

ЛИМФОИДНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО КАРКАСА ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ



Тен Влодимир Игоревич, Харибова Елена Александровна
Бухарский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Бухара

ЭКСПЕРИМЕНТАЛ РЕВМАТОИД АРТРИТДА ҚУЛОҚОЛДИ СЎЛАК БЕЗИНИНГ ЛИМФОИД ИНФИЛЬТРАЦИЯСИ ВА БИРИКТИРУВЧИ ТЎҚИМАЛИ КАРКАСИНИНГ РЕМОДЕЛЛАНИШИ

Тен Влодимир Игоревич, Харибова Елена Александровна
Бухоро давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.

LYMPHOID INFILTRATION AND REMODELING OF THE CONNECTIVE TISSUE FRAMEWORK OF THE PAROTID GLAND IN EXPERIMENTAL RHEUMATOID ARTHRITIS

Ten Vlodimir Igorevich, Kharibova Elena Aleksandrovna
Bukhara State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Bukhara

e-mail: info@bsmi.uz

Резюме. Лимфоид инфильтрация ва строманинг фиброз ремоделланиши тизимли аутоиммун касалликларда экзокрин безлар зарарланишининг асосий морфологик кўринишларидан ҳисобланади. Шиллиқ қаватлар билан боғлиқ лимфоид тўқима (SALT) ҳамда экспериментал ревматоид артритда қулоқолди сўлак бези бириктирувчи тўқимали каркасининг қайта қурилишини миқдорий баҳолаш масалалари етарлича ўрганилмаган. Мақсад. Экспериментал моделлаштирилган ревматоид артритда каламушлар қулоқолди сўлак безида лимфоид инфильтрация ва бириктирувчи тўқимали каркас ремоделланишининг ўзига хос хусусиятларини аниқлаш. Материаллар ва усуллар. Экспериментал тадқиқот 4 ойлик 80 та оқ зотсиз каламушларда ўтказилиб, улар назорат ва экспериментал гуруҳларга ажратилди. Экспериментал гуруҳда адъювант артрит тўлиқ Фрейн адъюванти ёрдамида моделлаштирилди ва ҳайвонлар экспериментнинг 35-кунни тажрибадан чиқарилди. Стандартлаштирилган кесма майдонида SALT тузилмалари таркибидаги лимфоид қатор ҳужайралари сони ҳисобланди. Морфологик фаоллик индекси (МФИ, Focus score) лимфогистиоцитар инфильтрация ўчоқлари (>50 та ҳужайра) сонининг паренхима майдонида нисбати сифатида аниқланди. Бириктирувчи тўқима компоненти Ван-Гизон усули ва толудин кўки билан бўяш орқали баҳоланди, строманинг ҳужайравий ва толали элементлари нисбати ҳисобланди. Статистик таҳлил Стъюдентнинг t-мезони ёрдамида SPSS Statistics 26.0 дастурида амалга оширилди; $p < 0,05$. Натижалар. SALT тузилмаларида лимфоид қатор ҳужайралари сони назорат гуруҳидаги 127 тадан экспериментал гуруҳда 259 тагача ошди (+132 та ҳужайра; $p < 0,05$). Морфологик фаоллик индекси йирик, ўзаро қўшилиб кетувчи лимфогистиоцитар инфильтрация ўчоқлари (ҳар бир ўчоқда 129–134 тагача ҳужайра) шаклланиши ҳисобига 6,6 дан 4,7 гача камайди. Бириктирувчи тўқиманинг ҳужайравий ва толали элементлари нисбати назорат гуруҳидаги 1:1 дан экспериментал гуруҳда коллаген толалари устунлиги билан 1:3 гача ўзгарди. Бу ҳолат без капсуласи қалинлигининг $11,3 \pm 0,7$ дан $15,5 \pm 0,13$ мкм гача ва бўлакчалараро тўсиқлар қалинлигининг $29,7 \pm 1,4$ дан $35,75 \pm 1,53$ мкм гача ошиши билан кечди. Толудин кўки билан бўялганда экспериментал гуруҳда семиз ҳужайралар гранулаларининг яққол метахромазияси аниқланди. Хулосалар. Экспериментал ревматоид артрит қулоқолди сўлак безида маҳаллий иммун жавобнинг фаоллашувига олиб келади. Бу SALT таркибидаги лимфоид қатор ҳужайралари сонининг икки барабар ортиши ва морфологик фаоллик индексининг пасайиши билан намоён бўлади. Шу билан бирга, стромал каркасининг прогрессив фиброз қайта қурилиши кузатилиб, унда толали компонентнинг ҳужайравий компонентга нисбатан уч барабар устунлиги қайд этилади.

Калим сўзлар: ревматоид артрит; қулоқолди сўлак бези; лимфоид инфильтрация; SALT; морфологик фаоллик индекси; Focus score; бириктирувчи тўқима; семиз ҳужайралар; адъювант артрит.

Abstract. Lymphoid infiltration and fibrotic remodeling of the stroma are key morphological manifestations of exocrine gland involvement in systemic autoimmune diseases. Quantitative characterization of salivary gland-associated lymphoid tissue (SALT) and remodeling of the connective tissue framework of the parotid gland in experimental rheumatoid

arthritis remains insufficiently studied. Objective. To determine the characteristics of lymphoid infiltration and remodeling of the connective tissue framework of the parotid gland in rats with experimentally induced rheumatoid arthritis. Materials and Methods. This experimental study included 80 four-month-old outbred white rats divided into control and experimental groups. In the experimental group, adjuvant-induced arthritis was modeled using complete Freund's adjuvant, and the animals were euthanized on day 35 of the experiment. The number of lymphoid cells within SALT structures was counted over a standardized tissue section area. The morphological activity index (MAI, Focus score) was calculated as the ratio of the number of lymphohistiocytic infiltration foci (>50 cells) to the parenchymal area. The connective tissue component was assessed using Van Gieson's staining and toluidine blue staining, followed by calculation of the ratio between cellular and fibrous components of the stroma. Statistical analysis was performed using Student's *t*-test in SPSS Statistics 26.0; differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Results. The number of lymphoid cells within SALT structures increased from 127 in the control group to 259 in the experimental group ($+132$ cells; $p < 0.05$). The morphological activity index decreased from 6.6 to 4.7 due to the formation of large, confluent foci of lymphohistiocytic infiltration containing up to 129–134 cells per focus. The ratio of cellular to fibrous connective tissue components shifted from 1:1 in the control group to 1:3 in the experimental group, indicating a marked predominance of collagen fibers. These changes were accompanied by an increase in the thickness of the gland capsule from 11.3 ± 0.7 to 15.5 ± 0.13 μm and of the interlobular septa from 29.7 ± 1.4 to 35.75 ± 1.53 μm . Toluidine blue staining revealed pronounced metachromasia of mast cell granules in the experimental group. Conclusions. Experimental rheumatoid arthritis induces activation of the local immune response in the parotid gland, manifested by an approximately twofold increase in the number of lymphoid cells within SALT structures despite a decrease in the morphological activity index. These alterations are accompanied by progressive fibrotic remodeling of the stromal framework, with a threefold predominance of the fibrous component over the cellular component.

Keywords: rheumatoid arthritis; parotid gland; lymphoid infiltration; SALT; morphological activity index; Focus score; connective tissue; mast cells; adjuvant-induced arthritis.

Введение. Морфологической основой поражения экзокринных желёз при системных аутоиммунных заболеваниях является формирование очаговой лимфоцитарной инфильтрации железистой ткани - процесс, наиболее детально изученный при синдроме Шёгрена, где количественная оценка лимфоидных очагов (индекс морфологической активности, или Focus score) остаётся золотым стандартом гистологической диагностики [1, 2]. Focus score рассчитывается как число лимфоцитарных фокусов, содержащих не менее 50 клеток, на площади 4 мм² железистой ткани; значение показателя ≥ 1 признано диагностическим критерием аутоиммунного поражения слюнных желёз [1]. Установлено, что более высокие значения Focus score ассоциированы с повышенным риском В-клеточных лимфопролиферативных осложнений, что подчёркивает клиническую значимость данного морфометрического параметра [3]. Совершенствование методики подсчёта, включая увеличение числа исследуемых желёз, позволяет повысить диагностическую точность и воспроизводимость измерения индекса морфологической активности [4].

Ревматоидный артрит, являясь системным аутоиммунным заболеванием, нередко сопровождается вторичным поражением слюнных желёз по механизмам, во многом сходным с первичным синдромом Шёгрена, включая формирование очаговой лимфоидной инфильтрации и последующее фиброзное ремоделирование стромы [2]. Особая роль в развитии фиброза принадлежит тучным клеткам: показано, что данные клетки способствуют отложению компонентов внеклеточного матрикса и активации фибробластов посредством секреции триптазы, химазы и трансформирующе-

го фактора роста- β , стимулирующих дифференцировку фибробластов в миофибробласты и синтез коллагена [5, 6]. Дегрануляция тучных клеток с высвобождением провоспалительных медиаторов рассматривается как важный компонент тканевого ремоделирования при хронических воспалительных процессах различной локализации [7].

Несмотря на значительный объём данных о лимфоидной инфильтрации и фиброзе экзокринных желёз при первичном синдроме Шёгрена, количественная характеристика лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (SALT), индекса морфологической активности и стромального ремоделирования околоушной слюнной железы именно при ревматоидном артрите в эксперименте остаётся ограниченной, что определило цель настоящего исследования.

Цель исследования. Определить особенности лимфоидной инфильтрации и ремоделирования соединительнотканного каркаса околоушной слюнной железы крыс при экспериментально моделированном ревматоидном артрите.

Материалы и методы. Дизайн и объект исследования. Экспериментальное исследование выполнено на 80 белых беспородных крысах 4-месячного возраста массой 180–200 г, разделённых на контрольную и экспериментальную группы. Моделирование ревматоидного артрита осуществляли однократным подкожным введением 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда в основание хвоста; выведение из эксперимента - на 35-е сутки под эфирным наркозом.

Оценка лимфоидной инфильтрации (SALT). На гистологических препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином (увеличение $\times 40$), подсчитывали количество клеток лимфоидного

ряда в лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (SALT), на стандартизированной площади среза (около 1,7–1,8 млн пкс²).

Определение индекса морфологической активности. При увеличении $\times 40$ подсчитывали число очагов лимфогистиоцитарного воспаления, содержащих более 50 клеток, и измеряли площадь паренхимы среза (мм²). Индекс морфологической активности (ИМА, Focus score) рассчитывали по формуле $\text{ИМА} = (N \times 4 \text{ мм}^2) / S$, где N - количество очагов, S - общая площадь паренхимы.

Оценка соединительнотканного компонента. Волокнистые структуры стромы выявляли окраской по Ван-Гизону (коллагеновые волокна - красный цвет, мышечные волокна и эритроциты - жёлтый); тучные клетки и метакроматические структуры - окраской толудиновым синим. Определяли визуальное соотношение клеточных и волокнистых элементов в рыхлой и плотной соединительной ткани стромы железы.

Результаты. На поперечных срезах ацинусов околоушной железы крыс контрольной группы клетки лимфоидного ряда в структурах SALT выявлялись в ограниченном количестве: на стандартизированной площади среза (1 754 943 пкс²) было подсчитано 127 клеток. Ткань железы имела упорядоченную дольчатую архитектуру с чётко контурированными ацинусами.

В экспериментальной группе на аналогичной по площади зоне (1 697 941 пкс²) количество клеток лимфоидного ряда возросло до 259, то есть на 132 клетки больше, чем в контроле ($p < 0,05$). При морфометрической оценке очагов лимфогистиоцитарной инфильтрации в паренхиме железы экспериментальной группы (площадь паренхимы $2356 \pm 51,23 \text{ мкм}^2$) выявлено 4 инфильтративных очага с числом клеток от 31 до 129 в очаге; индекс морфологической активности для данного микропрепарата составил 6,6. При исследовании другого препарата (площадь паренхимы $2511 \pm 33,15 \text{ мкм}^2$) обнаружено 3 очага с числом клеток от 59 до 134; индекс морфологической активности составил 4,7, что в среднем ниже показателя контрольной группы (табл. 1).

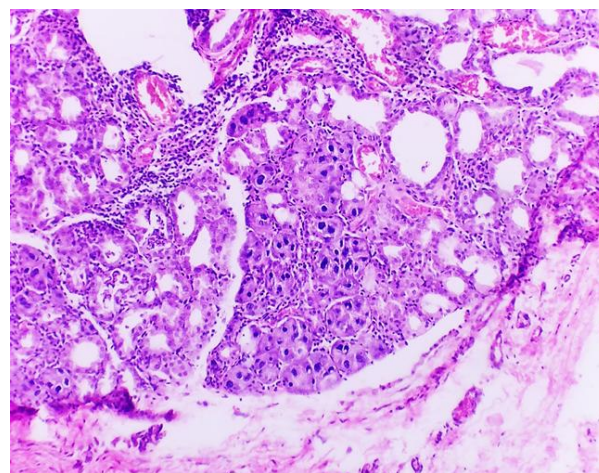


Рис. 1. Очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации в паренхиме околоушной слюнной железы крысы экспериментальной группы (обведены), клетки лимфоидного ряда SALT. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 40$

Помимо количественных изменений лимфоидного компонента, при морфологическом исследовании ацинарных структур экспериментальной группы отмечено увеличение числа двух- и многоядерных ацинарных клеток, а также появление ядер различных размеров - признаки, свидетельствующие о нарушении регуляции клеточного цикла на фоне хронического воспаления.

Анализ соединительнотканного каркаса выявил выраженное ремоделирование стромы железы. В контрольной группе соотношение клеточных элементов и межклеточного вещества в рыхлой соединительной ткани приближалось к 1:1, что характерно для нормально функционирующей стромы. В экспериментальной группе в плотной соединительной ткани данное соотношение сместилось до 1:3 в пользу волокнистых структур, что указывает на значительное увеличение содержания коллагеновых волокон. Указанные изменения сопровождались утолщением капсулы железы (с $11,3 \pm 0,7$ до $15,5 \pm 0,13 \text{ мкм}$) и междольковых перегородок (с $29,7 \pm 1,4$ до $35,75 \pm 1,53 \text{ мкм}$) (табл. 2).

Таблица 1. Показатели лимфоидной инфильтрации околоушной слюнной железы крыс контрольной и экспериментальной групп

Показатель	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Количество клеток лимфоидного ряда (SALT)	127	259*
Прирост клеток лимфоидного ряда, абс.	-	+132
Индекс морфологической активности (ИМА, Focus score)	6,6	4,7*
Соотношение клеток и межклеточного вещества	$\approx 1:1$	1:3 (в пользу волокон)*

Примечание. * - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). SALT - лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками; ИМА - индекс морфологической активности (Focus score)

Таблица 2. Показатели ремоделирования соединительнотканного каркаса околоушной слюнной железы крыс контрольной и экспериментальной групп

Показатель соединительной ткани	Контроль	Эксперимент
Толщина капсулы железы, мкм	11,3±0,7	15,5±0,13*
Толщина междольковых перегородок, мкм	29,7±1,4	35,75±1,53*
Соотношение клетки:волокна в строме	1:1	1:3*
Метахромазия тучных клеток (толуидиновый синий)	единичные клетки	выраженная*

Примечание. * - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

При окраске по Ван-Гизону в экспериментальной группе выявлено увеличение количества жировых клеток, разрастание соединительной ткани (окрашенной в красный цвет) вокруг междольковых выводных протоков с формированием кистоподобных структур. Дополнительное гистохимическое исследование с использованием метахроматического окрашивания толуидиновым синим позволило выявить признаки дезорганизации соединительнотканых компонентов: ядра клеток и базофильные структуры цитоплазмы приобретали интенсивный синий цвет, тогда как гранулы тучных клеток окрашивались в характерный фиолетовый оттенок (метахромазия), что было существенно более выражено в экспериментальной группе по сравнению с контролем (рис. 2).

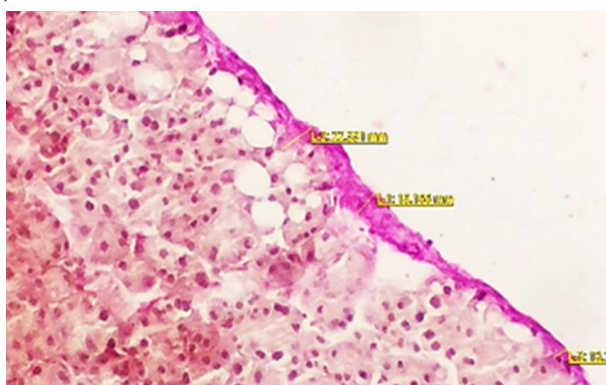


Рис. 2. Плотная соединительная ткань стромы околоушной слюнной железы крысы экспериментальной группы: коллагеновые волокна (красный цвет), фибробласты и адипоциты. Окраска по Ван-Гизону, $\times 100$

Обсуждение. Двукратное увеличение количества клеток лимфоидного ряда в структурах SALT при экспериментальном ревматоидном артрите согласуется с общепризнанной концепцией об очаговой лимфоцитарной инфильтрации как морфологической основе аутоиммунного поражения экзокринных желёз, детально разработанной применительно к синдрому Шёгрена, при котором лимфоцитарные фокусы локализуются периваскулярно и перидуктально с преобладанием CD4⁺ Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов [1, 2].

Снижение индекса морфологической активности (Focus score) в экспериментальной группе, несмотря на увеличение абсолютного количества лимфоидных клеток, объясняется мето-

дологической особенностью расчёта показателя: укрупнение отдельных очагов (до 129–134 клеток) при одновременном уменьшении общей площади сохранной паренхимы приводит к снижению итогового индекса, рассчитываемого на стандартизированную площадь. Данная закономерность согласуется с клиническими наблюдениями, согласно которым величина Focus score отражает не только интенсивность локальной инфильтрации, но и степень редукции функционирующей паренхимы, а более высокие значения показателя ассоциированы с повышенным риском лимфопролиферативных осложнений при хронических аутоиммунных сиаладенитах [3]. Усовершенствованные протоколы подсчёта Focus score с увеличением числа исследуемых желёз, предложенные в современной литературе, могут повысить точность подобной морфометрической оценки в будущих исследованиях [4].

Смещение соотношения клеточных и волокнистых элементов стромы с 1:1 до 1:3 в пользу коллагеновых волокон, наряду с утолщением капсулы и междольковых перегородок железы, отражает развитие прогрессирующего фиброза - универсального морфологического ответа железистой ткани на хроническое воспаление. Выявленная выраженная метахромазия тучных клеток при окраске толуидиновым синим в экспериментальной группе указывает на их активное участие в данном процессе: согласно современным данным, тучные клетки способствуют фиброзу ремоделированию тканей за счёт секреции триптазы и химазы, активирующих дифференцировку фибробластов в миофибробласты и стимулирующих отложение компонентов внеклеточного матрикса через TGF- β -опосредованный механизм [5, 6]. Дегрануляция тучных клеток с высвобождением широкого спектра медиаторов воспаления представляет собой универсальный механизм тканевого ремоделирования, реализующийся при различной локализации хронического аутоиммунного и воспалительного процесса [7].

Ограничения исследования. Отсутствие иммуногистохимического фенотипирования лимфоидного инфильтрата (субпопуляции Т- и В-лимфоцитов) не позволяет детализировать клеточный состав очагов воспаления; однократная временная точка исследования ограничивает оценку динамики фиброзного процесса.

Выводы:

1. Экспериментальный ревматоидный артрит вызывает двукратное увеличение количества клеток лимфоидного ряда в структурах SALT околоушной слюнной железы (со 127 до 259 клеток; $p < 0,05$), что отражает активацию местного иммунного ответа.

2. Индекс морфологической активности (Focus score) снижается с 6,6 до 4,7 за счёт формирования крупных сливающихся очагов лимфоцитарной инфильтрации на фоне редукции сохранной паренхимы железы.

3. Соотношение клеточных и волокнистых элементов соединительнотканной стромы смещается с 1:1 до 1:3 в пользу коллагеновых волокон, что сопровождается утолщением капсулы железы на 37% и междольковых перегородок на 20%.

4. Выраженная метахромазия тучных клеток при окраске толудиновым синим в экспериментальной группе свидетельствует об их активном участии в фиброзном remodelировании стромы околоушной слюнной железы при ревматоидном артрите.

Литература:

1. Bueno G., Bot I., Kanhai A.A., Stilhano R., Libby P., De Meyer G.R.Y., et al. Mast cells in cardiovascular disease: fibrosis, angiogenesis and atherogenesis // *Progress in Cardiovascular Diseases*. – 2026. – Vol. 94. – P. 113–134.
2. Chatzis L., Goules A.V., Pezoulas V., Baldini C., Gandolfo S., Skopouli F.N., et al. A biomarker for lymphoma development in Sjögren's syndrome: salivary gland focus score // *Journal of Autoimmunity*. – 2021. – Vol. 121. – Art. 102648.
3. Fujimoto S., Niino H. Pathogenic role of cytokines in rheumatoid arthritis // *Journal of Clinical Medicine*. – 2025. – Vol. 14, No. 18. – Art. 6409.
4. Legere S.A., Haidl I.D., Légaré J.-F., Marshall J.S. Mast cells in cardiac fibrosis: new insights suggest opportunities for intervention // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 580.
5. Liao R., Yang H.-T., Li H., Liu L.-X., Li K., Li J.-J., et al. Recent advances of salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome // *Frontiers in Medicine (Lansanne)*. – 2022. – Vol. 8. – Art. 792593.
6. Tanaka S., Van Overveld F.J. Editorial: novel insights into inflammatory roles of mast cells and basophils // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1186264.
7. Tryposkiadis K., Nayar S., Pucino V., Smith C.G., Brown R.M., Bates T., et al. Increasing the number of minor salivary glands from patients with Sjögren's disease improves the diagnostic and measurement precision of the histological focus score // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2025. – Vol. 84, No. 4. – P. 601–608.

ЛИМФОИДНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО КАРКАСА ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Тен В.И., Харибова Е.А.

Резюме. Лимфоидная инфильтрация и фиброзное remodelирование стромы являются ключевыми морфологическими проявлениями поражения экзокринных желёз при системных аутоиммунных заболеваниях. Количественная характеристика лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (SALT), и перестройки соединительнотканного каркаса околоушной слюнной железы при экспериментальном ревматоидном артрите изучена недостаточно. Цель. Определить особенности лимфоидной инфильтрации и remodelирования соединительнотканного каркаса околоушной слюнной железы крыс при экспериментально моделированном ревматоидном артрите. Материалы и методы. Экспериментальное исследование на 80 белых беспородных крысах 4-месячного возраста, разделённых на контрольную и экспериментальную (адьювантный артрит, полный адьювант Фрейнда, 35-е сутки) группы. Подсчитывали количество клеток лимфоидного ряда в структурах SALT на стандартизированной площади среза, определяли индекс морфологической активности (ИМА, Focus score) как отношение числа очагов лимфоцитарной инфильтрации (>50 клеток) к площади паренхимы. Соединительнотканый компонент оценивали окраской по Ван-Гизону и толудиновым синим с расчётом соотношения клеточных и волокнистых элементов стромы. Статистика: t -критерий Стьюдента, SPSS Statistics 26.0; $p < 0,05$. Результаты. Количество клеток лимфоидного ряда в структурах SALT увеличилось с 127 в контрольной группе до 259 в экспериментальной (+132 клетки; $p < 0,05$). Индекс морфологической активности снизился с 6,6 до 4,7 за счёт формирования крупных сливающихся очагов лимфоцитарной инфильтрации (до 129–134 клеток в очаге). Соотношение клеточных и волокнистых элементов соединительной ткани сместилось с 1:1 в контроле до 1:3 в пользу коллагеновых волокон в экспериментальной группе, что сопровождалось утолщением капсулы железы (с $11,3 \pm 0,7$ до $15,5 \pm 0,13$ мкм) и междольковых перегородок (с $29,7 \pm 1,4$ до $35,75 \pm 1,53$ мкм). При окраске толудиновым синим в экспериментальной группе выявлена выраженная метахромазия гранул тучных клеток. Выводы. Экспериментальный ревматоидный артрит вызывает активацию местного иммунного ответа околоушной слюнной железы, проявляющуюся двукратным увеличением клеток лимфоидного ряда (SALT) на фоне снижения индекса морфологической активности, а также прогрессирующую фиброзную перестройку стромального каркаса с трёхкратным преобладанием волокнистого компонента над клеточным.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; околоушная слюнная железа; лимфоидная инфильтрация; SALT; индекс морфологической активности; Focus score; соединительная ткань; тучные клетки; адьювантный артрит.