

Морфофункциональные изменения ободочной кишки и иммунные реакции при холодовом стрессе у самцов и самок мышей C57BL/6

Н.А. Золотова¹, И.С. Цветков¹, Д.Н. Хочанский¹, Д.Ш. Джалилова¹,
А.М. Косырева¹, А.Л. Михайлова², Л.П. Михайлова¹, О.В. Макарова^{1,2}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Стресс является одним из факторов, способствующих развитию и усугубляющих течение заболеваний желудочно-кишечного тракта. Наиболее распространенный стрессорный фактор в России – холод, поэтому в работе была поставлена цель охарактеризовать иммунные реакции и морфофункциональные изменения ободочной кишки при холодовом стрессе у самцов и самок мышей C57BL/6.

Материалы и методы. Исследовали изменения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и морфофункциональные изменения тимуса, селезенки и ободочной кишки в ответ на курсовое интервальное холодовое воздействие в режиме 35-минутных сеансов в течение 14 дней при температуре –20° у половозрелых самцов и самок мышей C57BL/6.

Результаты. При холодовом стрессе у животных обоего пола снижались объемная доля ПАЛМ-зоны селезенки и содержание эндокринных клеток в эпителиальной выстилке ободочной кишки. У самок в периферической крови увеличивалось число тромбоцитов и лейкоцитов, снижалась ширина субкапсулярной зоны тимуса и возрастала объемная доля красной пульпы селезенки. У самцов в периферической крови уменьшалось абсолютное и относительное содержание Т-регуляторных лимфоцитов и возрастало относительное содержание активированных Т-хелперов, в селезенке снижалась объемная доля светлых центров лимфоидных узелков, в ободочной кишке возрастала длина крипт. Также был выявлен ряд различий между самцами и самками контрольных групп: в периферической крови у самцов было больше количество тромбоцитов и абсолютное число Т-регуляторных лимфоцитов и меньше содержание цитотоксических Т-лимфоцитов. В ободочной кишке у самцов было выше содержание пролиферирующих эпителиальных клеток и ниже объемная плотность бокаловидных клеток.

Заключение. При используемом нами режиме холодового воздействия у животных развивается физиологический стресс. Иммунные реакции и морфофункциональные изменения ободочной кишки при холодовом стрессе самцов и самок различаются.

Ключевые слова: холодовой стресс, половые различия, ободочная кишка, иммунная система

Для корреспонденции: Наталья Александровна Золотова. E-mail: natashazltv@gmail.com

Для цитирования: Золотова Н.А., Цветков И.С., Хочанский Д.Н., Джалилова Д.Ш., Косырева А.М., Михайлова А.Л., Михайлова Л.П., Макарова О.В. Морфофункциональные изменения ободочной кишки и иммунные реакции при холодовом стрессе у самцов и самок мышей C57BL/6. Клини. эксп. морфология. 2020;9(4):50–64. DOI: 10.31088/CEM2020.9.4.50-64.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека (№ АААА-А19-119021490067-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 24.07.2020. Получена после рецензирования 22.09.2020. Принята в печать 26.10.2020.

Morphofunctional changes in the colon and immune responses during cold stress in male and female C57BL/6 mice

N.A. Zolotova¹, I.S. Tsvetkov¹, D.N. Khochanskiy¹, D.Sh. Dzhililova¹,
A.M. Kosyreva¹, A.L. Mikhailova², L.P. Mikhailova¹, O.V. Makarova^{1,2}

¹ Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Introduction. Stress is one of the factors contributing to the gastrointestinal tract diseases development and exacerbating the course of diseases of the gastrointestinal tract. The cold factor is the most common stress

factor in Russia. Therefore, the aim of our work was to characterize the immune responses and colon morphological and functional changes during cold stress in male and female C57BL/6 mice.

Materials and methods. We studied alterations in the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes and morphofunctional changes in the thymus, spleen, and colon in response to a course intermittent cold exposure during 35-minute sessions for 14 days at -20° in adult male and female C57BL/6 mice.

Results. The volume fraction of the PALS zone of the spleen and the content of endocrine cells in the colon decreased in animals of both sexes in the cold stress conditions. In females, the number of platelets and leukocytes in the peripheral blood increased, the width of the subcapsular zone of the thymus decreased, and the volume fraction of the red spleen pulp increased. In males, in the peripheral blood, the absolute and relative content of T-regulatory lymphocytes decreased, and the relative content of activated T-helpers increased, the volume fraction of the light centers of lymphoid nodules in the spleen decreased, the length of the crypts increased in the colon. A number of differences between males and females of control groups were also revealed: in the peripheral blood, males had more platelets and the absolute content of T-regulatory lymphocytes and less absolute content of T-cytotoxic. In the colon of males, the content of proliferating epithelial cells in the colon was higher than the one in females, and the bulk density of goblet cells was lower in males.

Conclusion. Under the cold stress factor exposure in animals, physiological stress develops. Immune reactions and colon morphofunctional changes in the colon during cold stress differ between males and females.

Keywords: cold stress, sex differences, colon, immune system

Corresponding author: Natalia A. Zolotova. E-mail: natashazltv@gmail.com

For citation: Zolotova N.A., Tsvetkov I.S., Khochanskiy D.N., Dzhailova D.Sh., Kosyreva A.M., Mikhailova A.L., Mikhailova L.P., Makarova O.V. Morphofunctional changes in the colon and immune responses during cold stress in male and female C57BL/6 mice. *Clin. exp. morphology.* 2020;9(4):50–64 (In Russ.). DOI:10.31088/CEM2020.9.4.50-64.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Research Institute of Human Morphology (No. AAAA-A19-119021490067-4).

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

Received 24.07.2020. **Received in revised form** 22.09.2020. **Accepted** 26.10.2020.

Введение

Толстая кишка – важный отдел пищеварительной системы: в ней происходят ферментация непереваренных фрагментов пищи комменсальными бактериями с образованием необходимых человеку витаминов, короткоцепочечных жирных кислот и других соединений, всасывание воды, ионов, питательных веществ, формирование каловых масс [1]. Заболевания толстой кишки широко распространены среди населения, разнообразны по этиологии и патогенезу, а лечение их недостаточно эффективно [2]. Одним из факторов, способствующих развитию и более тяжелому течению целого ряда заболеваний кишечника, является стресс. Так, стресс считается основной причиной развития синдрома раздраженной кишки [3]. Стресс способствует возникновению и обострению течения воспалительных заболеваний кишечника – язвенного колита и болезни Крона. Предполагается, что стресс во многом определяет развитие и тяжесть течения инфекционных, воспалительных, опухолевых заболеваний кишечника [4–6]. Показано, что стресс влияет на моторику кишечника, качественный и количественный состав микрофлоры и проницаемость эпителиального барьера толстой кишки [5, 7].

Выявлены половые различия реакций на стрессорные воздействия. Стресс-ассоциированные психи-

ческие расстройства, такие как посттравматическое стрессовое расстройство и депрессия, чаще встречаются у женщин, чем у мужчин [8]. Мужчины в 4–5 раз чаще, чем женщины, совершают суицид [9]. Женщины страдают от социального стресса больше, чем мужчины, и их стиль выживания более ориентирован на эмоции [10]. Также известно, что существуют различия между мужчинами и женщинами в распространенности, проявлениях и исходах инфекционных, аутоиммунных, опухолевых, воспалительных заболеваний, в том числе заболеваний толстой кишки [11]. Тем не менее половые различия изменений ободочной кишки при стрессе не изучены.

При стрессе у людей описывают психоэмоциональные реакции и изменения клеточного и биохимического состава периферической крови, в то время как исследование морфофункциональных изменений внутренних органов на человеческом материале затруднено. Следовательно, необходимо использование экспериментальных моделей на животных. В России наиболее распространенным физическим стрессорным фактором является холод.

В связи с изложенным целью нашей работы было охарактеризовать иммунные реакции и морфофункциональные изменения ободочной кишки при холодном стрессе у самцов и самок мышей C57BL/6.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 16 половозрелых самцах и 14 самцах мышей линии C57BL/6, полученных из филиала «Столбовая» НЦБМТ ФМБА России. Мышей содержали при температуре +18–25°C, естественном освещении, свободном доступе к воде и комбикорму ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», сертификат соответствия № РОСС RU.П081.В00113, ГОСТ Р50258-92). При работе с экспериментальными животными руководствовались Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (Страсбург, 18 марта 1986 года).

Самцов (n=7) и самок (n=8) контрольных групп постоянно содержали в условиях вивария при температуре +18–25°C. Самцов (n=7) и самок (n=8) опытных групп в течение 14 дней ежедневно помещали на 35 минут в морозильную камеру с температурой –20°C в индивидуальных пластиковых контейнерах размером 12×7×5 см с вентиляционными отверстиями в крышках. Животных выводили из эксперимента на 15-й день путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом.

Трем самцам и трем самкам за 6 дней до начала моделирования холодового стресса в брюшную полость имплантировали температурные датчики ДТИЗ-28 ЭМБИ РЕСЕРЧ (Россия), регистрирующие температуру один раз в минуту. В первый день холодового воздействия один из самцов с имплантированным датчиком погиб.

Перед началом моделирования холодового стресса и перед выведением из эксперимента животных всех групп взвешивали. При выведении из эксперимента у животных забирали кровь из шейных вен, использовали пробирки для гематологических исследований с ЭДТА (Greiner Bio-One, Австрия). Проводили определение числа тромбоцитов, лейкоцитов и лимфоцитов с помощью автоматического гематологического анализатора Mindray BC-2800Vet (Китай). Субпопуляционный состав лимфоцитов определяли на приборе Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Для выявления В-лимфоцитов (CD19⁺CD3⁻), Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺) и Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) использовали антитела CD19-PE, CD3e-FITC, CD8a-PE-Cy7, CD4-PE-Cy5 (eBioscience, США). Эритроциты лизировали с помощью раствора OptiLyse C Lysis Solution (Beckman Coulter, США). Выявление субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) и активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻) проводили с помощью набора Mouse Regulatory T Cell Staining Kit#3 (eBioscience, США) согласно инструкции производителя.

Проводили забор дистального отдела ободочной кишки, вскрывали его по брыжейке и промывали фосфатно-солевым буфером pH 7,4, 0.01M («БиолоТ», Россия), расправляли на миллиметровом фильтре, фиксировали в 10% забуференном формалине в течение 24 часов. Тимус, селезенку, брыжеечные лимфатические узлы фиксировали в жидкости Буэна в течение

24 часов. Все органы после фиксации заключали в гистомикс, изготавливали срезы толщиной 5–8 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином.

Гистологические срезы ободочной кишки также окрашивали альциановым синим pH 1,0 по Мойри (гистолайн, ООО «Элемент», Россия), проводили ШИК-реакцию («БиоВитрум», Россия) и иммунофлуоресцентное окрашивание с антителами к хромогранину А (Rabbit polyclonal anti-ChromograninA antibody, ab15160, Abcam Inc, Великобритания) и к Ki67 (Rabbit anti-mouse polyclonal anti-Ki67 antibody, ab 264429, Abcam Inc, Великобритания), использовали вторые антитела с флуоресцентной меткой Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488; ab150077, Abcam Inc, Великобритания).

На окрашенных гематоксилином и эозином гистологических срезах оценивали объемную плотность структурно-функциональных зон тимуса, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов методом точечного счета под световым микроскопом Leica DM2000 (Германия) при ×100. В тимусе подсчитывали соотношение объемной доли коркового и мозгового вещества. В селезенке оценивали объемную долю красной пульпы, ПАЛМ-зоны, лимфоидных узелков и светлых центров в них. В гистологических срезах тимуса на микроскопе LeicaDM2500 (Leica Microsystems, Германия) при ×400 с помощью программного обеспечения Leica Application Suite измеряли толщину субкапсулярной зоны тимуса (15–20 измерений для каждого животного).

Для исследования стенки дистального отдела ободочной кишки выбирали участки с продольно ориентированными криптами. В программе PhotoM 1.21 (А. Черниговский, 2000–2001) подсчитывали число клеточных элементов на единицу площади соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО) на единицу ее площади на фотографиях срезов ободочной кишки, окрашенных гематоксилином и эозином, при ×400. Препараты, окрашенные альциановым синим и реактивом Шиффа, после обработки йодной кислотой фотографировали при ×320 в одинаковых условиях освещения. На бинаризованных снимках препаратов с ШИК-реакцией оценивали объемную долю бокаловидных клеток, на снимках препаратов, окрашенных альциановым синим, определяли число бокаловидных клеток на крипту. На снимках препаратов с ШИК-реакцией и окрашенных альциановым синим в программе ImageJ измеряли среднюю яркость точек бокаловидных клеток и точек фона, рассчитывали оптическую плотность бокаловидных клеток как средний десятичный логарифм отношения средней яркости точек фона к средней яркости точек объекта.

Фотографировали препараты с иммунофлуоресцентным окрашиванием на хромогранин А и белок Ki67 при ×100 и ×200, соответственно. Подсчитывали число окрашенных клеток на 1 мкм² площади слизистой оболочки.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США). Выборки описывали через медиану и межквартильные размахи. Для сравнения групп использовали U-критерий Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В периоды вне холодового воздействия температура теплового ядра мышей значительно колебалась в течение суток – от $34,5^{\circ}\text{C}$ до $39,7^{\circ}\text{C}$ и в среднем составляла $36,9^{\circ}\text{C}$ (рис. 1). По данным литературы, при комнатной температуре температура тела мышей в течение суток колеблется в диапазоне от 34°C до 39°C [12, 13]. По мнению С. J. Gordon [13], мелких млекопитающих, таких как мыши и крысы, следует считать усредненными гомойотермными, так как температура их теплового ядра может значительно и быстро колебаться и является стабильной только при усреднении за большие промежутки времени.

При помещении животных в морозильную камеру (-20°C) за 35 минут температура тела мышей снижалась до $24,2$ ($20,6$; $27,9$) $^{\circ}\text{C}$, что более чем на 10°C ниже минимума в условиях вивария. При этом признаки адаптации не наблюдались: температура тела, достигаемая к 35-й минуте холодового воздействия, в первые 3 дня эксперимента ($25,8$ ($20,5$; $27,2$) $^{\circ}\text{C}$) и последние 3 дня ($24,1$ ($21,8$; $26,5$) $^{\circ}\text{C}$) статистически значимо не различалась. Температура тела мышей опускалась ниже минимума нормы ($34,5^{\circ}\text{C}$) за 7–15 минут с момента помещения животного в морозильную камеру. После извлечения из нее температура нормализовывалась через 25–35 минут (рис. 1). Для человека снижение температуры тела ниже 28°C является тяжелой гипотермией, в этом состоянии дрожь отсутствует, кожа холодная и отечная, наблюдаются галлюцинации, арефлексия, олигурия, фиксированные расширенные зрачки, брадикардия, гипотония и отек легких. При снижении температуры тела до 23°C происходит остановка дыхания [14]. Однако у мышей через 30 минут после прекращения холодового воздействия температура тела нормализовывалась, и они внешне не отличались от животных контрольной группы, что указывает на большую устойчивость мышей к холоду по сравнению с человеком. По данным Н. К. Арокиной [15], у крыс Вистар остановка дыхания происходит при снижении ректальной температуры до $15,1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и температуры головного мозга до $19 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$.

По сравнению с самцами снижение температуры тела у самок было более выражено, что, вероятно, связано с меньшей массой тела самок. Женщины по сравне-

нию с мужчинами на одну и ту же внешнюю холодовую нагрузку реагируют более значительным снижением температуры кожи [16].

До начала моделирования холодового стресса и в конце эксперимента животных всех групп взвешивали. Изменения массы тела ни у самок, ни у самцов не выявлены, но масса тела у самцов была выше, чем у самок, как в начале эксперимента (самки 20 (20 ; 20); самцы 23 (21 ; 23) г), так и в конце (самки 19 (18 ; 20) г; самцы 22 (22 ; 22) г). Как правило, сильный стресс приводит к снижению массы тела. Так, у мышей, подвергавшихся хроническому иммобилизационному стрессу, масса тела была значительно ниже, чем у животных контрольных групп [17]. Тем не менее воздействие холода, напротив, приводит к увеличению массы тела у мышей, что, вероятно, является проявлением механизма адаптации, направленного на снижение потерь тепла [18].

Каждому животному был проведен клинический анализ крови. В контрольных группах содержание тромбоцитов у самок было ниже, чем у самцов, а число лейкоцитов и лимфоцитов статистически значимо не различалось (табл. 1). По данным T. I. Reste et al. [19], в периферической крови у самцов мышей содержание нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов выше, чем у самок. Однако общее число лейкоцитов статистически значимо не различается, содержание эритроцитов выше у самок, чем у самцов, а половые различия количества тромбоцитов не выявлены. Q. He et al. [20] обнаружили в периферической крови у самцов крыс Спрейг–Доули большее количество эритроцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, а у самок – тромбоцитов и эозинофилов. Противоречивость данных, очевидно, связана с разными фазами эстрального цикла у

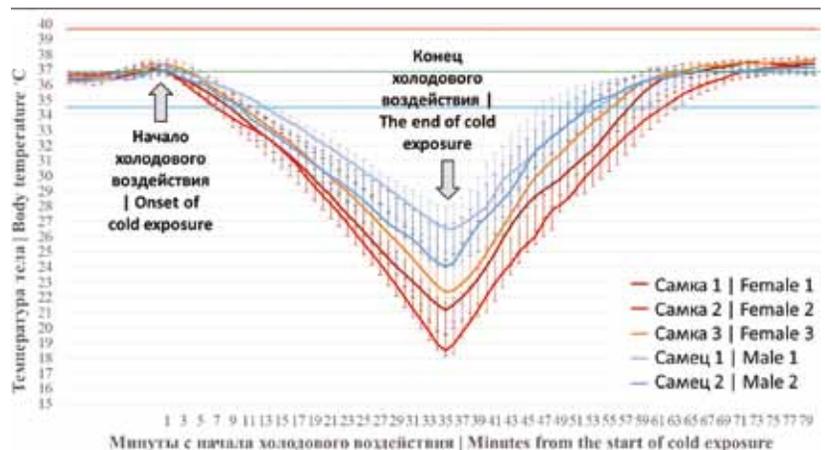


Рис. 1. Динамика температуры тела животных на протяжении 35-минутного холодового воздействия. Данные усреднены по всем дням, для каждой точки времени приведены медиана и межквартильные размахи.

Красная прямая линия – максимальная, зеленая – средняя, голубая – минимальная температура тела мышей в условиях вивария

Fig. 1. Body temperature dynamics over a 35-minute cold exposure. The data are averaged over all days; for each time point, the median and interquartile ranges are given. The red straight line is the maximum body temperature of mice in a vivarium, the green is the middle, the blue is the minimum body temperature.

**Абсолютное количество лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов в периферической крови у половозрелых самок и самцов мышей C57Bl/6 в норме и при холодовом стрессе, Me (0,25; 0,75) |
The absolute number of leukocytes, lymphocytes and platelets in the peripheral blood of mature female and male C57Bl/6 mice in normal condition and after cold stress, Me (0.25; 0.75)**

Абсолютное количество, 10 ⁶ /мл Absolute amount, 10 ⁶ /mL	Самки Female		Самцы Male	
	контроль control group	холодовой стресс cold stress	контроль control group	холодовой стресс cold stress
Лейкоциты Leukocytes	7,0 (6,5–8,1)	11,5* (8,5–12,4)	8,7 (7,8–9,4)	10,7 (10,1–11,9)
Лимфоциты Lymphocytes	5,8 (5,4–6,8)	9,0 (7,0–10,2)	6,9 (6,3–7,9)	8,6 (8,3–9,4)
Тромбоциты Platelets	436,5# (433–593)	914* (694–1115)	1241# (1200–1384)	782,5 (573–1343)

* – статистически значимые различия между опытной и соответствующей контрольной группами

– статистически значимые различия между самцами и самками контрольных групп, критерий Манна–Уитни, $p < 0,05$

* – statistically significant differences between the experimental and the corresponding control group

– statistically significant differences between males and females of control groups, Mann–Whitney U-test, $p < 0.05$

самок. В нашем исследовании при холодовом стрессе возрастало количество тромбоцитов и лейкоцитов у самок, а число лимфоцитов не изменялось. По сравнению с животными контрольной группы у самцов при холодовом стрессе показатели клинического анализа крови не различались (табл. 1). Н.А. Лычева и И.И. Шахматов [21] также отмечали повышение содержания тромбоцитов в крови у крыс при гипотермии. У самцов увеличение числа тромбоцитов не наблюдалось, вероятно, потому, что содержание их в норме было значительно выше, чем у самок.

Методом проточной цитофлуориметрии определяли субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови. В контрольных группах у самок по сравнению с самцами было выше абсолютное количество Т-цитотоксических и ниже Т-регуляторных лимфоцитов (табл. 2). Сведения о содержании Т-цитотоксических лимфоцитов согласуются с данными литературы [22]. Д.Ш. Джалилова и соавт. [23] и G. Afshan et al. [24] выявили более высокое содержание Т-регуляторных лимфоцитов у самцов крыс и у мужчин по сравнению с самками и с женщинами, соответственно, что согласуется с полученными нами результатами. Однако Ю. Гао и соавт. [22] и M. Walecki et al. [25] показали, что содержание регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови выше у самок мышей и у женщин репродуктивного возраста по сравнению с самцами и с мужчинами, соответственно. Вероятно, противоречивость данных о содержании Т-регуляторных клеток обусловлена исследованиями в разные фазы эстрального цикла у самок грызунов и менструального цикла у женщин. По данным литературы, колебания уровня эстрадиола в течение менструального цикла влияют на количество и супрессорную активность регуляторных Т-клеток [26]. У женщин 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 [27]. В нашем исследовании при холодовом стрессе у самок ни одна из субпопуляций лимфоцитов не изменялась, а у самцов снижалось абсолютное и относительное содержание Т-регуляторных лимфоцитов и возрастало относительное содержание активированных Т-хелперов (табл. 2). Снижение содержания регуляторных Т-клеток у самцов косвенно указывает на активацию иммунных реакций. Хронический стресс вызывает иммуносупрессию, лимфоцитопению, уменьшение в крови числа CD4⁺ Т-хелперов [28]. E. Freier et al. [29] выявили снижение числа регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови у молодых мужчин при остром психологическом стрессе.

Тимус у животных всех групп имел нормальное строение. Соотношение коркового и мозгового вещества и толщина субкапсулярной зоны между контрольными группами не различались (рис. 2). По данным Е.Ю. Симоновой [30], в тимусе самцов крыс Вистар в норме отношение объемной доли коркового вещества к мозговому выше, чем у самок в фазе проэструса, что, очевидно, связано с усиленной миграцией Т-лимфоцитов из тимуса у самок под влиянием эстрогенов. Субкапсулярная зона тимуса у самок шире, чем у самцов, что обусловлено, вероятно, повышенным уровнем прогестерона, который подавляет апоптотическую гибель тимоцитов. При холодовом стрессе у самок нами отмечалось снижение ширины субкапсулярной зоны (рис. 2). В субкапсулярной зоне тимуса происходит активная пролиферация незрелых тимоцитов; при патологическом стрессе независимо от его природы развивается острая атрофия тимуса, характеризующаяся уменьшением массы органа и опустошением коркового вещества [31]. Хронический иммобилизационный стресс у мышей вызывает в тимусе увеличение апоп-

Таблица 2 | Table 2

Относительное и абсолютное количество основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови у половозрелых самок и самцов мышей C57Bl/6 в норме и при холодном стрессе, Me (0,25; 0,75) | The relative and absolute number of the main subpopulations of lymphocytes in the peripheral blood in mature female and male C57Bl/6 mice in normal condition and after cold stress, Me (0.25; 0.75)

Субпопуляции лимфоцитов Lymphocyte subpopulations		Самки Female		Самцы Male	
		контроль control group	холодовой стресс cold stress	контроль control group	холодовой стресс cold stress
В-лимфоциты B lymphocytes (CD19 ⁺ CD3 ⁻)	R	44,1 (33,9–47,0)	31,4 (18,6–46,5)	21,4 (9,7–26,0)	17,4 (10,3–29,2)
	A	3,4 (2,8–3,8)	3,1 (1,6–5,0)	1,8 (0,9–2,3)	1,8 (1,1–3,7)
Т-лимфоциты T lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻)	R	24,8 (23,0–31,4)	14,9 (9,2–28,4)	9,2 (3,4–14,1)	8,4 (4,4–12,6)
	A	2,0 (1,6–2,4)	1,7 (1,0–2,4)	0,8 (0,3–1,1)	0,9 (0,5–1,6)
Т-цитотоксические Cytotoxic T cells (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	R	13,0 (10,9–13,6)	6,0 (4,2–12,2)	4,5 (1,3–5,5)	2,9 (1,4–5,3)
	A	1,0 [#] (0,7–1,1)	0,7 (0,4–1,1)	0,3 [#] (0,1–0,4)	0,3 (0,2–0,7)
Т-хелперы T helper cells (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	R	13,8 (10,9–17,9)	8,9 (5,3–15,5)	6,1 (2,5–8,4)	5,6 (3,1–8,3)
	A	1,1 (0,9–1,2)	1,0 (0,6–1,4)	0,5 (0,2–0,7)	0,6 (0,3–1,0)
Активированные Т-хелперы Activated T-helpers (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁻)	R	3,5 (1,6–4,0)	3,5 (2,9–4,1)	1,4 (1,0–1,4)	2,3* (1,5–3,2)
	A	25,6 (17,6–32,0)	43,3 (30,4–54,7)	13,2 (11,5–13,2)	26,6 (12,8–40,1)
Т-регуляторные лимфоциты T-regulatory (CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺)	R	2,6 (2,3–4,9)	1,4 (1,2–1,7)	8,8 (8,0–9,0)	3,2* (2,6–5,6)
	A	19,8 [#] (12,7–25,2)	17,3 (16,8–20,5)	83,7 [#] (83,1–85,7)	43,2* (25,3–47,8)

R – относительное содержание (%), A – абсолютное содержание (млн/мл)

* – статистически значимые различия между опытной и соответствующей контрольной группами

– статистически значимые различия между самцами и самками контрольных групп, критерий Манна–Уитни, $p < 0,05$

R – relative content (%), A – absolute content (10⁶/ml)

* – statistically significant differences between the experimental and the corresponding control group

– statistically significant differences between males and females of control groups, Mann–Whitney U-test, $p < 0.05$

тоза, уменьшение общего количества тимоцитов, доли незрелых тимоцитов [32]. В исследовании Д.К. Гармаевой и соавт. [33] после нескольких сеансов холодного воздействия в течение 2 недель и более отмечалось сокращение содержания клеток в субкапсулярной зоне тимуса, а показатели площадей коркового и мозгового вещества, корково-мозговой индекс не отличались от показателей у интактного контроля, что соответствует полученным нами результатам.

Селезенка животных всех групп имела нормальное строение. Различия объемной доли функциональных зон селезенки между самцами и самками в норме не выявлены (рис. 3). По данным Е.Ю. Симоновой [30], в селезенке объемная доля белой пульпы у самок крыс Вистар выше, чем у самцов, что может быть обуслов-

лено иммуностимулирующим эффектом эстрогенов, индуцирующих пролиферацию лимфоцитов селезенки. Расхождение наших результатов и данных литературы может быть связано как с межвидовыми различиями, так и с фазой эстрального цикла. При холодном стрессе у самок в селезенке возрастала объемная доля красной пульпы, у самцов снижалась объемная доля светлых центров лимфоидных узелков и у животных обоего пола уменьшалась объемная доля ПАЛМ-зоны (рис. 3). Увеличение объемной доли красной пульпы и уменьшение объемной доли ПАЛМ-зоны косвенно указывают на миграцию лимфоцитов из селезенки. Снижение объемной доли светлых центров лимфоидных узелков может быть обусловлено подавлением пролиферации В-лимфоцитов. Хронический иммобилизационный

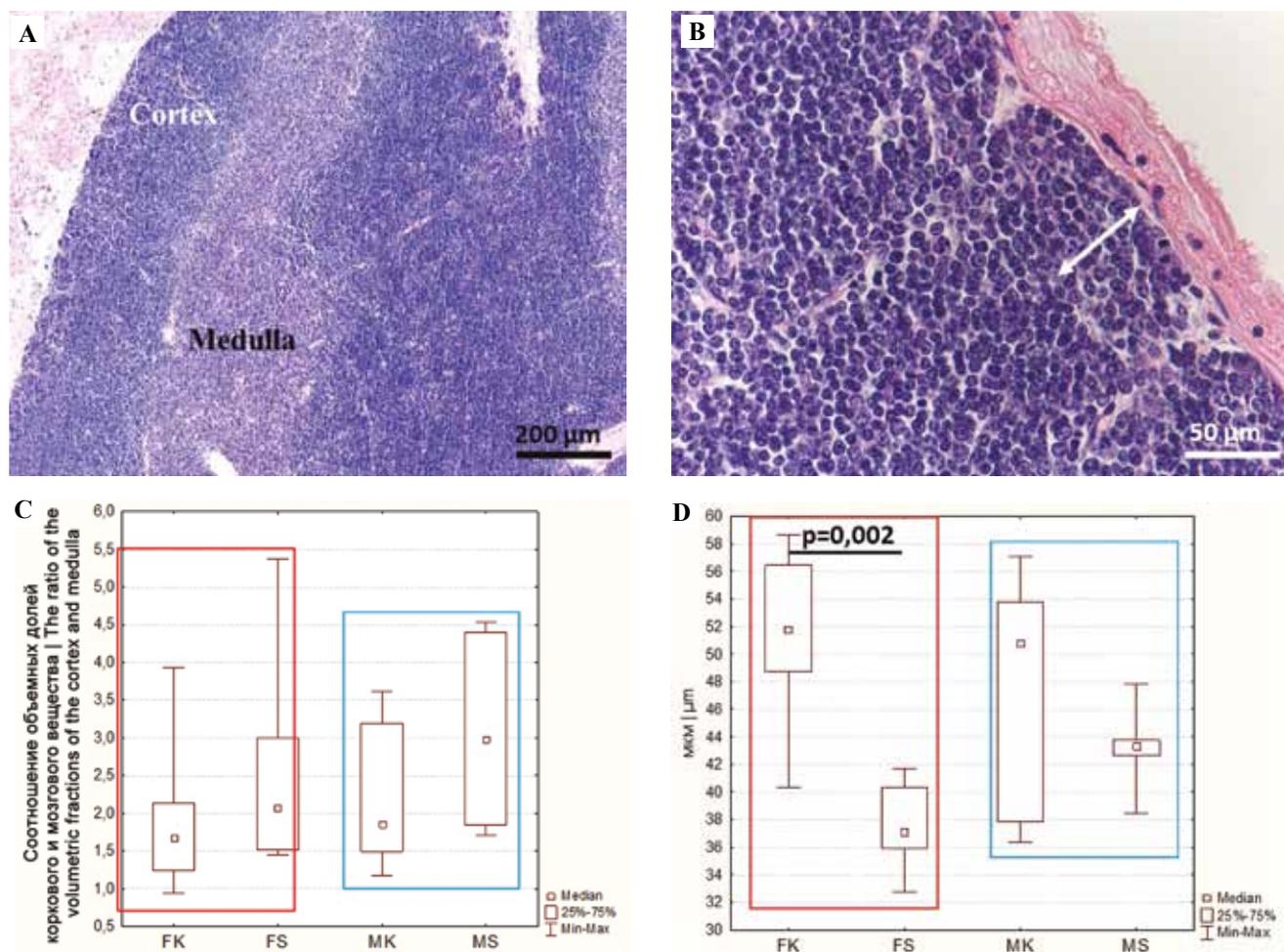


Рис. 2. Изменения тимуса при холодном стрессе.

А – корковое (cortex) и мозговое (medulla) вещество в тимусе интактного самца мыши, В – субкапсулярная зона тимуса, окраска гематоксилином и эозином. С – соотношение объемной доли коркового и мозгового вещества тимуса у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе, D – ширина субкапсулярной зоны тимуса у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе. FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия

Fig. 2. Changes in the thymus after cold stress.

A – the thymic cortex and medulla of an intact male mouse, B – the subcapsular thymic zone, H&E stain. C – the ratio of the volume fraction of the thymic cortex and medulla in male and female mice in normal condition and after cold stress. D – the width of the thymic subcapsular zone in male and female mice in normal condition and after cold stress. FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups between which statistically significant differences are revealed

стресс у мышей вызывает снижение клеточности и увеличение относительной доли Т-клеток в селезенке [32].

При морфологическом исследовании ободочной кишки различия между исследуемыми группами не выявлены, кишка имела нормальное строение. Статистически значимые различия размеров крипт и содержания клеточных элементов в соединительной ткани СПСО между контрольными группами также не отмечены (рис. 4). По данным Ю. Гао и М.Т. Добрыниной [34], в дистальном отделе ободочной кишки у мышей объемная доля просвета крипт, объемная доля соединительной ткани и сосудов в СПСО выше у самок, а показатель объемной доли клеточных элементов в СПСО выше у самцов. Несовпадение данных, вероятно, об-

условлено разными методиками оценки исследуемых параметров. При холодном стрессе нами было выявлено увеличение длины крипт у самцов, число клеточных элементов в СПСО не изменялось (рис. 4). С.О. Абдулаева [35, 36] не выявила альтеративные и воспалительные изменения ободочной кишки, а также число лимфоцитов в ее СПСО у самцов мышей при ежедневном холодном воздействии в течение 9 дней и 21 дня, что согласуется с полученными нами данными. Увеличение длины крипт толстой кишки наблюдалось при пищевом стрессе у мышей и крыс, которых содержали на полусинтетической диете с повышенным содержанием жиров и фосфатов и пониженным содержанием кальция и витамина D [37].

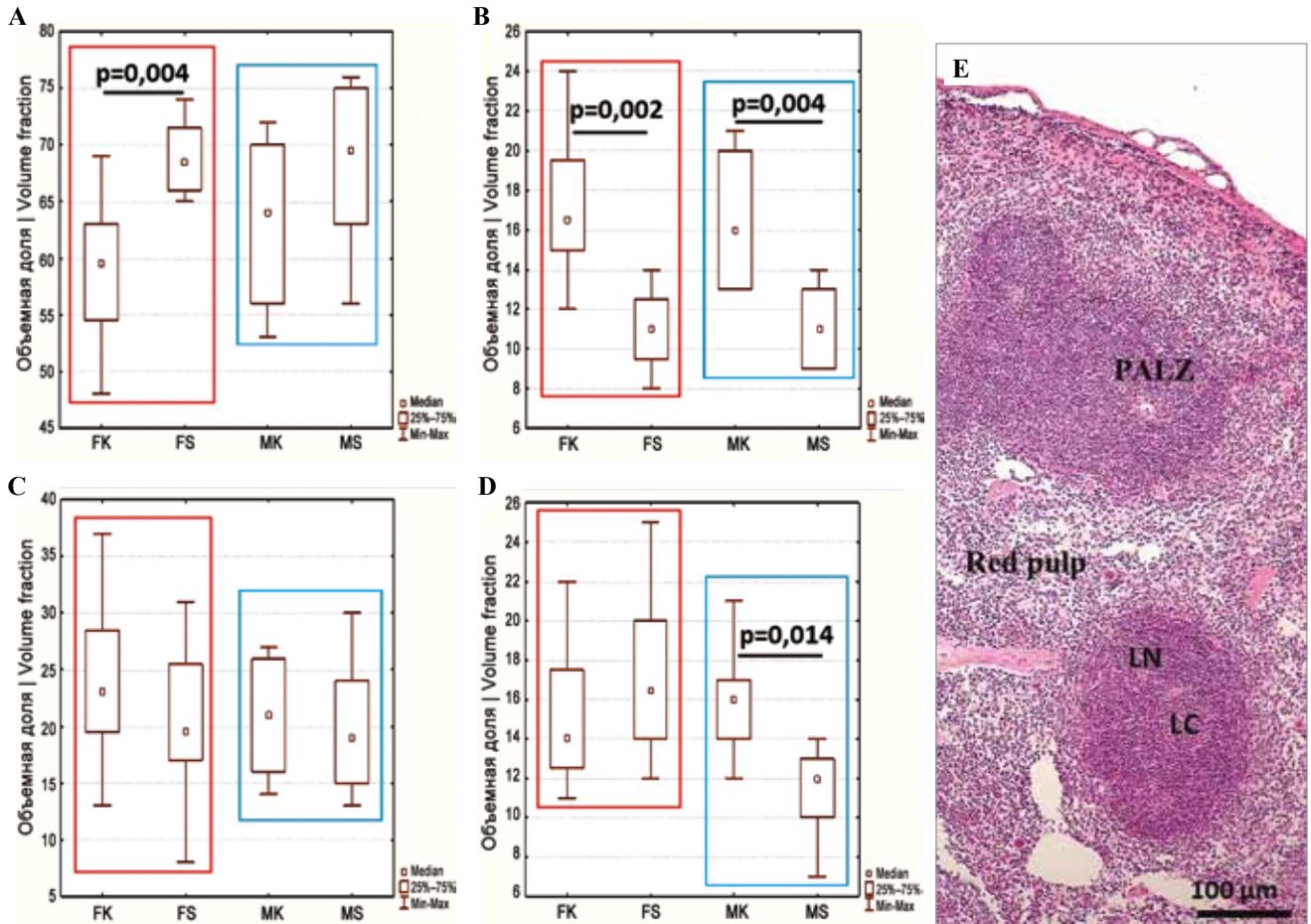


Рис. 3. Объемные доли морфофункциональных зон селезенки у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе. А – красная пульпа, В – ПАЛМ-зона, С – лимфоидные узелки, D – светлые центры лимфоидных узелков. FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия. Е – селезенка интактного самца мыши, PALZ – ПАЛМ-зона, Red pulp – красная пульпа, LN – лимфоидный узелок, LC – светлый центр. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 3. Volume fractions of morphofunctional zones of the spleen in male and female mice in normal condition and after cold stress. A – red pulp, B – PALZ, C – lymphoid nodules, D – light centers of lymphoid nodules. FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups between which statistically significant differences are revealed. E – spleen of an intact male mouse, LN – lymphoid nodule, LC – light centers. H&E stain

Для оценки пролиферативной активности проведено иммунофлуоресцентное окрашивание срезов ободочной кишки с антителами к Ki67. В контрольных группах число Ki67-положительных клеток в слизистой оболочке было выше у самцов, чем у самок (рис. 5). По данным W. Zhou et al. [38], пролиферация эпителиальных клеток тонкой кишки *in vitro* у мышей выше в криптах, выделенных от самок, по сравнению с криптами, выделенными от самцов. На пролиферативную активность кишечного эпителия значительное влияние оказывают глюкокортикоиды [39]. Для человека и животных установлен 4-суточный инфрадианный биоритм концентрации глюкокортикоидов в периферической крови [40], однако этот биоритм в исследованиях, как правило, не учитывается, что может приводить к расхождениям экспериментальных данных. В нашем исследовании при холодном стрессе ни у самок, ни у самцов содержание Ki67-

положительных клеток не изменялось (рис. 5). У самцов крыс при трехнедельном хроническом холодном стрессе показано снижение активности тимидинкиназы в эпителиальных клетках тонкой кишки [41]. Стресс, индуцированный ограничением движения и погружением в воду на 2 часа в день в течение 5 дней, не вызывал у крыс изменений пролиферативной активности эпителия кишечника [42].

Эндокринные клетки мы выявляли с помощью антител к хромогранину А. В контрольных группах число хромогранин А-положительных клеток в слизистой оболочке не различалось между самками и самцами (рис. 6). Данные о половых различиях содержания эндокринных клеток в кишечнике в литературе отсутствуют. При холодном стрессе мы наблюдали снижение числа хромогранин А-положительных клеток у животных обоего пола (рис. 6). С.О. Абдулаева [35, 36] также выявила повышение числа эндокринных клеток

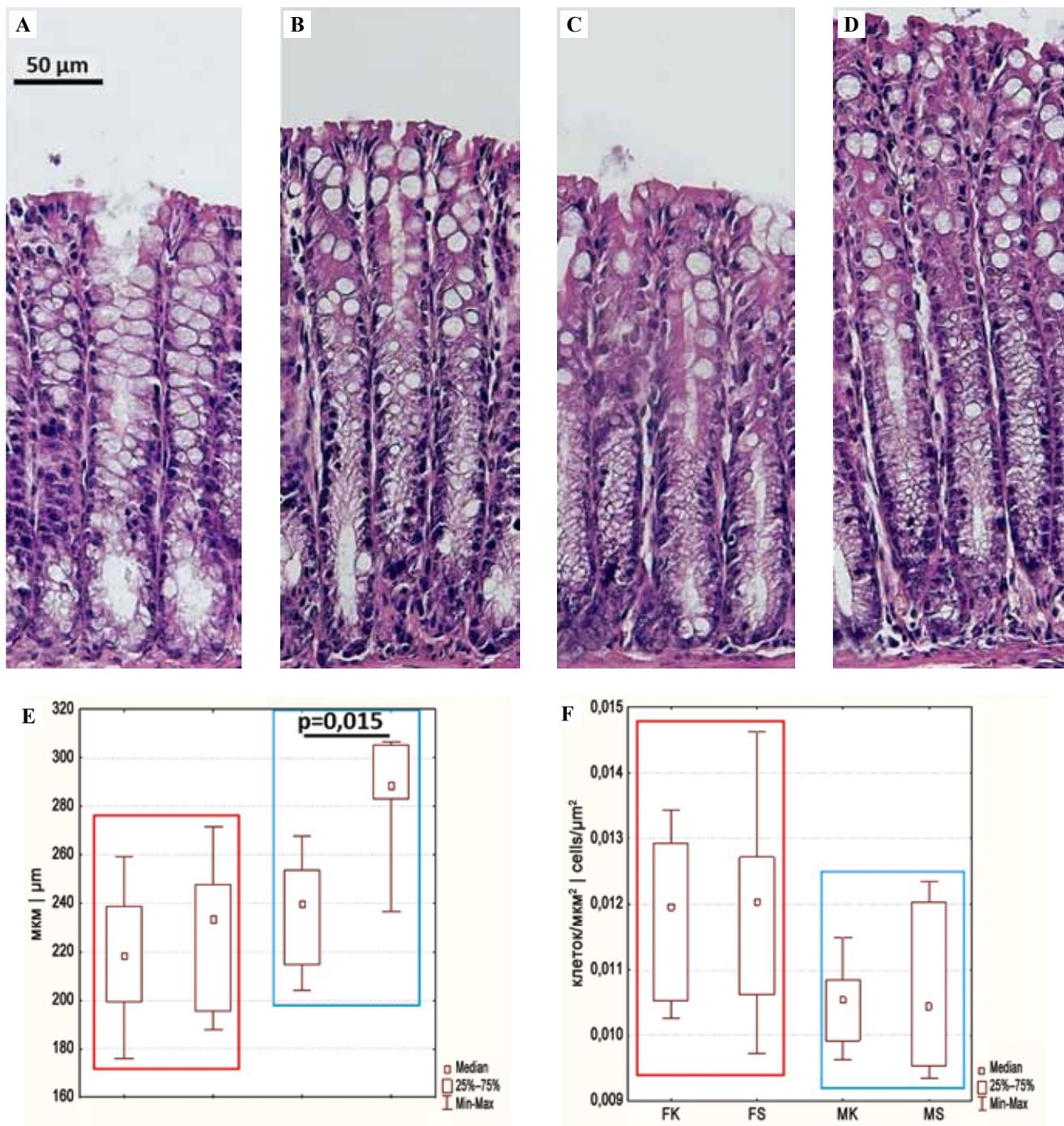


Рис. 4. Слизистая оболочка ободочной кишки самок (А, В) и самцов (С, D) мышей в норме (А, С) и при холодном стрессе (В, D). Окраска гематоксилином и эозином. Высота крипт (Е) и число клеточных элементов (F) на 1 μm^2 соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе. FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия

Fig. 4. The mucous membrane of the colon in female (A, B) and male (C, D) mice in normal condition (A, C) and after cold stress (B, D). H&E stain. The height of the crypts (E) and the number of cellular elements (F) per 1 μm^2 of the lamina propria connective tissue in male and female mice in normal condition and after cold stress. FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups which statistically significant differences are revealed

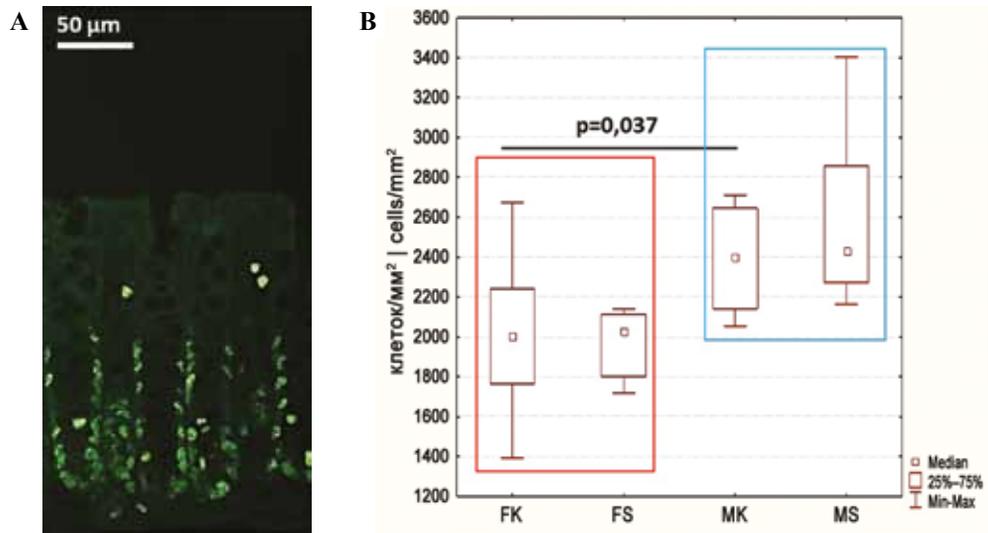


Рис. 5. Пролиферирующие Ki67-положительные клетки в слизистой оболочке ободочной кишки интактного самца мыши, иммунофлуоресцентное окрашивание (А). Число Ki67-положительных клеток на 1 мм² слизистой оболочки у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе (В). FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия

Fig. 5. Proliferating Ki67-positive cells in the colon of an intact male mouse, immunofluorescence staining (A). The number of Ki67-positive cells per 1 mm² of the mucous membrane in male and female mice in normal condition and after cold stress (B). FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups between which statistically significant differences are revealed

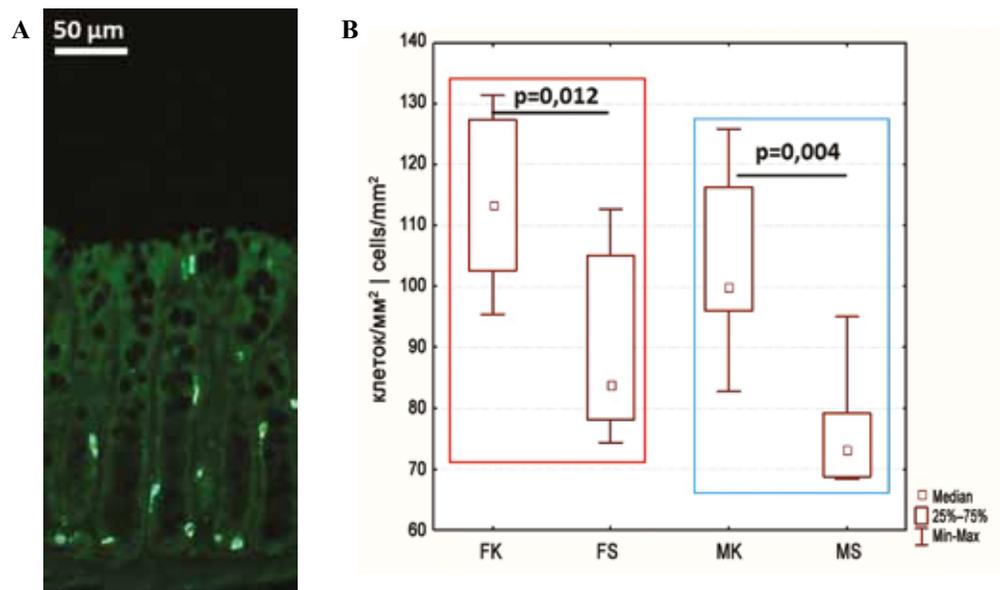


Рис. 6. Эндокринные хромогранин А-положительные клетки в эпителии ободочной кишки интактного самца мыши, иммунофлуоресцентное окрашивание (А). Число хромогранин А-положительных клеток на 1 мм² слизистой оболочки у самцов и самок мышей в норме и при холодном стрессе (В). FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия

Fig. 6. Endocrine chromogranin A-positive cells in the colon epithelium of an intact male mouse, immunofluorescence staining (A). The number of chromogranins of A-positive cells per 1 mm² of the mucous membrane in male and female mice in normal condition and after cold stress (B). FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups between which statistically significant differences are revealed

в ободочной кишке у самцов мышей C57BL/6 на 21-е сутки ежедневного холодового воздействия, однако у самцов мышей Balb/c при таком же воздействии их количество снижалось. Уменьшение числа хромогранин А-положительных эндокринных клеток может быть обусловлено либо изменениями путей дифференцировки эпителиальных клеток и уменьшением образования эндокринных клеток, либо повышением секреции, приводящим к опустошению секреторных гранул и потере клетками иммунореактивности.

Высокосульфатированные муцины в бокаловидных клетках выявляли с помощью окраски альциановым синим, pH 1,0, нейтральные – с помощью ШИК-реакции. В норме объемная доля бокаловидных клеток у самок была выше, чем у самцов, а число клеток на крипту не различалось между полами, что указывает на большие размеры клеток у самок. Содержание в бокаловидных клетках нейтральных и высокосульфатированных муцинов между группами не различалось (рис. 7). По данным Ю. Гао и М.Т. Добрыниной [34], объемная доля

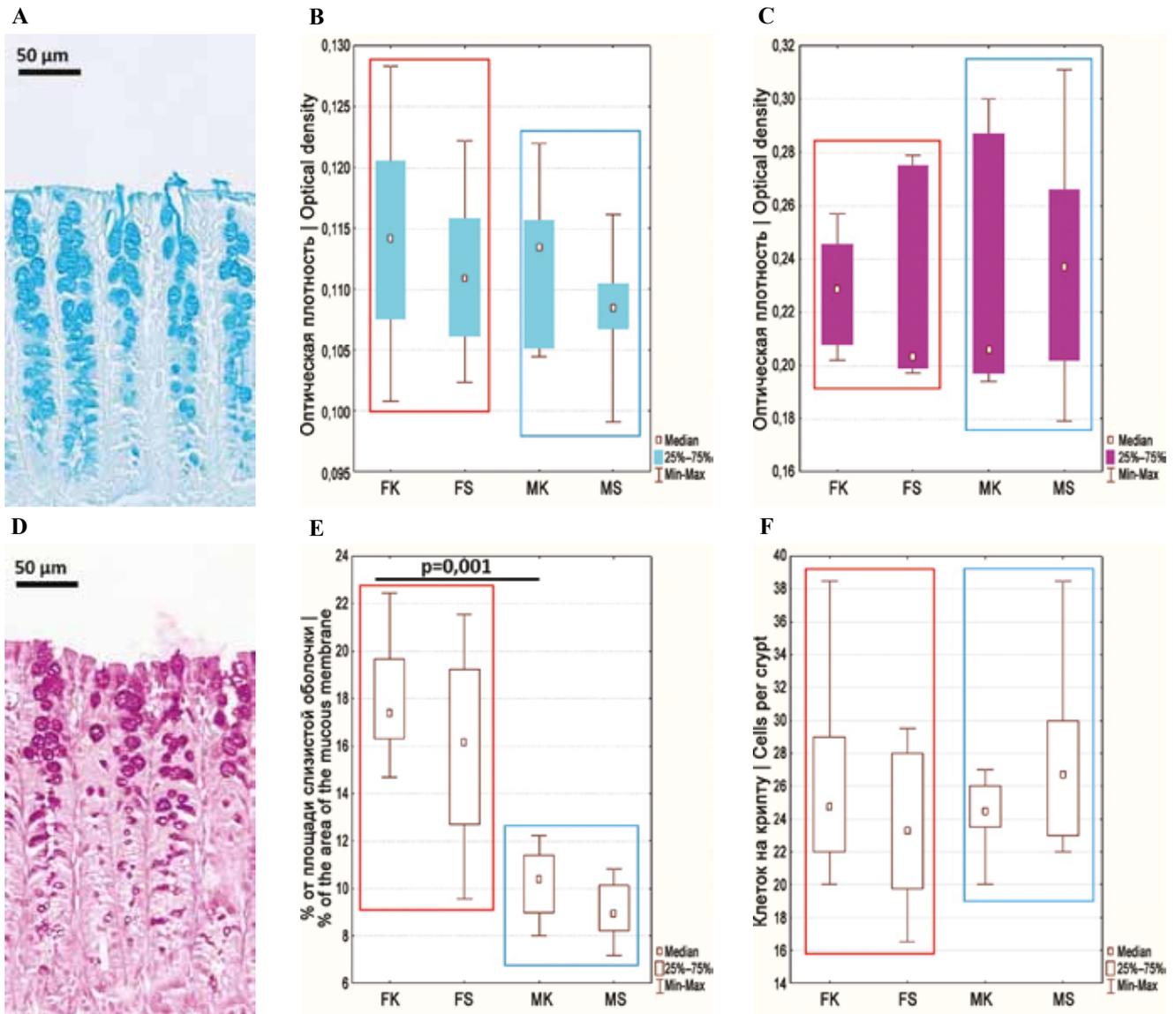


Рис. 7. Бокаловидные клетки в эпителии ободочной кишки мышей, окраска альциановым синим (А) и ШИК-реакция (D). Оптическая плотность бокаловидных клеток на срезах, окрашенных альциановым синим (В), и с ШИК-реакцией (С), объемная доля бокаловидных клеток (Е) и число бокаловидных клеток на крипту (F) у самцов и самок мышей в норме и при холодовом стрессе. FK – самки контроль, FS – самки стресс, МК – самцы контроль, MS – самцы стресс; черной линией соединены группы, между которыми выявлены статистически значимые различия

Fig. 7. Goblet cells in the colon epithelium of mice, Alcian blue stain (A) and PAS-reaction (D). The optical density of goblet cells on sections stained with Alcian blue (B) and with a PAS-reaction (C), the volume fraction of goblet cells (E) and the number of goblet cells per crypt (F) in male and female mice in normal condition and after cold stress. FK – females control, FS – females stress, MK – males control, MS – males stress; the black line connects the groups between which statistically significant differences

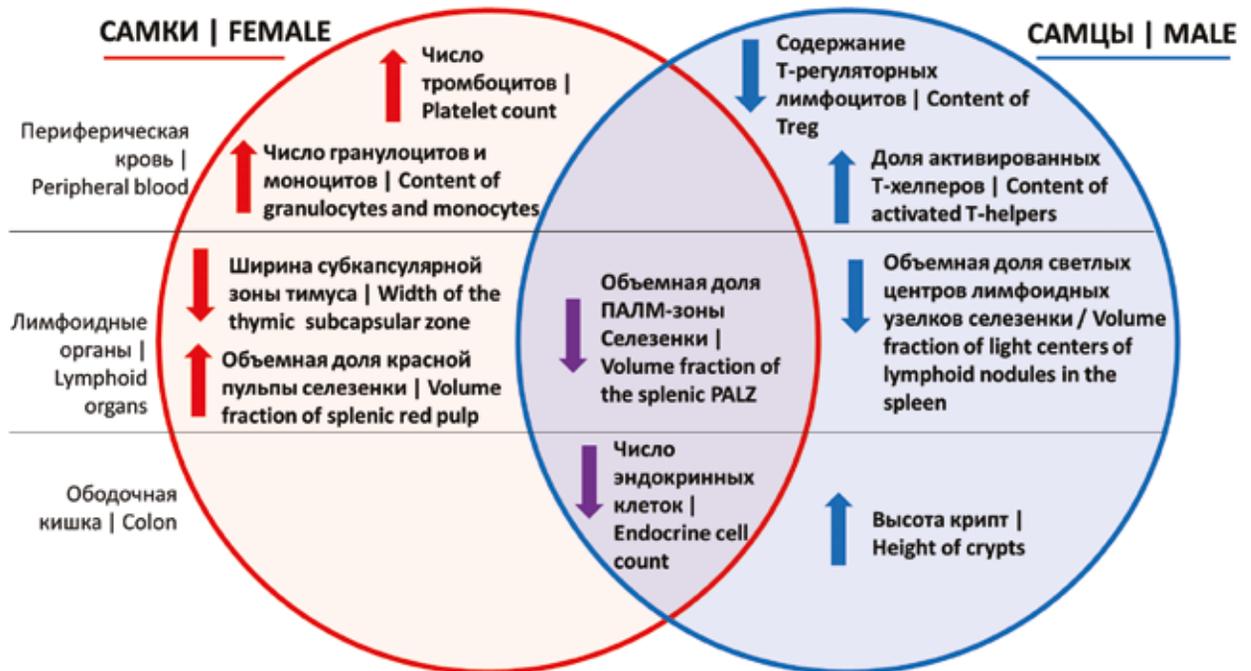


Рис. 8. Изменения в периферической крови, лимфоидных органах и ободочной кишке у половозрелых самцов и самок мышей C57BL/6 при холодном стрессе, вызванном интервальным холодным воздействием в режиме 35-минутных сеансов в течение 14 дней при -20°

Fig. 8. Changes in peripheral blood, lymphoid organs, and colon in mature male and female C57BL/6 mice after cold stress caused by intermittent cold exposure for 35-minute sessions for 14 days at -20°

бокаловидных клеток выше у самцов мышей, чем у самок. При холодном стрессе исследуемые параметры бокаловидных клеток не изменялись (рис. 7). У мышей при хроническом иммобилизационном стрессе выявлено снижение толщины внутреннего слоя слизи, экспрессии мРНК муцина Muc2 и числа ШИК-позитивных бокаловидных клеток в ободочной кишке [43]. По данным С.О. Абдулаевой [35, 36], число бокаловидных клеток на крипту и их объемная доля в ободочной кишке у самцов мышей C57BL/6 при ежедневном холодном воздействии в течение 9 дней и 21 дня не изменяется, а у самцов мышей Balb/c объемная доля возрастает на 9-е сутки, и число бокаловидных клеток на крипту снижается на 21-е сутки.

Выявленные иммунные реакции и морфофункциональные изменения ободочной кишки при холодном стрессе у самцов и самок мышей C57BL/6 суммированы на рисунке 8.

Заключение

В литературе сведений о половых различиях лимфоидных органов и толстой кишки у человека и лабораторных грызунов мало. Данные противоречивы, что, вероятно, обусловлено влиянием половых гормонов, уровень которых значительно изменяется в течение менструального цикла у женщин и эстрального цикла у самок животных. Также расхождение данных может быть связано с межвидовыми, межлинейными, возрастными различиями, инфрадианными и сезонными биоритмами.

Несмотря на весьма значительное снижение температуры тела при холодном воздействии, мы наблюдали у самок и самцов мышей умеренные гистологические изменения лимфоидных органов и клеточного состава периферической крови. Эти данные указывают на развитие физиологического стресса у мышей и их высокую устойчивость к использованному нами режиму холодного воздействия. По данным литературы, стрессорные воздействия могут приводить к удлинению крипт, подавлению пролиферации эпителия, изменению числа эндокринных клеток, снижению числа бокаловидных клеток и продукции муцинов в ободочной кишке, однако мы наблюдали только снижение содержания эндокринных клеток у мышей обоего пола и увеличение длины крипт у самцов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – О.В. Макарова.
Сбор и обработка материала – Н.А. Золотова, И.С. Цветков, Д.Н. Хочанский, Д.Ш. Джалилова, А.М. Косырева, А.Л. Михайлова, Л.П. Михайлова, О.В. Макарова.
Написание текста – Н.А. Золотова, А.Л. Михайлова.
Редактирование – О.В. Макарова, Д.Ш. Джалилова.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – O.V. Makarova.
Collected the data and performed the analysis – N.A. Zolotova, I.S. Tsvetkov, D.N. Khochanskiy, D.Sh. Dzhaililova, A.M. Kosyryeva, A.L. Mikhailova, L.P. Mikhailova, O.V. Makarova.
Wrote the paper – N.A. Zolotova, A.L. Mikhailova.
Edited the manuscript – O.V. Makarova, D.Sh. Dzhaililova.

Литература/References

- PM Treuting, SM Dintzis, CW Frevert, D Liggitt, HD Liggitt, KS Montine (eds.). Comparative anatomy and histology: a mouse and human atlas. Academic Press, 2012. 461 p.
- Пахомова И.Г. Заболевания толстой кишки: от функциональных расстройств к органической патологии. Медицинский Совет. 2013;5:46–53. DOI: 10.21518/2079-701X-2013-5-46-53. Pakhomova IG. Pathology of the colon: from functional to organic. Medical Council. 2013;5:46–53. DOI: 10.21518/2079-701X-2013-5-46-53 (In Russ.).
- Hadjivasilis A, Tsioutis C, Michalinos A, Ntourakis D, Christodoulou DK, Agouridis AP. New insights into irritable bowel syndrome: from pathophysiology to treatment. Ann Gastroenterol. 2019;32(6):554–64. DOI: 10.20524/aog.2019.0428.
- Bernstein CN. Psychological stress and depression: risk factors for IBD? Dig Dis. 2016;34(1–2):58–63. DOI: 10.1159/000442929.
- Baritaki S, de Bree E, Chatzaki E, Pothoulakis C. Chronic stress, inflammation, and colon cancer: A CRH system-driven molecular crosstalk. J Clin Med. 2019;8(10):1669. DOI: 10.3390/jcm8101669.
- Salleh MR. Life event, stress and illness. Malays J Med Sci. 2008;15(4):9–18.
- Welgan P, Meshkinpour H, Hoehler F. The effect of stress on colon motor and electrical activity in irritable bowel syndrome. Psychosom Med. 1985;47(2):139–49. DOI: 10.1097/00006842-198503000-00005.
- Bangasser DA, Valentino RJ. Sex differences in stress-related psychiatric disorders: neurobiological perspectives. Front Neuroendocrinol. 2014;35(3):303–19. DOI: 10.1016/j.yfrne.2014.03.008.
- Murphy GE. Why women are less likely than men to commit suicide. Compr Psychiatry. 1998;39(4):165–75. DOI: 10.1016/S0010-440X(98)90057-8.
- Matud MP. Gender differences in stress and coping styles. Pers Individ Dif. 2004;37(7):1401–15. DOI: 10.1016/j.paid.2004.01.010.
- Lotter H, Altfeld M. Sex differences in immunity. Semin Immunopathol. 2019;41(2):133–5. DOI: 10.1007/s00281-018-00728-x.
- Ковальзон В.М., Латышкова А.А., Комарова А.Д., Панчин Ю.В. Ритмы активности–покоя и температуры у мышей, нокаутных по гену *Panx1*. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2018;104(11):1325–1330. DOI: 10.1134/S0869813918110067. Kovalzon VM, Latyshkova AA, Komarova AD, Panchin YuV. Rest–activity and body temperature rhythms in *Panx1*. Russian Journal of Physiology. 2018;104(11):1325–1330 (In Russ.). DOI: 10.1134/S0869813918110067.
- Gordon CJ. The mouse: An “average” homeotherm. J Therm Biol. 2012;37(4):286–90. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2011.06.008.
- Petrone P, Asensio JA, Marini CP. Management of accidental hypothermia and cold injury. Curr Probl Surg. 2014;51(10):417–31. DOI: 10.1067/j.cpsurg.2014.07.004.
- Ivanov KP, Arokina NK. Maintenance of the cardiovascular function in a deeply cooled homeothermic organism by physiological methods without external rewarming. Bull Exp Biol Med. 2016;160(4):407–9. DOI: 10.1007/s10517-016-3182-z.
- Graham TE. Thermal, metabolic, and cardiovascular changes in men and women during cold stress. Med Sci Sports Exerc. 1988;20(5 Suppl):S185–92. DOI: 10.1249/00005768-198810001-00017.
- Jeong JY, Lee DH, Kang SS. Effects of chronic restraint stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. Endocrinol Metab (Seoul). 2013;28(4):288–96. DOI: 10.3803/EnM.2013.28.4.288.
- Zhu P, Zhang ZH, Huang XF, Shi YC, Khandekar N, Yang HQ et al. Cold exposure promotes obesity and impairs glucose homeostasis in mice subjected to a high-fat diet. Mol Med Rep. 2018;18(4):3923–31. DOI: 10.3892/mmr.2018.9382.
- Restell TI, Porfirio LC, de Souza AS, Silva IS. Hematology of Swiss mice (*Mus musculus*) of both genders and different ages. Acta Cir Bras. 2014;29(5):306–12. DOI: 10.1590/S0102-86502014000500004.
- He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J et al. Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. PLoS One. 2017;12(12):e0189837. DOI: 10.1371/journal.pone.0189837.
- Лычева Н.А., Шахматов И.И. Общее непреднамеренное переохлаждение как угроза развития тромбоза у крыс. Казанский медицинский журнал. 2014;95(3):385–388. DOI: 10.17816/KMJ1520. Lycheva NA, Shakhmatov II. General casual hypothermia as a threat of thrombosis in rats. Kazan Medical Journal. 2014;95(3):385–388 (In Russ.). DOI: 10.17816/KMJ1520.
- Гао Ю., Постовалова Е.А., Добрынина М.Т., Макарова О.В. Половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови, брыжеечных лимфатических узлах и ободочной кишке при экспериментальном хроническом язвенном колите. Иммунология. 2018;39(1):32–38. DOI: 10.18821/0206-4952. Gao Y, Postovalova EA, Dobrynina MT, Makarova OV. Sex differences of subpopulation composition of lymphocytes in the peripheral blood, mesenteric lymph nodes and colon in experimental chronic ulcerative colitis. Immunology. 2018;39(1):32–38 (In Russ.). DOI: 10.18821/0206-4952.
- Dzhalilova DSh, Kosyreva AM, Tsvetkov IS, Zolotova NA, Mkhitarov VA, Mikhailova LP et al. Morphological and functional peculiarities of the immune system of male and female rats with different hypoxic resistance. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2020;169:825–830. DOI: 10.1007/s10517-020-04989-1.
- Afshan G, Afzal N, Qureshi S. CD4+CD25(hi) regulatory T cells in healthy males and females mediate gender difference in the prevalence of autoimmune diseases. Clin Lab. 2012;58(5–6):567–71. PMID: 22783590.
- Walecki M, Eisel F, Klug J, Baal N, Paradowska-Dogan A, Wahle E et al. Androgen receptor modulates Foxp3 expression in CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T-cells. Mol Biol Cell. 2015;26(15):2845–57. DOI: 10.1091/mbc.E14-08-1323.
- Prieto GA, Rosenstein Y. Oestradiol potentiates the suppressive function of human CD4 CD25 regulatory T-cells by promoting their proliferation. Immunology. 2006;118:58–65. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02339.x.
- Weinberg A, Enomoto L, Marcus R, Canniff J. Effect of menstrual cycle variation in female sex hormones on cellular immunity and

- regulation. *J Reprod Immunol.* 2011;89(1):70–7. DOI: 10.1016/j.jri.2010.11.009.
28. *Tournier JN, Mathieu J, Mailfert Y, Multon E, Drouet C, Jouan A et al.* Chronic restraint stress induces severe disruption of the T-cell specific response to tetanus toxin vaccine. *Immunology.* 2001;102(1):87–93. DOI 10.1046/j.1365-2567.2001.01152.x.
 29. *Freier E, Weber CS, Nowotne U, Horn C, Bartels K, Meyer S et al.* Decrease of CD4⁽⁺⁾FOXP3⁽⁺⁾ T regulatory cells in the peripheral blood of human subjects undergoing a mental stressor. *Psychoneuroendocrinology.* 2010; 35(5):663–73. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.005.
 30. *Симонова Е.Ю.* Сравнительная характеристика морфофункционального состояния органов иммунной системы и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови самцов и самок крыс Вистар. *Морфологические ведомости.* 2012;1:60–66.
Simonova EYu. The comparative characteristics of the morphofunctional state of the organs of immune system and lymphocyte subsets in the peripheral blood of male and female Wistar rats. *Morphological Newsletter.* 2012;1:60–66 (In Russ.).
 31. *Gruver AL, Sempowski GD.* Cytokines, leptin, and stress-induced thymic atrophy. *J Leukoc Biol.* 2008;84(4):915–23. DOI: 10.1189/jlb.0108025.
 32. *Domínguez-Gerpe L, Rey-Méndez M.* Alterations induced by chronic stress in lymphocyte subsets of blood and primary and secondary immune organs of mice. *BMC Immunol.* 2001;2:7. DOI: 10.1186/1471-2172-2-7.
 33. *Гармаева Д.К., Белолобская Д.С., Федорова А.И., Аржакова Л.И., Афанасьева О.Г.* Влияние холодового стресса на морфофункциональные показатели тимуса в эксперименте. *Морфологические ведомости.* 2019;27(2):19–23. DOI: 10.20340/mv-mn.19(27).02.19-23.
Garmaeva DK, Belolyubskaya DS, Fedorova AI, Arzhakova LI, Afanasyeva OG. The effect of the cold stress on morphological and functional parameters of the thymus in the experiment. *Morphological Newsletter.* 2019; 27(2):19–23 (In Russ.). DOI: 10.20340/mv-mn.19(27).02.19-23.
 34. *Гао Ю., Добрынина М.Т.* Морфологическая характеристика слизистой оболочки ободочной кишки у половозрелых самцов и самок мышей C57Bl/6. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2015;4(3):36. DOI: 10.18499/2225-7357-2015-4-3-36-36.
Gao Y, Dobrynina MT. Morphological characteristics of the mucous membrane of the colon in adult male and female C57Bl/6 mice. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2015;4(3):36 (In Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2015-4-3-36-36.
 35. *Абдулаева С.О.* Морфологические изменения слизистой оболочки толстой кишки мышей Balb/c и C57Bl/6 при холодовом воздействии. В сб.: *Материалы конференции «Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты».* Москва, 2011. С. 2–4.
Abdulaeva SO. Morphological changes in the colon mucosa of Balb/c and C57Bl/6 mice upon cold exposure. V sb.: *Materialy konferencii «Citomorfometriya v medicine i biologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty».* Moscow, 2011. P. 2–4 (In Russ.).
 36. *Абдулаева С.О.* Морфологическая характеристика слизистой оболочки толстой кишки и микробиоты у мышей Balb/c при адаптации к холодовому воздействию. *Морфологические ведомости.* 2011;2:9–13.
Abdulaeva SO. Morphological characteristics of the intestinal mucosa layer and the change of microflora in balb/c mice during adaptation to cold exposure. *Morphological Newsletter.* 2011;2:9–13 (In Russ.).
 37. *Newmark HL, Lipkin M, Maheshwari N.* Colonic hyperplasia and hyperproliferation induced by a nutritional stress diet with four components of Western-style diet. *J Natl Cancer Inst.* 1990;82(6):491–6. DOI: 10.1093/jnci/82.6.491.
 38. *Zhou W, Suriyavirun N, Dailey MJ.* Sex differences in intestinal epithelial crypt cell proliferation. *FASEB J.* 2017;31(1S):878.2. DOI: 10.1096/fasebj.31.1_supplement.878.2.
 39. *Tutton PJ, Barkla DH.* Steroid hormones as regulators of the proliferative activity of normal and neoplastic intestinal epithelial cells (review). *Anticancer Res.* 1988;8(3):451–6. PMID: 3291747.
 40. *Dzaililova DS, Diatroptova MA, Mkhitarov VA, Diatroptov ME.* Infradian rhythms of resistance to a dissociative anesthetic in Wistar male rats under normal conditions and after surgical removal of the adrenal glands and testes. *Bull Exp Biol Med.* 2019;166(3):413–6. DOI: 10.1007/s10517-019-04362-x.
 41. *Kaushik S, Kaur J.* Effect of chronic cold stress on intestinal epithelial cell proliferation and inflammation in rats. *Stress.* 2005;8(3):191–7. DOI: 10.1080/10253890500245953.
 42. *Hori T, Wanibuchi H, Yano Y, Otani S, Nishikawa A, Osugi H et al.* Epithelial cell proliferation in the digestive tract induced by space restriction and water-immersion stress. *Cancer Lett.* 1998;125(1–2):141–8. DOI: 10.1016/s0304-3835(97)00504-1.
 43. *Gao X, Cao Q, Cheng Y, Zhao D, Wang Z, Yang H et al.* Chronic stress promotes colitis by disturbing the gut microbiota and triggering immune system response. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115(13):E2960–E2969. DOI: 10.1073/pnas.1720696115.

Информация об авторах

Наталья Александровна Золотова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Иван Сергеевич Цветков – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Дмитрий Николаевич Хочанский – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Джулия Шавкатовна Джалилова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Анна Михайловна Косырева – доктор биологических наук, заведующая лабораторией нейроморфологии НИИ морфологии человека.

Александра Лэовна Михайлова – студентка 4-го курса биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Лилия Петровна Михайлова – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Ольга Васильевна Макарова – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека; профессор биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Author information

Natalya A. Zolotova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-0119-9889>

Ivan S. Tsvetkov – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0003-0946-1105>

Dmitry N. Khochanskiy – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-7153-6828>

Dzhuliia Sh. Dzhailova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-1337-7160>

Anna M. Kosyreva – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Neuromorphology, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-6182-1799>

Alexandra L. Mikhailova – 4th year Student, Biology Faculty, Lomonosov Moscow State University.

<https://orcid.org/0000-0003-4022-6058>

Lilia P. Mikhailova – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-0479-8684>

Olga V. Makarova – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology; Professor of the Biology Faculty, Lomonosov Moscow State University.

<https://orcid.org/0000-0001-8581-107X>