 (50,00; 61,82)	49,39 (41,46; 61,80)	0,01
Бокаловидные клетки	16,88 (13,84; 20,00)	20,08 (17,07; 28,39)	0,01	14,29 (10,71; 17,39)	19,59 (12,50; 26,23)	0,0002
Клетки в СПСО	3,84 (2,59; 4,68)	7,13 (5,17; 11,11)	0,002	4,00 (3,03; 6,45)	7,24 (5,33; 11,36)	0,000001
Соединительная ткань, сосуды	14,28 (12,64; 17,18)	10,97 (6,81; 13,79)	0,001	12,72 (9,64; 14,52)	9,67 (6,90; 12,66)	0,0003

P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)_____

Морфологическая характеристика брыжеечных лимфатических узлов у самок и самцов мышей C57Bl/6 контрольной группы.

При морфологическом исследовании брыжеечных лимфатических узлов у самок и самцов мышей C57Bl/6 различий не выявлено. В корковом веществе лимфатических узлов определялись лимфоидные узелки с небольшими герминативными центрами, состоящими из лимфобластов, лимфоцитов и единичных макрофагов. Паракортикальная Т-зона была плотно заселена лимфоцитами. В мозговом веществе определялись макрофаги и лимфоциты в соотношении 1:1. Краевые синусы были щелевидные, выстланы эндотелием, в их просветах определялось небольшое количество лимфоцитов и макрофагов. Промежуточные синусы не были видны. Мозговые синусы образовывали петлистую сеть, в них выявлялось небольшое количество макрофагов и лимфоцитов в соотношении 1:1 (рис. 7,8).

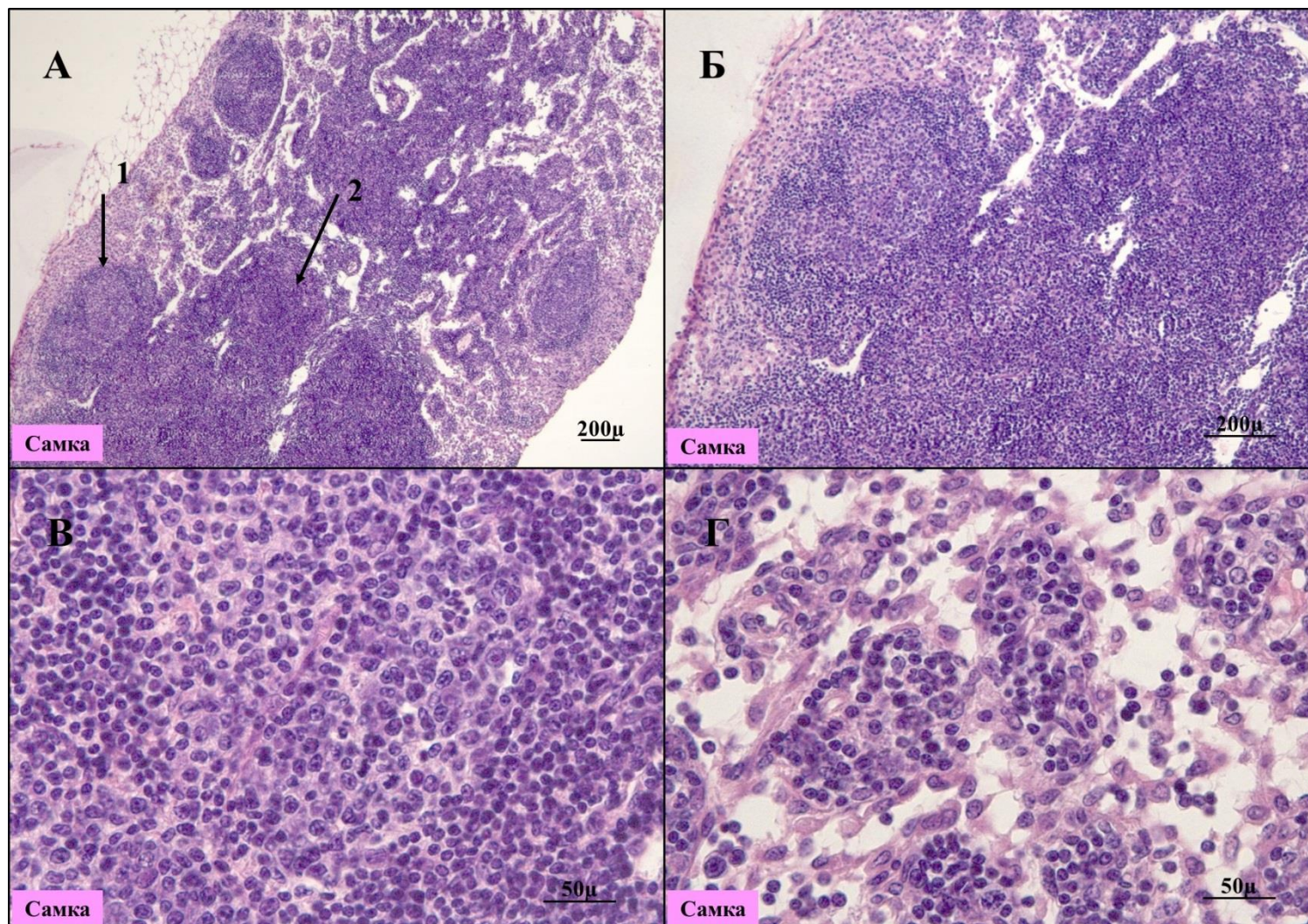


Рис. 7. Брюшечный лимфатический узел у самок контрольной группы (тангенциальная ориентация). А – видны лимфоидные узелки с герминативными центрами (1) и без них (2). Просветы промежуточных и мозговых синусов частично заполнены клетками. Б, В – лимфоидный узелок с герминативным центром. Г – мозговые тяжи и синусы с лимфоцитами и макрофагами в просветах. Окраска гематоксилином и эозином.

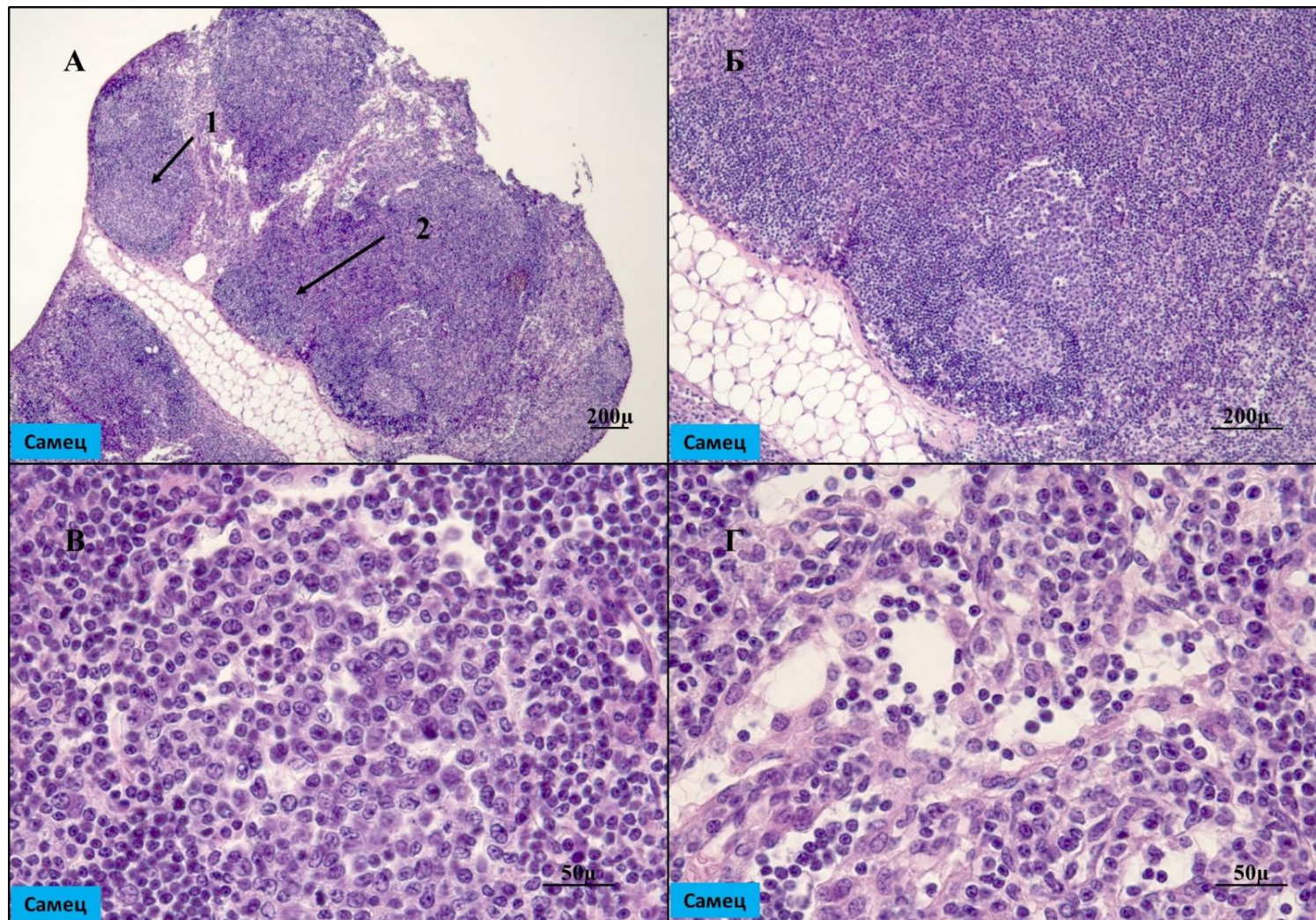


Рис. 8. Брыжеечный лимфатический узел у самцов контрольной группы (тангенциальная ориентация) А – видны лимфоидные узелки с герминативными центрами (1) и без них (2). Просветы промежуточных и мозговых синусов частично заполнены клетками. Б, В – лимфоидный узелок с герминативным центром. Г – мозговые тяжи и синусы с лимфоцитами и макрофагами в просветах. Окраска гематоксилином и эозином.

Половые цитофизиологические различия секреторных клеток ободочной кишки у мышей C57Bl/6 контрольной группы

Количество хромогранин А-позитивных эндокринных клеток на крипту у самок по сравнению с самцами было статистически значимо ниже в дистальном отделе ободочной кишки (рис. 9, табл.6).

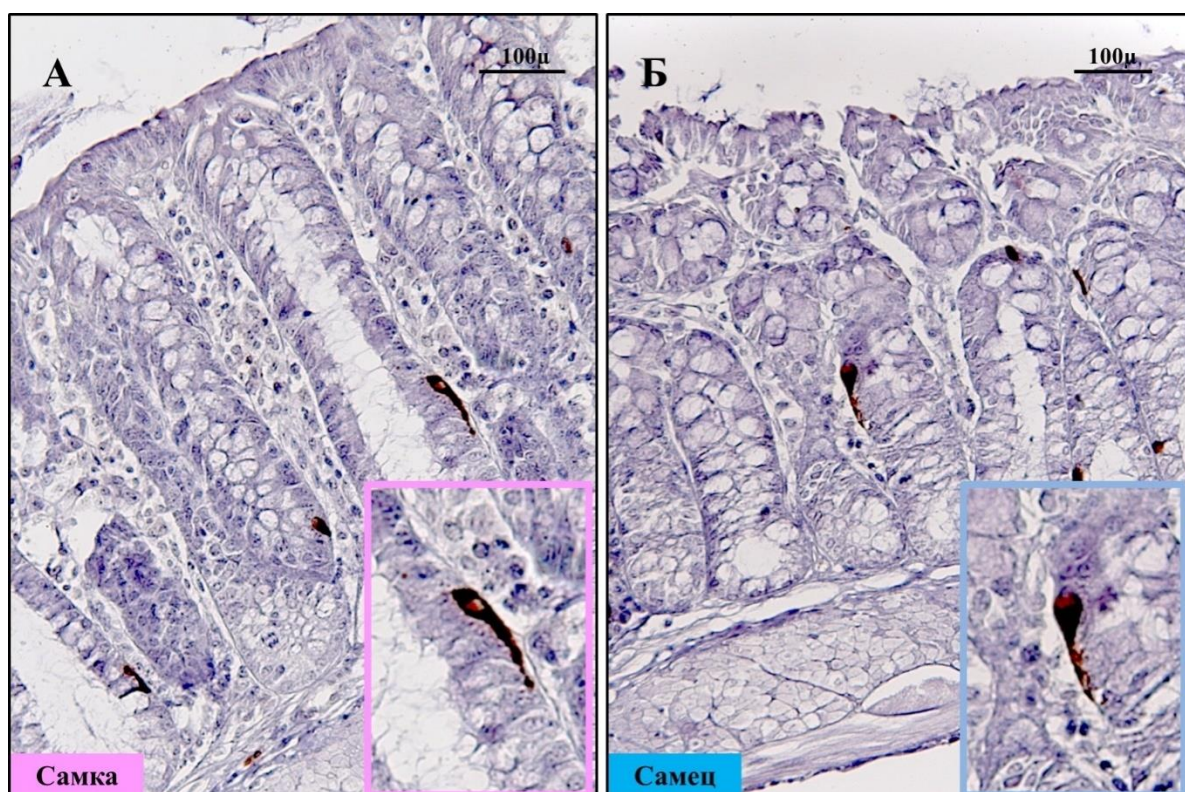


Рис. 9. Среди эпителиальных клеток крипт ободочной кишки выявляются единичные хромогранин-позитивные эндокринные клетки. А – самка; Б – самец. Антитела к хромогранину А, гематоксилин Майера.

Таблица 6
Показатели количества эндокринных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отдел ободочной кишки	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Дистальный	1,22 (1,05; 1,50)	2,07 (1,51; 2,31)	0,02
Вся кишка	1,26 (1,05; 1,67)	1,50 (1,05; 2,70)	0,46

С целью изучения цитофизиологических особенностей бокаловидных клеток у самок и самцов мышей C57Bl/6 проводили количественную оценку содержания в них нейтральных (PAS-реакция) и высокосульфатированных (окраска альциановым синим pH 1.0) гликопротеинов. Содержание нейтральных и кислых гликопротеинов в бокаловидных клетках ободочной кишки у самок и самцов статистически значимо не различалось (табл. 7 и 8).

Таблица 7

Показатели содержания нейтральных гликопротеинов в бокаловидных клетках ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6, усл.ед., Me (0,25; 0,75)

Отдел ободочной кишки	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Дистальный	9,62 (8,46; 13,60)	9,90 (7,68; 12,52)	0,58
Вся кишка	11,26 (7,90; 18,14)	9,98 (8,16; 13,13)	0,63

Таблица 8

Показатели содержания высокосульфатированных муцинов в бокаловидных клетках ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6, усл.ед., Me (0,25; 0,75)

Отдел ободочной кишки	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Дистальный	4,33 (3,01; 5,98)	4,63 (3,63; 6,14)	0,59
Вся кишка	4,63 (3,46; 6,04)	4,36 (3,72; 5,23)	0,71

Таким образом, половые морфологические различия ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 характеризуются тем, что у самок по сравнению с самцами ниже показатели длины ободочной кишки, числа лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки, объемной доли бокаловидных клеток в эпителиальной выстилке, объемной доли клеток в СПСО, количества эндокринных клеток в эпителиальной выстилке в дистальном отделе ободочной кишки. По содержанию нейтральных и высокосульфатированных гликопротеинов в бокаловидных клетках

статистически значимых различий между самками и самцами не выявлено. При морфологическом исследовании у самок и самцов мышей C57Bl/6 структура брыжеечных лимфатических узлов не различалась.

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки у мышей C57Bl/6 контрольной группы

Периферическая кровь

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови позволил установить, что у половозрелых самок мышей C57Bl/6, по сравнению с самцами, статистически значимо выше показатели относительного числа $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Т-регуляторных и $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов (табл. 9)

Таблица 9

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у самок и самцов мышей C57Bl/6 контрольной группы, Ме (0,25; 0,75)

Субпопуляции лимфоцитов		Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		7,80 (6,70; 8,80)	9,38 (8,80; 9,60)	0,08
Лимфоциты, млн/мл (LY)		5,30 (4,70; 7,80)	7,50 (7,06; 8,10)	0,26
Т-хелперы ($CD4^+CD3^+$)	% от лф	16,76 (14,80; 17,70)	14,84 (14,14; 16,0)	0,24
	млн/мл	0,99 (0,75; 1,21)	1,18 (1,13; 1,23)	0,21
Цитотоксические Т-лимфоциты ($CD3^+CD8^+$)	% от лф	16,00 (13,80; 17,65)	12,88 (11,20; 14,60)	0,02
	млн/мл	1,04 (0,71; 1,17)	1,00 (0,91; 1,17)	0,72
В-лимфоциты ($CD3^+CD19^+$)	% от лф	58,10 (53,70; 60,35)	65,80 (57,90; 66,80)	0,80
	млн/мл	3,40 (2,52; 4,77)	4,49 (3,04; 5,35)	0,24
Регуляторные Т-лимфоциты ($CD4^+CD25^+Foxp3^+$)	% от Тх	6,80 (5,40; 10,20)	2,80 (2,40; 3,60)	0,02
	тыс/мл	41,88 (40,50; 48,62)	33,56 (25,66; 46,81)	0,21

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы

Брыжеечные лимфатические узлы

По данным цитофлюориметрической оценки субпопуляционного состава брыжеечных лимфатических узлов у самок по сравнению с самцами показатель относительного содержания цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов был выше, а В-лимфоцитов – ниже (табл.10).

Таблица 10

Субпопуляционный состав лимфоцитов брыжеечных лимфатических узлов у самок и самцов мышей C57Bl/6 контрольной группы, Ме (0,25; 0,75)

Субпопуляции лимфоцитов	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Лейкоциты; млн/мл (WBC)	28,80 (22,30; 33,90)	27,24 (22,80; 27,50)	0,53
Лимфоциты; млн/мл (LY)	24,70 (19,13; 29,07)	19,39 (15,61; 20,48)	0,14
Т-хелперы (CD4 ⁺ CD3 ⁺), % от лф	35,10 (33,70; 35,30)	34,18 (29,00; 37,60)	0,46
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺), % от лф	36,60 (35,60; 37,10)	25,37 (21,70; 26,40)	0,003
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺), % от лф	25,50 (20,90; 26,50)	36,46 (36,10; 37,10)	0,001
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺), % от Тх	17,10 (12,60; 18,80)	5,41 (5,40; 5,52)	0,0001

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы

Ободочная кишка

По данным проточной цитофлуориметрии в суспензии клеток, полученной из ободочной кишки, у самок по сравнению с самцами было выше абсолютное число Т-хелперов, регуляторных Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. У самок в суспензии клеток, полученной из ободочной кишки практически нет цитотоксических Т-лимфоцитов (табл. 11).

Таблица 11

Субпопуляционный состав лимфоцитов ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6 контрольной группы, Ме (0,25; 0,75)

Субпопуляции лимфоцитов	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Лейкоциты; млн/мл (WBC)	1,00 (0,60; 1,10)	1,10 (0,40; 1,10)	0,84
Лимфоциты; млн/мл (LY)	0,40 (0,25; 0,50)	0,60 (0,50; 0,67)	0,10
Т-хелперы (CD4 ⁺ CD3 ⁺), % от лф	12,60 (10,10; 13,90)	2,90 (1,60; 3,50)	0,01
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺), % от лф	0,00 (0,00; 0,00)	1,60 (1,00; 2,00)	0,02
В-лимфоциты (CD3 ⁻ CD19 ⁺), % от лф	9,10 (7,90; 9,38)	1,40 (0,40; 1,80)	0,01
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺), % от Тх	57,40 (32,90; 63,00)	15,40 (14,50; 16,40)	0,02

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы

Выявленные половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 обобщены в таблице 12.

Таблица 12

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов у мышей C57Bl/6 контрольной группы

Показатели	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка
Лейкоциты, млн/мл (WBC)	=	=	=
Лимфоциты, млн/мл (LY)	=	=	=
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) % от лф*	=	=	↑ в 4,3 раз
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺) % от лф	↑ 1,2 раз	↑ в 1,4 раз	↓
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺) % от лф	=	↓ в 1,6 раз	↑ в 6,5 раз
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺) % от Тх	↑ в 2,4 раз	↑ в 3,2 раз	↑ в 3,7 раз

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; ПК – периферическая кровь; БЖЛУ – брыжеечные лимфатические узлы

Таким образом, при морфологическом и морфометрическом исследовании у мышей C57Bl/6 в норме выявлены половые различия ободочной кишки. Длина ободочной кишки была выше у самцов. По сравнению с самками у самцов выше показатели числа лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки, объемной доли бокаловидных клеток, эндокринных клеток в дистальном отделе, клеточных элементов в СПСО. При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов установлено, что в периферической крови у самок по сравнению с самцами выше содержание $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов и $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов. В лимфатических узлах, несмотря на отсутствие морфологических различий, показано, что у самок выше относительное количество $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов, относительное количество $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов и ниже относительное количество $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов. В суспензии клеток, выделенных из стенки ободочной кишки, показатели всех исследованных субпопуляций были выше у самок, за исключением $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов, которые у самок не выявлялись, а у самцов их относительное количество составляло 1,67%.

4.2. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при экспериментальном остром язвенном колите

Проводили оценку клинических проявлений и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, лимфатических узлов и ободочной кишки у мышей C57Bl/6 при умеренном и тяжелом остром язвенном колите, вызванным, соответственно, 1% и 5% ДСН.

4.2.1. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и иммунологических нарушений при экспериментальном остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки и брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН

Клинические проявления острого язвенного колита – диарея и кровь в фекалиях, у самцов по сравнению с самками появились раньше, и они были более выраженными (рис. 10). По сравнению с контрольными группами у самок и самцов при остром колите показатели массы тела и длины ободочной кишки уменьшались (табл.13).

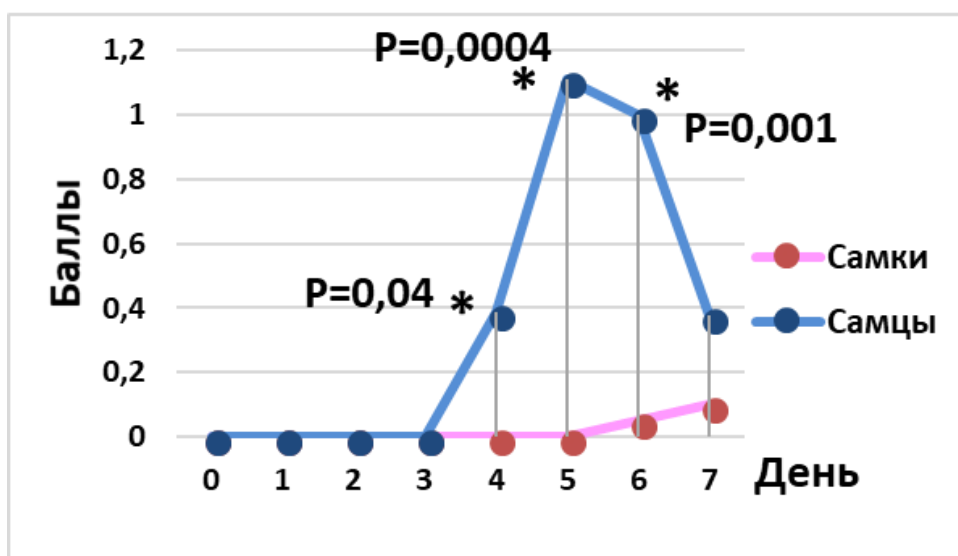


Рис. 10. Динамика клинических проявлений острого язвенного колита, индуцированного 1% ДСН у самок и самцов мышей С57В1/6

Таблица 13

Показатели массы тела и длины ободочной кишки у самцов и самок мышей C57Bl/6 контрольной группы и при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите, Me (0,25; 0,75)

Параметры	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1 Контрольная группа	2 Острый колит	3 Контрольная группа	4 Острый колит	1-3	1-2	3-4
Масса тела (г)	21,0 (21,0;22,0)	19,0 (17,0; 19,0)	24,0 (23,0;25,0)	19,0 (18,5; 19,5)	0,0000001	0,0000001	0,000001
Длина ободочной кишки (см)	5,0 (4,5; 5,3)	4,86 (4,53; 5,67)	6,00 (5,25;6,00)	5,04 (4,62; 5,23)	0,02	0,42	0,008

В макропрепаратах ободочной кишки, фиксированной в 2% растворе уксусной кислоты, подсчитывали количество лимфоидных узелков в медиальном и дистальном отделах ободочной кишки. В проксимальном отделе из-за выраженной складчатости слизистой оболочки ободочной кишки лимфоидные узелки были неразличимы. По сравнению с контролем при остром колите число лимфоидных узелков в медиальном и дистальном отделах ободочной кишки у самок увеличилось в 2 раза, а у самцов снизилось в 2,5 раза (табл. 14, рис. 11, 12).

Таблица 14

Показатели числа лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Абс. число на 1 мм ²				Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	Самки		Самцы		1-3	1-2	3-4
	1 Контрольная группа	2 Острый колит	3 Контрольная группа	4 Острый колит			
Медиальный	0,93 (0,88; 0,94)	1,80 (1,75; 2,90)	1,43 (1,03; 1,83)	0,81 (0,40; 1,00)	0,17	0,004	0,05
Дистальный	1,55 (1,19;1,76)	3,17 (2,42; 3,36)	1,73 (1,53; 2,08)	0,46 (0,29; 0,60)	0,61	0,004	0,04
Медиальный и дистальный	1,23 (1,04; 1,33)	2,40 (2,29; 2,80)	1,62 (1,47; 1,69)	0,63 (0,36; 0,86)	0,05	0,004	0,004

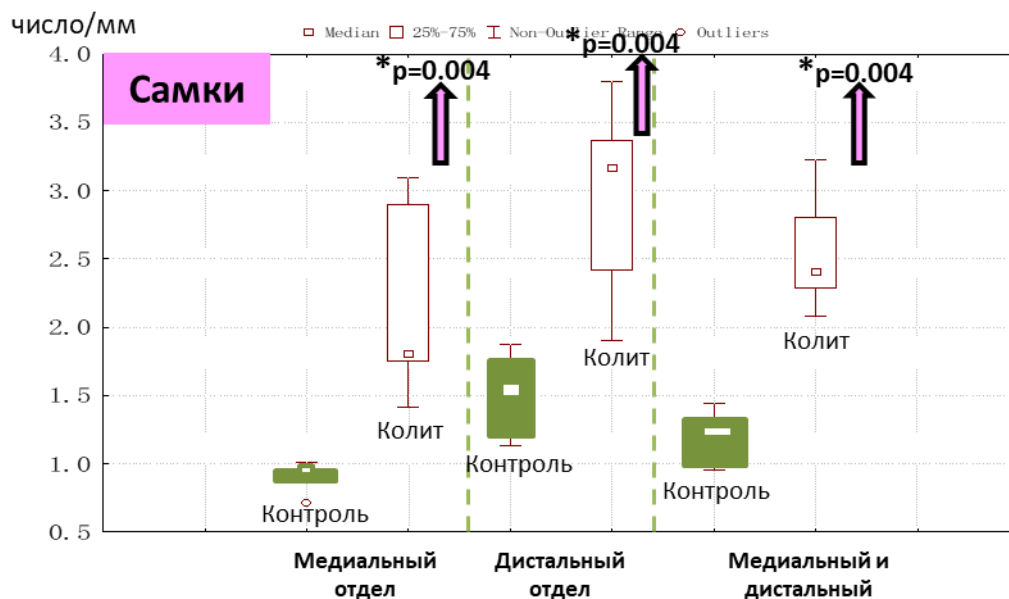


Рис. 11. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН у **самок** мышей C57Bl/6

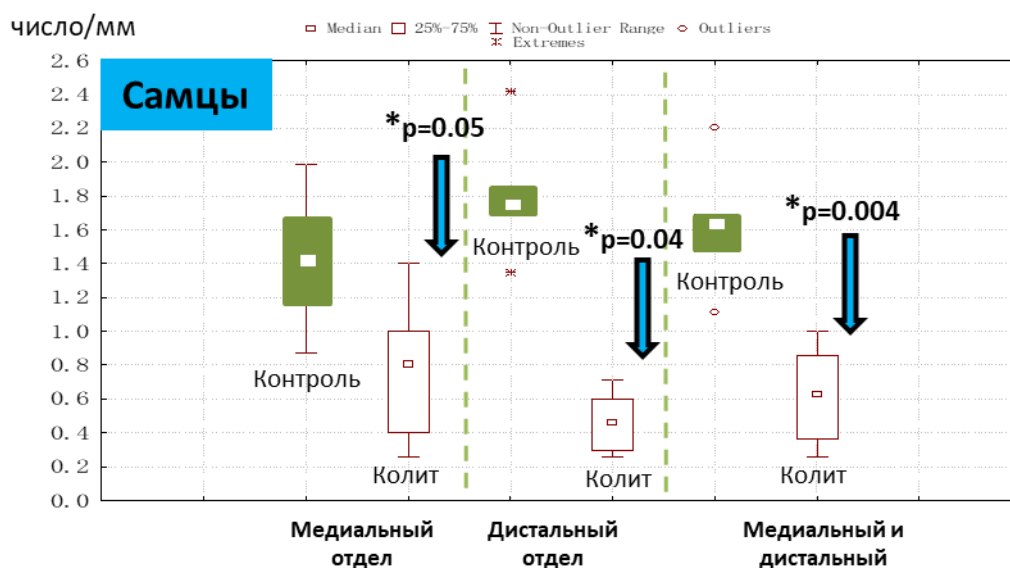


Рис. 12. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН у **самцов** мышей C57Bl/6

При сравнительной оценке относительной площади макроскопических изменений – гиперемии и язв в слизистой оболочке ободочной кишки, установлено, что у самок с острым колитом, индуцированным 1% ДСН, показатель был ниже в 2,2 раза, чем у самцов (рис. 13, 14.).

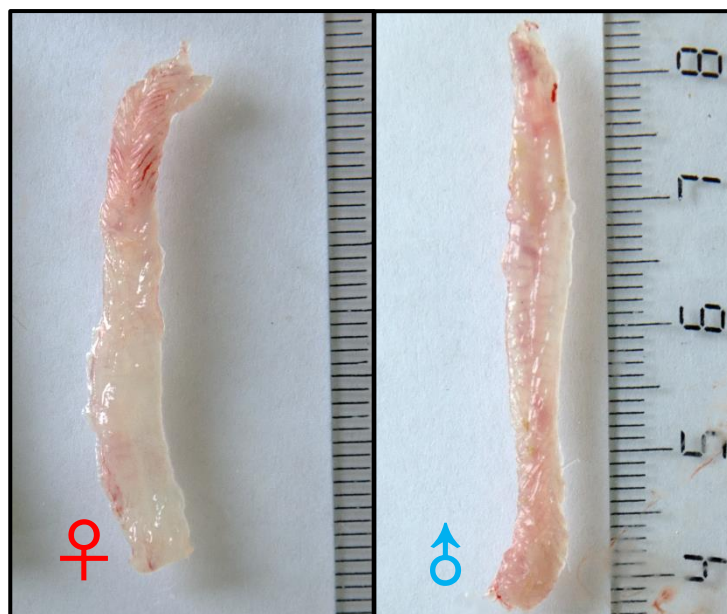


Рис. 13. Макропрепарат ободочной кишки. Очаги гиперемии и язвы при остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6

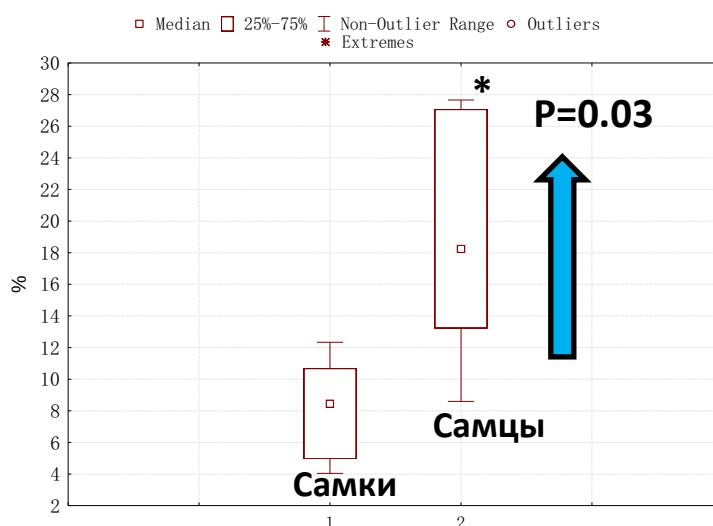


Рис. 14. Относительные показатели площади язв и гиперемии при остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6

Морфологические проявления острого колита у самцов и самок мышей C57Bl/6 варьировали от максимально до минимально выраженных. В зонах максимально выраженных изменений выявлялись глубокие эрозии и язвы, на поверхности которых были скопления лейкоцитов, в СПСО крипты отсутствовали, определялась грануляционная ткань с большим количеством сосудов и выраженной воспалительной инфильтрацией из макрофагов, лимфоцитов и небольшого количества нейтрофилов. Часть

эрозий и язв были эпителизированы (рис. 15). В зонах с сохранённой эпителиальной выстилкой отмечалась выраженная воспалительная инфильтрация макрофагами, лимфоцитами, нейтрофилами и отек слизистой оболочки и подслизистой основы.

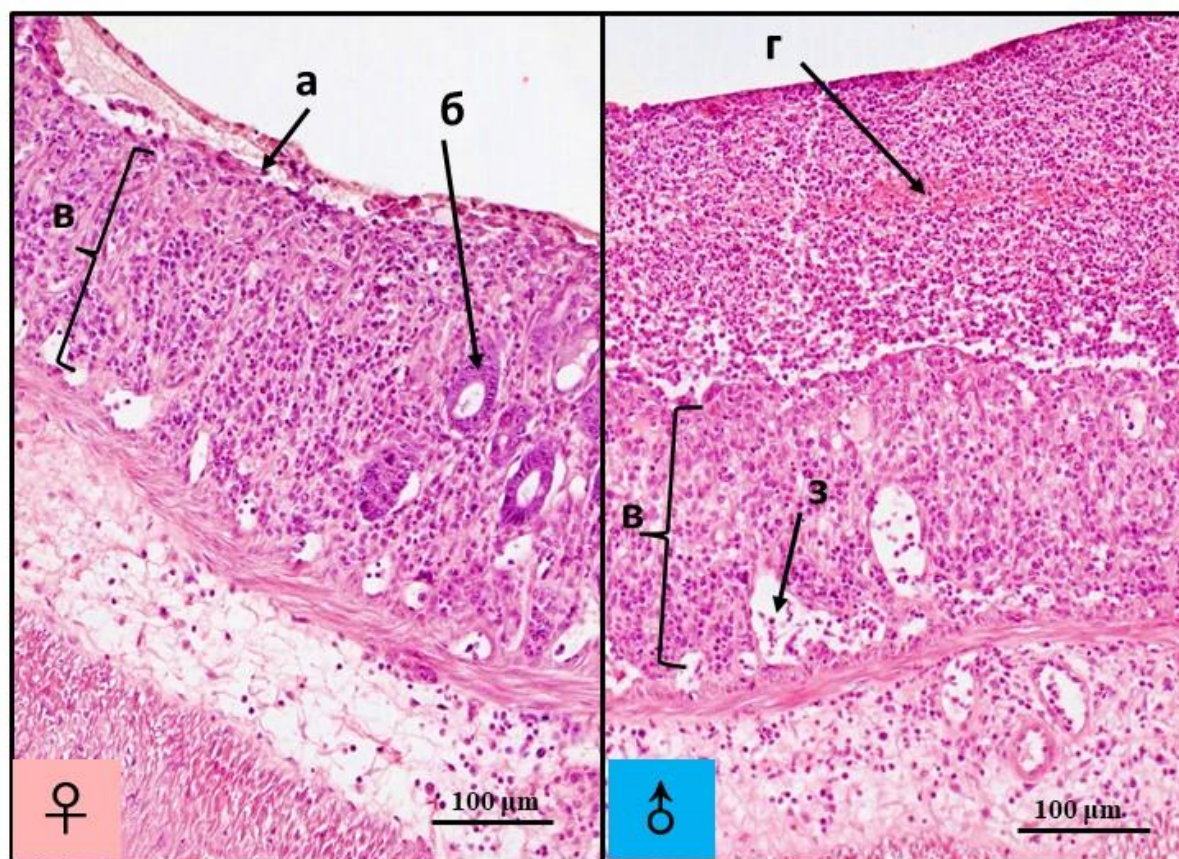


Рис. 15. Дистальный отдел ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром колите у самок и самцов мышей C57Bl/6. Самка – поверхность язвы выстлана уплощенным эпителием (а). В крае язвы (б) крипты с регенераторными изменениями эпителия. Выражена воспалительная инфильтрация (в). Самец – на поверхности слизистой оболочки ободочной кишки скопления лейкоцитов, фибрин (г), лимфатические сосуды (з) резко расширены. Выражена воспалительная инфильтрация (в). Окраска гематоксилином и эозином.

По сравнению с самцами у самок в дистальном отделе и во всей ободочной кишке показатели относительной длины язв без эпителизации были статистически значимо ниже, а язв с эпителизацией - выше в дистальном отделе (табл. 15).

Таблица 15

Относительные показатели длины язв без эпителизации и с эпителизацией при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите у самок и самцов мышей С57Вl/6, Ме (0,25; 0,75)

Группы животных Показатели в %	Длина язв без эпителия в %			Длина язв с эпителием в %		
	Самки	Самцы	Р	Самки	Самцы	Р
Дистальный	21,53 (10,22;24,29)	54,16 (47,00;84,11)	0,008	29,65 (28,71;31,97)	3,86 (0,00;11,98)	0,02
Вся ободочная кишка	7,58 (7,29;8,94)	23,44 (22,60;23,82)	0,008	9,16 (8,93;12,70)	8,15 (1,09;8,52)	0,15

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

По сравнению с контролем при остром колите у самок в дистальном отделе и всей ободочной кишке повышалась доля клеточных элементов в СПСО (табл.16). Показатель объёмной доли бокаловидных клеток был выше при колите во всей ободочной кишке по сравнению с контрольной группой.

У самцов при остром колите повышалась объёмная доля клеточных элементов в СПСО и соединительной ткани в дистальном отделе и во всей ободочной кишке. При остром колите в дистальном отделе объёмная доля бокаловидных клеток уменьшалась (табл.17).

Таблица 16

Морфометрическая характеристика структурных компонентов слизистой оболочки ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите у **самок** мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Показатели в %	Дистальный отдел			Вся кишка в 3 отделах		
	Контрольная группа	Острый колит	P	Контрольная группа	Острый колит	P
Колоноциты	51,28 (47,43; 56,25)	41,00 (38,14; 49,00)	0,002	57,71 (50,00; 61,82)	38,29 (33,67; 45,00)	0,00001
Бокаловидные клетки	16,88 (13,84; 20,00)	15,15 (13,27; 22,47)	0,82	14,29 (10,71; 17,39)	21,51 (15,66; 26,92)	0,00001
Клетки в СПСО	3,84 (2,59; 4,68)	17,98 (14,14; 21,65)	0,00001	4,00 (3,03; 6,45)	18,18 (14,14; 21,65)	0,00001
Соединительная ткань, сосуды	14,28 (12,64; 17,18)	12,00 (11,11; 14,00)	0,051	12,72 (9,64; 14,52)	11,44 (9,78; 14,29)	0,27

P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 17

Морфометрическая характеристика структурных компонентов слизистой оболочки ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите у **самцов** мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Показатели в %	Дистальный отдел			Вся кишка в 3 отделах		
	Контрольная группа	Острый колит	P	Контрольная группа	Острый колит	P
Колоноциты	48,72 (44,31; 60,56)	51,55 (50,00; 54,00)	0,93	49,39 (41,46; 61,80)	41,09 (33,39; 46,91)	0,000003
Бокаловидные клетки	20,08 (17,07; 28,39)	7,14 (6,19; 10,00)	0,00003	19,59 (12,50; 26,23)	20,61 (13,41; 25,00)	0,94
Клетки в СПСО	7,13 (5,17; 11,11)	18,56 (15,00; 19,39)	0,0002	7,24 (5,33; 11,36)	15,00 (11,34; 19,19)	0,000001
Соединительная ткань, сосуды	10,97 (6,81; 13,79)	16,33 (16,00; 17,53)	0,002	9,67 (6,90; 12,66)	14,62 (8,55; 17,74)	0,00002

P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

При острым язвенном колите, вызванном 1% ДСН, у самок и самцов мышей морфологические изменения брыжеечных лимфатических узлов были сходными. В гистологических препаратах в жировой ткани брыжейки определялись 1-3 тангенциально ориентированных лимфатических узла. Лимфатические узлы были окружены тонкой соединительнотканной капсулой. В корковом веществе выявлялись лимфоидные узелки с герминативными центрами, клетки которых были расположены рыхло и

среди них преобладали лимфобласты, встречались единичные митозы и небольшое количество фрагментов ядер. Маргинальная зона была не выражена. Клетки мозговых тяжей были представлены, главным образом, лимфоцитами, а также небольшим количеством плазмочитов и ретикулярных клеток. Краевой и мозговой синусы умеренно расширены, в их просвете наблюдалось большое количество макрофагов с эозинофильной гранулярной цитоплазмой и лимфоциты. Среди них выявлялись и диффузно рассеянные мелкие эозинофильной гранулы (рис. 16-17).

Таким образом, при остром язвенном колите, вызванном 1% ДСН, у самцов и самок в брыжеечных лимфатических узлах определялись лимфоидные узелки с расширенными герминативными центрами, среди клеток которых преобладали лимфобласты и выявлялось много фрагментов ядер. В мозговых тяжях определялась умеренная плазматизация. Выявлены реактивные изменения синусов с увеличением в них количества макрофагов.

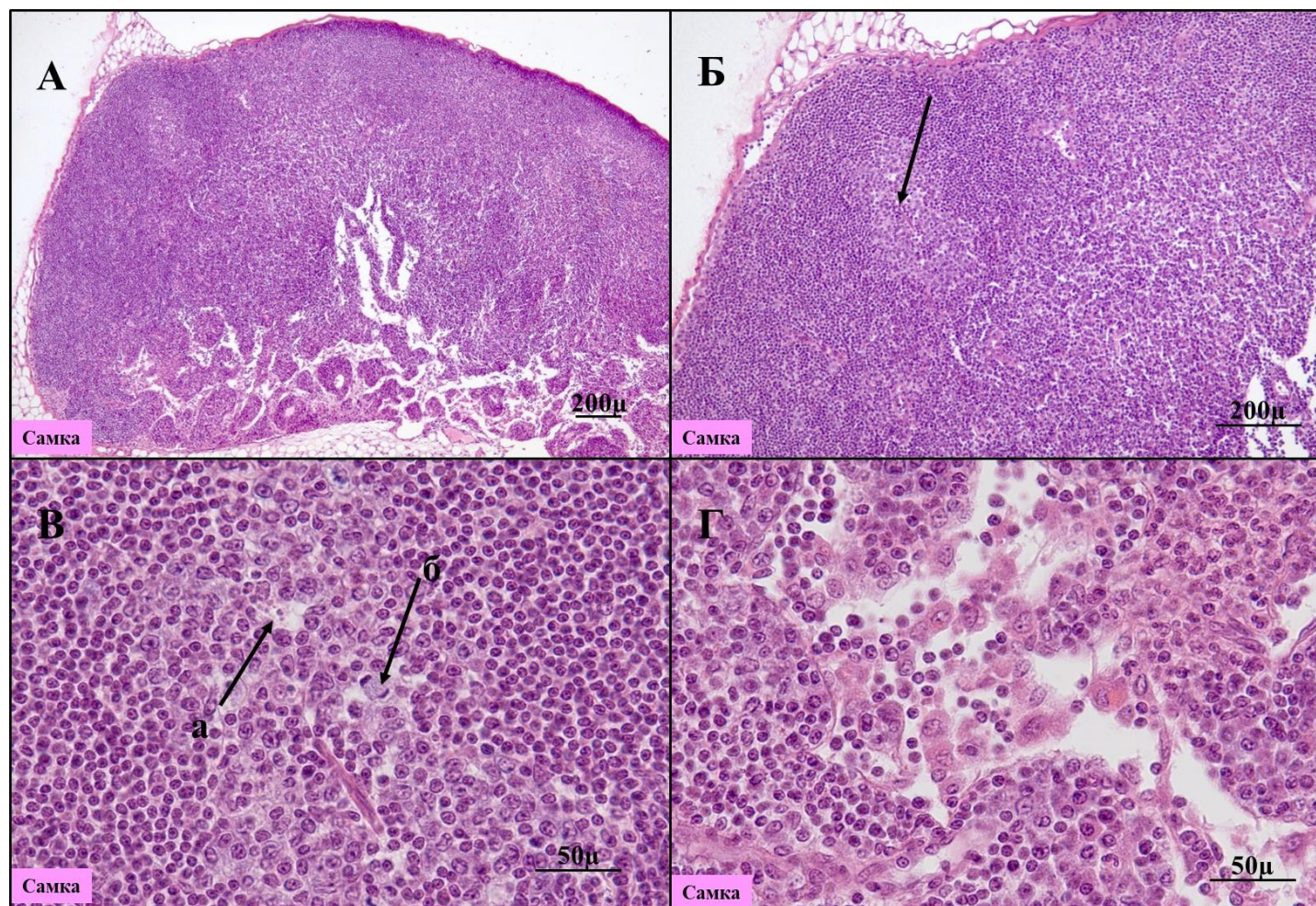


Рис. 16 Брыжеечный лимфатический узел у самок с острым язвенным колитом, индуцированным 1% ДСН. А – гиперплазия; Б, В – лимфоидные узелки с герминативными центрами (стрелки), образованные рыхло расположенными лимфобластами и лимфоцитами, выявляются фрагменты ядер (а) и митозы (б); Г – мозговые синусы с широкими просветами, в них много макрофагов с эозинофильной цитоплазмой и лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином.

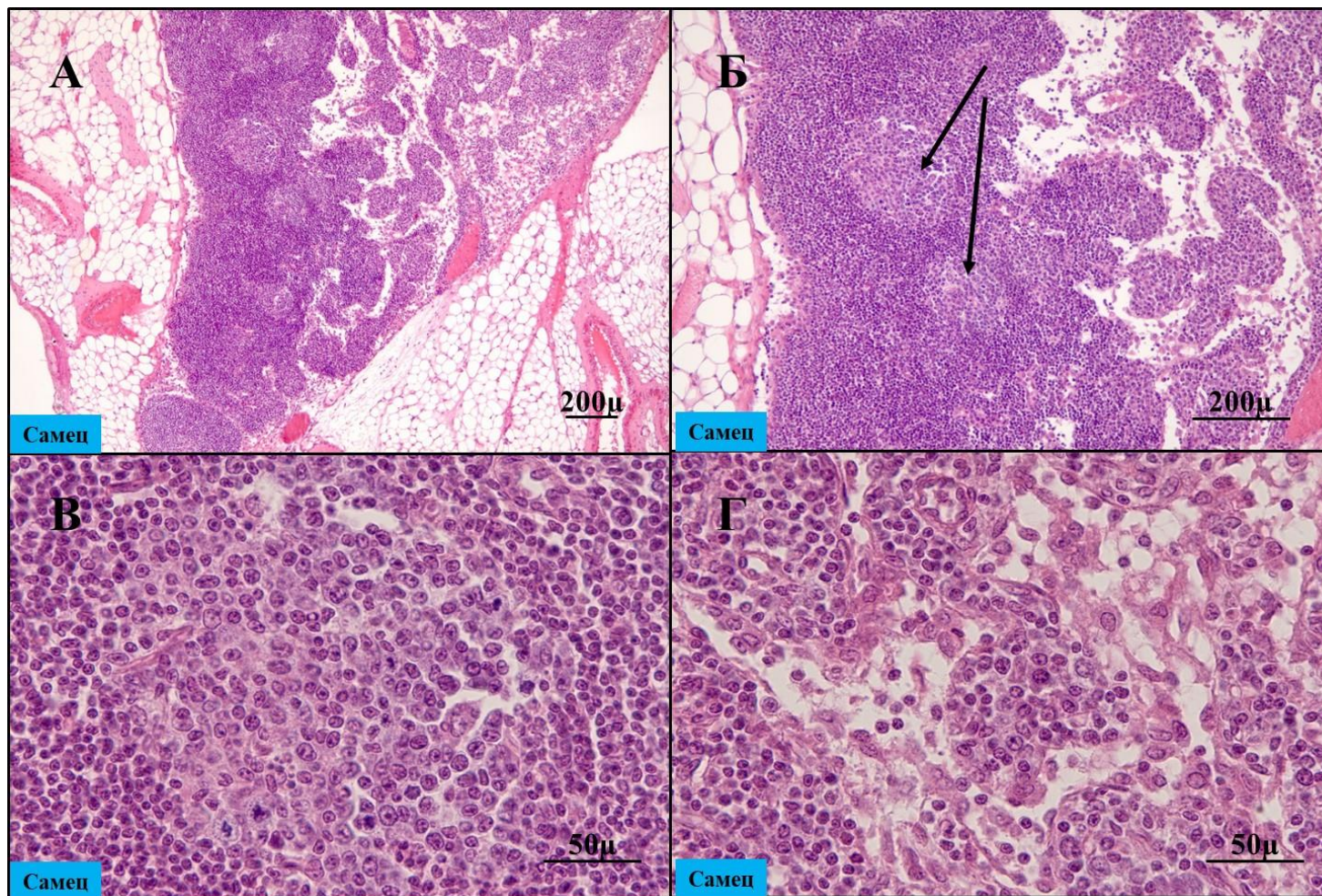


Рис. 17 Брыжеечный лимфатический узел у самцов с острым язвенным колитом, индуцированным 1% ДСН. А – гиперплазия; Б, В – лимфоидные узелки с герминативными центрами (стрелки), образованными рыхло расположенными лимфобластами и лимфоцитами; Г – мозговые синусы с широкими просветами в них много макрофагов с эозинофильной цитоплазмой и лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином.

Половые различия цитофизиологических изменений секреторных клеток ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН

Эндокринные клетки

Количество хромогранинпозитивных эндокринных клеток на крипту в ободочной кишке в целом и её отделах у самок и самцов при остром язвенном колите по сравнению с контрольными группами статистически значимо снижалось (табл.18, рис. 18, 19).

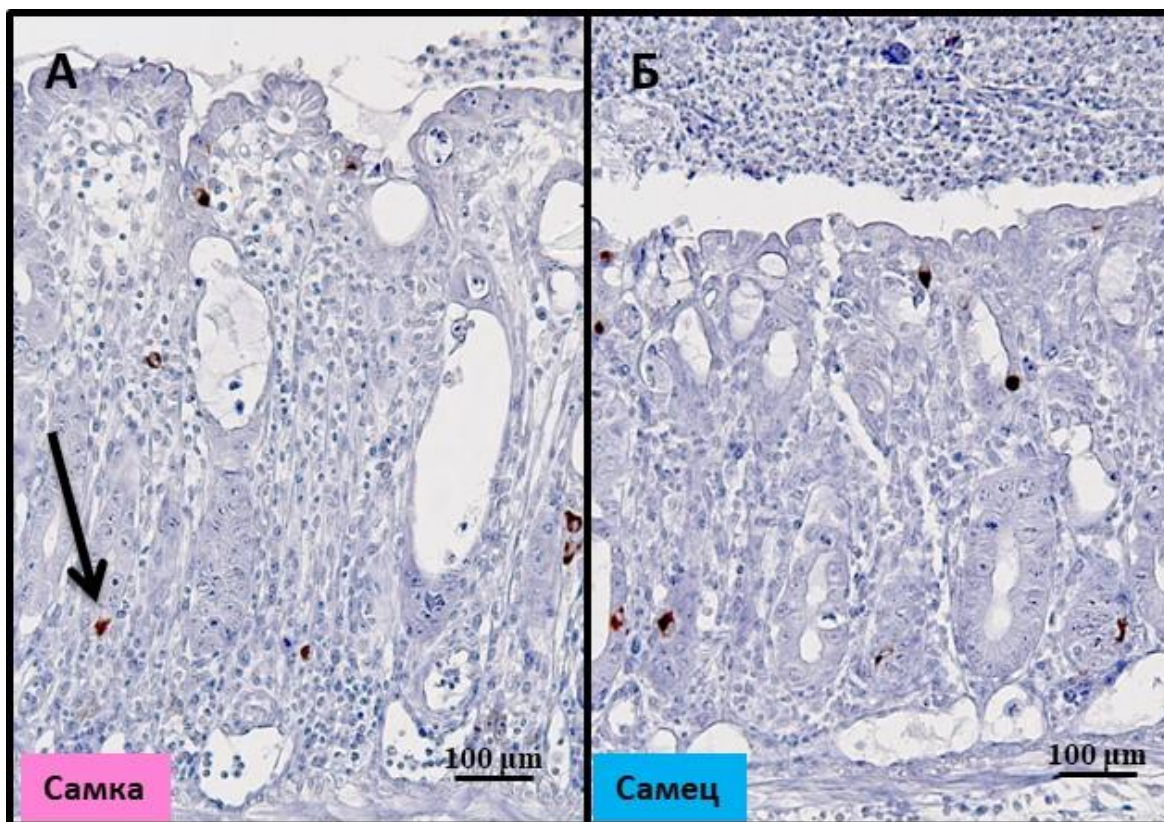


Рис. 18. Слизистая оболочка ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН. А – самка: эпителиальная выстилка сохранена, крипты и пространства между ними расширены, выражена воспалительная инфильтрация, лимфатические сосуды расширены. Среди эпителиальных клеток крипт единичные хромогранин-позитивные эндокринные клетки. Б – самец: в просвете кишки скопление лейкоцитов, эпителиальная выстилка сохранена, умеренная воспалительная инфильтрация. Среди эпителиальных клеток крипт единичные хромогранин-позитивные эндокринные клетки. Антитела к хромогранину А, гематоксилин Майера.

Таблица 18

Показатели количества эндокринных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6 контрольной группы и при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите, Ме (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		Р		
	1 Контрольная группа	2 Острый колит	3 Контрольная группа	4 Острый колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	1.22 (1.05, 1.50)	0.36 (0.19, 0.41)	2.07 (1.51, 2.31)	0.42 (0.40, 0.44)	0,02	0,003	0,001
Кишка в целом	1.13 (0.89, 1.68)	0.37 (0.33, 0.53)	1.46 (0.93, 2.59)	0.40 (0.31, 0.56)	0,08	0,000002	0,000003

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

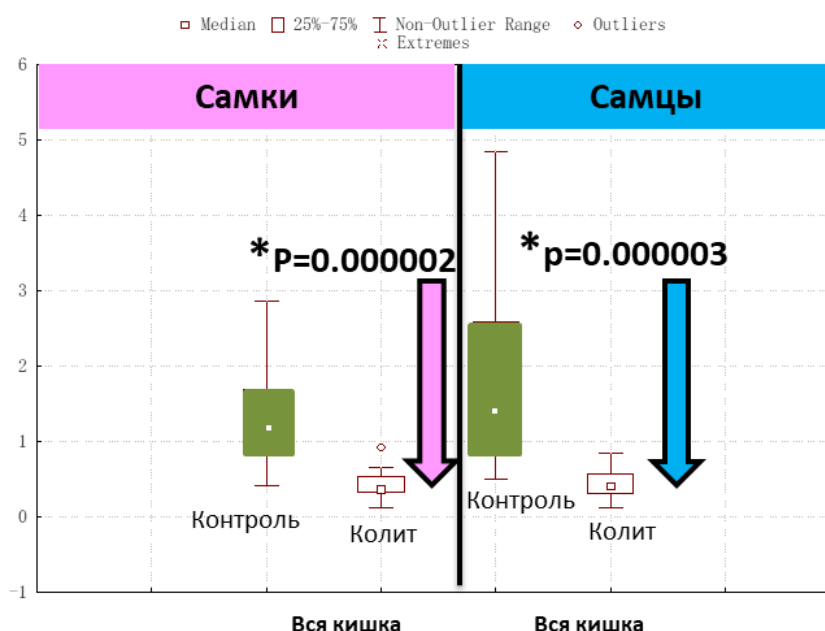


Рис. 19. Количество эндокринных клеток на крипту в эпителиальной выстилке ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6

Бокаловидные клетки

С целью изучения цитофизиологических особенностей бокаловидных клеток в них определяли содержание нейтральных и кислых высокосульфатированных гликопротеинов в проксимальном, медиальном и дистальном отделах ободочной кишки. По сравнению с контролем при остром колите содержание нейтральных гликопротеинов в бокаловидных клетках снижалось в дистальном отделе и всей кишке как у самок, так и у самцов (табл.19; рис. 20). Содержание высокосульфатированных гликопротеинов уменьшалось у самцов в дистальном отделе и всей кишке, а у самок – во всей кишке (табл. 20; рис. 21, 22).

Таблица 19

Показатели содержания **нейтральных муцинов** (усл. ед.) в бокаловидных клетках ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		Р		
	1. Контрольная группа	2. Острый колит	3. Контрольная группа	4. Острый колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	9.62 (8.46, 13.60)	7.49 (6.18, 9.43)	9.90 (7.68, 12.52)	7.04 (4.32, 9.54)	0,58	0,0002	0,01
Кишка в целом	11.26 (7.90, 18.14)	8.57 (7.33, 10.44)	9.98 (8.16, 13.13)	8.27 (6.35, 9.62)	0,63	0,005	0,00001

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

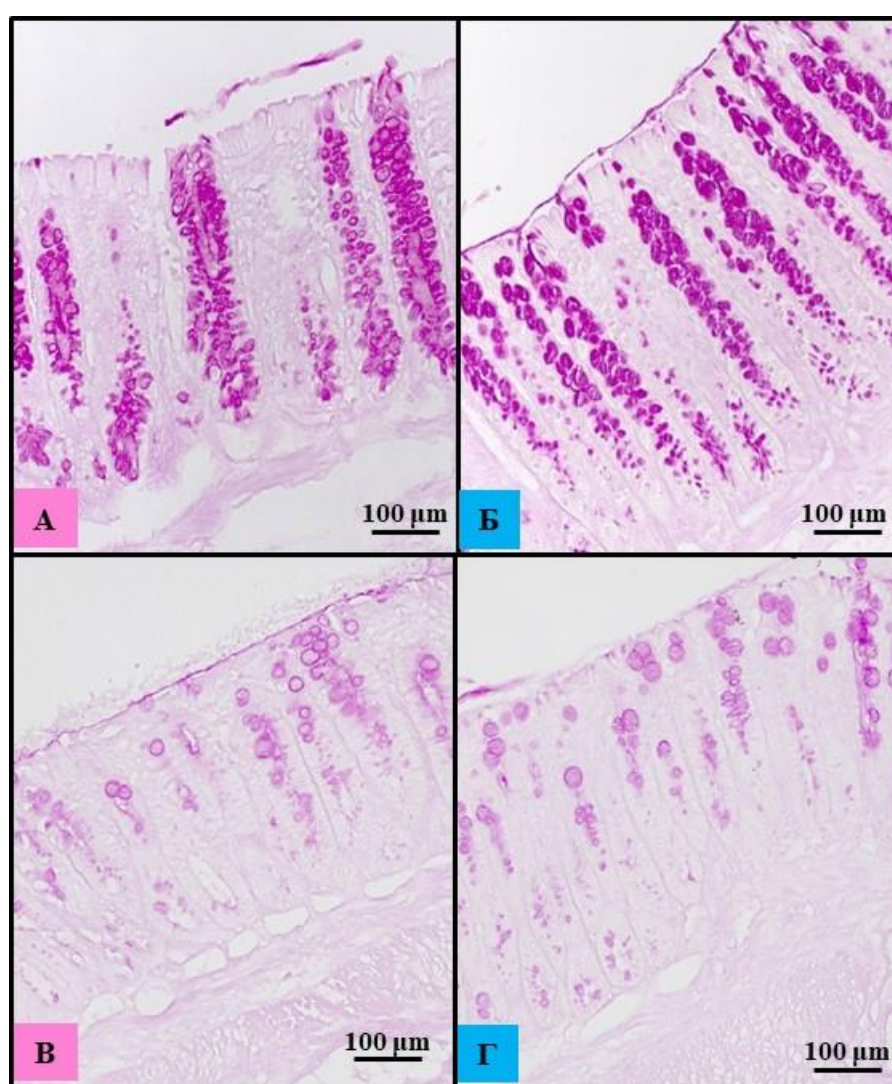


Рис. 20. Нейтральные муцины в бокаловидных клетках ободочной кишки. Контрольные группы: А – самка, Б – самец. Острый язвенный колит, индуцированный 1% ДСН: В – самка, Г – самец. Интенсивность окрашивания бокаловидных клеток снижена как у самок, так и у самцов. PAS-реакция.

Таблица 20

Показатели содержания высокосульфатированных муцинов в бокаловидных клетках ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		P		
	1 Контрольная группа	2 Острый колит	3 Контрольная группа	4 Острый колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	4.33 (3.00, 5.98)	3.73 (3.52, 4.35)	5.23 (4.10, 7.01)	3.98 (3.62, 4.82)	0,22	0,4	0,003
Кишка в целом	4.63 (3.46, 6.04)	3.01 (2.36, 3.66)	4.37 (3.80, 5.25)	2.62 (2.31, 3.46)	0,99	0,00001	0,00001

P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

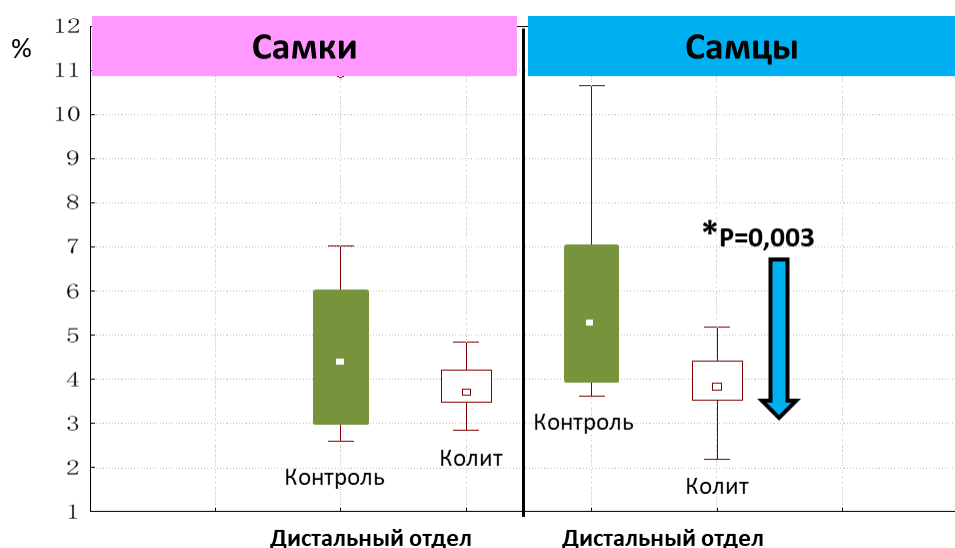


Рис. 21. Содержание высокосульфатированных муцинов в бокаловидных клетках дистального отдела ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6

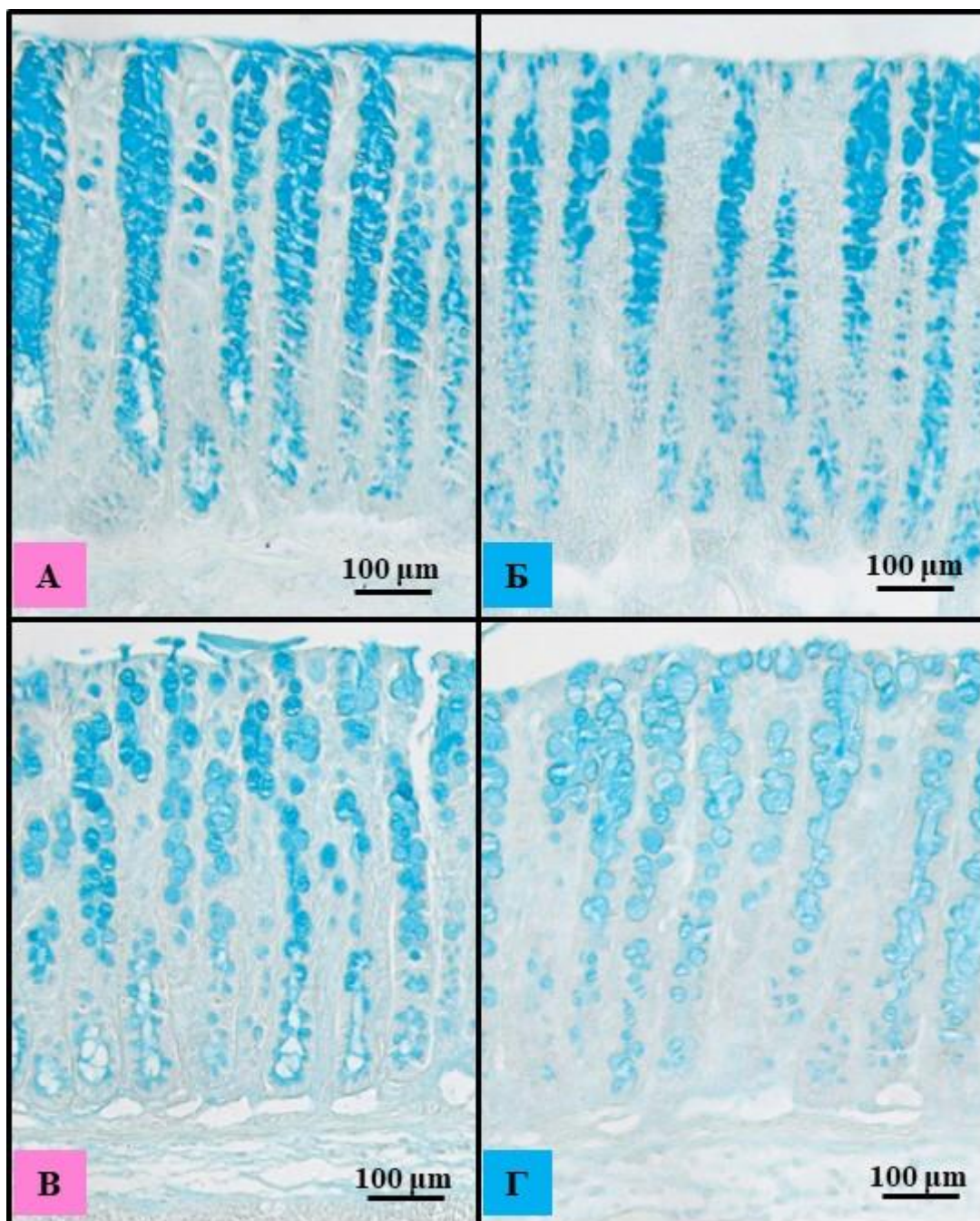


Рис 22. Высокосульфатированные гликопротеины в бокаловидных клетках ободочной кишки. Контрольные группы: А-самка, Б-самец. Острый язвенный колит, индуцированный 1% ДСН: В-самка, Г-самец. Интенсивность окрашивания муцина снижена у самцов. Окраска альциановым синим (pH 1.0).

Половые различия клинических и морфологических проявлений острого колита, индуцированного 1% ДСН, суммированы в таблице 21.

Таблица 21

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите.

Изменения показателей при остром колите по сравнению с контрольной группой		
Параметры	Самки	Самцы
1. Клинические проявления		↑ раньше и выраженнее
2. Масса тела	↓	↓
3. Длина ободочной кишки	=	↓
4. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки	↑	↓
5. Площадь очагов гиперимии и язв		↑ в 2,2 раза
6. Язвы без эпителизации (самцы по сравнению с самками)		↑ дистальный в 2.5 раза ↑ вся кишка в 3.1 раз
7. Язвы с эпителизацией		↓ дистальный в 9 раз = вся кишка
8. Инфильтрат в СПСО	↑ дистальный в 4.7 раз ↑ вся кишка в 4.5 раз	↑ дистальный в 2.6 раз ↑ вся кишка в 2.1 раз
9. Эндокринные клетки	↓ вся кишка	↓
10. Бокаловидные клетки	= дистальный ↑ вся кишка в 1.5 раз	↓ дистальный в 2.9 раз = вся кишка
11. Нейтральные гликопротеины	↓ дистальный отдел в 1.3 раз ↓ вся кишка в 1.3 раз	↓ дистальный отдел в 1.4 раз ↓ вся кишка в 1.2 раз
12. Кислые гликопротеины	= дистальный ↓ вся кишка в 1.5 раз	↓ дистальный в 1.3 раз; ↓ вся кишка в 1.7 раз

Белые ячейки – изменения по сравнению с соответствующей контрольной группой

Окрашенные ячейки – отличия самцов от самок

Таким образом, по сравнению с самками у самцов острый колит был более выражен по клиническим проявлениям (табл. 21). В отличие от самок, у которых число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки возрастало, у самцов оно снижалось. По морфометрическим показателям в ободочной кишке по сравнению с самками, у самцов распространенность язв без эпителизации была выше и, соответственно, ниже с эпителизацией. Показатель объёмной доли клеток в СПСО у самок был в 6,4 и у самцов в 2,9 раза выше по сравнению контролем. При остром колите относительное содержание в эпителиальной выстилке эндокринных клеток снижалось и у самок, и у самцов. У самок при остром колите повышались показатели

объемной доли бокаловидных клеток в проксимальном и медиальном отделах, у самцов только в медиальном отделе, а в дистальном – снижались. У самок показатель содержания высокосульфатированных гликопротеинов в дистальном отделе не изменялся по сравнению с контролем, а у самцов он уменьшался.

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке при остром колите, индуцированном 1% ДСН у самок мышей C57Bl/6

Периферическая кровь. При остром колите у самок повышалось относительное число $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов, но уменьшалось – $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов (табл.22, рис. 23).

Брыжеечные лимфатические узлы. Показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самок при остром колите увеличивались. Относительное количество $CD3^+CD4^+$ Т-лимфоцитов хелперов снижалось (табл.23, рис. 23).

Ободочная кишка. У самок при остром язвенном колите в ободочной кишке снижались показатели абсолютного числа лимфоцитов и относительное количество $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов. При остром колите в отличие от контроля, при котором эта субпопуляция не выявлялась, появились $CD3^+CD8^+$ цитотоксические Т-лимфоциты и их содержание составило 0,1% (табл. 24, рис. 23).

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН у самцов мышей C57Bl/6

Периферическая кровь. У самцов при остром язвенном колите снижалось абсолютное число лейкоцитов, лимфоцитов и $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов, абсолютное число и относительное содержание $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов (табл.22, рис. 24).

Брыжеечные лимфатические узлы. Показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самцов при остром язвенном колите уменьшались. Относительное количество $CD3^+CD8^+$ цитотоксических и $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов повышалось, а $CD3^-CD19^+$ В-лимфоцитов снижалось (табл.23, рис. 24).

Ободочная кишка. В ободочной кишке у самцов при тяжелом остром язвенном колите увеличивались показатели относительного количества $CD3^-CD19^+$ В-лимфоцитов и $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов (табл. 24, рис. 24).

Таблица 22

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р	Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		7,80 (6,70; 8,80)	7,60 (7,20; 8,10)	0,96	9,38 (8,80; 9,60)	8,10 (6,90; 8,30)	0,04
Лимфоциты, млн/мл (LY)		5,30 (4,70; 7,80)	5,70 (5,40; 6,08)	0,84	7,50 (7,06; 8,10)	6,40 (6,30; 6,60)	0,04
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	16,60 (14,80; 17,70)	19,80 (19,60; 20,40)	0,03	14,84 (14,14; 16,00)	15,40 (12,70; 17,10)	0,95
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	0,99 (0,75; 1,21)	1,17 (1,16; 1,19)	0,62	1,18 (1,13; 1,23)	1,09 (0,80; 1,13)	0,11
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	16,00 (13,80; 17,65)	12,40 (12,00; 13,30)	0,05	12,88 (11,20; 14,60)	12,50 (9,80; 14,15)	0,85
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	1,04 (0,71; 1,17)	0,75 (0,67; 0,77)	0,28	1,00 (0,91; 1,17)	0,83 (0,22; 0,91)	0,04
В-лимфоциты (CD3-CD19 ⁺)	% от лф	58,10 (53,70; 60,35)	59,30 (57,10; 60,50)	0,44	65,80 (57,90; 66,80)	62,60 (57,20; 62,90)	0,09
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	3,40 (2,52; 4,77)	3,44 (3,34; 3,47)	0,98	4,49 (3,04; 5,35)	4,0 (3,77; 4,08)	0,18
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	5,95 (5,40; 6,80)	6,70 (5,60; 8,40)	0,45	2,80 (2,40; 3,60)	1,40 (1,20; 1,60)	0,0005
	тыс/мл	72,51 (43,07; 128,06)	90,70 (78,51; 92,61)	0,94	33,56 (25,66; 46,81)	15,24 (4,42; 15,26)	0,0005

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 23

Субпопуляционный состав лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р	Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		28,50 (18,00; 30,60)	40,50 (27,00; 45,00)	0,05	27,24 (22,80; 27,50)	12,90 (12,78; 12,90)	0,004
Лимфоциты, млн/мл (LY)		24,44 (16,80; 28,60)	34,83 (23,22; 38,70)	0,05	19,39 (15,61; 20,48)	11,96 (11,60; 12,00)	0,004
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	35,10 (35,00; 36,10)	26,65 (24,60; 27,90)	0,0004	34,18 (29,00; 37,60)	35,40 (32,10; 35,40)	0,88
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	35,60 (32,30; 36,60)	29,20 (26,70; 35,30)	0,07	25,37 (21,70; 26,40)	35,10 (35,10; 38,70)	0,003
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	25,50 (20,90; 26,50)	19,60 (13,80; 22,70)	0,18	36,46 (36,10; 37,10)	29,50 (21,70; 29,60)	0,004
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	17,10 (12,60; 18,80)	20,70 (17,90; 22,60)	0,11	5,41 (5,40; 5,52)	9,78 (8,50; 10,50)	0,03

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 24

Субпопуляционный состав лимфоцитов в ободочной кишке у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р	Контрольная группа	Острый язвенный колит 1% ДСН	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		1,00 (0,60; 1,10)	0,40 (0,40; 0,60)	0,06	1,10 (0,40; 1,10)	1,10 (1,00; 1,20)	0,42
Лимфоциты, млн/мл (LY)		0,40 (0,25; 0,50)	0,17 (0,17; 0,25)	0,03	0,60 (0,50; 0,67)	0,44 (0,40; 0,48)	0,22
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	12,60 (10,10; 13,90)	11,10 (9,30; 18,90)	0,92	2,90 (1,60; 3,50)	3,60 (3,40; 4,10)	0,22
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	0,00 (0,00; 0,00)	0,10 (0,10; 0,20)	0,03	1,60 (1,00; 2,00)	1,05 (0,90; 2,15)	0,90
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	9,10 (7,90; 9,38)	4,50 (4,00; 5,40)	0,02	1,40 (0,40; 1,80)	11,00 (10,40; 11,50)	0,008
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	57,40 (32,90; 63,00)	31,00 (29,40; 32,00)	0,15	15,40 (14,50; 16,40)	69,00 (66,70; 70,50)	0,008

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

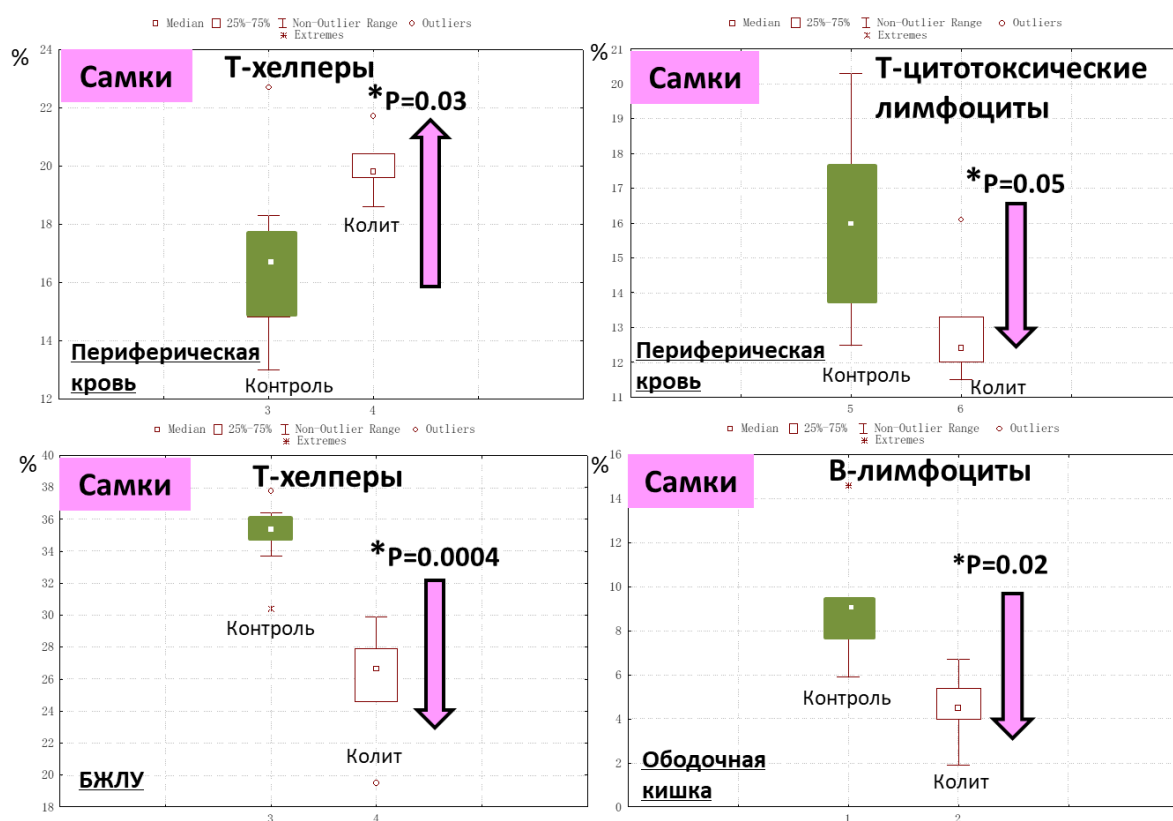


Рис. 23. Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите у самок мышей C57Bl/6

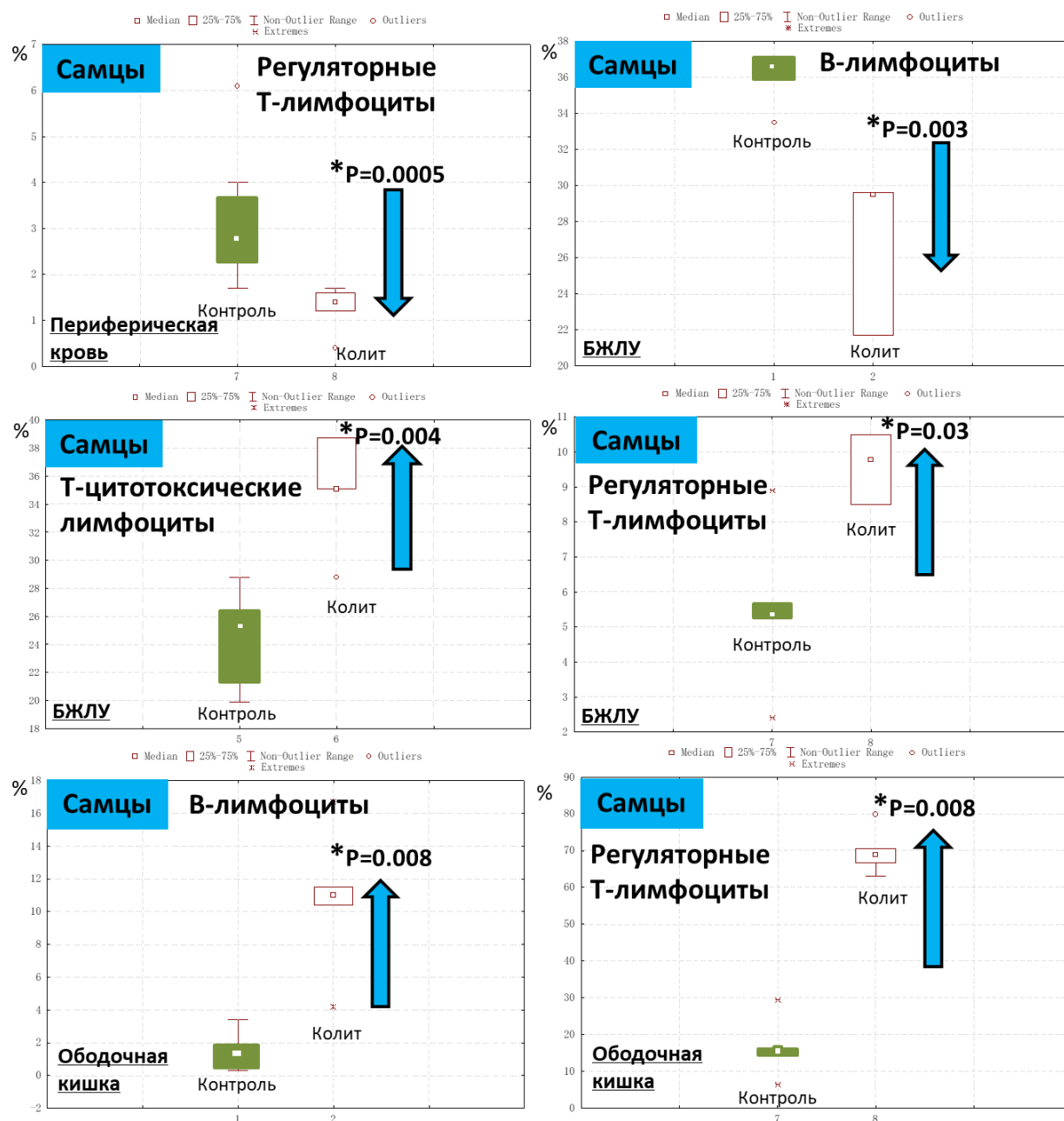


Рис. 24. Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах (БЖЛУ) и ободочной кишке при индуцированном 1% ДСН острым язвенном колите у самцов мышей C57Bl/6

Полученные данные о половых различиях изменений субпопуляционного состава лимфоцитов при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, суммированы в таблице 25.

Таблица 25

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов при индуцированном 1% ДСН остром язвенном колите

Показатели	Самки			Самцы		
	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка
Лейкоциты, млн/мл (WBC)	=	↑ в 1,4 раз	=	↓ в 1,2 раз	↓ в 2,1 раз	=
Лимфоциты, млн/мл (LY)	=	↑ в 1,4 раз	↓ в 2,4 раз	↓ в 1,2 раз	↓ в 1,6 раз	=
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) % от лф*	↑ в 1,2 раз	↓ в 1,3 раз	=	=	=	=
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺) % от лф	↓ в 1,3 раз	=	↑ появились	=	↑ в 1,4 раз	=
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺) % от лф	=	=	↓ в 2 раз	=	↓ в 1,2 раз	↑ в 7,9 раз
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺) % от Тх	=	=	=	↓ в 2 раз	↑ в 1,8 раз	↑ в 4,5 раз

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; ПК – периферическая кровь; БЖЛУ – брыжеечные лимфатические узлы

Таким образом, по сравнению с контролем при остром колите в периферической крови у самок повышалось содержание Т-хелперов (в 1,2 раза) и снижалось относительное количество цитотоксических Т-лимфоцитов в 1,3 раза, а у самцов уменьшалось абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, а также содержание регуляторных Т-лимфоцитов.

В брыжеечных лимфатических узлах у самок повышалось абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, но снижалось содержание Т-хелперов. В то время как у самцов уменьшалось абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, а относительное количество В-лимфоцитов (в 1,2 раза) и

содержание цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов возрастало.

В суспензии клеток ободочной кишки у самок снижалось абсолютное количество лимфоцитов, содержание В-лимфоцитов. В отличие от контроля появлялись цитотоксические Т-лимфоциты, хотя их показатели были низкими – 0,1%. В ободочной кишке у самцов резко возрастало содержание В-лимфоцитов (в 7,9 раза) и регуляторных Т-лимфоцитов (в 4,5 раз).

4.2.2. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и иммунологических нарушений при экспериментальном тяжелом остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки и брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН

Клинические проявления колита у самцов: диарея и кровь в фекалиях появились раньше, чем у самок, и они были более выраженными (рис. 25). В контрольных группах масса тела у самок была ниже, чем у самцов. По сравнению с контрольными группами у самок и самцов при остром язвенном колите масса тела снижались (табл.26).

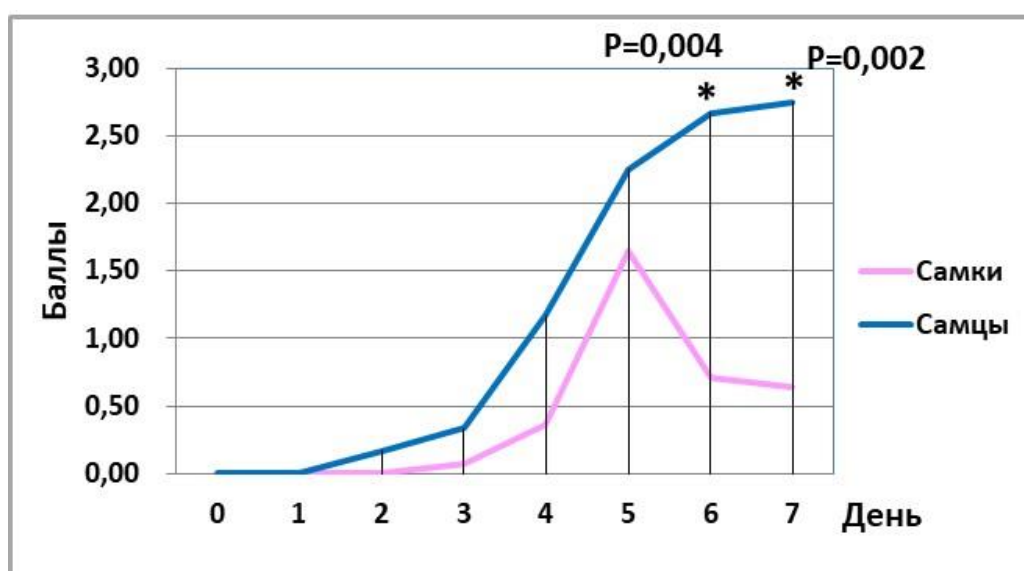


Рис. 25. Динамика клинических проявлений острого язвенного колита, индуцированного 5% ДСН, у самок и самцов мышей C57Bl/6

Таблица 26

Показатели массы тела и длины ободочной кишки у самцов и самок мышей

C57Bl/6 контрольной группы и при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Параметры	Самки		Самцы		Р		
	1 Контрольная группа	2 Острый колит	3 Контрольная группа	4 Острый колит	1-3	1-2	3-4
Масса тела (г)	21.0 (21.0,22.0)	17.0 (16.0, 17.0)	24.0 (23.0,25.0)	17.0 (16.0, 18.0)	0.0000001	0.0000001	0.0000001
Длина ободочной кишки (см)	5.00 (4.50,5.25)	3.82 (2.74, 4.20)	6.00 (5.25,6.00)	4.43 (4.32, 4.43)	0.02	0.047	0.0003

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Длина ободочной кишки у самок контрольной группы по сравнению с самцами была меньше. По сравнению с контролем при остром колите как у самок, так и у самцов показатели длины ободочной кишки статистически значимо снижались (табл.26).

При сравнительной оценке относительной площади макроскопических изменений в слизистой оболочке ободочной кишки, установлено, что у самок с острым язвенным колитом показатель распространенности язв и очагов гиперемии был в 5,1 раза ниже, чем у самцов (рис. 26 и 27).

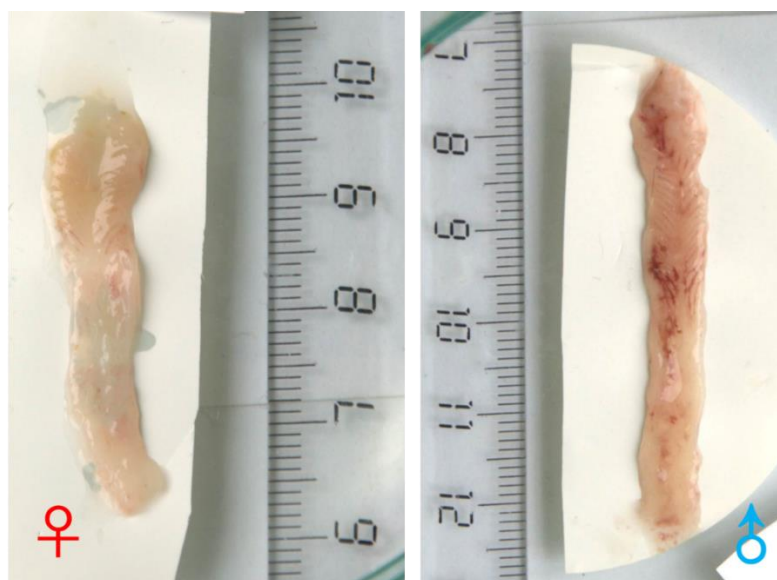


Рис. 26. Макропрепарат ободочной кишки самки и самца мыши C57Bl/6 с острым язвенным колитом, индуцированным 5% ДСН

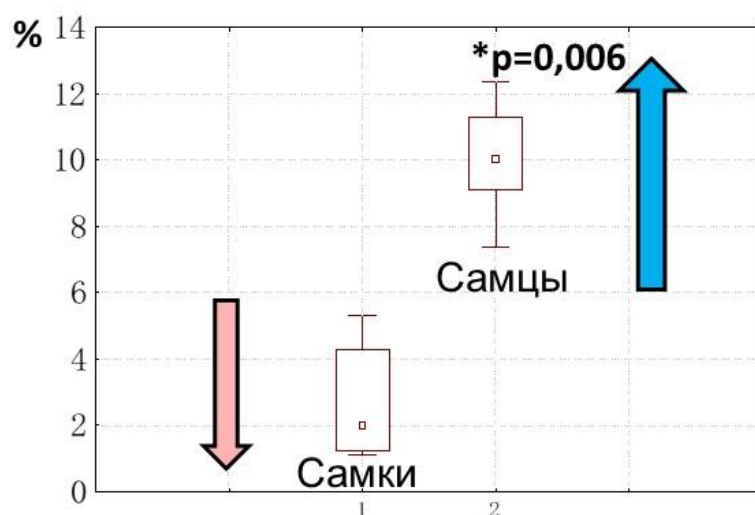


Рис. 27. Относительные показатели распространенности язв и очагов гиперемии при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75).

При морфологическом исследовании ободочной кишки у 5 из 7 самок выявлен острый катарально-язвенный и у 2-х более тяжелый острый фибринозно-язвенный колит. В проксимальном отделе ободочной кишки у всех самок выявлялись единичные необширные частично эпителизированные язвы (рис. 28). На поверхности эпителия определялась слизь, скопления лейкоцитов и десквамированный эпителий. В зонах с сохранённой слизистой оболочкой просветы крипт были расширены, бокаловидные клетки крупные округлые, в СПСО выражена воспалительная инфильтрация, мышечная пластинка сохранена. Подслизистый слой был расширенный и отечный с воспалительной инфильтрацией из макрофагов, лимфоцитов и нейтрофилов. В медиальном и дистальном отделах ободочной кишки выявлялись обширные язвы, которые распространялись на 1/3 – 5/6 длины кишки. У 2-х из 7 самок в медиальном и дистальном отделах на поверхности язв определялись небольшие наложения фибрина.

При морфологическом исследовании ободочной кишки у всех самцов выявлен острый фибринозно-язвенный колит (рис. 28). В проксимальном отделе по сравнению с медиальным и дистальным, язвенный процесс был менее распространенным и наложения масс фибрина на поверхности язв

были минимальными. В медиальном и дистальном отделе язвы распространялись на 70-100% длины кишки, наложения фибрина на поверхности язв были обширными и массивными, нити фибрина проникали в поверхностные отделы язв. В части кровеносных сосудов СПСО кишки у 2-х из 5 мышей выявлены фибриноидный некроз стенок и массы фибрина в их просвете.

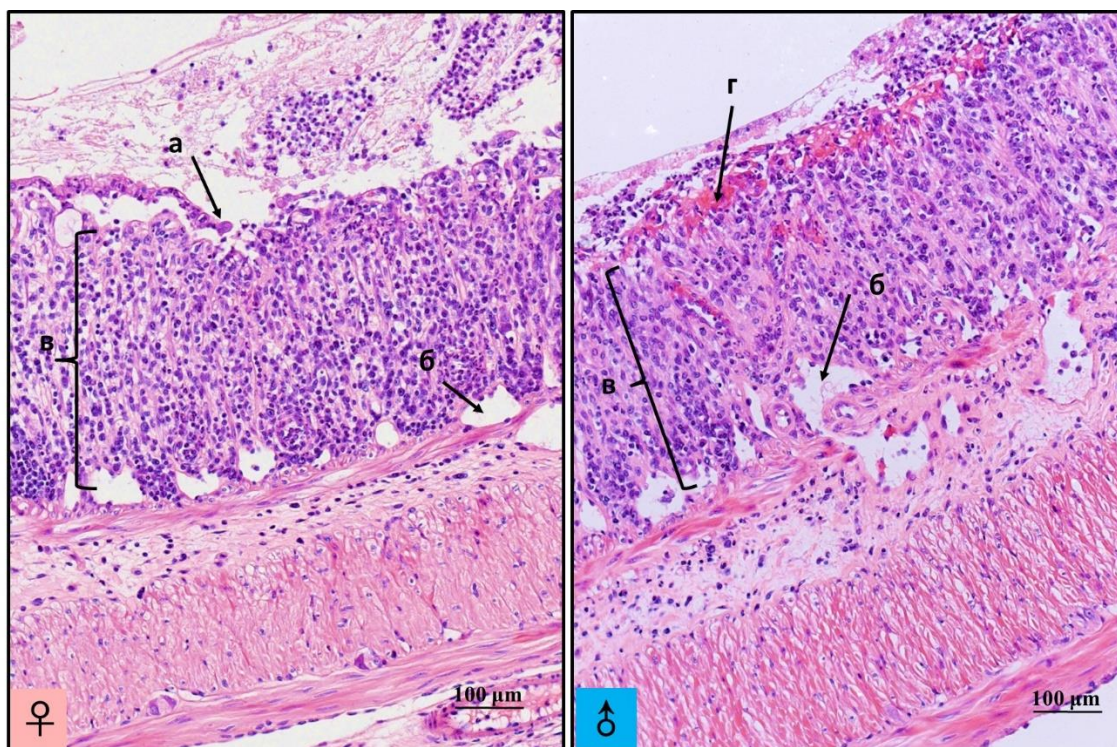


Рис. 28. Морфологические проявления острого язвенного колита у самок и самцов мышей C57Bl/6. Самки – острая язва с эпителизацией её краев (а). Собственная пластинка слизистой оболочки представлена грануляционной тканью (б), лимфатические сосуды резко расширены (в). Самцы – острый фибринозно-язвенный колит. Наложения фибрина и лейкоциты на поверхности язвы (г). Собственная пластинка слизистой оболочки замещена грануляционной тканью (б), лимфатические сосуды резко расширены (в). Окраска гематоксилином и эозином.

По сравнению с самцами у самок в дистальном отделе и во всей ободочной кишке показатели язв с эпителием были статистически значимо выше, а язв без эпителия – ниже (табл. 27).

Таблица 27

Относительные показатели длины язв без эпителизации и с эпителизацией при индуцированном 5% ДСН остром колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Группы животных Показатели в %	Длина язв без эпителия в %			Длина язв с эпителием в %		
	Самки	Самцы	P	Самки	Самцы	P
Дистальный	44.58 (18.81, 80.89)	92.29 (87.22, 98.09)	0.02	31.50 (5.38, 52.29)	2.80 (0.89, 4.16)	0.02
Вся ободочная кишка	26.85 (26.63, 28.96)	65.31 (52.46, 73.44)	0.006	0.11 (13.88, 25.61)	5.62 (1.87, 9.93)	0.01

P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

В брыжеечных лимфатических узлах при остром язвенном колите, вызванном 5% ДСН, у самок и самцов мышей при морфологическом исследовании выявлены сходные реактивные изменения. Лимфоидные узелки с герминативными центрами, в которых рыхло расположены лимфобласты и лимфоциты, и среди них определяется большое количество фрагментов ядер. В мозговых тяжах лимфоциты и много плазмоцитов. Краевой и мозговые синусы резко расширены, их просветы плотно заполнены, главным образом, макрофагами с эозинофильной зернистой цитоплазмой и небольшим количеством лимфоцитов. В пространствах между клетками много скоплений и диффузно рассеянных эозинофильных гранул (рис. 29 и 30).

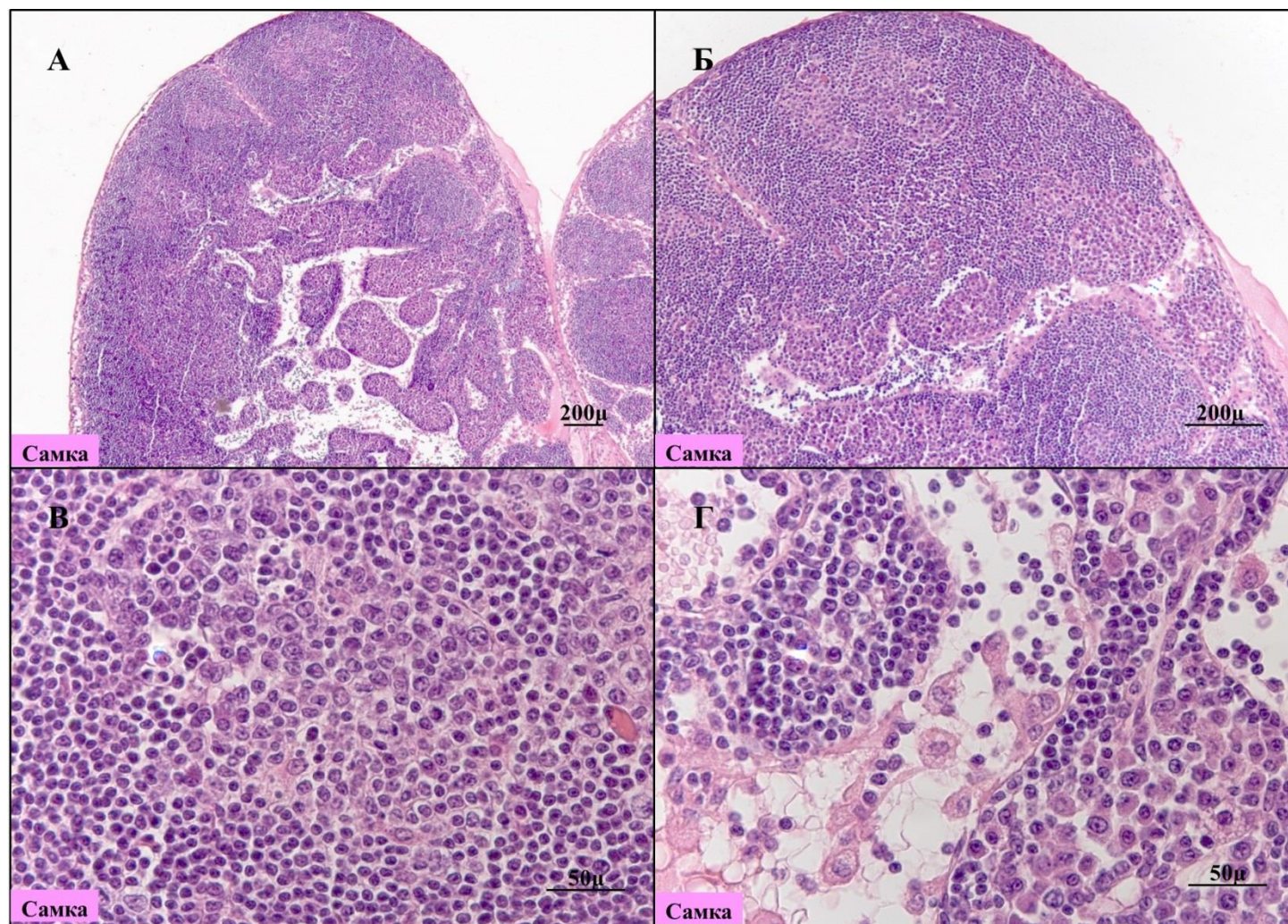


Рис. 29 Брыжеечный лимфатический узел у самки с острым язвенным колитом, индуцированным 5% ДСН. А – гиперплазия коркового вещества; Б, В – лимфоидный узелок с широким герминативным центром; Г – в мозговых тяжах много плазмочитов. Мозговые синусы расширены, в них макрофаги с эозинофильной цитоплазмой и лимфоциты.

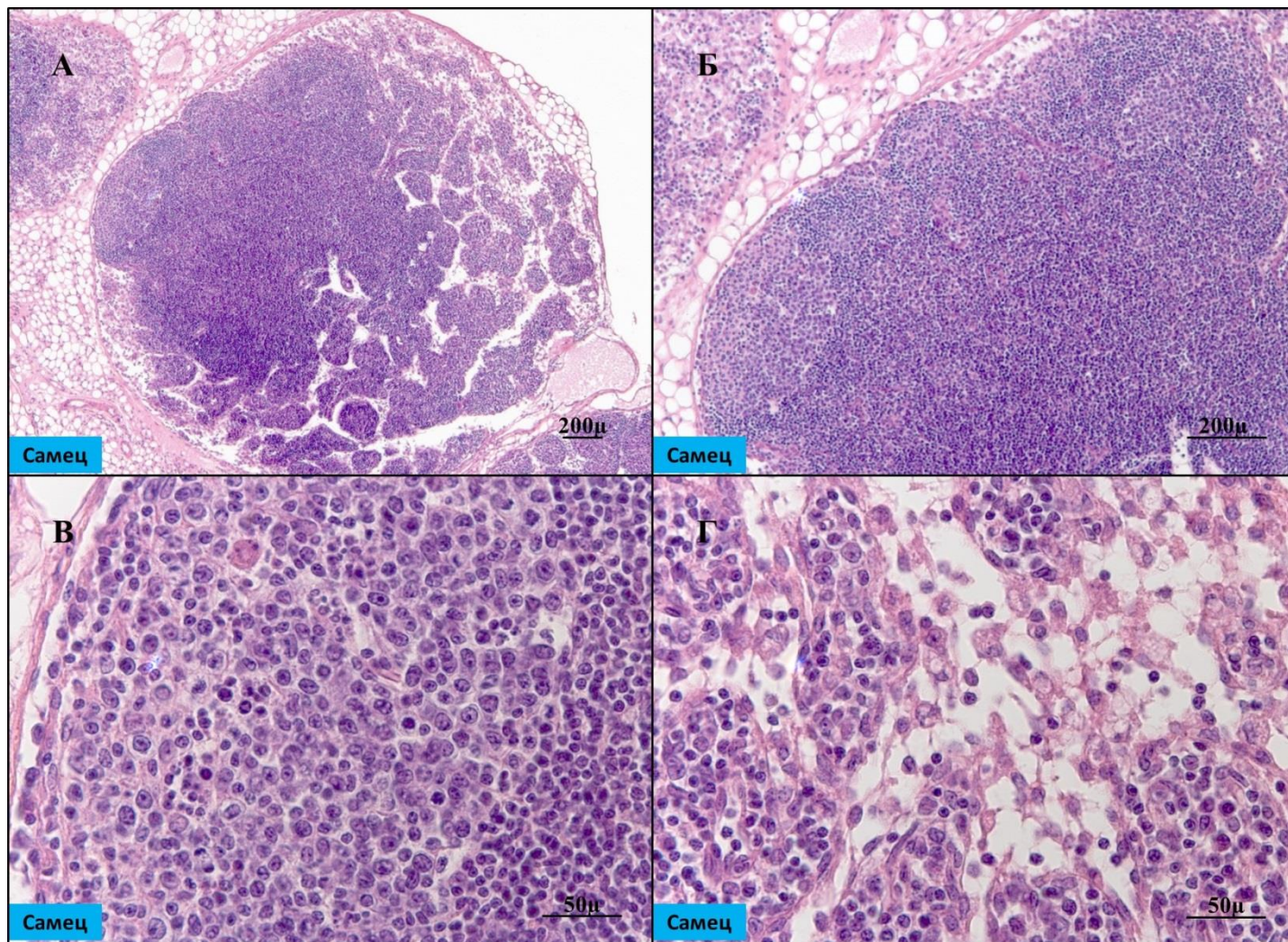


Рис. 30 Брыжеечный лимфатический узел у самцов с острым язвенным колитом, индуцированным 5% ДСН. А – гиперплазия коркового вещества; Б, В – лимфоидный узелок с широким герминативным центром, в нем преобладают лимфобласты; Г – в мозговых тяжах много плазмоцитов. Мозговые синусы расширены, в них макрофаги с эозинофильной цитоплазмой, лимфоцитов мало.

Таким образом, у самок и самцов мышей выявлены реактивные изменения брыжеечных лимфатических узлов: лимфоидные узелки с герминативными центрами с рыхло расположенными лимфобластами и лимфоцитами, в них большое количество фрагментов ядер; умеренная плазматизация мозговых тяжей; резко выраженная клеточная реакция синусов.

Таблица 28

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки при индуцированном 5% ДСН острым язвенным колите

Параметры	Самки	Самцы
1. Клинические проявления		↑ раньше
2. Масса тела	↓	↓
3. Длина ободочной кишки	↓	↓
4. Площадь очагов гиперимии и язв		↑ в 5 раз
5. Язвы без эпителизация		↑ дистальный в 2.1 раз ↑ вся кишка в 2.4 раз
6. Язвы с эпителизацией		↓ дистальный в 11.25 раз ↓ вся кишка в 3.6 раз

Белые ячейки – изменения по сравнению с соответствующей контрольной группой

Окрашенные ячейки – отличия самцов от самок

Таким образом, выявлены половые различия морфологических изменений ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 при тяжелом остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН. У самок по сравнению с самцами он менее тяжелый: у самок н менее выражено снижение массы тела, в 4,3 раза ниже показатели клинических проявлений, а также в 5 раз ниже показатель распространенности язвенного процесса. По данным морфологического исследования у самок развивается катарально-язвенный, а у самцов более тяжелая форма – фибринозно-язвенный колит. Распространённость язвенного процесса в ободочной кишке у самцов по сравнению с самками в 3,9 раза выше, а показатель язв с эпителием в 3,6 ниже.

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке при остром колите, индуцированном 5% ДСН, у самок мышей C57Bl/6

Периферическая кровь

При остром язвенном колите у самок снижалось относительное число $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов, но повышалось $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов (табл.29, рис. 31).

Брыжеечные лимфатические узлы

Показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самок при тяжелом язвенном колите увеличивались. Процентное содержание $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов повышалось, а $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов и $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов снижалось (табл.30, рис. 31).

Ободочная кишка

При язвенном колите у самок в ободочной кишке снижались показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов, относительное количество $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов и $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов, но содержание $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов и $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов повышалось (табл. 31, рис. 31).

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, у самцов мышей C57Bl/6

Периферическая кровь

У самцов при остром язвенном колите снижались показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов, а также относительного числа $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов. Показатель относительного количества $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов повышался (табл.29, рис. 32).

Брыжеечные лимфатические узлы

Показатели процентного содержания $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов и $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ регуляторных Т-лимфоцитов у самцов при тяжелом остром язвенном колите увеличивались. Относительное число $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов и $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов уменьшалось (табл.30, рис. 32).

Ободочная кишка

При остром язвенном колите у самцов абсолютное число лимфоцитов и относительное $CD3^+CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов снижалось. Показатели относительного содержания $CD3^+CD19^+$ В-лимфоцитов и $CD3^+CD4^+$ Т-хелперов повышались (табл. 31, рис. 33).

Таблица 29

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый колит	Р	Контрольная группа	Острый колит	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		7,80 (6,70; 8,80)	6,00 (4,90; 6,90)	0,11	9,38 (8,80; 9,60)	5,02 (3,70; 12,45)	0,01
Лимфоциты, млн/мл (LY)		5,30 (4,70; 7,80)	4,61 (3,90; 5,90)	0,32	7,50 (7,06; 8,10)	3,31 (2,50; 7,53)	0,003
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	16,60 (14,80; 17,70)	15,20 (13,30; 16,10)	0,24	14,84 (14,14; 16,00)	4,20 (3,90; 9,20)	0,0006
	млн/мл	0,99 (0,75; 1,21)	0,68 (0,53; 0,80)	0,12	1,18 (1,13; 1,23)	0,34 (0,19; 0,62)	0,0001
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	16,00 (13,80; 17,65)	14,70 (12,30; 16,60)	0,41	12,88 (11,20; 14,60)	11,10 (4,90; 23,48)	0,28
	млн/мл	1,04 (0,71; 1,17)	0,59 (0,53; 0,89)	0,20	1,00 (0,91; 1,17)	0,63 (0,28; 1,06)	0,04
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	58,10 (53,70; 60,35)	45,40 (33,10; 51,70)	0,006	65,80 (57,90; 66,80)	65,01 (20,40; 70,20)	0,48
	млн/мл	3,40 (2,52; 4,77)	2,25 (1,50; 2,61)	0,17	4,49 (3,04; 5,35)	1,13 (0,31; 4,44)	0,0001
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	5,95 (5,40; 6,80)	9,65 (7,10; 13,00)	0,03	2,80 (2,40; 3,60)	8,40 (6,05; 10,75)	0,0001
	тыс/мл	72,51 (43,07; 128,06)	61,60 (37,77; 76,52)	0,37	33,56 (25,66; 46,81)	22,55 (18,71; 23,48)	0,0005

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 30

Субпопуляционный состав лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый колит	Р	Контрольная группа	Острый колит	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		28,50 (18,00; 30,60)	42,70 (36,05; 51,85)	0,03	27,24 (22,80; 27,50)	13,30 (9,70; 31,50)	0,18
Лимфоциты, млн/мл (LY)		24,44 (16,80; 28,60)	36,91 (26,40; 41,59)	0,02	19,39 (15,61; 20,48)	13,61 (9,12; 29,61)	0,43
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	35,10 (35,00; 36,10)	19,15 (15,75; 25,75)	0,00008	34,18 (29,00; 37,60)	18,55 (17,80; 18,90)	0,0003
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	35,60 (32,30; 36,60)	26,85 (24,05; 33,10)	0,046	25,37 (21,70; 26,40)	19,65 (16,00; 21,70)	0,03
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	25,50 (20,90; 26,50)	48,75 (34,20; 53,75)	0,00008	36,46 (36,10; 37,10)	56,40 (51,60; 59,00)	0,0003
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	17,10 (12,60; 18,80)	15,05 (12,35; 19,05)	0,67	5,41 (5,40; 5,52)	10,10 (7,90; 23,60)	0,01

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 31

Субпопуляционный состав лимфоцитов в ободочной кишке у самок и самцов мышей C57Bl/6 при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, Ме (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Острый колит	Р	Контрольная группа	Острый колит	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		1,00 (0,60; 1,10)	0,25 (0,20; 0,30)	0,02	1,10 (0,40; 1,10)	0,35 (0,30; 0,70)	0,08
Лимфоциты, млн/мл (LY)		0,40 (0,25; 0,50)	0,11 (0,09; 0,13)	0,02	0,60 (0,50; 0,67)	0,14 (0,12; 0,28)	0,01
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	12,60 (10,10; 13,90)	10,05 (9,00; 11,30)	0,33	2,90 (1,60; 3,50)	8,05 (6,90; 8,80)	0,004
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	0,00 (0,00; 0,00)	0,20 (0,20; 0,20)	0,03	1,60 (1,00; 2,00)	0,20 (0,20; 0,25)	0,02
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	9,10 (7,90; 9,38)	43,15 (25,00; 52,00)	0,004	1,40 (0,40; 1,80)	30,00 (18,20; 35,60)	0,004
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	57,40 (32,90; 63,00)	26,10 (23,80; 28,90)	0,05	15,40 (14,50; 16,40)	25,30 (15,70; 27,80)	0,33

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

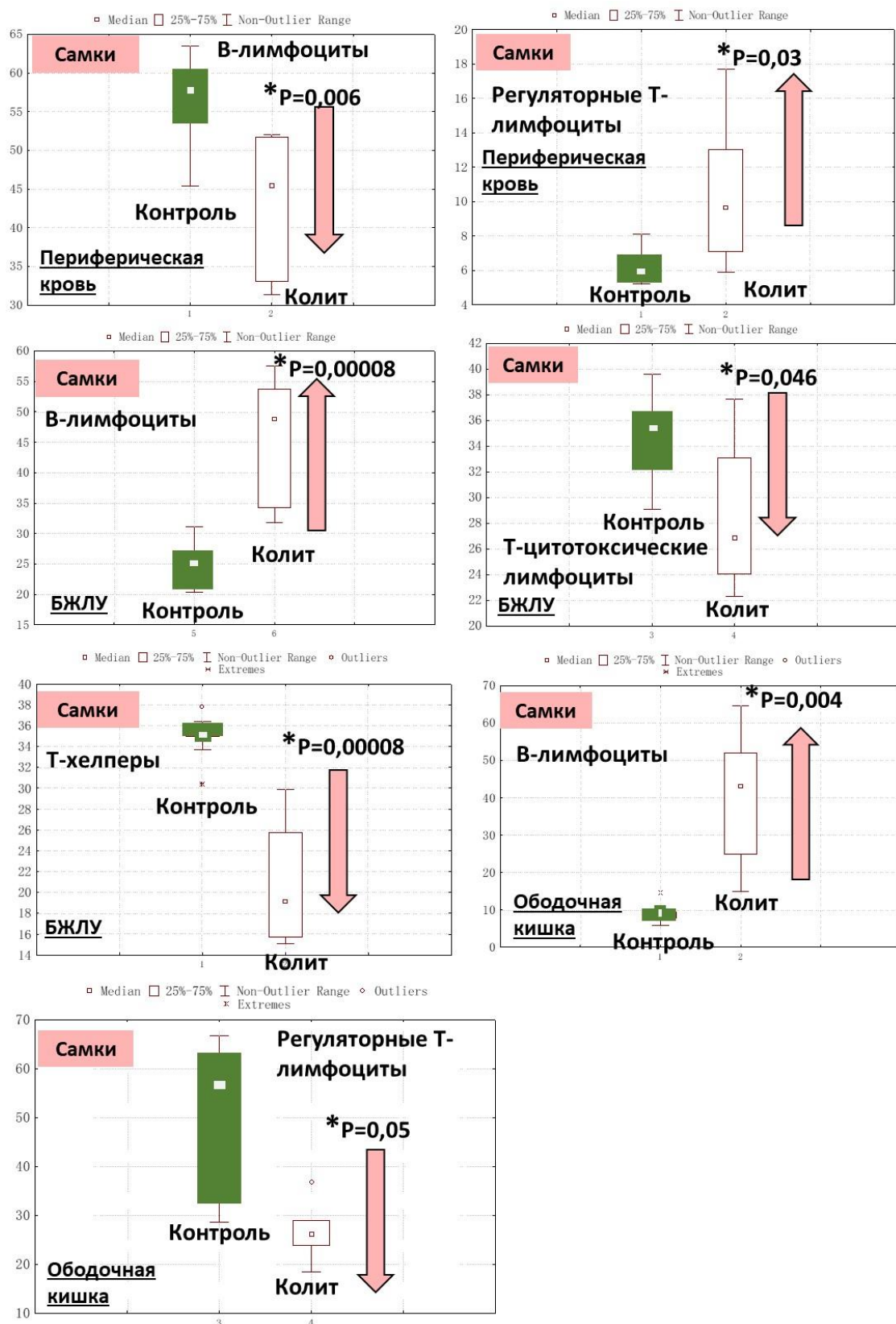


Рис 31. Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах (БЖЛУ) и ободочной кишке при индуцированном 5% ДСН остром язвенном колите у самок мышей C57Bl/6

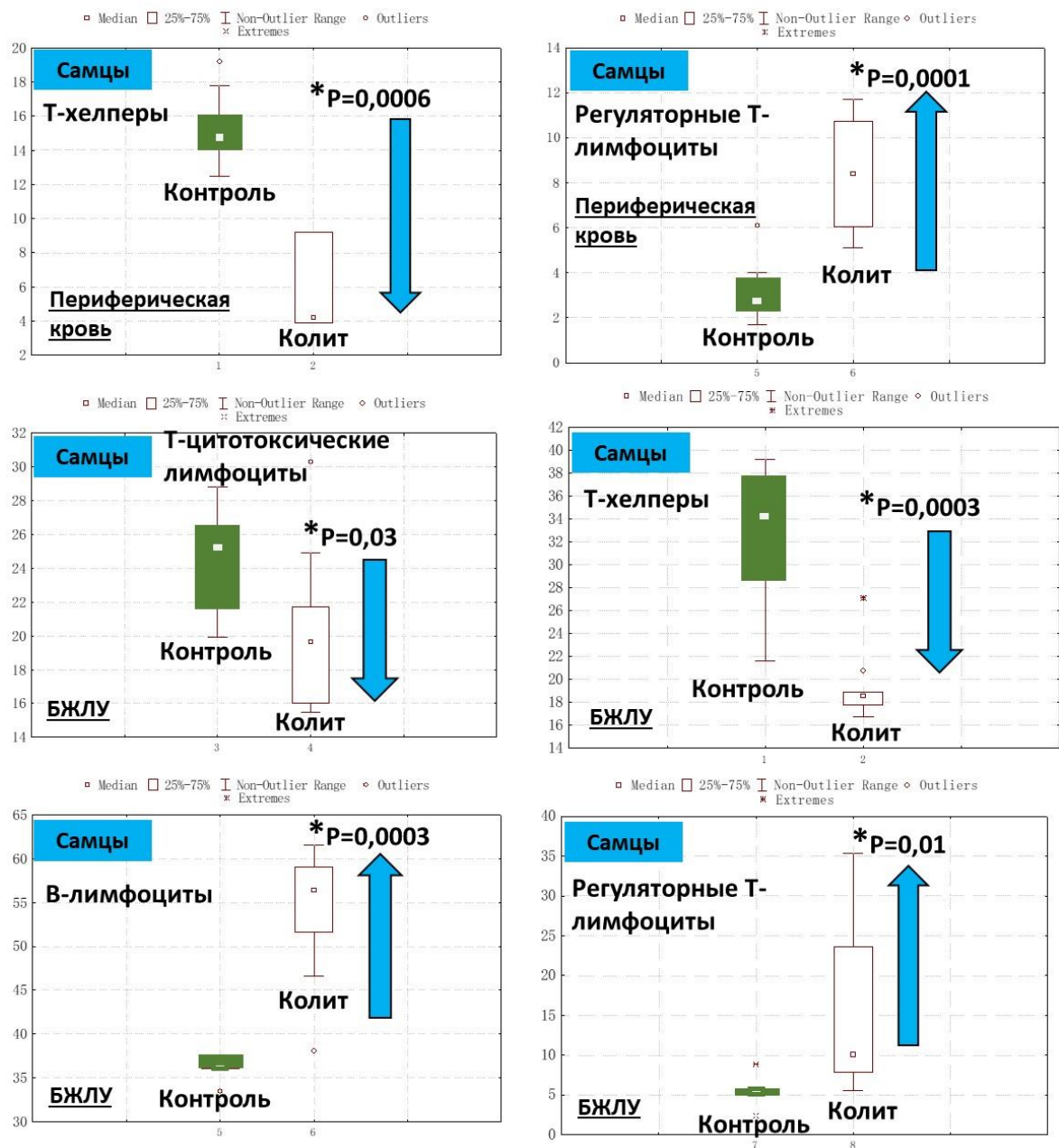


Рис 32. Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах (БЖЛУ) при индуцированном 5% ДСН острым язвенном колите у **самцов** мышей C57Bl/6

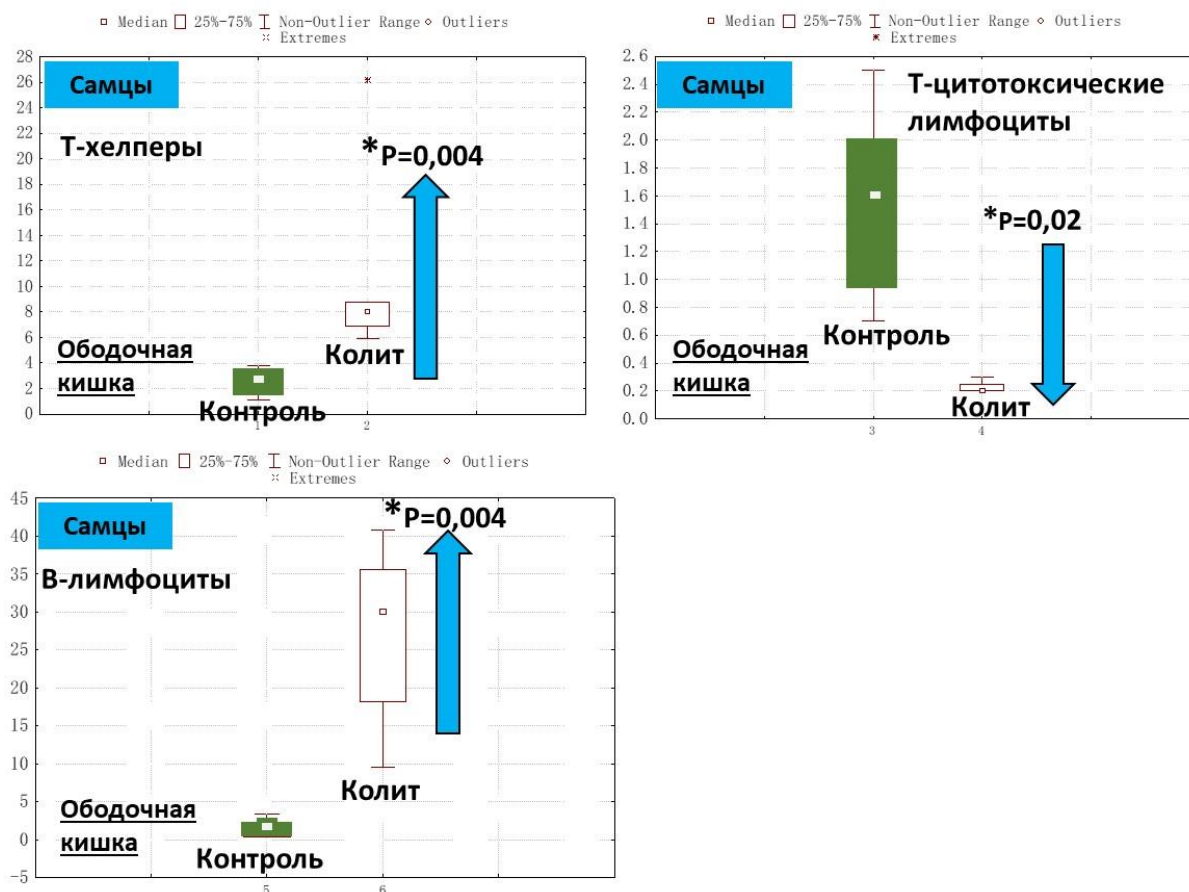


Рис. 33. Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в ободочной кишке при индуцированном 5% ДСН острым язвенном колите у самцов мышей C57Bl/6

Суммированные данные по половым различиям изменений субпопуляционного состава лимфоцитов при остром язвенном колите, индуцированном 5% ДСН, представлены в таблице 32.

Таблица 32

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов при индуцированном 5% ДСН остром колите

Показатели	Самки			Самцы		
	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка
Лейкоциты, млн/мл (WBC)	=	↑ в 1,5 раз	↓ в 4 раз	↓ в 1,9 раз	=	=
Лимфоциты, млн/мл (LY)	=	↑ в 1,5 раз	↓ в 3,6 раз	↓ в 2,3 раз	=	↓ в 4,3 раз
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) % от лф*	=	↓ в 1,8 раз	=	↓ в 3,5 раз	↓ в 1,8 раз	↑ в 2,8 раз
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺) % от лф	=	=	↑ появилось	=	↓ в 1,3 раз	↓ в 8 раз
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺) % от лф	↓ в 1,3 раз	↑ в 1,9 раз	↑ в 4,7 раз	=	↑ в 1,5 раз	↑ в 21,4 раз
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺) % от Тх	↑ в 1,6 раз	=	↓ в 2,2 раз	↑ в 3 раз	↑ в 1,9 раз	=

Условные обозначения: лф – лимфоциты; ПК – периферическая кровь; БЖЛУ – брыжеечные лимфатические узлы

Таким образом, по сравнению с самками у самцов мышей C57Bl/6 острый язвенный колит, индуцированный 5% ДСН, протекает тяжелее: у них более выражено снижение массы тела, в 4,3 раза выше показатели клинических проявлений.

По данным морфологического исследования у самок развивается катарально-язвенный, а у самцов более тяжелая форма – фибринозно-язвенный колит. Распространённость язвенного процесса в ободочной кишке у самцов по сравнению с самками в 3,9 раза выше, а показатель эпителизации язв – в 3,6 ниже.

В периферической крови в норме у самцов в отличие от самок ниже показатели CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺ цитотоксических и CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов. При остром язвенном колите у самок по сравнению с самцами выше в 3,5 раза показатели относительного

содержания Т-хелперов ($CD4^+CD3^+$) и в 3,1 раза – абсолютного содержания регуляторных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+Foxp3^+$).

В периферической крови у самок снижается содержание В-лимфоцитов и увеличивается регуляторных Т-лимфоцитов, а у самцов уменьшаются показатели содержания лейкоцитов, лимфоцитов, Т-хелперов, а относительное количество Т-регуляторных лимфоцитов повышается в 3 раза.

В брыжеечных лимфатических узлах у самок повышается абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, содержание Т-хелперов снижается в 1,8 раза, а В-лимфоцитов возрастает в 1,9 раза. У самцов содержание цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов уменьшается, В-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов возрастает.

В ободочной кишке у самок уменьшается абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, содержание регуляторных Т-лимфоцитов снижается в 2,2 раза, а В-лимфоцитов повышается в 4,7 раз. У самцов снижается абсолютное количество лимфоцитов и содержание цитотоксических Т-лимфоцитов (в 8 раз). Относительное количество Т-хелперов возрастает в 2,8 раза, а В-лимфоцитов – в 21,4 раза.

4.3. Половые различия морфологических изменений ободочной кишки и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при экспериментальном хроническом язвенном колите

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки и брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном хроническом язвенном колите

Масса тела у самок, и у самцов экспериментальных групп не отличалась от соответствующих контрольных групп (табл.33). По сравнению с контрольными группами у самок с хроническим язвенным колитом длина ободочной кишки была выше, а у самцов различий показателей не выявлено (табл.33).

Таблица 33

Показатели массы тела и длины ободочной кишки у самцов и самок мышей C57Bl/6 контрольной группы и при хроническом язвенном колите, Me (0,25; 0,75)

Параметры	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1 Контрольная группа	2 Хронический колит	3 Контрольная группа	4 Хронический колит	1-3	1-2	3-4
Масса тела (г)	21.0 (21.0,22.0)	21.5 (21.0,22.0)	24.0 (23.0,25.0)	24.0 (24.0, 26.0)	0.0000001	0.20	0.10
Длина ободочной кишки (см)	5.0 (4.5,5.3)	7.1 (6.5, 7.4)	6.0 (5.3,6.0)	6.5 (5.9, 7.0)	0.02	0.001	0.052

В макропрепаратах ободочной кишки, фиксированных в 2% растворе уксусной кислоты, подсчитывали количество лимфоидных узелков в слизистой оболочке ободочной кишки. У самцов мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите количество лимфоидных узелков уменьшалось в медиальном и дистальном отделах ободочной кишки, а у самок – увеличивалось в медиальном отделе (табл. 34, рис. 34, 35).

Таблица 34

Показатели числа лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки (число/мм)	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1 Контрольная группа	2 Острый колит (1% ДСН)	3 Контрольная группа	4 Острый колит (1% ДСН)	1-3	1-2	3-4
Медиальный	0.93 (0.88, 0.94)	1.10 (1.01, 1.43)	1.43 (1.03, 1.83)	0.57 (0.47, 0.89)	0,17	0,045	0,03
Дистальный	1.55 (1.19,1.76)	1.66 (1.26, 2.01)	1.73 (1.53, 2.08)	0.74 (0.35, 0.80)	0,61	0,94	0,008
Медиальный и дистальный	1.23 (1.04, 1.33)	1.41 (1.16, 1.81)	1.62 (1.47, 1.69)	0.60 (0.55, 0.69)	0,05	0,37	0,008

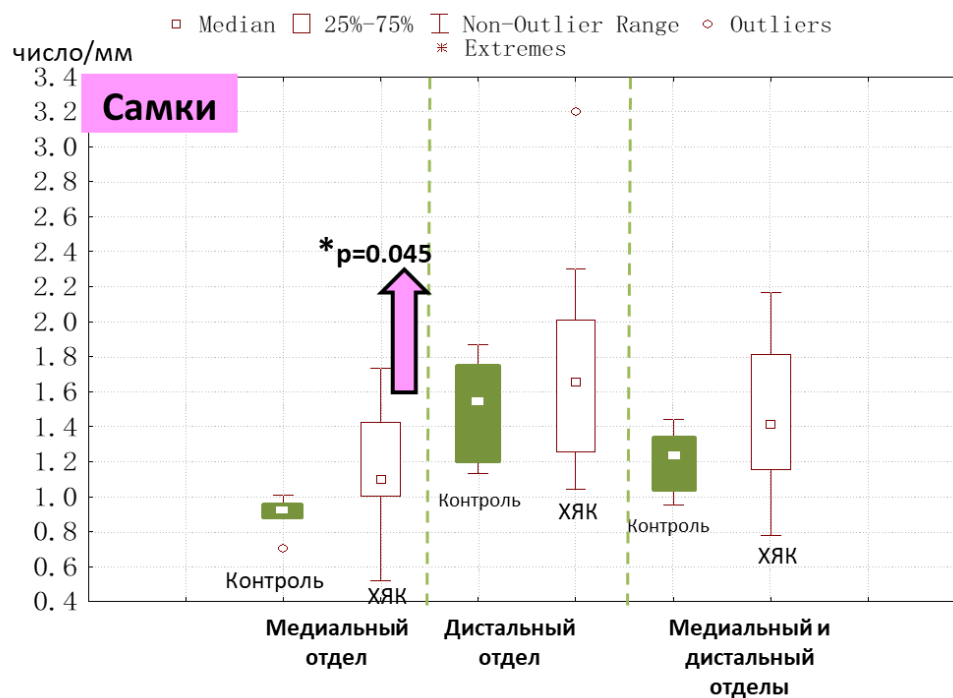


Рис. 34. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при хроническом язвенном колите (ХЯК) у **самок** мышей C57Bl/6.

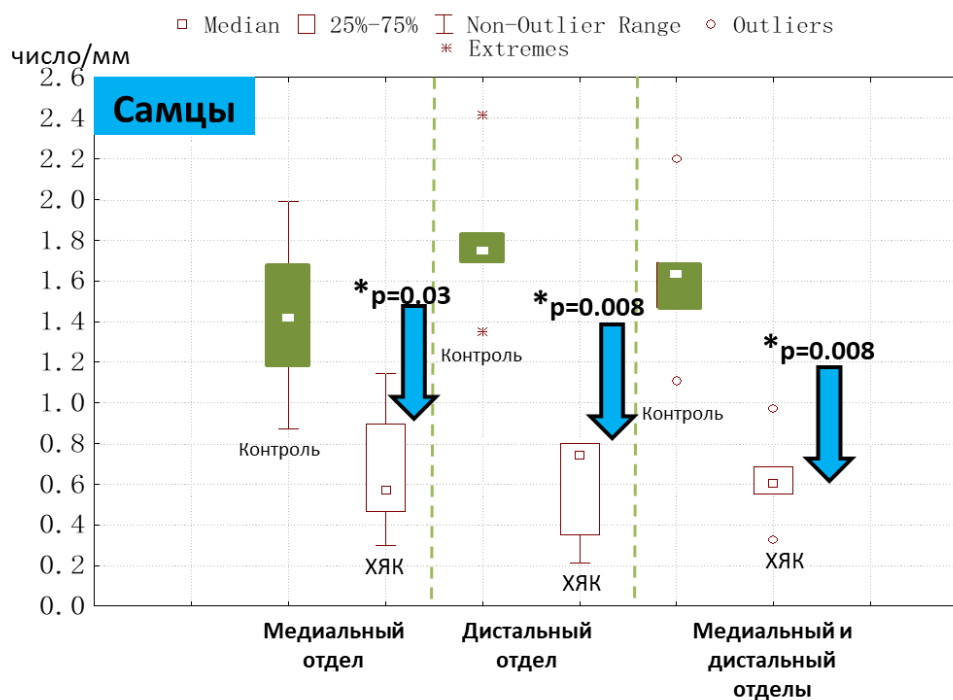


Рис. 35. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки при хроническом язвенном колите (ХЯК) у **самцов** мышей C57Bl/6.

При сравнительной макроскопической оценке относительной площади очагов гиперемии и язв в слизистой оболочке ободочной кишки установлено, что у самок с хроническим язвенным колитом эти показатели статистически значимо выше, чем у самцов (рис. 36 и 37).



Рис. 36. Макропрепарат ободочной кишки самки и самца мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите

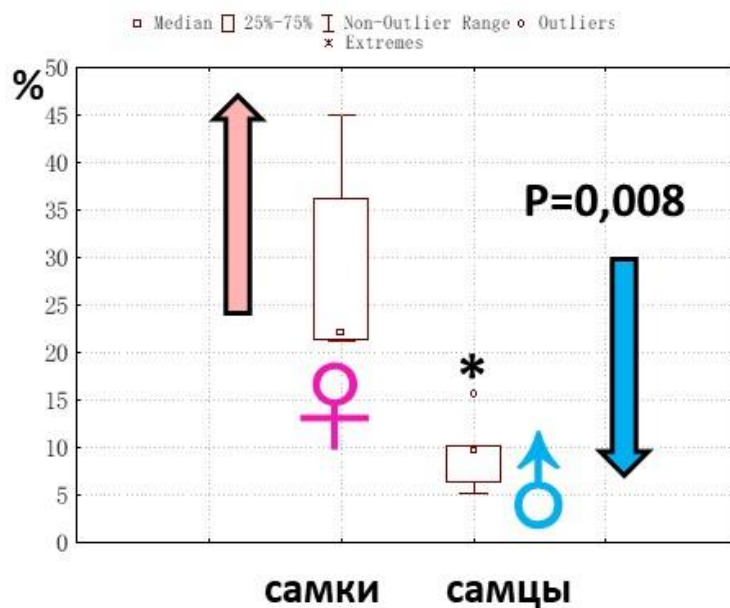


Рис. 37. Относительная площадь язв в слизистой оболочке ободочной кишки у самок и самцов мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите

При гистологическом исследовании продольных срезов дистального отдела ободочной кишки у самцов и самок мышей C57Bl/6 с хроническим язвенным колитом картина была сходной и мозаичной. Отмечалось небольшое количество эпителизированных язв. Язвы были узкие, щелевидной или пирамидальной формы, их поверхность выстлана однорядным уплощенным эпителием. Дно язв образовано грануляционной тканью с частично упорядоченным ходом коллагеновых волокон, со слабо и умеренно выраженной инфильтрацией лимфоцитами, плазмócитами, гистиоцитами. В краях язв выявлялись деформированные крипты, выстланные высоким призматическим эпителием с наличием митозов и отсутствием бокаловидных клеток (рис. 38-43).

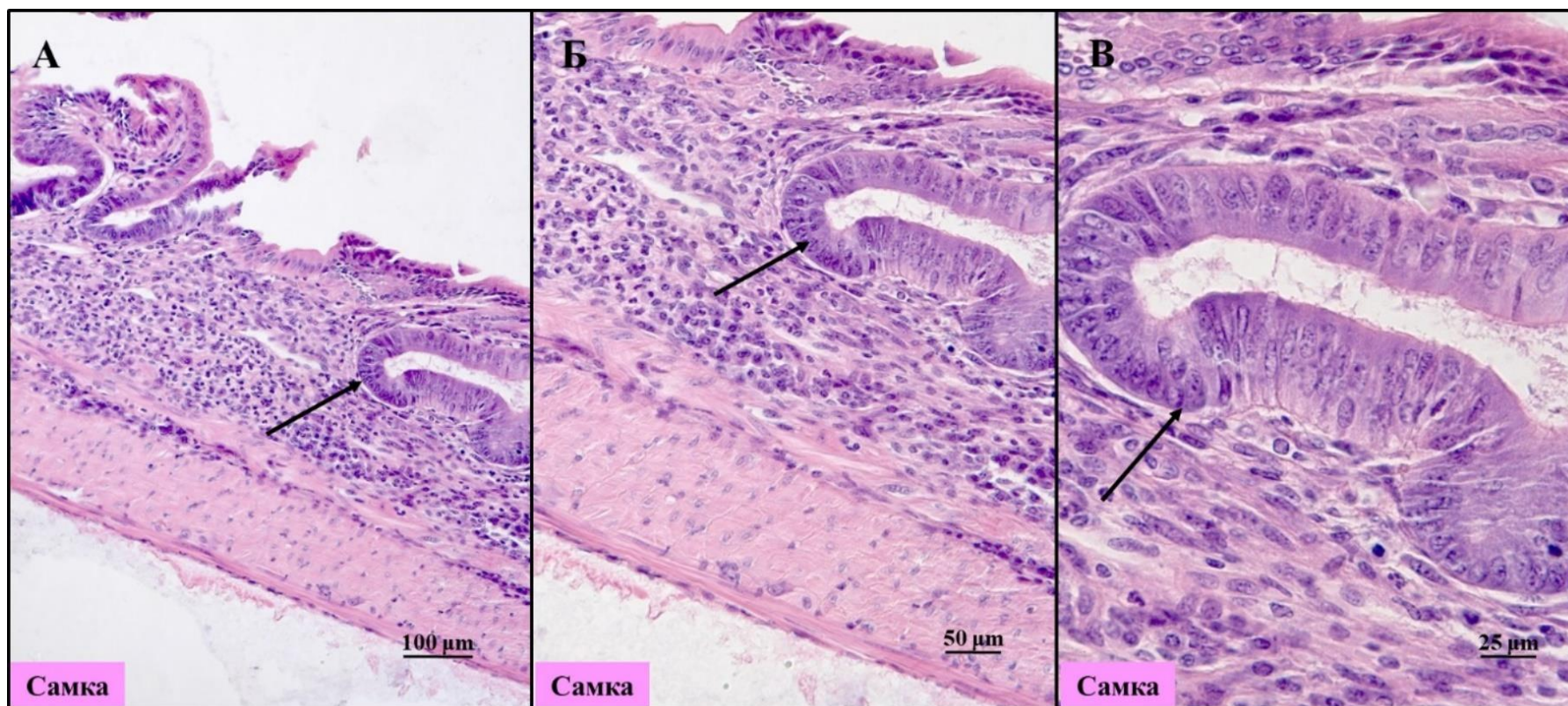


Рис. 38. Ободочная кишка **самки** с хроническим язвенным колитом. А,Б – эпителизированная язва, поверхность, которой выстлана кубическим эпителием. Дно язвы представлено соединительной тканью с выраженной воспалительной инфильтрацией; В – в крае язвы регенераторные изменения (указано стрелкой): эпителий крипты цилиндрический с овальными ядрами, бокаловидные клетки отсутствуют. Окраска гематоксилином и эозином.

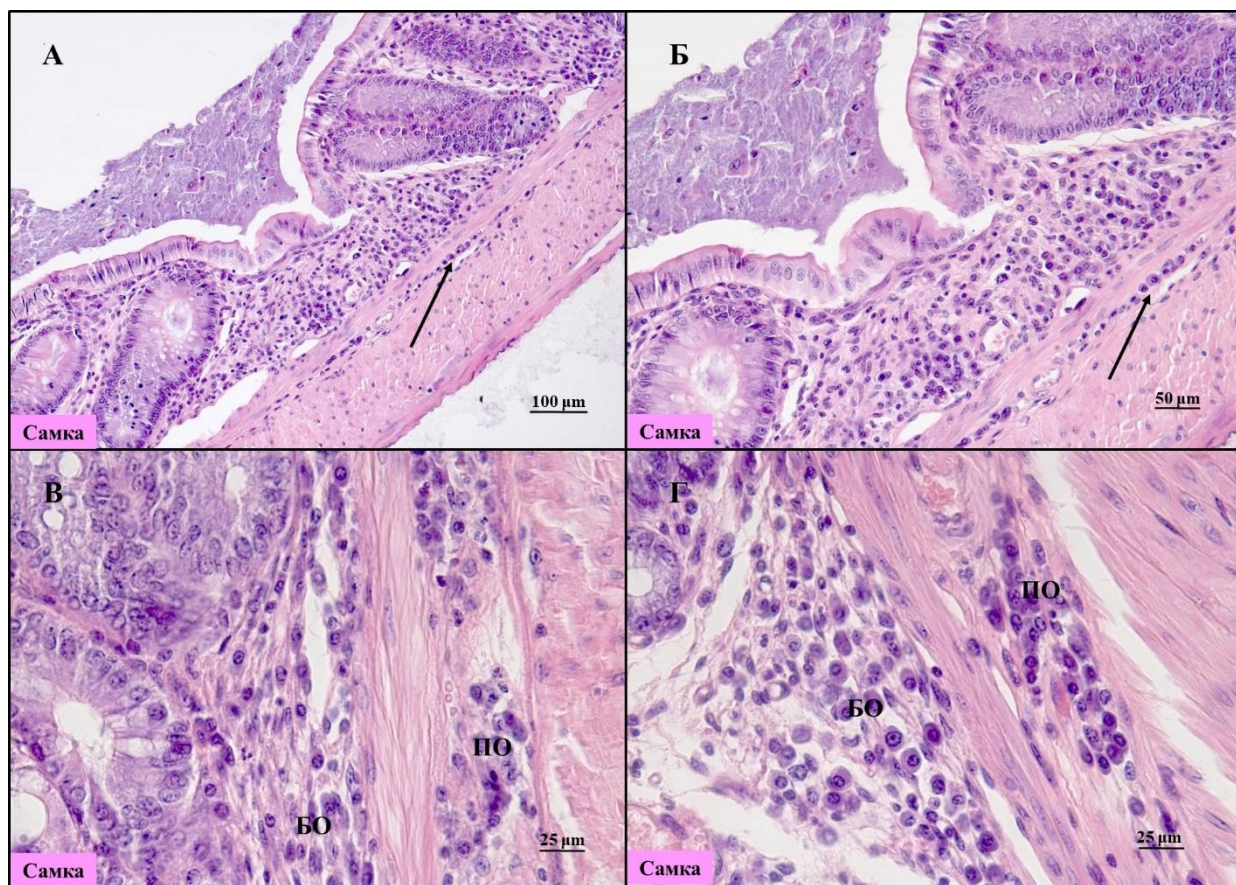


Рис. 39. Ободочная кишка **самки** с хроническим язвенным колитом. А, Б – эпителизированная язва. Дно язвы представлено соединительной тканью с умеренной воспалительной инфильтрацией. В подслизистой основе полосовидный воспалительный инфильтрат (стрелки); В, Г – в базальном отделе (БО) собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистом основе (ПО) воспалительная инфильтрация с большим количеством плазматических клеток. Окраска гематоксилином и эозином.

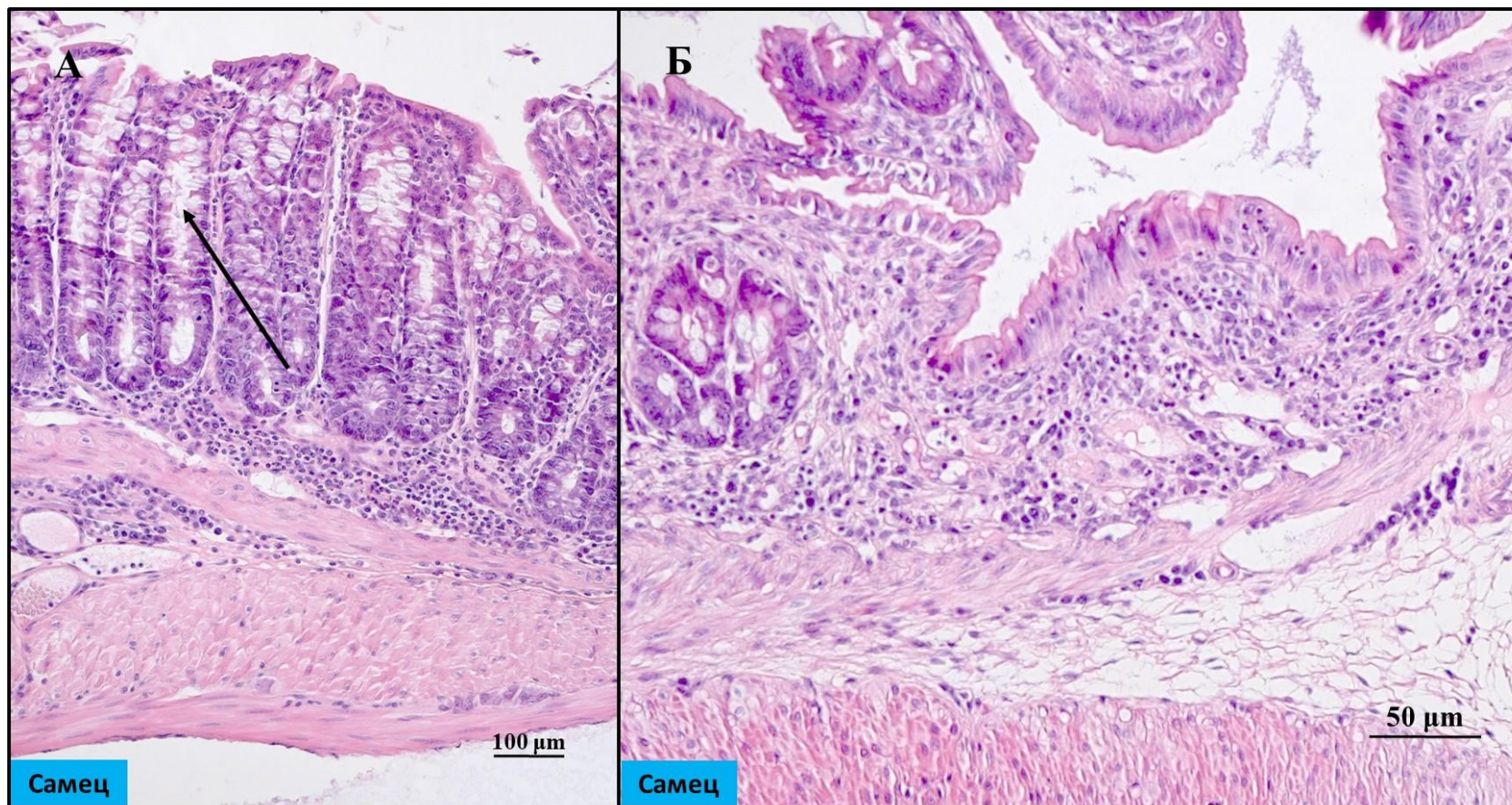


Рис. 40. Ободочная кишка **самца** с хроническим язвенным колитом. А – крипты с расширенными просветами (стрелка). В базальном отделе собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основе воспалительная инфильтрация. Б – эпителизированная язва, её дно представлено соединительной тканью с умеренной воспалительной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином.

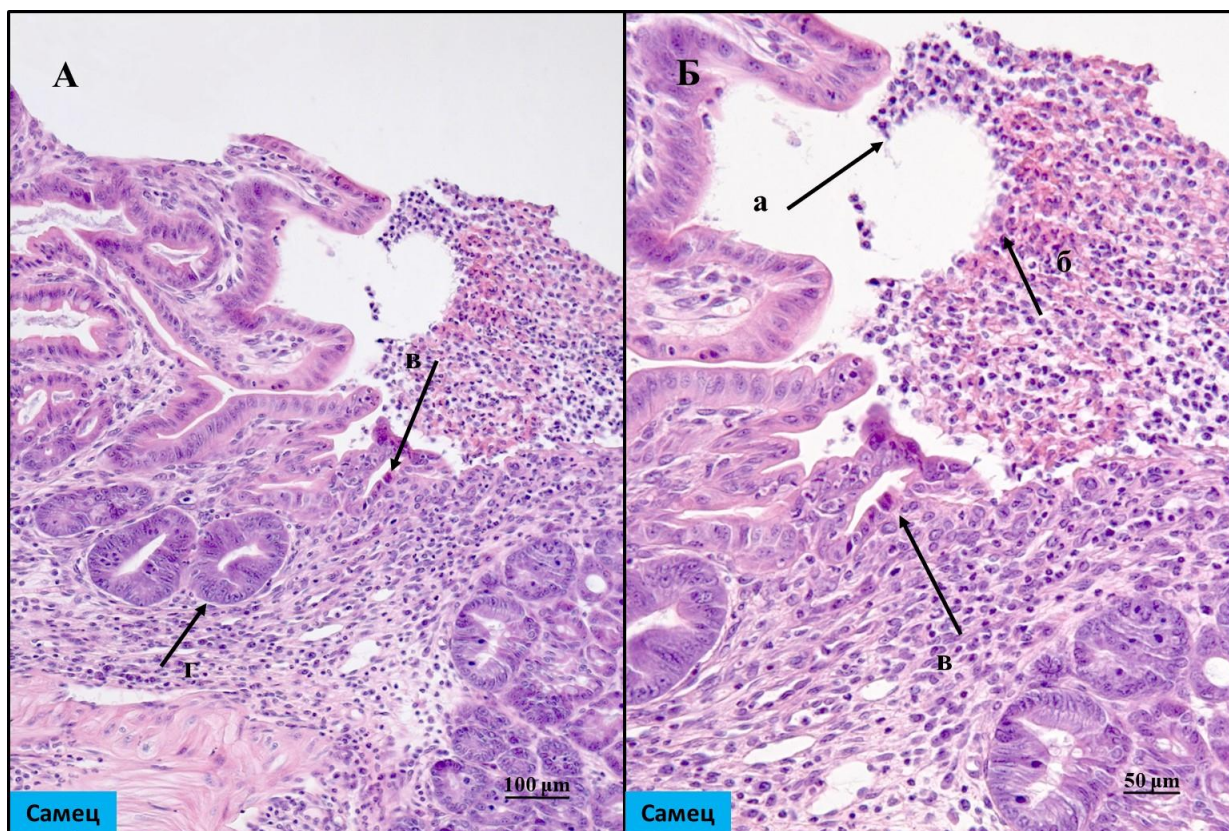


Рис. 41. Ободочная кишка **самца** с хроническим язвенным колитом. Острая язва, на её поверхности лейкоциты (а) и фибрин (б), края язвы эпителизованы (в), в них крипты с регенераторными изменениями (г). Окраска гематоксилином и эозином.

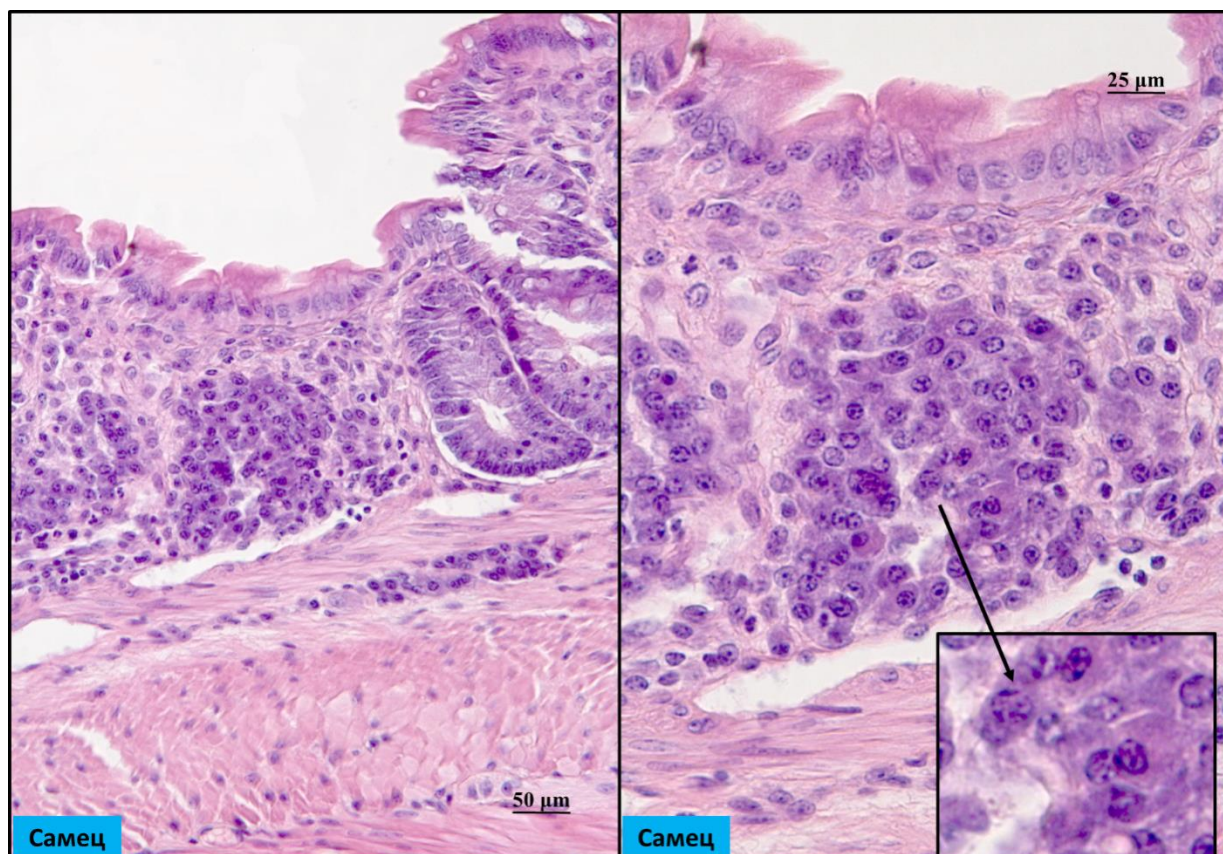


Рис. 42. Ободочная кишка **самца** с хроническим язвенным колитом. Эпителизованная язва с выраженной воспалительной инфильтрацией преимущественно плазмócитами. Окраска гематоксилином и эозином.

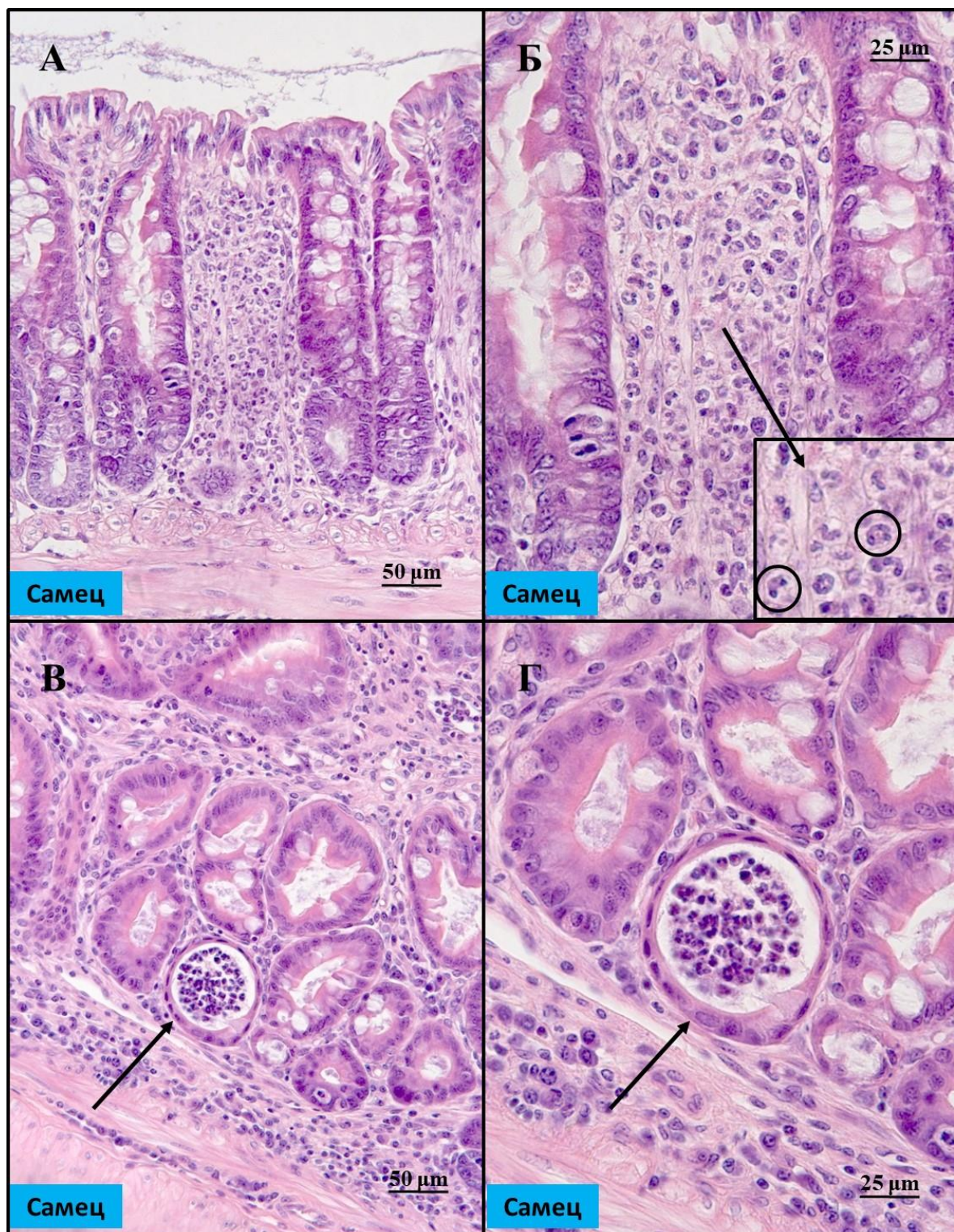


Рис. 43. Ободочная кишка **самца** с хроническим язвенным колитом. А, Б – крипты с широкими просветами, пространство между криптами расширено, в нем воспалительная инфильтрация, среди клеток инфильтрата много нейтрофилов (стрелка); В, Г – крипты-абсцесс – скопление лейкоцитов в просвете крипты (стрелки), в соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки выраженная воспалительная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином.

По сравнению с самками у самцов при хроническом язвенном колите не было выявлено статистически значимых различий показателей язв без эпителизации и с эпителизацией в дистальном отделе и всей кишке (табл. 35).

Таблица 35

Относительные показатели длины язв с эпителизацией и без эпителизаций при хроническом язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Относительная длина язв в %					
	Без эпителизации			С эпителизацией		
	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)	Самки	Самцы	Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)
Дистальный	4.24 (3.68,4.65)	1.57 (1.54,7.49)	0.69	12.86 (12.13,17.66)	21.68 (13.31,22.96)	0.69
Вся ободочная кишка	7.53 (6.64,9.09)	4.91 (3.47,6.02)	0.15	10.67 (6.66,10.95)	8.60 (7.41,12.87)	0.69

У самок при хроническом колите по сравнению с контролем показатель объёмной доли бокаловидных клеток во всей ободочной кишке повышался, возрастало число клеток в СПСО в дистальном отделе и всей кишке. В дистальном отделе ободочной кишки в эпителиальной выстилке увеличивались показатели относительной площади просвета крипт (табл. 36).

У самцов при хроническом колите была увеличена объёмная доля просвета крипт и клеток в СПСО в дистальном отделе и всей ободочной кишке (табл. 37).

Таблица 36

Морфометрическая характеристика структурных компонентов слизистой оболочки ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самок мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Группы, самки Показатели в %	Дистальный отдел			Вся кишка		
	Контрольная группа	Колит	Р	Контрольная группа	Колит	Р
Колоноциты	51.28 (47.43, 56.25)	45.12 (36.56, 48.94)	0,0003	57,71 (50,00; 61,82)	43,51 (39,29; 48,08)	0,000001
Бокаловидные клетки	16.88 (13.84, 20.00)	16.67 (12.50, 19.35)	0,73	14,29 (10,71;17,39)	19,07 (14,52; 22,22)	0,00008
Клетки в СПСО	7.14 (5.12, 8.97)	17.71 (14.58, 22.58)	0,00001	4,00 (3,03; 6,45)	14,29 (10,99; 18,92)	0,000001
Соединительная ткань, сосуды	14.28 (12.64, 17.18)	13.19 (8.79, 16.00)	0,22	12,72 (9,64;14,52)	11,39 (8,79; 14,46)	0,33

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 37

Морфометрическая характеристика структурных компонентов слизистой оболочки ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Группы, самцы Показатели в %	Дистальный отдел			Вся кишка		
	Контрольная группа	Колит	Р	Контрольная группа	Колит	Р
Колоноциты	48.72 (44.31, 60.56)	34.72 (32.91, 39.53)	0,00001	49,39 (41,46; 61,80)	38,12 (33,33; 41,89)	0,00001
Бокаловидные клетки	20.08 (17.07, 28.39)	17.78 (15.19, 24.24)	0,19	19,59 (12,50; 26,23)	19,55 (16,48; 25,71)	0,26
Клетки в СПСО	7.13 (5.17, 11.11)	19.32 (15.31, 21.52)	0,00001	7,24 (5,33; 11,36)	16,44 (13,27; 20,00)	0,00001
Соединительная ткань, сосуды	10.97 (6.81, 13.79)	15.38 (12.12, 18.18)	0,002	9,67 (6,90; 12,66)	12,51 (7,94; 15,38)	0,003

Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

При хроническом язвенном колите в брыжеечных лимфатических узлах у самок и самцов определялись лимфоидные узелки с небольшими герминативными центрами, клетки которых представлены, главным образом, лимфоцитами и небольшим количеством лимфобластов. В расширенных мозговых тяжах клетки были представлены преимущественно плазмócитами. В синусах определялись макрофаги с эозинофильной цитоплазмой и лимфоциты (рис. 44, 45).

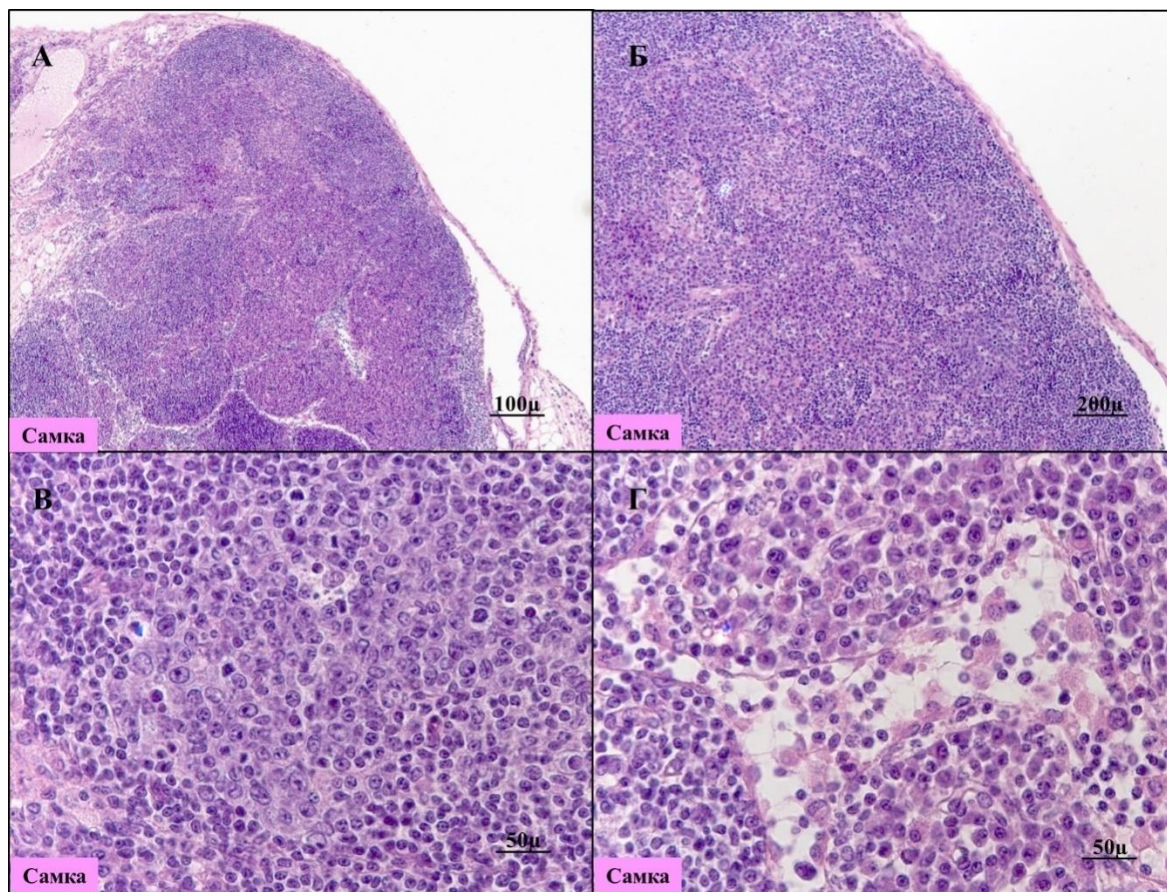


Рис. 44. Брыжеечный лимфатический узел у самки с хроническим язвенным колитом. А – выраженная гиперплазия лимфатического узла; Б, В – лимфоидные узелки с широкими герминативными центрами, в них плотно расположенные лимфобласты, много фрагментов ядер; Г – в мозговых тяжах преобладают плазматические клетки. В синусах макрофаги и лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином.

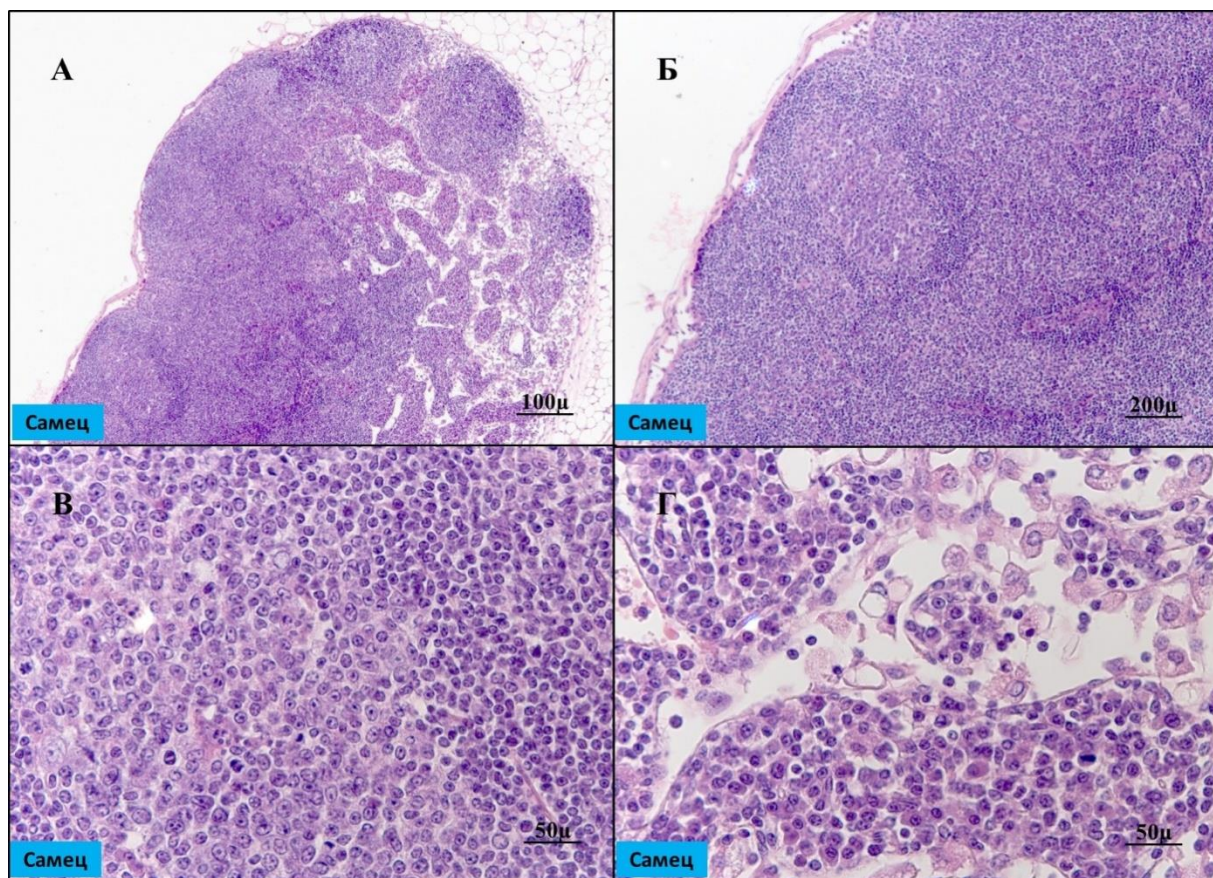


Рис. 45. Брыжеечный лимфатический узел у самца с хроническим язвенным колитом. А – выраженная гиперплазия лимфатического узла; Б, В – лимфоидные узелки с широкими герминативными центрами, в них плотно расположенные лимфобласты, много фрагментов ядер. Г – в мозговых тяжах преобладают плазматические клетки. В синусах макрофаги и лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином.

Таким образом, при хроническом язвенном колите у самок и самцов в брыжеечных лимфатических узлах лимфоидные узелки были с герминативными центрами с относительно небольшим количеством лимфобластов и фрагментов ядер. Выявлена резко выраженная плазматизация мозговых тяжей.

Половые различия цитофизиологических изменений секреторных клеток ободочной кишки при экспериментальном хроническом язвенном колите

Эндокринные клетки

При хроническом язвенном колите у самцов количество эндокринных

клеток снижалось во всех отделах ободочной кишки, а у самок оно не изменялось (табл. 38, рис. 46, 47).

Таблица 38

Показатели количества эндокринных клеток (на крипту) в эпителиальной выстилке ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1 Контрольная группа	2 Хронический язвенный колит	3 Контрольная группа	4 Хронический язвенный колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	1.22 (1.05, 1.50)	1.13 (0.94, 1.26)	2.07 (1.51, 2.31)	0.76 (0.65, 1.06)	0,02	0,72	0,002
Кишка в целом	1.13 (0.89, 1.68)	0.94 (0.70, 1.13)	1.46 (0.93, 2.59)	0.67 (0.55, 0.86)	0,08	0,09	0,005

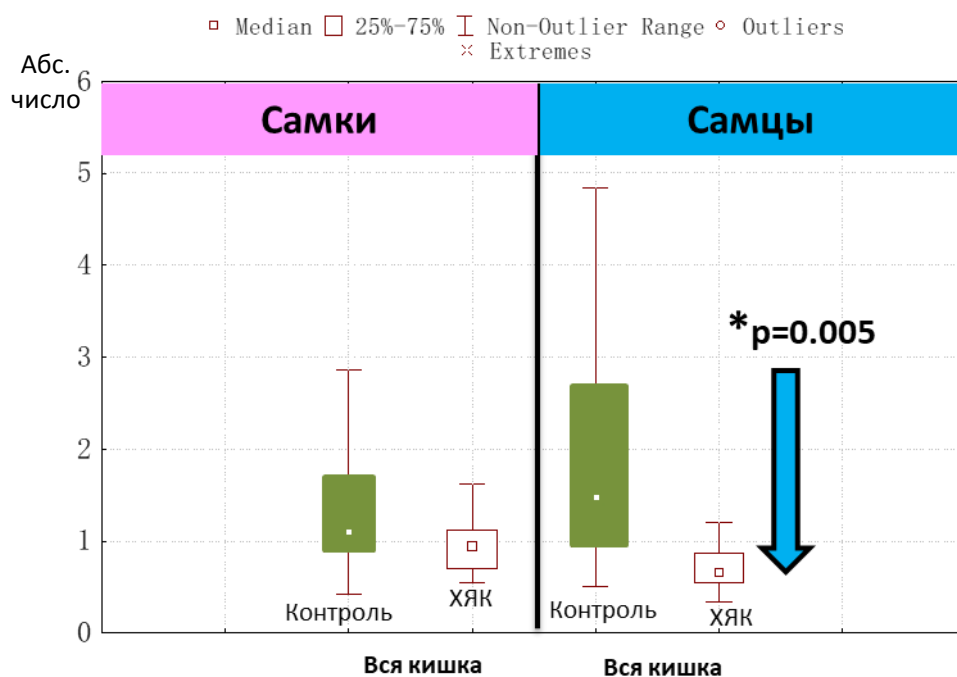


Рис. 46. Количество эндокринных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки при хроническом язвенном колите (ХЯК) у самок и самцов мышей C57Bl/6

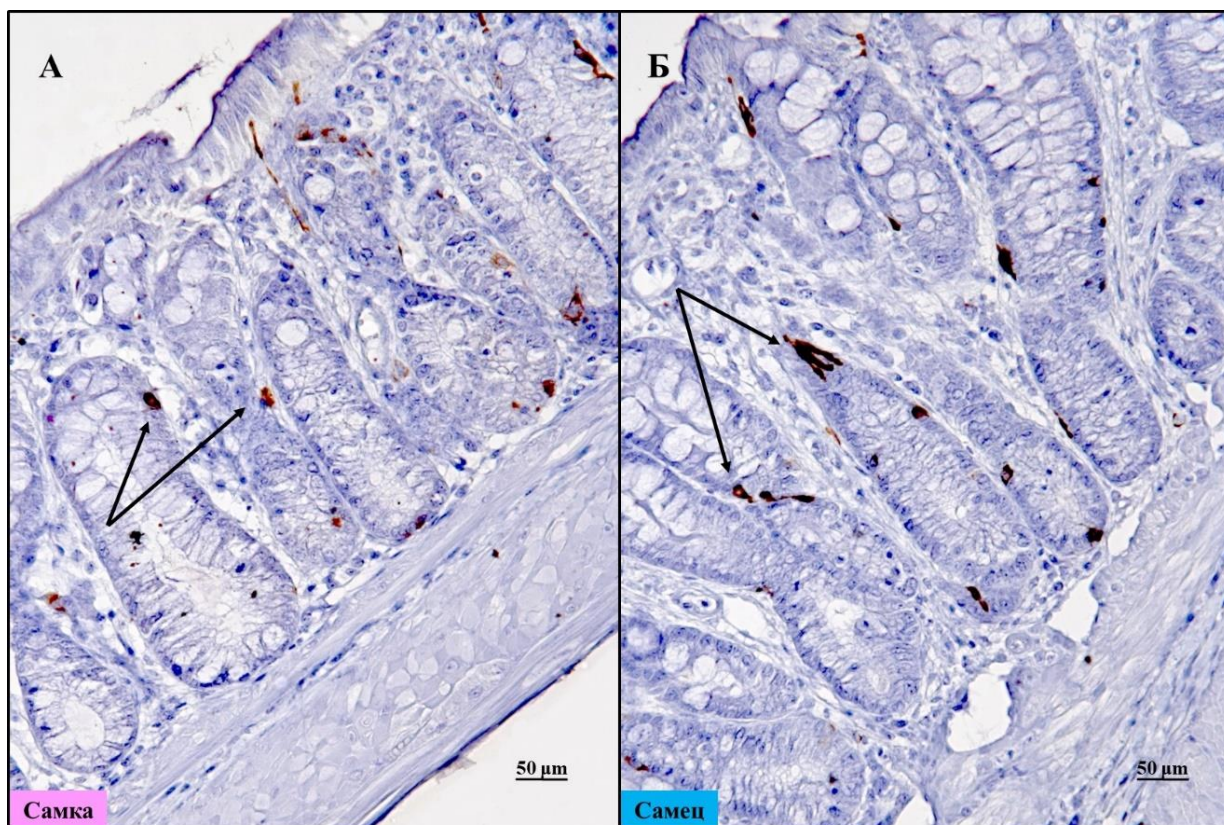


Рис. 47. Слизистая оболочка ободочной кишки у самок (А) и самцов (Б) при хроническом язвенном колите. Воспалительная инфильтрация, среди эпителиальных клеток крипт небольшое количество хромогранин-позитивных эндокринных клеток (стрелки). Антитела к хромогранину А, гематоксилин Майера.

Показатели содержания нейтральных гликопротеинов (PAS-реакция) в дистальном отделе ободочной кишки у самок и самцов при хроническим язвенном колите увеличивались (табл. 39, рис. 48).

При хроническом язвенном колите по сравнению с контрольной группой у самок и самцов показатели содержания высокосульфатированных гликопротеинов при окраске альциановым синим были выше в дистальном отделе и всей ободочной кишке (табл. 40, рис. 49).

Таблица 39

Показатели содержания нейтральных гликопротеинов в бокаловидных клетках ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1. Контрольная группа	2. Хронический язвенный колит	3. Контрольная группа	4. Хронический язвенный колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	9.62 (8.46, 13.60)	13.24 (12.62, 14.70)	9.90 (7.68, 12.52)	11.97 (11.06, 13.61)	0,58	0,003	0,04
Кишка в целом	11.26 (7.90, 18.14)	11.63 (9.62, 13.63)	9.98 (8.16, 13.13)	11.15 (9.47, 12.42)	0,63	0,99	0,37

Таблица 40

Показатели содержания высокосульфатированных муцинов в бокаловидных клетках ободочной кишки при хроническом язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6, Me (0,25; 0,75)

Отделы кишки	Самки		Самцы		Статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)		
	1 Контрольная группа	2 Хронический язвенный колит	3 Контрольная группа	4 Хронический язвенный колит	1-3	1-2	3-4
Дистальный	4.33 (3.00, 5.98)	6.63 (6.10, 7.56)	5.23 (4.10, 7.01)	6.96 (6.33, 7.76)	0,22	0,00001	0,0002
Кишка в целом	4.63 (3.46, 6.04)	5.76 (4.71, 7.03)	4.37 (3.80, 5.25)	5.86 (5.28, 6.87)	0,99	0,0005	0,00001

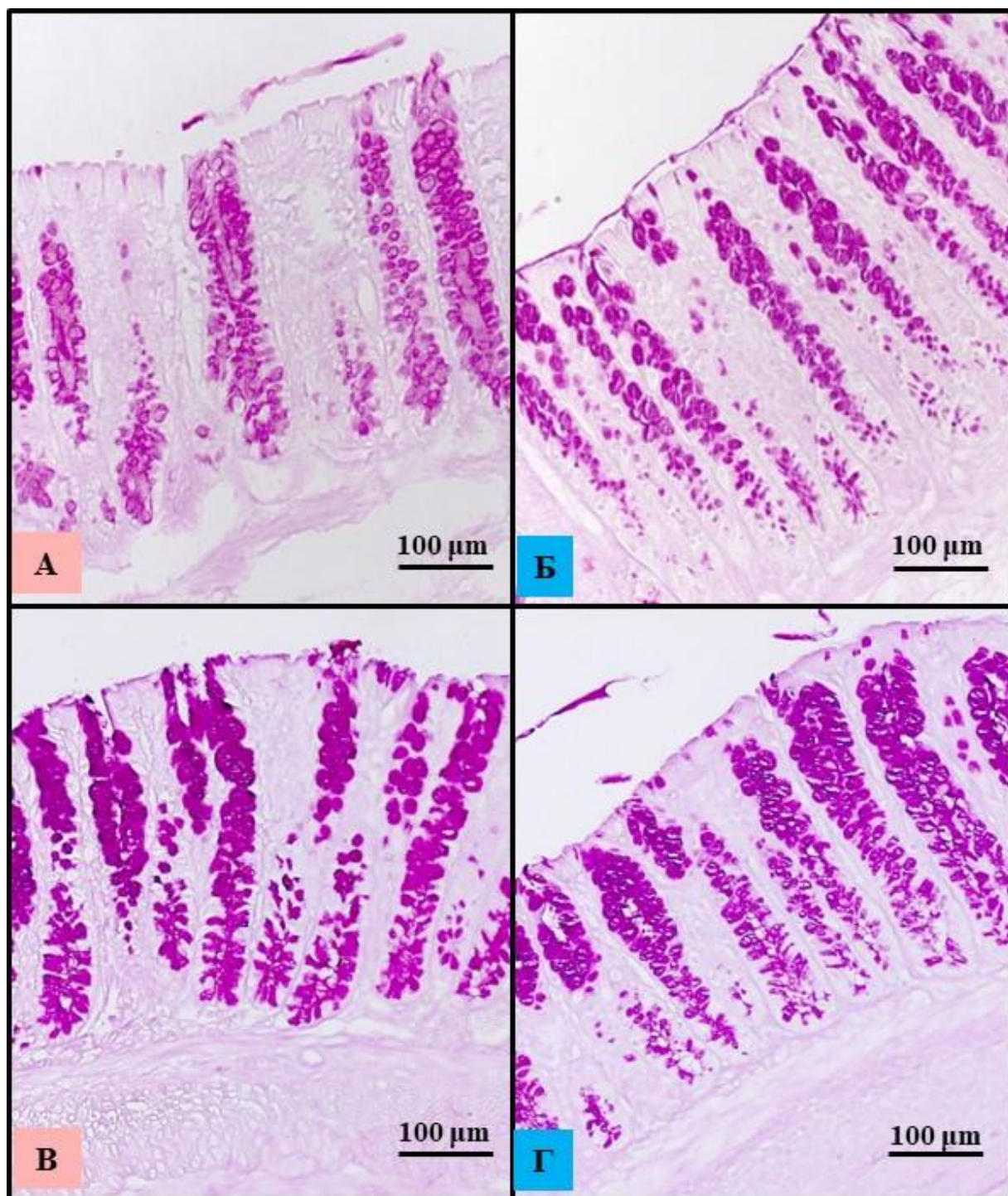


Рис. 48. Нейтральные муцины в бокаловидных клетках ободочной кишки. Контрольные группы: А – самка, Б – самец. Хронический язвенный колит: В – самка, Г – самец. Интенсивность окрашивания бокаловидных клеток повышена как у самок (В), так и у самцов (Г). PAS-реакция.

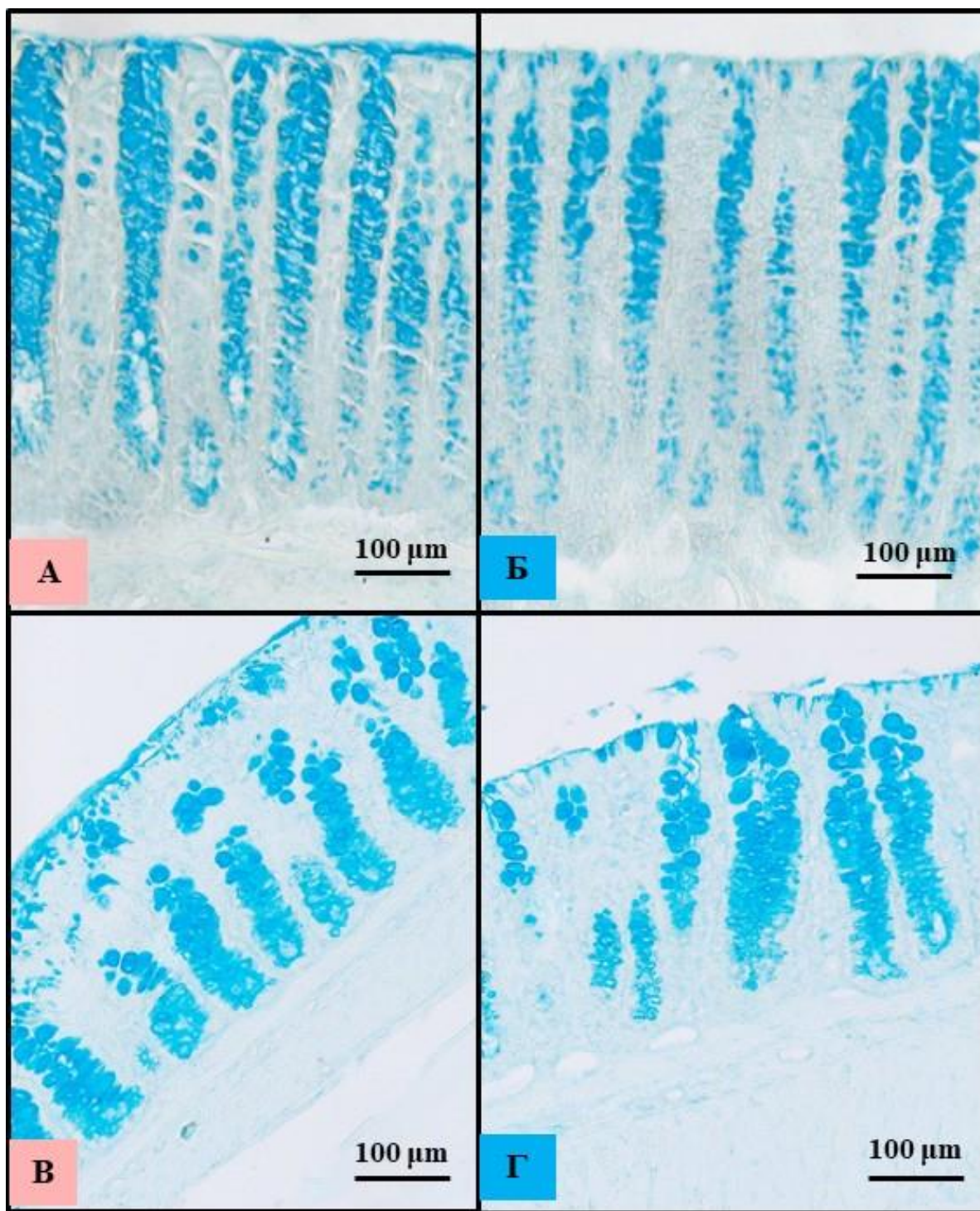


Рис. 49. Кислые гликопротеины в бокаловидных клетках ободочной кишки. Контрольные группы: А – самка, Б – самец. Хронический язвенный колит: В – самка, Г – самец. Интенсивность окрашивания бокаловидных клеток повышена как у самок (В), так и у самцов (Г). Окраска альциановым синим (рН 1.0).

Таблица 41

Половые различия клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки ободочной кишки при экспериментальном **хроническом** язвенном колите

Параметры	Самки	Самцы
1. Масса тела	=	=
2. Длина ободочной кишки	↑	=
3. Число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки	↑ только в медиальном отделе	↓
4. Площадь очагов гиперимии и язв		↓ в 2,3 раз
5. Язвы без эпителизация		= дистальный = вся кишка
6. Язвы с эпителизацией		= дистальный = вся кишка
7. Инфильтрат (клетки в СПСО)	↑ дистальный в 2,5 раз ↑ вся кишка в 3,6 раз	↑ дистальный в 2,7 раза ↑ вся кишка в 2,3 раз
8. Бокаловидные клетки	= дистальный ↑ вся кишка в 1,3 раз	= дистальный = вся кишка
9. Эндокринные клетки	= дистальный = вся кишка	↓ дистальный в 2,7 раз; ↓ вся кишка в 2,2 раз
10. Нейтральные гликопротеины	↑ в дистальном отделе в 1,4 раза = вся кишка	↑ в дистальном отделе в 1,2 раза = вся кишка
11. Кислые гликопротеины	↑ дистальный (1,5) ↑ вся кишка (1,2)	↑ дистальный в 1,3 раз ↑ вся кишка (1,3)

Белые ячейки – изменения по сравнению с соответствующей контрольной группой

Окрашенные ячейки – отличия самцов от самок

Таким образом, по сравнению с контрольной группой длина ободочной кишки у самок с хроническим язвенным колитом возрастает. Число лимфоидных узелков у самцов при хроническом колите уменьшается, а у самок – увеличивается, но только в медиальном отделе. Относительная длина язв без эпителия и с эпителизацией у самок и самцов не различается. Показатель объёмной доли клеток в СПСО у самок и самцов – увеличивается. Количество эндокринных клеток в крипте у самцов при хроническом колите в ободочной кишке уменьшается, у самок не изменяется.

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке при экспериментальном хроническом язвенном колите у самок мышей C57Bl/6

Периферическая кровь

При хроническом язвенном колите у самок снижались показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов. Относительное количество

CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов также снижалось, но CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов – увеличивалось (табл.42, рис. 50).

Брыжеечные лимфатические узлы

При хроническом язвенном колите по сравнению с контрольной группой у самок различий субпопуляционного состава лимфоцитов не выявлено (табл.43).

Ободочная кишка

Показатели относительного содержания CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов и CD3⁺CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов у самок в ободочной кишке повышались, но снижалось процентное содержание CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов (табл. 44, рис. 50).

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки при экспериментальном хроническом язвенном колите у **самцов** мышей C57Bl/6

Периферическая кровь

У самцов при хроническом язвенном колите по сравнению с контролем показатели и относительного, и абсолютного количества CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов снижались, а CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов – возрастали (табл.42, рис. 51).

Брыжеечные лимфатические узлы

При хроническом колите показатель содержания CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов уменьшался, но увеличивалось относительное количество CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов и CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов (табл.43, рис. 51).

Ободочная кишка

В ободочной кишке у самцов при колите увеличивались показатели относительного количества CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD19⁺ В-лимфоцитов (табл.44, рис. 51).

Таблица 42

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови у самок и самцов мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите, Me (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Хронический язвенный колит	Р	Контрольная группа	Хронический язвенный колит	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		7,80 (6,70; 8,80)	5,40 (5,20; 5,40)	0,006	9,38 (8,80; 9,60)	6,75 (4,40; 11,70)	0,08
Лимфоциты, млн/мл (LY)		5,30 (4,70; 7,80)	3,50 (3,30; 3,50)	0,03	7,50 (7,06; 8,10)	7,80 (6,50; 9,40)	0,35
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	16,60 (14,80; 17,70)	17,00 (16,40; 18,10)	0,62	14,84 (14,14; 16,00)	11,75 (6,90; 14,20)	0,02
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	0,99 (0,75; 1,21)	0,57 (0,56; 0,68)	0,003	1,18 (1,13; 1,23)	0,91 (0,56; 1,19)	0,02
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	16,00 (13,80; 17,65)	16,90 (14,80; 17,90)	0,72	12,88 (11,20; 14,60)	10,95 (9,30; 19,40)	0,35
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	1,04 (0,71; 1,17)	0,56 (0,55; 0,62)	0,03	1,00 (0,91; 1,17)	0,97 (0,66; 1,08)	0,29
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	58,10 (53,70; 60,35)	42,95 (39,60; 50,85)	0,03	65,80 (57,90; 66,80)	44,20 (30,00; 54,00)	0,001
	млн/мл (в кишке тыс/мл)	3,40 (2,52; 4,77)	1,50 (1,34; 1,51)	0,01	4,49 (3,04; 5,35)	3,27 (2,56; 4,47)	0,04
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	5,95 (5,40; 6,80)	7,60 (6,75; 8,00)	0,02	2,80 (2,40; 3,60)	9,95 (7,30; 11,50)	0,0001
	тыс/мл	72,51 (43,07; 128,06)	43,05 (42,00; 43,76)	0,76	33,56 (25,66; 46,81)	74,93 (51,10; 121,66)	0,0002

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 43

Субпопуляционный состав лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самок и самцов мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите, Me (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Хронический язвенный колит	P	Контрольная группа	Хронический язвенный колит	P
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		28,50 (18,00; 30,60)	38,90 (32,85; 43,40)	0,006	27,24 (22,80; 27,50)	22,90 (11,75; 43,15)	0,85
Лимфоциты, млн/мл (LY)		24,44 (16,80; 28,60)	33,57 (28,35; 37,46)	0,006	19,39 (15,61; 20,48)	19,09 (9,80; 35,98)	0,95
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	35,10 (35,00; 36,10)	33,75 (32,95; 35,45)	0,14	34,18 (29,00; 37,60)	25,80 (21,00; 30,00)	0,01
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	35,60 (32,30; 36,60)	33,45 (32,25; 38,10)	0,96	25,37 (21,70; 26,40)	27,10 (23,90; 27,80)	0,30
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	25,50 (20,90; 26,50)	25,85 (20,75; 27,05)	0,96	36,46 (36,10; 37,10)	40,20 (37,90; 47,80)	0,03
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	17,10 (12,60; 18,80)	17,75 (15,85; 21,20)	0,48	5,41 (5,40; 5,52)	14,95 (13,80; 17,65)	0,002

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; P – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

Таблица 44

Субпопуляционный состав лимфоцитов в ободочной кишке у самок и самцов мышей C57Bl/6 при хроническом язвенном колите, Me (0,25; 0,75)

Показатели		Самки			Самцы		
		Контрольная группа	Хронический язвенный колит	Р	Контрольная группа	Хронический язвенный колит	Р
Лейкоциты, млн/мл (WBC)		1,00 (0,60; 1,10)	0,80 (0,60; 1,10)	0,58	1,10 (0,40; 1,10)	1,10 (0,40; 1,30)	0,44
Лимфоциты, млн/мл (LY)		0,40 (0,25; 0,50)	0,25 (0,21; 0,30)	0,09	0,60 (0,50; 0,67)	0,50 (0,16; 0,50)	0,19
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	% от лф	12,60 (10,10; 13,90)	13,90 (9,10; 23,60)	0,58	2,90 (1,60; 3,50)	7,40 (4,60; 12,20)	0,003
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	% от лф	0,00 (0,00; 0,00)	0,35 (0,20; 1,20)	0,02	1,60 (1,00; 2,00)	0,20 (0,10; 2,20)	0,36
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	% от лф	9,10 (7,90; 9,38)	34,80 (18,20; 51,90)	0,0005	1,40 (0,40; 1,80)	14,60 (7,70; 30,50)	0,001
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	% от Тх	57,40 (32,90; 63,00)	19,30 (15,70; 26,40)	0,004	15,40 (14,50; 16,40)	29,55 (9,60; 61,00)	0,25

Условные обозначения: лф – лимфоциты; Тх – Т-хелперы; Р – статистическая значимость различий (U-критерий Манна-Уитни)

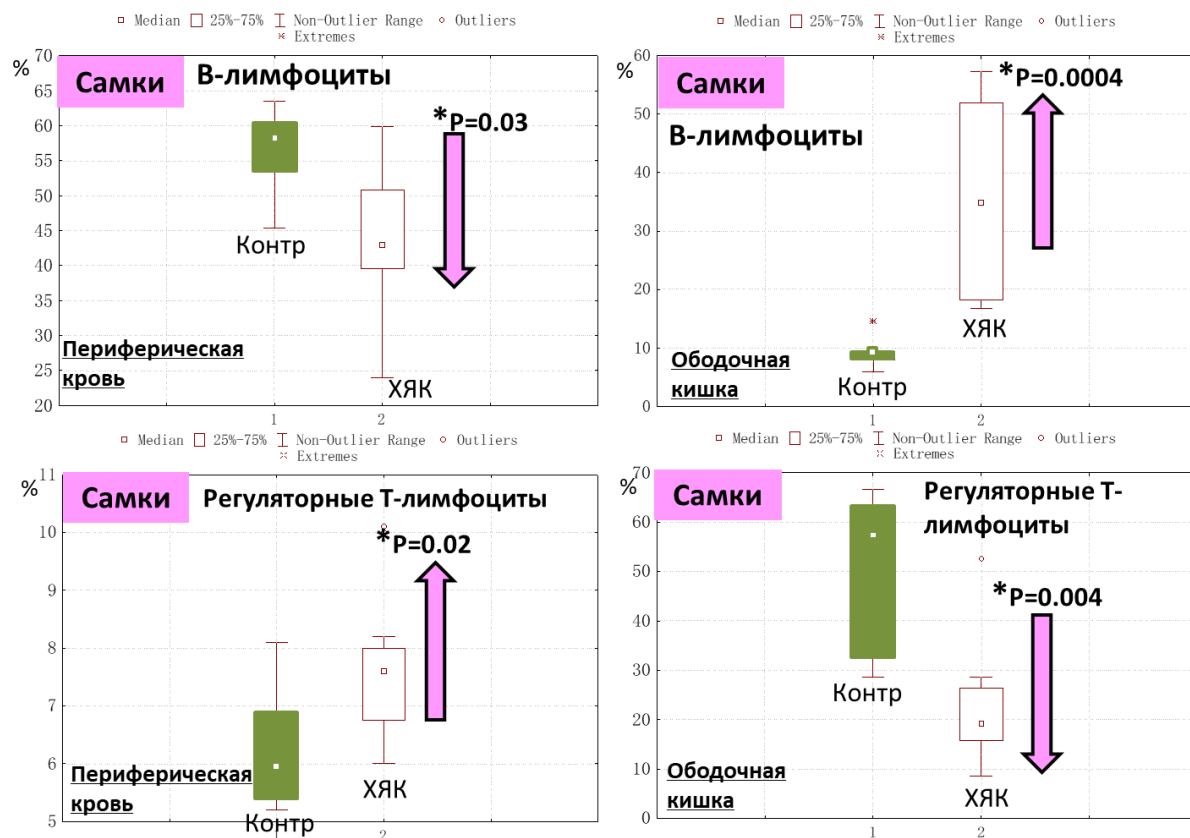


Рис. 50. Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови и ободочной кишке при хроническом язвенном колите у самок мышей C57Bl/6

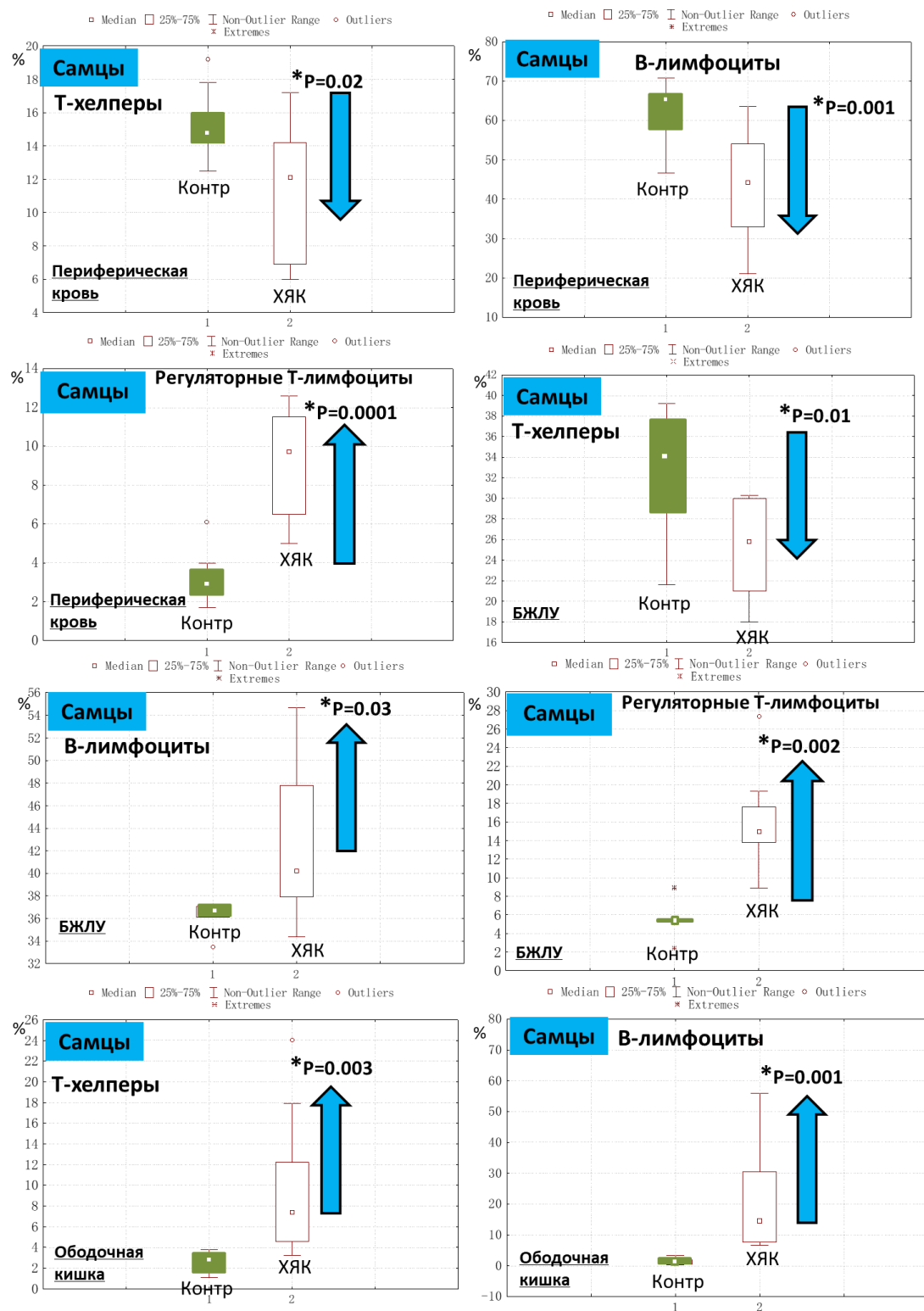


Рис. 51. Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов в периферическом крови, брыжеечных лимфатических узлах (БЖЛУ) и ободочной кишке при хроническом язвенном колите у самцов мышей C57Bl/6

Таблица 45

Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов при хроническом язвенном колите

Показатели	Самки			Самцы		
	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка	ПК	БЖЛУ	Ободочная кишка
Лейкоциты, млн/мл (WBC)	↓ в 1,4 раз	↑ в 1,4 раз	=	=	=	=
Лимфоциты, млн/мл (LY)	↓ в 1,5 раз	↑ в 1,4 раз	=	=	=	=
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) % от лф*	=	=	=	↓ в 1,3 раз	↓ в 1,3 раз	↑ в 2,6 раз
Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD8 ⁺) % от лф	=	=	↑ появилось	=	=	=
В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺) % от лф	↓ в 1,4 раз	=	↑ в 3,8 раз	↓ в 1,5 раз	↑ в 1,1 раз	↑ в 10,4 раз
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺) % от Тх	↑ в 1,3 раз	=	↓ в 3 раз	↑ в 3,6 раз	↑ в 2,8 раз	=

Условные обозначения: лф – лимфоциты; ПК – периферическая кровь; БЖЛУ – брыжеечные лимфатические узлы

Таким образом, по сравнению с самцами у самок при хроническом колите уменьшается количество лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, но повышается в брыжеечных лимфатических узлах. Показатели Т-хелперов при колите у самцов снижаются в крови и брыжеечных лимфатических узлах, но их содержание в ободочной кишке у самцов – увеличивается. Содержание В-лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у самцов увеличивается в 1,1 раз, а у самок оно не изменяется. При хроническом колите показатель содержания регуляторных Т-лимфоцитов в ободочной кишке у самок снижается 3 раза, у самцов не изменяется.

5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа посвящена изучению морфологических особенностей воспалительного процесса, нарушений эпителиального барьера и иммунной системы у половозрелых самок и самцов мышей C57Bl/6 при разной тяжести острого язвенного колита и хроническом язвенном колите. Литературные сведения по гендерным гистофизиологическим различиям толстой кишки и язвенного колита у человека ограничиваются только клиническими и относительно немногочисленными лабораторными исследованиями (Lampré J.W. et al., 1993; Sankaran-Walters S. et al., 2013). Поэтому вопрос о морфологических проявлениях и особенностях иммунных механизмов развития колита у мужчин и женщин до сих пор остается открытым. Это объясняется сложностью подбора на клиническом материале репрезентативных групп наблюдения по этническому составу, репродуктивному статусу, особенностям питания, сопутствующим заболеваниям и лечению. В тоже время сведения о гендерных различиях течения язвенного колита и механизмах его развития необходимы для разработки подходов к лечению этого заболевания с учетом пола. При изучении половых различий язвенного колита в эксперименте можно избежать проблем с подбором репрезентативных групп, но полученные данные, нельзя полностью экстраполировать на человека, так как имеются множество межвидовых структурно-функциональных и метаболических различий (Каркищенко Н.Н., 1985).

В настоящее время для изучения механизмов язвенного колита используются многие экспериментальные модели: спонтанного колита у генетически модифицированных животных (Targan S.R., Karp L.C., 2005), колита, индуцированного химическими веществами – тринитробензолсульфоевой кислотой, ДСН (Neurath M. et al., 2000), оксазолоном (Huang Z. et al., 2013). Наиболее широко распространённой в исследованиях является модель ДСН-индуцированного колита (Okaysu I. et

al., 1990). Данная модель является наиболее оптимальной, так как морфологические проявления ДСН-индуцированного колита у животных в целом сходны с таковыми у человека (Золотова Н.А. и соавт., 2014). Кроме того, модель ДСН-индуцированного язвенного колита технически легко- и высоковоспроизводима и позволяет охарактеризовать как острый, так и хронический воспалительного процесс в ободочной кишке.

Следует отметить, что данные не только о половых различиях язвенного колита, но и о половых гистофизиологических различиях толстой кишки у человека и экспериментальных животных в норме в литературе представлены недостаточно. Известно только, что, по сравнению с женщинами, у мужчин больше длина толстой кишки. Время прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту у женщин меньше, чем у мужчин. Масса кала, показатели в нем концентрации желчных кислот у женщин также меньше, чем у мужчин (Lampe J.W. et al., 1993).

Таким образом, цель работы – выявление половых различий воспалительного процесса, нарушений эпителиального барьера и иммунной системы при остром и хроническом язвенном колите у мышей C57Bl/6, является актуальной.

В работе проведено сравнительное исследование гистофизиологических особенностей ободочной кишки, морфологических проявлений, воспалительных и иммунологических нарушений при разной тяжести острого колита и хроническом колите у половозрелых самок и самцов мышей C57Bl/6.

Впервые выявлены половые различия **структурной организации ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 в норме**: по сравнению с самками у самцов выше показатели длины ободочной кишки, числа лимфоидных узелков в ее стенке и количества клеток в СПСО. В эпителиальной выстилке у самцов в 1,4 раза больше бокаловидных клеток, а в дистальном отделе ободочной кишки в 1,7 раз выше число эндокринных.

По нашим данным длина ободочной кишки у половозрелых самцов мышей C57Bl/6 была выше, чем у самок той же линии, на 17%. Большая длина ободочной кишки у самцов определяется тем, что масса их тела больше, чем у самок, и, соответственно, у них более высокая потребность в питательных веществах. По данным J.W. Lampe et al. (1993) у мужчин, по сравнению с женщинами больше длина толстой кишки и это, очевидно, связано также с гормональным профилем, характером потребляемой пищи и её количеством (Moss R., Parkinson J.A., 1972). E. Pulliainen, P.S. Tunkkari (1983) показали, что у самцов и самок хомяков длина ободочной кишки изменяется в зависимости от сезона года, у половозрелых самцов и самок в июле она не отличается, а весной и осенью показатели её длины выше у самок.

Более высокие показатели объёмной доли бокаловидных и эндокринных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки у самцов мышей C57Bl/6, по-видимому, обусловлены влиянием тестостерона на экспрессию генов Notch и Math сигнальных путей, играющих ключевую роль в процессах дифференцировки кишечного эпителия. Высокая экспрессия Notch гена в эпителии кишки у мышей обуславливает уменьшение популяции секреторных клеток (Zecchini V. et al., 2005). Напротив, ингибирование Notch пути приводит к увеличению в эпителиальном пласте секреторных клеток (van Es J.H. et al., 2010). B. Orr et al. (2009) на экспериментальных животных показали, что в раннем постнатальном периоде при низком уровне тестостерона повышается экспрессия гена Notch1 в эпителии предстательной железы, а в период половой зрелости при высоком уровне тестостерона его экспрессия снижается. Эти данные косвенно свидетельствуют о регуляции Notch-зависимого пути дифференцировки эпителия андрогенами. Литературные сведения о влиянии эстрадиола на экспрессию гена Notch и его влиянии на эпителий кишечника в литературе отсутствуют. Выявленное нами увеличение у самцов мышей

C57Bl/6 содержания в эпителиальной выстилке ободочной кишки бокаловидных и эндокринных клеток, по-видимому, отражает супрессию Notch пути дифференцировки эпителия тестостероном и, соответственно, повышение экспрессии генов Math, которые ответственны за дифференцировку эпителия в секреторные клетки – бокаловидные и эндокринные.

Экспрессия эстрогеновых рецепторов (ER) варьирует в различных тканях. В эпителии матки и молочных желез экспрессируются, главным образом, ER α рецепторы, показано, что их агонисты могут ингибировать пролиферацию эпителия не только эстрогензависимых половых органов, но и кишечника (Schleipen B. et al., 2011). В эксперименте установлено, что активация ER β рецепторов их агонистами оказывает антипролиферативный и проапоптотический эффекты на эпителий подвздошной кишки (Schleipen B. et al., 2011).

Рецепторы к андрогенам обнаружены на эпителии тонкой кишки у крыс, и на опухолевых эпителиальных клетках толстой кишки. Пролиферация эпителия тонкой кишки и опухолевых клеток толстой повышается при введении тестостерона (Tutton P.J., Barkla D.H., 1982). Эстрадиол у женщин играет важную роль в регенераторных процессах: он активирует Wnt-сигнальный путь, что определяет ускорение процессов регенерации эпителия. Wnt/ β -катенин сигнальный путь определяют дифференцировку и созревание стволовых эпителиальных клеток кишечника (Sankaran-Walters S. et al., 2013).

Выявленное нами у самцов мышей C57Bl/6 по сравнению с самками повышение численности популяции секреторных клеток – бокаловидных и эндокринных, по-видимому, связано с увеличением пролиферативной активности эпителия, а более низкие показатели у самок, напротив, со снижением пролиферации и усилением апоптоза эпителиальных клеток, включая секреторные.

По сравнению с самками у самцов нами выявлено более высокое количество лимфоидных узелков и клеточных элементов в СПСО ободочной кишки, что отражает активацию локальной иммунной системы. Возможно, это обусловлено большим количеством микрофлоры в толстой кишке. С. Dominianni et al. (2015) показали, что у мужчин в толстой кишке содержание бактерий выше, чем у женщин.

В литературе структура лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой кишечника у человека, детально освещена в работах Сапина М.Р. (1987) и Сапина М.Р., Никитюка Д.Б. (2004), но все результаты представлены авторами без учета пола.

Данные о половых различиях лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, в литературе отсутствуют. Выявленная нами большая выраженность компартмента диффузной рассеянной лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой ободочной кишки, у самцов, очевидно, является результатом сложных, регулируемых большим числом молекул, в том числе и половыми гормонами, процессов пролиферации, дифференцировки и миграции лимфоцитов.

Морфологическое исследование структурной организации мезентериальных лимфатических узлов у самцов и самок мышей C57Bl/6 не выявило каких-либо половых различий. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов показало, что в периферической крови и брыжеечных лимфатических узлах у самок выше содержание цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов, но в лимфатических узлах ниже В-лимфоцитов. Максимально выраженные половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов наблюдаются в ободочной кишке: в отличие от самцов у самок в 4,3 раза выше содержание Т-хелперов, в 3,7 – регуляторных Т-лимфоцитов и в 6,7 – В-лимфоцитов.

Тестостерон регулирует иммунный ответ на экзогенные бактериальные и вирусные антигены и эндогенные молекулы – алармины (Kissick H.T. et al.,

2014). Эффекты тестостерона недостаточно изучены, но они очевидно, плейотропные. Показано, что тестостерон регулирует дифференцировку Tх1 лимфоцитов путем супрессии ИЛ12-индуцированного фосфорилирования Stat4 и изменения экспрессии этого гена (Kissick H.T. et al., 2014). Кроме того, андрогены связываются с Ptpn1 (protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 1) рецептором тирозин-фосфатазы типа 1, который ингибирует ИЛ12 сигналинг CD4⁺ Т-лимфоцитов. Таким образом, андрогены ингибируют дифференцировку Т-хелперов (Kissick H.T. et al., 2014). По нашим данным по сравнению с самцами у самок мышей C57Bl/6 содержание Т-хелперов в ободочной кишке было выше. Эти данные согласуются с результатами Е.Ю. Симоновой (2012), которая показала, что у самок половозрелых крыс Вистар в периферической крови содержание Т-хелперов выше, чем у самцов.

Регуляторные Т-лимфоциты участвуют в поддержании толерантности к собственным антигенам путем подавления иммунного ответа, опосредованного аутореактивными Т-лимфоцитами (Itoh M. et al., 1999). Естественные регуляторные Т-клетки дифференцируются в тимусе и составляют 1-10% от общего количества CD4⁺ Т-лимфоцитов в тимусе, периферической крови и лимфоидных органах (Itoh M. et al., 1999). Важным регулятором развития и функционирования этих клеток является транскрипционный фактор FoxP3 (Itoh M. et al., 1999). Экспрессию FoxP3 регулируют TGFβ и ИЛ2 (Walecki M. et al., 2015). В норме у человека регуляторные Т-клетки составляют около 4% от общего количества лимфоцитов (Чередеев А.Н., 1993). Тестостерон индуцирует дифференцировку Т-регуляторных лимфоцитов как *in vivo*, так и *in vitro* (Walecki M. et al., 2015). Связывание тестостерона с андрогеновыми рецепторами приводит к изменению ацетилирования гистона H4, в то время как на метилирование CpG региона FoxP3 гена андрогены не влияют (Walecki M. et al., 2015). Таким образом, полагают, что связывание тестостерона с андрогеновыми рецепторами приводит к эпигенетическим

изменениям, в результате андрогены оказывают активирующее действие на дифференцировку Т-регуляторных лимфоцитов. При экспериментальном аутоиммунном орхите наблюдается снижение уровня тестостерона и повышение количества Т-регуляторных лимфоцитов в лёгких, что приводит к снижению выраженности воспалительных реакций (Fijak M. et al., 2011). Показано андроген-зависимое увеличение экспрессии FoxP3 лимфоцитами, полученными из периферической крови у женщин в овуляторную фазу менструального цикла (Fijak M. et al., 2011).

По данным литературы, колебания уровня эстрадиола в течение менструального цикла оказывают влияние на количество и супрессорную активность регуляторных Т-клеток (Prieto G.A., Rosenstein Y., 2006). В секреторную фазу эстрального цикла с высоким содержанием эстрогенов в сыворотке крови процентное содержание регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови выше, чем в пролиферативную фазу (Weinberg A. et al., 2011). На ранних сроках беременности наблюдается повышение относительного содержания регуляторных Т-лимфоцитов в крови (Weinberg A. et al., 2011). В исследованиях *in vitro* показано, что эстрогены в физиологических концентрациях стимулируют пролиферацию регуляторных Т-лимфоцитов (Prieto G.A., Rosenstein Y., 2006). P. Tai et al. (2008) обнаружили, что эстрогены усиливают экспрессию транскрипционного фактора FoxP3. У мышей, которым вводили антагонисты эстрогеновых рецепторов, снижалось количество и супрессорная активность регуляторных Т-клеток, а также уровень экспрессии FoxP3 (Prieto G.A., Rosenstein Y., 2006). M. Walecki et al. (2015) показали, что в овуляторную фазу менструального цикла содержание Т-регуляторных лимфоцитов увеличивается, что связано с пиковым повышением концентрации тестостерона.

M. Walecki et al. (2015) анализировали содержание Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови у мужчин и женщин в возрасте 19-35 и

50-60 лет. У женщин обеих возрастных групп показатели были выше, чем у мужчин, что согласуется с нашими результатами о половых различиях содержания Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке, брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови у мышей C57Bl/6.

По данным литературы, стероидные половые гормоны оказывают влияние на абсолютное количество В-лимфоцитов в периферической крови. Повышение уровня эстрадиола в сыворотке крови приводит к снижению количества В-лимфоцитов в костном мозге и селезенке (Kincade P.W. et al., 2000), а у орхиэктомированных самцов мышей увеличивается число В-клеток в костном мозге, Т-клеток в тимусе и лимфоцитов в селезенке (Ellis T.M. et al., 2001).

Выявленные половые различия цитофизиологии эпителиального барьера ободочной кишки и особенностей субпопуляционного состава лимфоцитов в разных компартментах – периферической крови, лимфатических узлах и ободочной кишке, по-видимому, играют важную роль в развитии ВЗК и половых различиях их течения. Однако в литературе отсутствуют работы, посвященные половым различиям язвенного колита как у человека, так и у экспериментальных животных.

В связи с этим у самцов и самок мышей C57Bl/6 были изучены морфофункциональные изменения эпителиального барьера и субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и стенке ободочной кишки при умеренном и тяжелом остром язвенном колите, индуцированном, соответственно, 1 и 5% ДСН.

При умеренном остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, в отличие от самок у самцов более выражены диарея с кровью, снижение массы тела и показатели длины ободочной кишки, что отражает более тяжелое течение воспалительного процесса. Количество лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки у самок при умеренном остром колите

возрастает в 2 раза, а у самцов в 2,6 раза снижается. Увеличение числа лимфоидных узелков у самок обусловлено активацией иммунных реакций эстрадиолом, а снижение количества лимфоидных узелков у самцов отражает супрессию иммунной системы тестостероном. У самок объёмная доля бокаловидных клеток повышается в 1,5 раза, а у самцов в дистальном отделе – в 3 раза снижается, но и у самок, и у самцов уменьшается содержание в бокаловидных клетках нейтральных и высокосульфатированных гликопротеинов.

По данным Н.А. Золотовой и соавт. (2016) при остром ДСН колите у самцов мышей C57Bl/6 количество бокаловидных клеток в ободочной кишке и содержание в них кислых и нейтральных гликопротеинов снижается, что автор связывает с гиперсекрецией бокаловидных клеток. Результаты, полученные Н.А. Золотовой (2018), соответствуют полученным нами – у самцов при остром колите, индуцированном 1% ДСН: количество бокаловидных клеток и содержание в них нейтральных и высокосульфатированных муцинов снижается. Уменьшение толщины слизи, покрывающей эпителий, при ДСН-колите показано J. Petersson et al. (2011). Количество бокаловидных клеток при обострении язвенного колита у человека и при экспериментальном остром колите уменьшается (McCormick D.A. et al., 1990; Mizoguchi A., Mizoguchi E., 2008). Н.А. Золотовой и соавт. (2018) показано, что на 28-ые сутки после индукции ДСН колита у самцов мышей C57Bl/6 компенсаторно увеличивается экспрессия основного структурного компонента слизи – муцина Muc2. I.B. Renes et al. (2002) и С. Jädert et al. (2013) выявили снижение содержания бокаловидных клеток при ДСН индуцированном остром колите у самцов крыс, что сочеталось с повышением продукции Muc2.

Повышение у самок объёмной доли бокаловидных клеток в СПСО ободочной кишки при остром язвенном колите со снижением в них нейтральных и кислых гликопротеинов, очевидно, обусловлено тем, что у

них менее выражен воспалительный процесс. Данные о цитофизиологических изменениях бокаловидных клеток при экспериментальном колите у самок в литературе отсутствуют. Увеличение объёмной доли бокаловидных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки у самок при умеренном остром язвенном колите связано с меньшей выраженностью воспалительного процесса и, следовательно, большей – регенераторных процессов, а также с усилением дифференцировки незрелых эпителиальных клеток в секреторные.

Менее тяжелые клинические проявления острого колита у самок обусловлены тем, что эстрогены активируют иммунную систему, которая эффективно контролирует воспалительный ответ. В системе *in vitro* показано, что низкие концентрации эстрогенов активируют реакции клеточного иммунитета, а высокие – гуморального (Fish E.N., 2008; Gilliver S.C. et al., 2010). Эстрогены также оказывают дозозависимое влияние на уровень экспрессии ряда транскрипционных факторов – Tbet (Tx1 specific transcription factor) и IRF1 (interferon regulatory factor 1), которые регулируют дифференцировку клеток Tx1 типа и продукцию ими Tx1 цитокинов (Pernis A.B., 2007). Эстрогены в физиологических концентрациях усиливают экспрессию этих молекул. В то же время тестостерон и его активная форма 5 α -дигидротестостерон не влияют на продукцию Tx1 и Tx2 цитокинов Т-лимфоцитами (Posma E. et al., 2004).

На модели ВЗК у HLA-B27 (Human leukocyte antigen B27) трансгенных самок мышей показано, что терапия эстрогенами снижает активность воспалительного процесса и выраженность клинических проявлений ДСН-индуцированного колита (Dieleman L.A. et al., 1994). Однако в работе E.F. Verdu et al. (2002) установлено, что введение 17 β -эстрадиола самкам мышей C57Bl/6 с острым ДСН-индуцированным колитом приводит, по данным морфологического исследования и оценки активности фермента нейтрофилов – миелопероксидазы, к более тяжелому течению заболевания.

Эффекты эстрогенов реализуются путем связывания со специфическими рецепторами (Gustafsson J.A., 2005), которые локализованы на эпителиальных клетках, макрофагах, лимфоцитах и других клетках (Salih M.A. et al., 1996; Campbell-Thomson M.L., 1997; Hodges Y.K. et al., 2000; Gustafsson J.A., 2005). Показано, что 17β -эстрадиол в высокой дозе супрессирует Th1 тип иммунного ответа и усиливает Th2 ответ (Verdu E.F. et al., 2002), тогда как в развитии острого колита ключевую роль играют реакции Th1 типа (врожденного иммунитета).

В работе проведена сравнительная оценка субпопуляционного состава лимфоцитов в ободочной кишке, брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови у самок и самцов с умеренным острым язвенным колитом, вызванным 1% ДСН. По сравнению с контролем при остром язвенном колите у самцов в ободочной кишке и брыжеечных лимфатических узлах содержание Т-регуляторных лимфоцитов повышалось, а в периферической крови снижалось. Снижение содержания регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови, очевидно, обусловлено нарушением их дифференцировки в тимусе, а также усилением миграции в очаг воспаления. Повышение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке и лимфатических узлах связано как с усилением миграции их тимической популяции, так и повышением дифференцировки индуцированных Т-регуляторных лимфоцитов (Pedros C. et al., 2016).

Полученные нами результаты по оценке содержания регуляторных Т-лимфоцитов у самцов при экспериментальном остром язвенном колите согласуются с данными S.D. Alsharari et al. (2016). Повышение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в очаге воспаления целесообразно в связи с тем, что эта субпопуляция оказывает иммуносупрессорное и противовоспалительное действие, продуцируя ИЛ10 и $TGF\beta$ (Huang Y., Chen Z., 2016). ИЛ10 усиливает дифференцировку В-лимфоцитов, их количество в ободочной кишке повышается. В-лимфоциты дифференцируются в

плазматические клетки, синтезирующие в кишке секреторный IgA. По данным Т.А. Хомяковой и соавт. (2013) при остром ДСН-индуцированном колите у самцов мышей C57Bl/6 в содержимом ободочной кишки многократно возрастает концентрация sIgA.

В отличие от самцов у самок менее тяжелое течение острого язвенного колита, индуцированного 1% ДСН, не сопровождается изменениями содержания регуляторных Т-лимфоцитов во всех трёх исследованных компартментах. Это, по-видимому, связано с различиями в содержании стероидных половых гормонов. Известно, что тестостерон усиливает дифференцировку Т-регуляторных лимфоцитов, а эстрадиол – пролиферацию лимфоцитов (Sankaran-Walters S. et al., 2013; Walecki M. et al., 2015). Очевидно, половые различия связаны не только с особенностями профиля стероидных половых гормонов, но также определяются и кариотипом.

В литературе отсутствуют данные о содержании регуляторных Т-лимфоцитов у самок при экспериментальном язвенном колите в ободочной кишке, лимфатических узлах и периферической крови.

При остром язвенном колите содержание В-лимфоцитов в ободочной кишке у самок по сравнению с контролем снижается, что связано с отсутствием повышения количества Т-регуляторных лимфоцитов, которые продуцируют ИЛ10, активирующий их дифференцировку (Pen J.J. et al., 2014).

По сравнению с контрольными группами максимально выраженные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов при остром колите, индуцированном 1% ДСН, обнаружены в ободочной кишке у самцов: содержание регуляторных Т-лимфоцитов у них возрастает в 4,5 раза, а В-лимфоцитов в 7,9 раза. В то время как у самок с умеренным острым колитом увеличивается содержание цитотоксических Т-лимфоцитов и снижается в 2 раза В-лимфоцитов.

Работы, посвященные исследованию субпопуляционного состава лимфоцитов ободочной кишки при экспериментальном остром колите, отсутствуют. Полученные в работе данные о повышении содержания в ободочной кишке у самцов при остром колите FoxP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов согласуются с литературными сведениями. У больных ВЗК содержание Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови снижается, а в слизистой оболочке толстой кишки повышается (Maul J. et al., 2005; Holmén N. et al., 2006). Относительное количество Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке коррелирует с активностью заболевания и содержанием С-реактивного белка в сыворотке крови (Holmén N. et al., 2006). Показано, что при болезни Крона снижение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови сочетается с повышением их количества в ободочной кишке (Saruta M. et al., 2007). Однако, в перечисленных работах пол пациентов не учитывался, а группы исследования были представлены мужчинами и женщинами разного возраста. Повышение содержания В-лимфоцитов в стенке ободочной кишки связано с тем, что Т-регуляторные лимфоциты продуцируют ИЛ10, который повышает дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки (Pen J.J. et al., 2014). В отличие от самцов у самок в ободочной кишке при остром колите содержание Т-регуляторных лимфоцитов по сравнению с контролем не изменяется, что обуславливает в условиях острого воспалительного процесса повышение относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

По сравнению с контрольными группами при морфологическом исследовании брыжеечных лимфатических узлов при остром колите, индуцированном 1% ДСН, у животных обоего пола выявлялась гиперплазия лимфоидных узелков и синусные реакции. По данным морфологического исследования при остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, на качественном уровне выявления и гиперплазия и синусной реакции, а

каких-либо половых различий структуры лимфатических узлов не выявлено. Однако, в брыжеечных лимфатических узлах у самок снижалось содержание Т-хелперов, а у самцов В-лимфоцитов, но у последних возрастали показатели количества регуляторных Т-лимфоцитов в 1,8 раза и цитотоксических Т-лимфоцитов в 1,4 раза.

При остром колите в периферической крови у самок по сравнению с контрольной группой повышается показатель содержания Т-хелперов, но снижается – цитотоксических Т-лимфоцитов, а у самцов – в 2 раза регуляторных Т-лимфоцитов. Повышение содержания Т-хелперов у самок отражает активацию иммунного ответа, а цитотоксических Т-лимфоцитов – меньшую выраженность процессов альтерации. Снижение содержания в периферической крови у самцов с острым колитом Т-регуляторных лимфоцитов связано с тем, что, очевидно, тимические регуляторные Т-лимфоциты попадающие из тимуса в кровь, мигрируют в очаг воспаления и регионарные лимфатические узлы (Кравченко П.Н., Олейник Е.К., 2013; Pedros C. et al., 2016).

Таким образом, нами впервые выявлены половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов в ободочной кишке, брыжеечных узлах и периферической крови у мышей при остром язвенном колите. У самцов с острым язвенным колитом повышается содержание FoxP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке и брыжеечных лимфатических узлах, а в периферической крови снижается. У самок с острым язвенным колитом ни в одном из 3-х компартментов по сравнению с контрольной группой различий не выявлено.

Клинические проявления тяжелого острого колита, индуцированного 5% ДСН, – диарея с кровью, уменьшение массы тела и длины ободочной кишки были более значительными у самцов по сравнению с самками. По данным макроскопической оценки в слизистой оболочке дистального отдела ободочной кишки, у самцов показатели язв и очагов

гиперемии были в 5 раз выше, чем у самок. По данным количественной оценки относительная длина язв у самок составила 27%, а у самцов – 71%. В связи с тяжелыми деструктивными изменениями эпителиального барьера в этих экспериментальных группах мы не проводили оценку его морфологических особенностей.

Экспериментальная модель тяжелого острого язвенного колита, индуцированного 5% ДСН, по клиническим и морфологическим проявлениям соответствует тяжелому фульминантному колиту у человека. В нашем эксперименте в течение 7-ми суток погибли 30% самцов, а все самки выжили.

Максимально выраженные изменения субпопуляций лимфоцитов обнаружены в брыжеечных лимфатических узлах у самцов – повышение содержания Т-регуляторных и В-лимфоцитов, но снижение цитотоксических. В ободочной кишке у них в 21 раз возрастает содержание В-лимфоцитов, а в периферической крови – Т-регуляторных лимфоцитов. В отличие от самцов у самок изменения субпопуляционного состава лимфоцитов характеризуются уменьшением содержания Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке, но повышением их в периферической крови. Кроме того, в ободочной кишке и брыжеечных лимфатических узлах у самок и у самцов повышается содержание В-лимфоцитов.

Изменения содержания разных субпопуляций лимфоцитов у самцов сочетаются с многократным снижением показателей абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови и ободочной кишке, что отражает активацию процессов их гибели, а также нарушения миграции, пролиферации и дифференцировки вследствие тяжелого фибринозно-язвенного воспалительного процесса, с выраженными системными проявлениями. По данным О.В. Макаровой и Е.А. Постоваловой (2017) у самцов мышей C57Bl/6 с фибринозно-язвенным колитом в

сыворотке крови в 10 раз возрастает уровень эндотоксина, который индуцирует реакции системного воспалительного ответа.

Нами выявлены половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов в стенке ободочной кишки. У самок и самцов повышается содержание В-лимфоцитов. Выявлено снижение содержания в ободочной кишке FoxP3 регуляторных Т-лимфоцитов у самок и отсутствие изменений этого показателя у самцов, что, очевидно, обусловлено нарушением дифференцировки, миграции и активацией их гибели как в тимусе, так и в ободочной кишке (Макарова О.В., Постовалова Е.А., 2017).

В брыжеечных лимфатических узлах на качественном уровне при морфологическом исследовании у животных обоего пола выявлена гиперплазия В-зон с расширением герминативных центров лимфоидных узелков, а также плазматизация синусов и увеличение в них числа макрофагов. Выявленные в лимфатических узлах изменения соотносятся с повышением содержания В-лимфоцитов в них и стенке ободочной кишки, что отражает активацию гуморальных реакций.

В брыжеечных лимфатических узлах у самок повышается абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов, содержание Т-хелперов снижается в 1,8 раза, а В-лимфоцитов в 1,9 раза возрастает. У самцов содержание цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов уменьшается, а В-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов возрастает. Высокое содержание В-лимфоцитов в стенке ободочной кишки и брыжеечных лимфатических узлах при остром язвенном колите, вызванном 5% ДСН, по-видимому, связано с активацией В-клеток памяти, которые быстро пролиферируют и дифференцируются в плазматические клетки. В них синтез IgM быстро переключается на продукцию IgG и IgA, характеризующихся высокой аффинностью (Benjamini E., 1996).

В-клетки памяти подразделяют на естественные и адаптивные; Т-зависимые и Т-независимые (Sanz I. et al., 2008). Естественные В-клетки

памяти дифференцируются из наивных В-клеток, в основном, в маргинальных зонах лимфоидных узелков и экспрессируют немутированные IgM. Их функциональная активность не зависит от Т-лимфоцитов (Dörner T. et al., 2009).

В отличие от естественных В-клеток памяти, дифференцировка адаптивных В-лимфоцитов памяти является Т- и антигензависимой и происходит в герминативных центрах лимфоидных узелков (Hamel K.M. et al., 2012; Shlomchik M.J., Weisel F., 2012). Герминативные центры формируются при иммунном ответе на многие антигенные стимулы и заселяются активированными антигенспецифическими В- и Т-клетками. В герминативных центрах происходит как пролиферация В-клеток, так и их гибель (Schmidlin H. et al., 2009; Shlomchik M.J., Weisel F., 2012; Chan T.D., Brink R., 2012). Активированные В-клетки герминативных центров дифференцируются в В-лимфоциты памяти или в плазмocyты (Sanz I. et al., 2008; Dörner T. et al., 2009; Shlomchik M.J., Weisel F., 2012).

Плазмocyты являются короткоживущими (период их полужизни от 3–х до 14-ти дней), они не могут быть стимулированы антигеном, а также делиться и увеличивать количество продуцируемых антител. Поэтому должна существовать еще одна популяция долгоживущих плазматических клеток за счет которой, при непрерывной антигенной стимуляции В-клеток памяти, происходит пополнение резерва быстро погибающих плазматических клеток, чтобы тем самым сохранить производство антител.

Таким образом, возникло предположение о существовании популяции долгоживущих плазматических клеток, которые остаются жизнеспособными достаточно долго: от нескольких месяцев до десятков лет. В эксперименте показано, что у мышей период “полураспада” плазмocyтов составляет около 3-4 месяцев (Manz R.A. et.al., 2002; Crotty S., Ahmed R., 2004). Такая модель логично объясняет как увеличение количества В-лимфоцитов, так и

плазмоцитов при остром язвенном колите, так и длительную продукцию антител.

При остром язвенном колите, вызванном 5% ДСН, в периферической крови у самок содержание В-лимфоцитов снижается и повышается – регуляторных Т-лимфоцитов, а у самцов уменьшаются показатели абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, а содержание Т-регуляторных лимфоцитов повышается в 3 раза.

В соответствии с изменением субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у самок с менее тяжелыми проявлениями колита, сохраняется супрессорный эффект Т-регуляторных лимфоцитов: количество их снижается, но снижается и количество В-лимфоцитов. У самцов показатели всех субпопуляций лимфоцитов в периферической крови – абсолютного количества лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в периферической крови снижаются, что отражает развитие вторичного иммунодефицитного состояния.

По данным оценки клинических проявлений хронического язвенного колита половых различий не выявлено, но по результатам макроскопического исследования у самок была в 2 раза выше распространённость очагов гиперемии и язв, то есть тяжесть воспалительного процесса у них выше.

По сравнению с контрольной группой длина ободочной кишки у самок **с хроническим язвенным колитом** возрастает, а у самцов не изменяется. Выявленное удлинение ободочной кишки у самок косвенно отражает релаксацию гладких миоцитов мышечной оболочки и нарушение моторики с замедлением транзита содержимого. Показано, что у самцов при хроническом язвенном колите по сравнению с контрольной группой время транзита возрастает в 1,4 раза (Хочанский Д.Н., 2018). Число лимфоидных

узелков у самцов при хроническом колите уменьшается, а у самок – увеличивается, но только в медиальном отделе. Выявленные изменения числа лимфоидных узелков у самок и самцов соотносятся с тяжестью воспалительного и язвенного процессов, которые больше выражены у самок.

На основании оценки распространённости и выраженности язвенно-воспалительного процесса в ободочной кишке и численности лимфоидных узелков в её стенке можно заключить, что у самок хронический язвенный колит протекает тяжелее, чем у самцов. Показатель объёмной доли клеток в СПСО у самок был выше, чем у самцов. Выявлены половые различия эпителиального барьера: у самок повышалась объёмная доля бокаловидных клеток, а у самцов этот показатель не отличался от контроля. Содержание нейтральных и кислых гликопротеинов в бокаловидных клетках при хроническом колите у животных обоего пола в равной мере повышалось, что отражает адаптивные изменения секреторной активности бокаловидных клеток в условиях хронического воспаления.

В ободочной кишке у самок содержание В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов повышается, но снижается – регуляторных Т-лимфоцитов. У самцов при хроническом колите увеличиваются показатели содержания Т-хелперов и В-лимфоцитов. Выявленное снижение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в ободочной кишке у самок, по-видимому, обуславливает более тяжелое течение воспалительного процесса. При активном воспалении циркулирующие Т-регуляторные лимфоциты мигрируют в слизистую оболочку. Низкое содержание Т-регуляторных лимфоцитов может быть одним из механизмов нарушения супрессии воспалительных реакций (Holmén N. et al., 2006; Saruta M. et al., 2007).

Повышение содержания В-лимфоцитов у самок связано с тимуснезависимой активацией В-клеток памяти, в первую очередь, эндотоксином. Е.А. Постоваловой и соавт. (2018) показано, что при хроническом язвенном колите у самцов мышей C57Bl/6 уровень эндотоксина

возрастает в 1,4 раза. Выявленное повышение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов сопряжено со снижением количества регуляторных Т-лимфоцитов.

В отличие от самок у самцов в ободочной кишке возрастают показатели содержания Т-хелперов и В-лимфоцитов, подобное сочетание обусловлено активацией иммунного ответа по Th2 типу и сопровождается усилением синтеза иммуноглобулинов, выполняющих в просвете кишки протективную функцию. В брыжеечных лимфатических узлах при хроническом язвенном колите независимо от пола наблюдается гиперплазия коры и расширение светлых центров лимфоидных узелков. У самок в брыжеечных лимфатических узлах по сравнению с контролем различий субпопуляционного состава лимфоцитов не выявлено, у них увеличивается только абсолютное количество лимфоцитов и лейкоцитов. У самцов содержание Т-хелперов уменьшается, но возрастает В-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов.

В периферической крови у самок снижаются показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов, содержания В-лимфоцитов, но увеличиваются – регуляторных Т-лимфоцитов. У самцов при хроническом язвенном колите по сравнению с контролем, показатели и относительного, и абсолютного количества Т-хелперов и В-лимфоцитов снижаются, а регуляторных Т-лимфоцитов – возрастают.

Содержание регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови у самок возрастает в 1,2, а у самцов – 3,5 раза. Содержание В-лимфоцитов у самцов снижается. Повышение содержания Т-регуляторных лимфоцитов связано с усилением их дифференцировки в тимусе и усилением их миграции в очаг воспаления – ободочную кишку.

Регуляторные Т-лимфоциты супрессируют пролиферацию эффекторных клеток путем секреции ИЛ10 и TGF β (Levings M.K. et al., 2002). Полагают, что недостаточное количество Т-регуляторных лимфоцитов в

периферической крови приводит к обострению аутоиммунных и воспалительных заболеваний (Frisullo G. et al., 2009; Suen J.L. et al., 2009). J. Maul et al. (2005) и Y. Wang et al. (2011) показали, что у больных ВЗК наблюдается снижение содержания $CD4^+CD25^+$ клеток в периферической крови, а в слизистой оболочке толстой кишки при обострении заболевания количество Т-регуляторных клеток выше, чем в стадию ремиссии. Авторы объясняют снижение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови их миграцией в очаг воспаления – толстую кишку (Múzes G. et al., 2012). I. Kryczek et al. (2011) установили, что повышение в СПСО при язвенном колите $FoxP3^+IL17^+CD4^+$ регуляторных Т-лимфоцитов, с одной стороны, индуцирует увеличение продукции провоспалительных цитокинов, а с другой стороны супрессирует функцию эффекторных Т-лимфоцитов. Таким образом, Т-регуляторные лимфоциты играют двоякую функциональную роль в механизмах воспалительных реакций, поэтому необходимо проведение дальнейших исследований.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые охарактеризованы половые различия структурных изменений ободочной кишки, эпителиального барьера и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, брыжеечных лимфатических узлов и ободочной кишки у мышей C57Bl/6 в норме и при разной тяжести острого и хронического язвенного колита.

Выявлены половые различия структурной организации ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6 в норме. По сравнению с самками у самцов больше длина ободочной кишки, число лимфоидных узелков в ней и количество клеток в собственной пластинке слизистой оболочки, а также содержание секреторных бокаловидных и эндокринных клеток. Функционирование иммунной системы в физиологических условиях у самок мышей обеспечивается относительно высоким содержанием Т-регуляторных лимфоцитов.

При умеренном и тяжелом остром язвенном колите клинические проявления, распространенность язвенного процесса и воспалительная реакция более выражены у самцов. При умеренном остром язвенном колите, индуцированном 1% ДСН, у самок выявлены компенсаторные изменения эпителиального барьера, среди секреторных эпителиальных клеток возрастает количество бокаловидных. В то же время развитие обеих форм острого язвенного колита у самок по сравнению с самцами происходит на фоне низкого содержания Т-регуляторных лимфоцитов.

При хроническом язвенном колите у самок, по сравнению с самцами, воспалительный процесс в ободочной кишке более тяжелый, что обусловлено снижением содержания Т-регуляторных лимфоцитов. Напротив, у самцов количество регуляторных Т-лимфоцитов многократно повышается в периферической крови и брыжеечных лимфатических узлах. В отличие от самцов, у самок наблюдаются более выраженные компенсаторные изменения

эпителиального барьера: у них высокая объёмная доля бокаловидных клеток, а у самцов этот показатель не отличается от контроля.

Полученные в эксперименте результаты по половым различиям тяжести острого и хронического язвенного колита, нарушения эпителиального барьера и субпопуляционного состава лимфоцитов являются базовыми при проведении подобных исследований у человека и показывают, что лечение язвенного колита разными лекарственными средствами, включая иммуностропные препараты, следует проводить с учетом пола.

7. ВЫВОДЫ

1. Выявлены половые морфофункциональные различия ободочной кишки у половозрелых мышей C57Bl/6. По сравнению с самками у самцов больше эндокринных и бокаловидных клеток, лимфоидных узелков, но меньше Т-регуляторных лимфоцитов как в ободочной кишке, так и в брыжеечных лимфатических узлах и периферической крови.
2. При остром язвенном колите разной тяжести клинические проявления и распространенность язвенного процесса более выражены у самцов.
3. Компенсаторные изменения эпителиального барьера при умеренном остром язвенном колите у самок характеризуются увеличением числа бокаловидных клеток и содержания в них нейтральных гликопротеинов. В отличие от самок, у самцов содержание нейтральных и высокосульфатированных гликопротеинов снижается.
4. При умеренном остром язвенном колите иммунные нарушения у самцов характеризуются уменьшением числа лимфоидных узелков в ободочной кишке и повышением в ней и брыжеечных лимфатических узлах Т-регуляторных и В-лимфоцитов. У самок отмечается только снижение содержания В-лимфоцитов в ободочной кишке.
5. Тяжелый острый язвенный колит у самцов в отличие от самок сопровождается выраженной иммуносупрессией: в периферической крови и брыжеечных лимфатических узлах у них увеличивается содержание Т-регуляторных лимфоцитов.
6. При хроническом язвенном колите по сравнению с самцами у самок язвенный и воспалительный процессы более тяжелые, они развиваются на фоне низкого содержания иммуносупрессорных Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови и брыжеечных лимфатических узлах, а у самцов, напротив, их содержание многократно повышается.

8. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфат

АТФ – аденозинтрифосфат

БЖЛУ – брыжеечные лимфатические узлы

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ВИП – вазоактивный интестинальный полипептид

ГПП – глюкагоноподобный пептид

ДГЭА – дегидроэпиандростерон

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДСН – декстрансульфат натрия

ДЭЭС – диффузная эндокринная эпителиальная система

ИЛ – интерлейкин

ИФН γ – интерферон γ

СПСО – собственная пластинка слизистой оболочки

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

Тфх – фолликулярные Т-хелперы

Тх – Т-хелперы

ФНО α – фактор некроза опухоли α

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

AR – Androgen Receptor, андрогеновый рецептор

BCL6 – B-cell lymphoma 6 protein, белок 6 В-клеточной лимфомы

CD – cluster of differentiation, кластер дифференцировки

CXCR – C-X-C chemokine receptor, C-X-C цитокиновый рецептор

CYP – Cytochromes P450, цитохромы P450

ER – Estrogen receptor, эстрогеновый рецептор

HLA-B27 – Human leukocyte antigen B27, человеческий лейкоцитарный антиген B27

HSD – Hydroxy steroid dehydrogenase, гидроксистероиддегидрогеназа

HSP – Heat shock proteins, белки теплового шока

IBD – Inflammatory bowel disease, воспалительные заболевания кишечника

IRF1 – interferon regulatory factor 1, Интерферон-регулирующий фактор 1

iTreg – индуцированные регуляторные Т-лимфоциты

LRH-1 – liver receptor homolog-1

mAR – мембранные андрогеновые рецепторы

MC2R – melanocortin 2 receptor, рецептор меланокортина-2

NFkB – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор «каппа-би»

NOD2 – nucleotide-binding oligomerization domain containing 2

nTreg – натуральные регуляторные Т-лимфоциты

pANCA – perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела

PAS-реакция – Periodic Acid - Schiff reaction, реакция с йодной кислотой и реактивом Шиффа

Ptpn1 – protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 1

ROR γ - RAR-related orphan receptor gamma

SF1 – steroidogenic factor-1, стероидогенный фактор 1

sIgA – секреторный иммуноглобулин А

STAT - Signal transducer and activator of transcription, сигнальный белок и активатор транскрипции

StAR – Steroidogenic Acute Regulatory Protein, Стероидогенный острый регуляторный белок

Tbet – Th1 specific transcription factor, Th1-специфичный транскрипционный фактор

TGF β – Transforming growth factor, трансформирующий фактор роста

TLR – Toll-like receptor , Толл-подобные рецепторы

Treg – регуляторные Т-лимфоциты

9. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулаева С.О. Морфологическая характеристика слизистой оболочки толстой кишки и микробиоты у мышей Balb/c при адаптации к холодовому воздействию// Морфологические Ведомости. – 2011. – №2. – С.9-13.
2. Адлер Г. Болезнь Крона и язвенный колит // М. ГЭОТАР-Мед. – 2001. – С.500.
3. Алиева Э.И. Дифференциальная диагностика заболеваний толстой кишки у детей // Автореф. Диссдокт. мед. наук. М. – 2003. – С.82-88.
4. Белоусова Е.А. Иммунные механизмы при воспалительных заболеваниях кишечника и принципы селективной иммунокоррекции // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1992. – № 7. – С.2-10.
5. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром. Современное состояние проблемы // М.: ГЭОТАР-Медиа, – 2007. – №302. – С.2.
6. Бочков Н.П. Генетические основы болезней кишечника // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 6. С.2-7.
7. Ватутин Н.Т., Шевелёк А.Н., Карапыш В.А., Василенко И.В. Неспецифический язвенный колит // Архивъ внутренней медицины. – 2015. – № 4(24). – С.62-65.
8. Золотова Н.А. Морфофункциональная характеристика эпителиального барьера ободочной кишки при экспериментальном остром и хроническом колите // канд. биол. наук. Москва. «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, 2017.
9. Золотова Н.А., Кирюхин С.О., Хочанский Д.Н., Добрынина М.Т., Макарова О.В. Морфологические изменения ободочной кишки при

экспериментальном хроническом колите, индуцированном декстрансульфатом натрия // Архив патологии. – 2014. – №4. – С.29-34.

10. Золотова Н.А., Поликарпова А.В., Хочанский Д.Н., Макарова О.В. и соавт. Экспрессия муцинов и клаудинов в ободочной кишке при остром и хроническом экспериментальном колите // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – №4. – С.621-424.

11. Золотова Н.А., Хочанский Д.Н., Поликарпова А.В., Добрынина М.Т., Макарова О.В. Цитофизиологическая характеристика эпителиальных секреторных клеток разных отделов ободочной кишки при экспериментальном язвенном колите // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. – №2(18). – С.29-37.

12. Каншина О.А., Каншин Н.Н. Неспецифический язвенный колит у детей и взрослых // М. – 2002. – 212с.

13. Каркищенко Н.Н. Основы клинической фармакологии. Пиримидины// Библиогр. – 1985. – С.125-129.

14. Ковалевский Г.В. Развитие тимуса в постнатальном онтогенезе крыс // Онтогенез. – 1996. – №2. С.100-107.

15. Кравченко П.Н., Олейник Е.К. Система регуляторных Т-клеток и аутоиммунные процессы // Труды Карельского научного центра РАН. – 2013. – №3. – С.18-30.

16. Кучумова С.Ю., Полуэктова Е.А., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Физиологическое значение кишечной микрофлоры // РЖГГК Лекции и обзоры. – 2011. – №5. – С.17-27.

17. Кушнир И.Э. Вопросы клинической картины и основные методы диагностики воспалительных заболеваний кишечника // Киев. – 2005. – 215с.

18. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Д.Н., Гречушников В.Б., Коровина Т.И.: Клиническое значение инфекции *Helicobacter pylori* // Клиническая медицина. – 2005. – №8. С.4-13.

19. Макарова О.В. и Постовалова Е.А. Морфологические изменения тимуса, состава его клеток и субпопуляций лимфоцитов периферической крови при экспериментальном остром язвенном колите // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – №5(163). – С.641-646.
20. Никитина Н.В. Язвенный колит и рак толстой кишки: формирование групп риска, скрининг и профилактика/Н. В. Никитина, Е. А. Белоусова // Фарматека. - М.: Тимотек. – 2004. – №13. – С.39-44.
21. Никулина И.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика воспалительных заболеваний кишечника в Московской области // Автореф. диссканд. мед. наук. – 1997. – 40с.
22. Сапин М. Никитюк Д. Карманный атлас анатомии человека // книга Джангар АПП. – 2004.
23. Сапина М.Р. Анатомия человека // М. Медицина. – 1987. – Том1. 480с.
24. Симонова Е.Ю. Сравнительная характеристика морфофункционального состояния органов иммунной системы и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови самцов и самок крыс Вистар // Морфологические ведомости. – 2012. – №1. – С.60-66.
25. Симонова Е.Ю., Косырева А.М. Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов и фагоцитарной активности гранулоцитов периферической крови у крыс Вистар // Иммунология. – 2012. – №3. – С.120-123.
26. Сичинава И.В., Горелов А.В. Неспецифический язвенный колит у детей // Гастроэнтерология. – 2009. – №1. – С.20-25.
27. Тертычный А.С., Андреев А.И., Карэл Г. Современные подходы к морфологической диагностике воспалительных заболеваний кишечника на материале эндоскопических биопсий // Архив патологии. – 2011. – №1. – С.40-47.

28. Ткачев А.В., Мкртчян Л.С., Никитина К.Е., Волынская Е.И. Воспалительные заболевания кишечника: на перекрестке проблем // Практическая медицина. – 2012. – №3(58). – С.17-22.
29. Филин В.А., Салмова В.С., Вартаптова Е.Е.: Современные аспекты этиологии и патогенеза неспецифического язвенного колита // Педиатрия. – 2000. – №6. – С.95-99.
30. Халиф И.Л., Лоранская И.Д. Воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона): клиника, диагностика, лечение. // М. – 2004. – 88с.
31. Хомякова Т.И., Золотова Н.А., Хочанский Д.Н., Хомяков Ю.Н. Моделирование острого и хронического колита у мышей // ЛЕЧЕНИЕ и ПРОФИЛАКТИКА. – 2013. – №3(7). – С.148-160.
32. Хочанский Д.И. Морфофункциональные изменения энтеральной нервной системы при экспериментальном остром и хроническом колите // Автореф. канд. мед. наук. Москва. «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, 2018. – 23с.
33. Чередеев, А.Н. Клиническая иммунология в современной медицине // Аллергология и клиническая иммунология. – 1993. – №1. – С.4-13.
34. Чернышева М.Б. Морфологические изменения ободочной кишки при экспериментальном алиментарном ожирении // Автореф. канд. биол. наук. Москва. «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, 2017. – 24с.
35. Яглов В.В., Яглова Н.В. Новые концепции биологии диффузной эндокринной системы: итоги и перспективы ее изучения // Вестник РАМН. – 2012. – С.74-81.
36. Alam M.S., Kurtz C.C., Wilson J.M., Burnette B.R. et al. A2A adenosine receptor (AR) activation inhibits pro-inflammatory cytokine production by human CD4+ helper T cells and regulates Helicobacter-induced gastritis and bacterial persistence // Mucosal Immunol. – 2009. – №2. – P.232-242.

37. AlSharari S.D., Al-Rejaie S.S., Abuhashish H.M., Ahmed M.M. et al. Rutin Attenuates Hepatotoxicity in High-Cholesterol-Diet-Fed Rats // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2016. – №2016. – P.1-11.

38. Angele M.K., Schwacha M.G., Ayala A., Chaudry I.H. Effect of gender and sex hormones on immune responses following shock // *Shock.* – 2000. – №14(2). – P.81-90.

39. Bacchetta R., Sartirana C., Levings M.K., Bordignon C. et al. Growth and expansion of human T regulatory type 1 cells are independent from TCR activation but require exogenous cytokines // *Eur. J. Immunol.* – 2002. – №32. – P.2237-2245.

40. Bach S.P., Renahan A.G., Potten C.S. Stem cells: the intestinal stem cell as a paradigm // *Carcinogenesis.* – 2000. – №21(3). – P.469-476.

41. Belvedere P., Dalla-Valle L., Vianello S., Carnevali O. et al. Hormonal steroidogenesis in liver and small intestine of the green frog, *Rana esculenta* L // *Life Sci.* – 2001. – №69. – P.2921-2930.

42. Benjamini E., Sunshine G., Leskowitz S. Immunology, a short course // New York: WILEY-LISS, – 1996. – P.451.

43. Bian Z., Guo Y., Ha B., Zen K. et al. Regulation of the inflammatory response: enhancing neutrophil infiltration under chronic inflammatory conditions // *J. Immunol.* – 2012 – №188(2). – P.844-853.

44. Birimberg-Schwartz L., Wilson D.C., Kolho K.L., Karolewska-Bochenek K. et al. pANCA and ASCA in Children with IBD-Unclassified, Crohn's Colitis, and Ulcerative Colitis-A Longitudinal Report from the IBD Porto Group of ESPGHAN // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2016. – №22(8). – P.1908-1914.

45. Bjerknes M., Cheng H. Clonal analysis of mouse intestinal epithelial progenitors // *Gastroenterology.* – 1999. – №116(1). – P.7-14.

46. Boivin M.A., Ye D., Kennedy J.C., Al-Sadi R. et al. Mechanism of glucocorticoid regulation of the intestinal tight junction barrier // *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* – 2007. – №292. – P.590-598.

47. Bolnick D.I., Snowberg L.K., Hirsch P.E., Lauber C.L. et al. Individual diet has sex-dependent effects on vertebrate gut microbiota mice // Nat Commun. – 2014. – №5. – P.1-13.
48. Bonnelye E., Laurin N., Jurdic P., Hart D.A., et al: Estrogen receptor-related receptor-alpha (ERR-alpha) is dysregulated in inflammatory arthritis // Rheumatology (Oxford). – 2008. – №47(12). – P.1785-1791.
49. Bouguen G., Dubuquoy L., Desreumaux P., Brunner T. et al. Intestinal steroidogenesis // Steroids. – 2015. – №103(11). – P.64-71.
50. Bouman A., Heineman M.J., Faas M.M. Sex hormones and the immune response in humans // Hum. Reprod Update. – 2005. – №11(4). – P.411-423.
51. Brighenti S., Ordway D.J. Regulation of Immunity to Tuberculosis // Microbiol. Spectr. – 2016. – №4(6).
52. Buller H., Chin S., Kirschner B., Kohn J. et al. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2002. – №35(2). – P.151-158.
53. Burger D., Dayer J.M Cytokines, acute-phase proteins, and hormones: IL-1 and TNF-alpha production in contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2002. – №966. – P.464-473.
54. Camilleri M., Atanasova E., Carlson P.J., Ahmad U. et al. Serotonin-transporter polymorphism pharmacogenetics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome // Gastroenterology. – 2002. – №123(2). – P.425-432.
55. Campbell-Thompson M., Lynch I.J., Bhardwaj B. Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and ERbeta isoforms in colon cancer // Cancer Res. – 2001. – №61. – P.632-640.
56. Campbell-Thomson M.L. Estrogen receptor α and β expression in upper gastrointestinal tract with regulation of trefoil factor family 2 mRNA levels in ovariectomized rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – №240. – P.478-483.

57. Cannon J.G., St. Pierre B.A. Gender differences in host defense mechanisms // J. Psychiatr. Res. – 1997. – №31(1). – P.99-113.
58. Chan T.D., Brink R. Affinity-based selection and the germinal center response // Immunol. Rev. – 2012. – №247(1). – P.11-23.
59. Chen F.P., Wang K.C., Huang J.D. Effect of estrogen on the activity and growth of human osteoclasts *in vitro* // J. Obstet. Gynecol. – 2009. – №48(4). – P.350-355.
60. Chou F.C., Shieh S.J., Sytwu H.K. Attenuation of Th1 response through galectin-9 and T-cell Ig mucin 3 interaction inhibits autoimmune diabetes in NOD mice // Eur. J. Immunol. – 2009. – №39. – P.2403-2411.
61. Cima I., Corazza N., Dick B., Fuhrer A. et al. Intestinal Epithelial Cells Synthesize Glucocorticoids and Regulate T Cell Activation // J. Exp. Med. – 2004. – №200(12). – P.1635-1646.
62. Coste A., Dubuquoy L., Barnouin R., Annicotte J.S. et al. LHRH-1 mediated glucocorticoid synthesis in enterocytes protects against inflammatory bowel disease // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – №104. – P.98-103.
63. Croft A.P., O'Callaghan M.J., Shaw S.G., Connolly G. et al. Effects of minor laboratory procedures, adrenalectomy, social defeat or acute alcohol on regional brain concentrations of corticosterone // Brain Res. – 2008. – №1238. – P.12-22.
64. Crotty S., Ahmed R. Immunological memory in humans // Semin. Immunol. – 2004. – №16(3). – P.197-203.
65. Dalla-Valle L., Belvedere P., Simontacchi C., Colombo L. Extraglandular hormonal steroidogenesis in aged rats // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 1992. – №43. – P.1095-1098.
66. Das B.R., Bhanushali A.A., Khadapkar R., Jeswani K.D. et al. Reference ranges for lymphocyte subsets in adults from western India: influence of sex, age and method of enumeration // Indian J Med Sci. – 2008. – №62(10). – P.397-406.

67. De León-Nava M.A., Nava K., Soldevila G., López-Griego L. et al. Immune sexual dimorphism: effect of gonadal steroids on the expression of cytokines, sex steroid receptors, and lymphocyte proliferation // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2009. – №113(1-2). – P.57-64.
68. de Waal Malefyt R., Yssel H., de Vries J.E. Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4⁺ T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation // *J. Immunol.* – 1993. – №150. – P.4754-4765.
69. Dieleman L.A., Ridwan B.U., Tennyson G.S., Beagley K.W. et al. Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice // *Gastroenterology.* – 1994. – №107. – P.1643-1652.
70. Dominianni C., Sinha R., Goedert J.J., Pei Z. et al. Sex, body mass index, and dietary fiber intake influence the human gut microbiome // *PLoS. One.* – 2015. – №10(4). – P.1-14.
71. Dörner T., Jacobi A.M., Lipsky P.E. B cells in autoimmunity // *Arthritis Res. Ther.* – 2009. – №11(5). – P.247.
72. Drozdowski L., Thomson A.B. Intestinal hormones and growth factors: effects on the small intestine // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – №15. – P.385-406.
73. Edwards M., Dai R., Ahmed S.A. Our Environment Shapes Us: The Importance of Environment and Sex Differences in Regulation of Autoantibody Production // *Front Immunol.* – 2018. – №9(8). – P.478.
74. Egger M., Beer A.G., Theurl M., Schgoer W. et al. Monocyte migration: a novel effect and signaling pathways of catestatin // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – №598(1-3). – P.104-111.
75. Eliakim R., Abulafia O., Sherer D.M. Hyperemesis gravidarum: a current review // *Am. J. Perinatol.* – 2000. – №17(4). – P.207-218.
76. Ellis T.M., Moser M.T., Le P.T., Flanigan R.C. et al. Alterations in peripheral B cells and B cell progenitors following androgen ablation in mice // *Int. Immunol.* – 2001. – №13(4). – P.553-558.

77. Fijak M., Schneider E., Klug J., Bhushan S. et al. Testosterone replacement effectively inhibits the development of experimental autoimmune orchitis in rats: evidence for a direct role of testosterone on regulatory T cell expansion // J. Immunol. – 2011. – №186. – P.5162-5172.
78. Fish E.N. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses// Nat. Rev. Immunol. – 2008 – №8(9). – P.737-744.
79. Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells // Nat. Immunol. – 2003. – №4. – P.330-336.
80. Foo Y.Z., Nakagawa S., Rhodes G., Simmons L.W. The effects of sex hormones on immune function: a meta-analysis // Biol Rev Camb Philos Soc. – 2017. – №92(1). – P.551-571.
81. Frisullo G., Nociti V., Iorio R., Patanella A.K. et al. Regulatory T cells fail to suppress CD4⁺T-bet⁺ T cells in relapsing multiple sclerosis patients // Immunology. – 2009. – №127. – P.418-428.
82. Friswell M., Campbell B., Rhodes J. The role of bacteria in the pathogenesis of inflammatory bowel disease// Gut. Liver. – 2010 – №4(3). – P.295-306.
83. Furness J.B. The enteric nervous system and neurogastroenterology // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2012. – №9(5). – P.286-294.
84. Gerseemann M., Wehkamp J., Stange E.F. Innate immune dysfunction in inflammatory bowel disease // J. Intern. Med. – 2012. – №271(5). – P.421-428.
85. Giannoni E., Guignard L., Knaup-Reymond M., Perreau M. et al. Estradiol and progesterone strongly inhibit the innate immune response of mononuclear cells in newborns // Infect. Immun. – 2011. – №79(7). – P.2690-2698.
86. Gilliver S.C., Emmerson E., Campbell L., Chambon P. 17 β -Estradiol Inhibits Wound Healing in Male Mice via Estrogen Receptor- α // Am. J. Pathol. – 2010. – №176(6). – P.2707-2721.

87. Glebov O.K., Rodriguez L.M., Nakahara K., Jenkins J. et al. Distinguishing right from left colon by the pattern of gene expression // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.* – 2003. – №12(8). – P.755-762.

88. Glickman R.M. Inflammatory bowel disease: ulcerative colitis and Crohn's disease // In: Wilson J.D., Braunwald E., Isselbacher K.J., et al, eds. *Harrison's principles of internal medicine*. New York, NY: McGraw-Hill, Inc. – 1991. – P.1268-1281.

89. Gomez-Sanchez C.E., Zhou M.Y., Cozza E.N., Morita H. et al. Corticosteroid synthesis in the central nervous system // *Endocr. Res.* – 1996. – №22. – P.463-470.

90. Gondek D.C., Lu L.F., Quezada S.A., Sakaguchi S. et al. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism // *J. Immunol.* – 2005. – №174. – P.1783-1786.

91. Gregory M.S., Duffner L.A., Faunce D.E., Kovacs E.J Estrogen mediates the sex difference in post-burn immunosuppression // *J. Endocrinol.* – 2000. – №164(2). – P.129-138.

92. Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M. et al. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigenspecific T-cell responses and prevents colitis // *Nature.* – 1997. – №389. – P.737-742.

93. Gustafsson J.A. Steroids and the scientist. // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – №19(6). – P.1412-1417.

94. Hamel K.M., Liarski V.M., Clark M.R. Germinal center B-cells // *Autoimmunity.* – 2012. – №45(5). – P.333-347.

95. Harbo H.F., Gold R., Tintoré M. Sex and gender issues in multiple sclerosis // *Ther. Adv. Neurol. Disord.* – 2013. - №6(4). – P.237-248.

96. Hart A.L., Al-Hassi H.O., Rigby R.J. et al. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases // *Gastroenterology.* – 2005. – №129(1). – P.50–65.

97. Hashash J.G., Kane S. Pregnancy and Inflammatory Bowel Disease // *Gastroenterol Hepatol* (N Y). – 2015. – №11(2). – P.96-102.
98. Heitkemper M.M., Shaver J.F., Mitchell E.S. Gastrointestinal symptoms and bowel patterns across the menstrual cycle in dysmenorrheic and nondysmenorrheic women // *Nurs.Res.* – 1988. – №37(2). – P.108-113.
99. Hewagama A., Patel D., Yarlagadda S., Strickland F.M. et al. Stronger inflammatory/cytotoxic T-cell response in women identified by microarray analysis // *Genes. Immun.* – 2009. – №10(5). – P.509-516.
100. Hodges Y.K., Tung L., Yan X.D., Graham J.D. et al. Estrogen receptors α and β // *Circulation.* – 2000. – №101. – P.1792-1798.
101. Holmén N., Lundgren A., Lundin S., Bergin A.M. et al. Functional CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells are enriched in the colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis and increase with disease activity // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2006. – №12(6). – P.447-456.
102. Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 // *Science.* – 2003. – №299. – P.1057-1061.
103. Hostettler N., Bianchi P., Gennari-Moser C., Kassahn D. et al. Local glucocorticoid production in the mouse lung is induced by immune cell stimulation // *Allergy.* – 2012. – №67. – P.227-234.
104. Huang Y., Chen Z. Inflammatory bowel disease related innate immunity and adaptive immunity // *American. Journal of Translational Research.* – 2016. – №8(6). – P.2490-2497.
105. Huang Z., Jiang Y., Yang Y., Shao J. et al. 3,3'-Diindolylmethane alleviates oxazolone-induced colitis through Th2/Th17 suppression and Treg induction // *Mol. Immunol.* – 2013. – №53(4). – P.335-344.
106. Huber S., Gagliani N., Esplugues E., O'Connor W.Jr. et al. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3⁻ and Foxp3⁺

regulatory CD4⁺ T cells in an interleukin-10-dependent manner // Immunity. – 2011. – №34(4). – P.554-565.

107. Itoh M., Takahashi T., Sakaguchi N., Kuniyasu Y. et al. Thymus and autoimmunity: production of CD25CD4 naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance // J. Immunol. – 1999. – №162. – P.5317-5326.

108. Jädert C., Phillipson M., Holm L., Lundberg J.O. et al. Preventive and therapeutic effects of nitrite supplementation in experimental inflammatory bowel disease // Redox. Biol. – 2013. – №24(2). – P.73-81.

109. Johansson M.E., Sjövall H., Hansson G.C. The gastrointestinal mucus system in health and disease // Nat Rev Gastroenterol Hepatol. – 2013. – №10 (6) – P.352-361.

110. Josefowicz S.Z., Lu L.F., Rudensky A.Y. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function // Annu. Rev. Immunol. – 2012. – №30. – P.531-564.

111. Kalkunte S., Nevers T., Norris W.E., Sharma S. Vascular IL-10: a protective role in preeclampsia // J. Reprod Immunol. – 2011. –88(2). – P.165-169.

112. Kamm M.A., Fartning M.J., Lennard-Jones J.E. Bowel function and transit rate during the menstrual cycle // Gut. – 1989. – №30(5). – P.605-608.

113. Kane S., Stone L.J., Ehrenpreis E. Thalidomide as "salvage" therapy for patients with delayed hypersensitivity response to infliximab: a case series // J. Clin. Gastroenterol. – 2002. – №47(3). – P.149-150.

114. Kang S.M., Tang Q., Bluestone J.A. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in transplantation: progress, challenges and prospects // Am. J. Transplant. – 2007. – №7. – P.1457-1463.

115. Keeney D.S., Ikeda Y., Waterman M.R., Parker K.L. Cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 gene expression in the primitive gut of the mouse embryo does not require steroidogenic factor-1 // Mol. Endocrinol. – 1995. – №9. – P.1091-1098.

116. Khalili H., Higuchi L.M. Ananthakrishnan A.N. Richter J.M. et al. Oral contraceptives, reproductive factors and risk of inflammatory bowel disease // Gut. – 2013. – №62(8). – P.1153-1159.
117. Kim B.M. Phases of canonical Wnt signaling during the development of mouse intestinal epithelium // Gastroenterology. – 2007. – №9. – P.529-538.
118. Kim J.J., Shajib M.S., Manocha M.M., Khan W.I. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD// J. Vis. Exp. – 2012 – №1. – P.60.
119. Kincade P.W., Medina K.L., Payne K.J., Rossi M.I. et al. Early B-lymphocyte precursors and their regulation by sex steroids // Immunol. Rev. – 2000. – №175(Jun). – P.128-137.
120. Kissick H.T., Sanda M.G., Dunn L.K., Pellegrini K.L. et al. Androgens alter T-cell immunity by inhibiting T-helper 1 differentiation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2014. – №111(27). – P.9887-9892.
121. Kitajima S., Takuma S., Morimoto M. Histological analysis of murine colitis induced by dextran sulfate sodium of different molecular weights // Exp. Anim. – 2000. – №49. – P.9-15.
122. Klein S.L. Immune cells have sex and so should journal articles // Endocrinology. – 2012. – №153. – P.2544-2550.
123. Klein S.L., Roberts C.W. Sex Hormones and immunity to Infection // Heidelberg. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – 2010. – №302. – P.311-319.
124. Kmiecik M., Gowda M., Graham L., Godder K. et al. Human T cells express CD25 and Foxp3 upon activation and exhibit effector/memory phenotypes without any regulatory suppressor function // J. Transl. Med. – 2009. – №7. – P.89.
125. Knoferl M.W., Angele M.K., Schwacha M.G., Bland K.I. et al. Preservation of splenic immune functions by female sex hormones after trauma-hemorrhage // Crit. Care. Med. – 2002. – №30. – P.888-893.

126. Konstantinopoulos P.A., Kominea A., VANDOROS G., Sykiotis G.P. et al. Oestrogen receptor beta (ERbeta) is abundantly expressed in normal colonic mucosa but declines in colon adenocarcinoma paralleling the tumour's dedifferentiation // *Eur. J. Cancer.* – 2003. – №39. – P.1251-1258.
127. Kryczek I., Wu K., Zhao E., Wei S. et al. IL-17⁺ regulatory T cells in the microenvironments of chronic inflammation and cancer // *J. Immunol.* – 2011. – №186. – P.4388-4395.
128. Kulkarni A.B., Huh C.G., Becker D., Geiser A. et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – №90. – P.770-774.
129. Lampe J.W., Fredstrom S.B., Slavin J.L., Potter J.D. Sex differences in colonic function: a randomized Trial // *Gut.* – 1993. – №34(4). – P.531-536.
130. Latham K.A., Zamora A., Drought H., Subramanian S. et al. Estradiol treatment redirects the isotype of the autoantibody response and prevents the development of autoimmune arthritis // *Hum. Reprod. Update.* – 2003 –№171. – P.5820-5827.
131. Lechner O., Wieggers G.J., Oliveira-Dos-Santos A.J., Dietrich H. et al. Glucocorticoid production in the murine thymus // *Eur. J. Immunol.* – 2000. – №30. – P.337-346.
132. Lee S., Kim J., Jang B., Hur S., et al. Fluctuation of peripheral blood T, B, and NK cells during a menstrual cycle of normal healthy women // *J. Immunol.* – 2010. – №185. – P.756-762.
133. Levings M.K., Bacchetta R., Schulz U., Roncarolo M.G. The role of IL-10 and TGF-beta in the differentiation and effector function of T regulatory cells // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2002. – №129. – P.263-276.
134. Li M., Wang B., Zhang M., Rantalainen M. et al. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2008. – №105(6). – P.2117-2122.

135. Lim H.W., Hillsamer P., Banham A.H., Kim C.H. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells // J. Immunol. – 2005. – №175(7). – P.4180-4183.
136. Linden J. Regulation of leukocyte function by adenosine receptors // Adv. Pharmacol. – 2011. – №61. – P.95-114.
137. Little H.J., Croft A.P., O'Callaghan M.J., Brooks S.P. et al. Selective increases in regional brain glucocorticoid: a novel effect of chronic alcohol // Neuroscience. – 2008. – №156. – P.1017-1027.
138. Looijer-van Langen M., Hotte N., Dieleman L.A., Albert E. et al. Estrogen receptor-beta signaling modulates epithelial barrier function // Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. – 2011. – №300. – P.621-626.
139. Lu L., Li T., Williams G., Petit E. et al. Hydrocortisone induces changes in gene expression and differentiation in immature human enterocytes // Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. – 2011. – №300. – P.425-432.
140. M'Koma A.E. Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem // Clin Med Insights Gastroenterol. – 2013. – №6(14). – P.33-47.
141. Magnani C.F., Alberigo G., Bacchetta R., Serafini G. et al. Killing of myeloid APCs via HLA class I, CD2 and CD226 defines a novel mechanism of suppression by human Tr1 cells // Eur. J. Immunol. – 2011. – №41. – P.1652-1662.
142. Makita S., Kanai T., Oshima S., Uraushihara K. et al. CD4⁺CD25^{bright} T Cells in Human Intestinal Lamina Propria as Regulatory Cells // J. Immunol. – 2004. – № 173. – P.3119-3130.
143. Manz R.A., Arce S., Cassese G. et al. Humoral immunity and long-lived plasma cells // Curr. Opin. Immunol. – 2002. – №14(4). – P.517-521.
144. Maul J., Loddenkemper C., Mundt P., Berg E. et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺CD25^(high) T cells in inflammatory bowel disease // Gastroenterology. – 2005. – №128. – P.1868-1878.
145. Maynard C.L., Harrington L.E., Janowski K.M., Oliver J.R. et al. Regulatory T cells expressing interleukin 10 develop from Foxp3⁺ and Foxp3-

precursor cells in the absence of interleukin 10 // *Nat. Immunol.* – 2007. – №8(9). – P.931-941.

146. McCormick D.A., Horton L.W., Mee A.S. Mucin depletion in inflammatory bowel disease // *J. Clin. Pathol.* – 1990. – №43(2). – P.143-146.

147. Medzhitov R., Jr. Janeway C. Innate immunity // *The New England Journal of Medicine.* – 2000. – №343(5). – P.338-344.

148. Melgar S., Karlsson A., Michaelsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2005. – №288(6). – P.1328-1338.

149. Merga Y., Campbell B.J., Rhodes J.M. Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: possibilities for therapy // *Dig Dis.* – 2014. – №32(4). – P.475-483.

150. Mizoguchi A., Mizoguchi E. Inflammatory bowel disease, past, present and future: lessons from animal models // *J. Gastroenterol.* – 2008. – №43(1). – P.1-17.

151. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor // *Annu. Rev. Immunol.* – 2001. – №19. – P.683-765.

152. Morrissey P.J., Charrier K., Braddy S., Liggitt D. et al. CD4⁺ T cells that express high levels of CD45RB induce wasting disease when transferred into congenic severe combined immunodeficient mice. Disease development is prevented by cotransfer of purified CD4⁺ T cells // *J. Exp. Med.* – 1993. – №178. – P.237-244.

153. Moss R., Parkinson J.A. The digestion of heather (*Calluna vulgaris*) by red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*) // *Br. J. Nutr.* – 1972. – №27(2) – P.285-298.

154. Mottet C., Uhlig H.H., Powrie F. Cutting edge: cure of colitis by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells // *J. Immunol.* – 2003. – №170. – P.3939-3943.

155. Mowat A.M., Viney J.L. The anatomical basis of intestinal immunity // *Immunol Rev.* – 1997. – №156. – P.145-166.
156. Mueller M., Atanasov A., Cima I., Corazza N. et al. Differential regulation of glucocorticoid synthesis in murine intestinal epithelial versus adrenocortical cell lines // *Endocrinology.* – 2007. – №148. – P.1445-1453.
157. Mueller S., Saunier K., Hanisch C., Norin E. et al. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study // *Appl Environ Microbiol.* – 2006. – №72(2). – P.1027-1033.
158. Múzes G., Molnár B., Sipos F. Regulatory T cells in inflammatory bowel diseases and colorectal cancer // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – №18(40). – P.5688-5694.
159. Narayan S., Rajakumar G., Prouix H., Singh P. Estradiol is trophic for colon cancer in mice: effect on ornithine decarboxylase and c-myc messenger RNA // *Gastroenterology.* – 1992. – №103. – P.1823-1832.
160. Neurath M., Fuss I., Strober W. TNBS-colitis // *Int. Rev. Immunol.* – 2000. – №19(1). – P.51-62.
161. Noti M., Corazza N., Tuffin G., Schoonjans K. et al. Lipopolysaccharide induces intestinal glucocorticoid synthesis in a TNF alpha-dependent manner // *Faseb. J.* – 2010. – №24. – P.1340-1346.
162. Odashima M., Bamias G., Rivera-Nieves J., Linden J. et al. Activation of A2A adenosine receptor attenuates intestinal inflammation in animal models of inflammatory bowel disease // *Gastroenterology.* – 2005. – №129(1). – P.26-33.
163. Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., Ohkusa T. et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice // *Gastroenterology* – 1990. – №98(3) – P.694-702.
164. Okou D.T., Mondal K., Faubion W.A., Kobrynski L.J. et al. Exome sequencing identifies a novel FOXP3 mutation in a 2-generation family with

inflammatory bowel disease // J. Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2014. – №58. – P.561-568.

165. Olsen N.J. and Kovacs W.J. Gonadal steroids and immunity // Endocrine Reviews. – 1996. – №17(4). – P.369-384.

166. Org E., Mehrabian M., Parks B.W., Shipkova P. et al. Sex differences and hormonal effects on gut microbiota composition in mice // Gut Microbes. – 2016. – №7(4). – P.313-322.

167. Orr B., Grace O.C., Vanpoucke G., Ashley G.R. et al. A role for notch signaling in stromal survival and differentiation during prostate development // Endocrinology. – 2009. – №150(1). – P.463-472.

168. Ortega-Cava C.F., Ishihara S., Rumi M.A., Kawashima K. et al. Strategic compartmentalization of Toll-like receptor 4 in the mouse gut // J. Immunol. – 2003. – №170(8). – P.3977-3985.

169. Ouyang W., Rutz S., Crellin N.K., Valdez P.A. et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease // Annu Rev. Immunol. – 2011. – №29. – P.71-109.

170. Pazirandeh A., Xue Y., Rafter I., Sjoval J. et al. Paracrine glucocorticoid activity produced by mouse thymic epithelial cells // Faseb J. – 1999. – №13. – P.893-901.

171. Pedros C., Duguet F., Saoudi A., Chabod M. Disrupted regulatory T cell homeostasis in inflammatory bowel diseases // World J. Gastroenterol. – 2016. – №22(3). – P.974-995.

172. Pen J.J., Keersmaecker B.D., Heirman C., Corthals J. et al. Interference with PD-L1/PD-1 co-stimulation during antigen presentation enhances the multifunctionality of antigen-specific T cells // Gene. Ther. – 2014. – №21(3). – P.262-271.

173. Pennock N.D., White J.T., Cross E.W., Cheney E.E. et al. T cell responses: naive to memory and everything in between // Adv Physiol Educ. – 2013. – №37(4). – P.273-283.

174. Pernis A.B. Estrogen and CD4⁺ T cells // Curr. Opin. Rheumatol. – 2007. – №19(5). – P.414-420.
175. Perše M., Cerar A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks // J Biomed Biotechnol. – 2012. – №2012. – P.718617.
176. Petersson J., Schreiber O., Hansson G.C., Gendler S.J. et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2011. – №300(2). – P.327-333.
177. Piccirillo C.A., Shevach E.M. Cutting edge: control of CD8⁺ T cell activation by CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory cells // J. Immunol. – 2001. – №167(3). – P.1137-1140.
178. Pasma E., Moes H., Heineman M.J., Faas M.M. The effect of testosterone on cytokine production in the specific and non-specific immune response // Am. J. Reprod Immunol. – 2004. – №52(4). – P.237-243.
179. Powrie F., Leach M.W., Mauze S., Caddle L.B. et al. Phenotypically distinct subsets of CD4⁺ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice // Int. Immunol. – 1993. – №5. – P.1461-1471.
180. Prieto G.A., Rosenstein Y. Oestradiol potentiates the suppressive function of human CD4CD25 regulatory T cells by promoting their proliferation // Immunology. – 2006. – №118. – P.58-65.
181. Pulliainen E., Tunkkari P.S. Seasonal changes in the mineral content of the liver of the Willow Grouse (*Lagopus lagopus*) in the far north of Finland // Värriö Sub. Res. Station of the University of Helsinki. – 1983. – №158. – P.54-55.
182. Pullianainen E., Mullen A.C., High F.A., Hutchins A.S., et al. Role of T-bet in commitment of Th1 cells before IL-12-dependent selection // Science. – 2001. – №292. – P.1907-1910.
183. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing // Nature. – 2010. – №464(7285). – P.59-65.

184. Renes I.B., Boshuizen J.A., Van Nispen D.J. Alterations in Muc2 biosynthesis and secretion during dextran sulfate sodium-induced colitis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2002. – №282(2). – P.382–389.
185. Rettew J.A., Huet-Hudson Y.M., Marriott I. Testosterone reduces macrophage expression in the mouse of toll-like receptor 4, a trigger for inflammation and innate immunity // *Biol. Reprod.* – 2008. – №78. – P.432-437.
186. Rhim J.W., Go E.J., Lee K.Y., Youn Y.S. Pandemic 2009 H1N1 virus infection in children and adults: A cohort study at a single hospital throughout the epidemic // *Int Arch Med.* – 2012. – №5(1). – P.13.
187. Roberts C.W. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2010 – №14. – P.476-488.
188. Roda G., Sartini A., Zambon E. et al. Intestinal epithelial cells in inflammatory bowel diseases // *World J Gastroenterol.* – 2010. – №16(34). – P.4264-4271.
189. Roved J., Westerdahl H., Hasselquist D. Sex differences in immune responses: Hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences // *Horm Behav.* – 2017. – №88. – P.95-105.
190. Rubtsov Y.P., Rasmussen J.P., Chi E.Y., Fontenot J. et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces // *Immunity.* – 2008. – №28. – P.546-558.
191. Saha S., Zhao Y.Q., Shah S.A., Esposti S.D. et al. Menstrual cycle changes in women with inflammatory bowel disease: a study from the ocean state Crohn's and colitis area registry // *Inflamm. Bowel. Dis.* – 2014. – №20(3). – P.534-540.
192. Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory t cells for immunologicself-tolerance and negative control of immune responses // *Annu. Rev. Immunol.* – 2004. – №22. – P.531-562.
193. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor

alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases // J. Immunol. – 1995. – №155. – P.1151-1164.

194. Sakaguchi S., Takahashi T., Nishizuka Y. Study on cellular events in post-thymectomy autoimmune oophoritis in mice. I. Requirement of Lyt-1 effector cells for oocytes damage after adoptive transfer // J. Exp. Med. – 1982. – №156. – P.1565-1576.

195. Salih M.A., Sims S.H., and Kalu D.N. Putative intestinal estrogen receptor: evidence for regional differences // Mol. Cell Endocrinol. – 1996. – №121. – P.47-55.

196. Sanders K.M., Ward S.M. Interstitial cells of Cajal: a new perspective on smooth muscle function // J. Physiol. – 2006. – №576(3). – P.721-726.

197. Sankaran-Walters S., Macal M., Grishina I., Nagy L. et al. Sex differences matter in the gut: effect on mucosal immune activation and inflammation // Biol. Sex Differ. – 2013. – №4(10). – P.1-12.

198. Sano T., Hirasawa G., Takeyama J., Darnel A.D. et al. 17 beta Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and enzyme activity in the human gastrointestinal tract // Clin. Sci. (Lond). – 2001. – №101. – P.485-491.

199. Sansonetti P.J. To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question // Mucosal. Immunol. – 2011 – №4(1). – P.8-14.

200. Sanz I., Wei C., Lee F.E. et al. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells // Semin. Immunol. – 2008. – №20(1). – P.67-82.

201. Saruta M., Yu Q.T., Fleshner P.R., Mantel P.Y. et al. Characterization of FOXP3⁺CD4⁺ regulatory T cells in Crohn's disease // Clin. Immunol. – 2007. – №125. – P.281-290.

202. Schandené L., Alonso-Vega C., Willems F., Gérard C. et al. B7/CD28-dependent IL-5 production by human resting T cells is inhibited by IL-10 // J. Immunol. – 1994. – №152. – P.4368-4374.

203. Scherl E., Frissora C.L. Irritable bowel syndrome genophenomics: correlation of serotonin-transporter polymorphisms and alosetron response // *Pharmacogenomics. J.* – 2003. – №41. – P.64-66.
204. Schimmer B.P., White P.C. Minireview: steroidogenic factor 1: its roles in differentiation, development, and disease // *Mol. Endocrinol.* – 2010. – №24. – P.1322-1337.
205. Schleipen B., Hertrampf T., Fritzemeier K.H., Kluxen F.M. et al. ERb-specific agonists and genistein inhibit proliferation and induce apoptosis in the large and small intestine // *Carcinogenesis.* – 2011. – №32(11). – P.1675-1683.
206. Schmidlin H., Diehl S.A., Blom B. New insights into the regulation of human B-cell differentiation // *Trends Immunol.* – 2009. – №30(6). – P.277-285.
207. Schreiber S., Heining T. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease // *Gastroenterology.* – 1995. – №133. – P.1434-1444.
208. Selby W.S., Poulter L.W., Hobbs S., Jewell D.P. et al. Heterogeneity of HLA-DR-positive histiocytes in human intestinal lamina propria: a combined histochemical and immune histological analysis // *Journal of Clinical Pathology.* – 1983. – №36(4). – P.379-384.
209. Shastri P., McCarville J., Kalmokoff M., Brooks S.P et al. Sex differences in gut fermentation and immune parameters in rats fed an oligofructose-supplemented diet // *Biol Sex Differ.* – 2015. – №6(13). – P.1-12.
210. Shlomchik M.J., Weisel F. Germinal center selection and the development of memory B and plasma cells // *Immunol Rev.* – 2012. – №247(1). – P.52-63.
211. Shokrani M. Inflammatory bowel disease: diagnosis and research trends // *MLO. Med. Lab. Obs.* – 2012. – №1(8). – P.8-12.
212. Shouval D.S., Biswas A., Goettel J.A., McCann K. et al. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and

anti-inflammatory macrophage function // Immunity. – 2014. – №40(5). – P.706-719.

213. Shull M.M., Ormsby I., Kier A.B., Pawlowski S. et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease // Nature. – 1992. – №359. – P.693-699.

214. Sidler D., Renzulli P., Schnoz C., Berger B. et al. Colon cancer cells produce immunoregulatory glucocorticoids // Oncogene. – 2011. – №30(21). – P.2411-2419.

215. Silva F.A., Rodrigues B.L., Ayrizono M.L., Leal R.F. The Immunological Basis of Inflammatory Bowel Disease // Gastroenterol Res Pract. – 2016. – №2016. – P.11.

216. Smith P.D., Ochsenbauer-Jambor C., and Smythies L.E. Intestinal macrophages: unique effector cells of the innate immunesystem // Immunological Rev. – 2005. – №206. – P.149-159.

217. Smith R., Studd J.W. A pilot study of the effect upon multiple sclerosis of the menopause, hormone replacement therapy and the menstrual cycle // Journal of the Royal Society of Medicine. – 2012 – №2. – P.612.

218. Strindhall J., Skog M., Ernerudh J., Bengner M. et al. The inverted CD4/CD8 ratio and associated parameters in 66-year-old individuals: the Swedish HEXA immune study // Age (Dordr). – 2013. – №35(3). – P.985-991.

219. Strober W. Why study animal models of IBD // Inflamm. Bowel. – 2008 – №14(2). – P.129-131.

220. Subramanian M., Shaha C. Oestrogen modulates human macrophage apoptosis via differential signalling through oestrogen receptor-alpha and beta // J. Cell Mol. Med. – 2009. – №13(8B). – P.2317-2329.

221. Suen J.L., Li H.T., Jong Y.J., Chiang B.L. et al. Altered homeostasis of CD4(+) FoxP3(+) regulatory T-cell subpopulations in systemic lupus erythematosus // Immunology. – 2009. – №127. – P.196-205.

222. Sukocheva O.A., Li B., Due S.L., Hussey D.J. et al. Androgens and esophageal cancer: What do we know? // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – №21(20). – P.6146-6156.
223. Taga K., Mostowski H., Tosato G. Human interleukin-10 can directly inhibit T-cell growth // *Blood.* – 1993. – №81. – P.2964-2971.
224. Tai P., Wang j., Jin H., Song X. et al. Induction of regulatory T cells by physiological level estrogen // *J. Cell. Physiol.* – 2008. – №55. – P.456-464.
225. Targan S.R., Karp L.C. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis // *Immunol. Rev.* – 2005. – №16. – P.296-305.
226. Thiboutot D., Jabara S., McAllister J.M., Sivarajah A. et al. Human skin is a steroidogenic tissue: steroidogenic enzymes and cofactors are expressed in epidermis, normal sebocytes, and an immortalized sebocyte cell line (SEB-1) // *J. Invest. Dermatol.* – 2003. – №120. – P.905-914.
227. Treuting P.M., Dintzis S.M., Frevert C.W., Liggitt H.D. Comparative anatomy and histology // a mouse and human atlas. – 2012. – №1. – P.311-319.
228. Trzonkowski P., Bieniaszewska M., Juścińska J., Dobyszek A. et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T regulatory cells // *Clin. Immunol.* – 2009. – №133. – P.22-26.
229. Tutton P.J., Barkla D.H. The influence of androgens, anti-androgens, and castration on cell proliferation in the jejunal and colonic crypt epithelia, and in dimethylhydrazine-induced adenocarcinoma of rat colon // *Virchows Archiv. B Cell Pathol Incl Mol Pathol.* – 1982. – №38(3). – P.351-355.
230. Ueno A., Jijon H., Chan R., Ford K. et al. Increased prevalence of circulating novel IL-17 secreting Foxp3 expressing CD4⁺ T cells and defective suppressive function of circulating Foxp3⁺ regulatory cells support plasticity between Th17 and regulatory T cells in inflammatory bowel disease patients // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2013. – №19. – P.2522-2534.

231. Vacchio M.S., Papadopoulos V., Ashwell J.D. Steroid production in the thymus: implications for thymocyte selection // J. Exp. Med. – 1994. – №179. – P.1835-1846.
232. van Es J.H., de Geest N., van de Born M., Clevers H. et al. Intestinal stem cells lacking the Math1 tumour suppressor are refractory to Notch inhibitors // Nat. Commun. – 2010. – №17(5). – P.1-18.
233. Verdu E.F., Deng Y., Bercik P., and Collins S.M. Modulatory effects of estrogen in two murine models of experimental colitis // Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2002. – №283. – P.27-36.
234. Vestergaard P., Mosekilde L. Fracture Risk in Patients with Celiac Disease, Crohn's Disease, and Ulcerative Colitis: A Nationwide Follow-up Study of 16,416 Patients in Denmark // Oxford University Press. – 2002. – №156(1). – P.22-37.
235. Wada-Hiraike O., Imamov O., Hiraike H., Hultenby K. et al. Role of estrogen receptor beta in colonic epithelium // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – №103. – P.2959-2964.
236. Wald A., van Thiel D.H., Hoechstetter L., Gavalier J.S. et al. Gastrointestinal transit: the effect of the menstrual cycle // Gastroenterology. – 1981. – №1. – P.1497-1500.
237. Walecki M., Eisel F., Klug J., Baal N. et al. Androgen receptor modulates Foxp3 expression in CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T-cells // Mol. Biol. Cell. – 2015. – №26(15). – P.2845-2857.
238. Wang Y., Ge W. Cloning of zebrafish ovarian P450c17 (CYP17, 17alpha-hydroxylase/17, 20-lyase) and characterization of its expression in gonadal and extra-gonadal tissues // Gen. Comp. Endocrinol. – 2004. – №135. – P.241-249.
239. Wang Y., Liu X.P., Zhao Z.B., Chen J.H. et al. Expression of CD4⁺ forkhead box P3 (FOXP3)⁺ regulatory T cells in inflammatory bowel disease // J. Dig. Dis. – 2011. – №12. – P.286-294.

240. Weigmann B., Tubbe I., Seidel D., Nicolaev A. et al. Isolation and subsequent analysis of murine lamina propria mononuclear cells from colonic tissue // *Nat. Protoc.* – 2007. – №2. – P.2307-2311.
241. Weinberg A., Enomoto L., Marcus R. Effect of menstrual cycle variation in female sex hormones on cellular immunity and regulation // *J. Reprod. Immunol.* – 2011. – №141. – P.70-77.
242. Wolczuk K., Wilczynska B., Jaroszevska M., Kobak J. Morphometric characteristics of the small and large intestines of *Mus musculus* during postnatal development // *Folia. Morphol. (Warsz).* – 2011. – №3. – P.252-259.
243. Wu C., Thalhamer T., Franca R.F., Xiao S. et al. Galectin-9-CD44 interaction enhances stability and function of adaptive regulatory T cells // *Immunity.* – 2014. – №41. – P.270-282.
244. Yan Y., Kolachala V., Dalmaso G., Nguyen H. et al. Temporal and Spatial Analysis of Clinical and Molecular Parameters in Dextran Sodium Sulfate Induced Colitis // *PLoS. One.* – 2009. – №4(6). – P.1-8.
245. Zecchini V., Domaschensz R., Winton D., Jones P. Notch signaling regulates the differentiation of post-mitotic intestinal epithelial cells // *Genes Dev.* – 2005. – №19(14). – P.1686-1691.
246. Zhang S.Z., Zhao X.H., and Zhang D.C. Cellular and molecular immune pathogenesis of ulcerative colitis // *Cellular & molecular immunology.* – 2006. – №3(1). – P.35-40.
247. Zhao D.M., Thornton A.M., DiPaolo R.J., Shevach E.M. Activated CD4⁺CD25⁺ T cells selectively kill B lymphocytes // *Blood.* – 2006. – №107. – P.3925-3932.
248. Zhu C., Anderson A.C., Schubart A., Xiong H. et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity // *Nat. Immunol.* – 2005. – №6. – P.1245-1252.

249. Zigmond E., Bernshtein B., Friedlander G., Walker C.R. et al. Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis // Immunity. – 2014. – №40(5). – P.720-733.