

УДК 619:636.47:(611.3+612.33)

В.В. Слесаренко
П.М. Гаврилін

д. вет. н.

Дніпропетровський державний аграрний університет

ДИНАМІКА КЛІТИННОГО СКЛАДУ ЛІМФОЇДНИХ БЛЯШОК ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ (ЗАДНЬОГО ВІДДІЛУ) У ПОРОСЯТ НЕОНАТАЛЬНОГО ТА МОЛОЧНОГО ПЕРІОДІВ

Проведено аналіз динаміки клітинного складу структурно-функціональних зон лімфоїдних бляшок заднього відділу порожньої кишки у поросят неонатального та молочного періодів. Встановлено закономірності формування цитоархітекτονіки та імунобіологічної активності лімфоїдних структур асоційованих з слизової оболонкою.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень

Створення системи оптимізації функціонування життєзабезпечуючих систем у тварин при їх інтенсивному використанні неможливе без урахування морфологічних аспектів їх росту та розвитку [1,3].

Лімфоїдна тканина слизової оболонки кишечника є першим бар'єром на дію різноманітних антигенних чинників. Особливе місце у формуванні імунологічної відповіді займають лімфоцити, які безперервно "патрулюють" в організмі у пошуках чужорідних антигенів – бактеріальних, вірусних та іншого походження. Лімфоцити слизової оболонки мігрують через стінки посткапілярних венул з високим ендотелієм зі слабкою швидкістю, що дозволяє їм проводити «імунологічний нагляд» [4–7].

Дослідження закономірностей морфогенезу і структурно-функціональних особливостей лімфоїдних утворень асоційованих зі слизовою оболонкою тонкої кишки у новонароджених тварин є на сьогоднішній день актуальними. Відсутність відомостей щодо морфологічних критеріїв становлення імунологічної реактивності організму не дає уяви про адекватне розуміння патогенезу імунодефіцитних станів у новонароджених тварин та значно ускладнює створення ефективних методів імунопрофілактики.

Мета досліджень: визначити та встановити особливості клітинного складу різних функціональних зон лімфоїдних вузликів та дифузної міжвузликової лімфоїдної тканини в лімфоїдних бляшках заднього відділу порожньої кишки у поросят неонатального та молочного періодів.

Матеріали та методи досліджень

Порожню кишку відбирали від поросят великої білої породи селекції Дніпропетровського сільськогосподарського інституту, наступних вікових груп: новонароджені, 3-, 5-, 10-, 15-, 20-, 30- та 60-добові (по 6 голів у

групі). Відібрану кишку умовно поділяли на три рівнозначні за довжиною частини: передню, середню і задню. Для гістологічних досліджень відбирали фрагменти кишки у межах розташування лімфоїдних бляшок. Із кожної бляшки вирізали сегменти, які заливали у парафін за загальноприйнятими методиками. Зрізи виготовляли на санному мікромомі МС-2, товщиною 3–5 мкм. Отримані парафінові гістозрізи забарвлювали гематоксиліном Ерліха і еозином, АзурII-еозином. Після фарбування гістозрізи промивали у проточній воді, а потім дистильованою водою по 15–25 хв у кожній, висушували фільтровальним папірцем, відмивали залишки краски в підкисленій воді оцтовою кислотою і проводили через спирти 70⁰ та 96⁰ по 30 с у кожному, висушували на повітрі та заводили у бальзам. Також проводили фарбування гістологічних зрізів за Браше на РНК та ставили ШИК-реакцію (плазматичні клітини; великі, середні та малі лімфоцити; макрофаги). Підрахунок клітин у лімфоїдних вузликах та міжвузликової дифузної лімфоїдної тканини в лімфоїдних бляшках здійснювали за допомогою мікроскопу «Olimpus» СН 20 ВІМF 200 та окулярної сітки, на кожні 100 клітин в 20 полях зору на 10 препаратах кожної вікової групи поросят за допомогою гематологічного лічильника [2]. Отримані дані обчислювали з використанням статистичних комп'ютерних програм MS Excel для обробки цифрових даних з метою визначення середньої арифметичної та її помилки, а також критерію вірогідності різниці середніх величин.

Результати власних досліджень

Серед лімфоїдних структур заднього відділу порожньої кишки, що асоційовані зі слизовою оболонкою у поросят в неонатальний та молочний періоди, на макро- та мікроскопічному рівні найбільш чітко виявляються агреговані лімфоїдні вузлики (лімфоїдні бляшки). Динаміка цитоархітектоніки лімфоїдних бляшок у поросят взаємопов'язані з віком тварин та характером локалізації їх у відповідних ділянках порожньої кишки. Лімфоїдні бляшки (ЛБ) задньої частини порожньої кишки мають видовжену форму та тенденцію до збільшення за шириною у каудальному напрямку, займають практично 2/3 частини площі всієї кишки. ЛБ заднього відділу порожньої кишки у поросят складаються із первинних та вторинних лімфоїдних вузликів (ЛВ). Серед лімфоїдних вузликів знаходиться парафолікулярна лімфоїдна тканина або міжвузликова дифузна лімфоїдна тканина (МДЛТ), яка відноситься до Т-залежної зони. Лімфоїдні вузлики розташовані в один ряд і локалізуються переважно у підслизовій основі. На перших етапах розвитку лімфоїдної тканини тонкої кишки з'являються вогнищеві скупчення дифузної лімфоїдної тканини – передвузлики, які представлені скупченням малих лімфоцитів навколо кровоносних капілярів з високим ендотелієм.

У новонароджених поросят задня частина порожньої кишки характеризується стовідсотковою наявністю у ЛБ первинних лімфоїдних

вузликів від загальної кількості всіх ЛВ бляшки. Переважна більшість клітин первинних ЛВ належить малим лімфоцитам – 85,8 %. Вміст середніх та великих лімфоцитів, макрофагів і ретикулярних клітин у ЛВ задньої частини порожньої кишки новонароджених поросят мінімальний, а плазматичні клітини не виявляються. Клітинний склад МДЛТ лімфоїдної бляшки заднього відділу порожньої кишки дещо відрізняється від ЛВ. Максимальна відносна кількість клітин приходить на малі (34,8 %) та середні (30,4 %) лімфоцити. Вміст великих лімфоцитів складає 22,4 % від загальної кількості клітин у ЛВ. Кількість плазматичних клітин мінімальна, макрофагів – досягає 3,0 %, що залишається без суттєвих змін до 5-ої доби, ретикулярних клітин – 6,4 %.

У лімфоїдних бляшках задньої частини порожньої кишки 3-добових поросят вперше з'являються вторинні ЛВ і які складають 18,4 % від їх загальної кількості, а решта припадає на первинні. Первинні ЛВ складаються на 84,8 % з малих лімфоцитів, кількість інших клітин незначна. Плазматичні клітини вперше виявлені на периферії самих вузликів в кількості 1,3 %. Серед клітин лімфоїдного ряду вторинних ЛВ значний відсоток клітин (77,4 %) припадає на малі лімфоцити, відносна кількість середніх та великих лімфоцитів не перевищує 7%. Ретикулярні клітини у гермінативних центрах вторинних ЛВ складають 7,2 %. При цьому кількість плазматичних і макрофагів мінімальна і становить 1% та 2% відповідно. Клітинний склад МДЛТ відрізняється збільшенням вмісту середніх (35,2 %) та зменшенням малих і великих лімфоцитів. Кількість ретикулярних клітин не перевищує 8,5 %. На відміну від ЛВ у МДЛТ знаходиться більша кількість плазматичних, вміст яких поступово зростає і становить 2 %. Також відмічена наявність інших клітин, серед яких є паличко- та сегментоядерні нейтрофіли, еозинофіли, вміст яких не перевищує 1–2 %.

На 5 добу в задньому відділі порожньої кишки у поросят динаміка клітинного складу, як первинних так і вторинних ЛВ, характеризується поступовим зростанням відносної кількості середніх та великих лімфоцитів на тлі помірного зменшення малих (див. табл. 1). У первинних ЛВ лімфоїдних бляшок вміст макрофагальних клітин збільшується у 1,5 раза, вторинних – 1,6 раза, які знаходяться на периферії вузлика. Плазматичні клітини у первинних та вторинних ЛВ зростають ледве помітно. Їх кількість не перевищує 1,3 %. У МДЛТ серед клітин лімфоїдного ряду зберігається попередня тенденція. Відсоток плазматичних клітин у МДЛТ зростає в 1,5 раза (див. табл. 2). Вміст макрофагів у функціональних зонах МДЛТ бляшки збільшується вдвічі. Кількість ретикулярних клітин залишається без змін.

До 10 добового віку зберігається попередня тенденція цитоархітектоніки ЛВ та МДЛТ у лімфоїдних бляшках. У первинних ЛВ заднього відділу порожньої кишки знаходиться 1,8 % плазматичних клітин та 2,6 % макрофагів, які локалізуються у верхній частині вузлика, ближче

до м'язової пластинки. У вторинних ЛВ незначно зменшується вміст макрофагів і збільшується вміст плазматичних клітин (у 1,3 раза). Збільшується кількість макрофагів у МДЛТ в 1,5 раза, а вміст плазмоцитів залишається без суттєвих змін.

На 15-ту добу відбувається перерозподіл між первинними та вторинними ЛВ, їх кількість практично вирівнюється, з подальшим збільшенням кількості ЛВ з центрами розмноження, які займають центральну частину, а первинні ЛВ знаходяться переважно по периферії лімфоїдної бляшки. Купол вторинних ЛВ виходить у власну пластинку слизової оболонки і відмічається міграція лімфоцитів у епітеліальний шар. Первинні ЛВ характеризуються відсутністю певних змін. У вторинних ЛВ зменшується відсоток середніх лімфоцитів (у 1,1 раза) та макрофагів (у 1,2 раза). Зберігають свою сталість вміст плазмоцитів та ретикулярних клітин у МДЛТ задньої частини порожньої кишки. Однак слід відмітити зменшення вмісту макрофагів у власній пластинці (у 1,4 раза).

Таблиця 1. Клітинний склад лімфоїдних вузликів у лімфоїдних бляшках заднього відділу порожньої кишки, %

| Вікові групи поросят, доба | | Лімфоцити | | | Плазматичні клітини | Макрофаги | Ретикулярні клітини |
|----------------------------|-----|--------------|--------------|--------------|---------------------|------------|---------------------|
| | | малі | середні | великі | | | |
| Новонароджені | ПЛВ | 85,8±0,58 | 5,4±0,51 | 1,8±0,37 | 0 | 1,0±0,32 | 2,2±0,37 |
| | ВЛВ | - | - | - | - | - | - |
| 3 | ПЛВ | 84,8±0,80 | 5,8±0,58 | 3,0±0,45** | 1,3±0,48 | 1,2±0,20 | 3,0±0,45 |
| | ВЛВ | 77,4±0,51* | 6,4±0,60 | 6,6±0,61** | 1,0±0,32 | 2,0±0,45 | 7,2±0,86 |
| 5 | ПЛВ | 75,0±0,77*** | 6,2±0,37 | 5,6±0,40*** | 1,4±0,24 | 1,8±0,37 | 6,8±0,66*** |
| | ВЛВ | 71,6±0,75*** | 8,0±0,71** | 7,2±0,58 | 1,2±0,20 | 3,2±0,58** | 9,4±0,51** |
| 10 | ПЛВ | 73,6±0,24 | 7,0±0,32 | 5,8±0,58 | 1,8±0,20 | 2,6±0,24 | 6,8±0,58 |
| | ВЛВ | 66,8±0,58*** | 9,4±0,75 | 8,4±0,51*** | 1,6±0,24 | 3,0±0,45 | 10,0±0,71 |
| 15 | ПЛВ | 71,6±0,75** | 7,4±0,68 | 5,4±0,51 | 2,0±0,32 | 2,8±0,37 | 8,2±0,73** |
| | ВЛВ | 62,6±0,40*** | 8,6±0,75 | 12,2±0,66* | 1,8±0,37 | 2,5±0,60 | 10,6±0,67 |
| 20 | ПЛВ | 67,2±0,58*** | 8,6±0,51 | 6,2±0,37 | 1,6±0,24 | 3,0±0,45 | 9,0±0,71 |
| | ВЛВ | 56,2±0,58*** | 10,0±0,71 | 15,4±0,75 | 2,6±0,51 | 3,8±0,37 | 10,8±0,73 |
| 30 | ПЛВ | 67,4±0,51* | 9,8±0,49 | 7,0±0,55 | 1,8±0,20 | 3,2±0,58 | 10,8±0,58** |
| | ВЛВ | 51,6±0,74*** | 15,4±0,40*** | 11,0±0,71*** | 2,8±0,49 | 3,6±0,68 | 13,2±0,66** |
| 60 | ПЛВ | 65,6±0,40** | 9,2±0,58 | 6,4±0,60 | 2,0±0,57 | 3,4±0,24 | 8,2±0,37 |
| | ВЛВ | 49,0±0,71** | 17,8±0,80* | 10,2±0,73 | 2,0±0,32 | 4,2±0,80 | 13,6±0,75 |

* P ≤ 0,01; ** P ≤ 0,05; *** P ≤ 0,001;

Серед первинних ЛВ порожньої кишки у задній частині 20-добових поросят дещо збільшується кількість великих лімфоцитів (у 1,1 раза). В мантиї первинних вузликів також спостерігається зростання відносної кількості макрофагів (3 %), що залишається відносно сталою до 60-ої доби. Вміст плазматичних клітин зменшується (у 1,2 раза). У вторинних ЛВ зберігається сталість відносної кількості ретикулярних клітин (10,8 %) і збільшується вміст середніх лімфоцитів (у 1,1 раза). Відносна кількість

плазматичних клітин і макрофагів збільшується в 1,4 і 1,5 раза відповідно. Серед МДЛТ відбувається збільшення вмісту малих лімфоцитів (28,4 %) та зменшення середніх – 40,4 %. Зменшується відсоток макрофагів серед клітин МДЛТ, а кількість плазматичних клітин не змінюється. Серед клітин МДЛТ зростає вміст ретикулярних клітин (8,2 %), що залишається без суттєвих змін до кінця молочного періоду у поросят.

У 30 добових поросят серед лімфоїдних клітин первинних ЛВ задньої частини порожньої кишки переважають малі лімфоцити (67,4 %), а вміст середніх і великих лімфоцитів – збільшується. У первинних ЛВ зростає вміст плазматичних клітин. Вторинні ЛВ відрізняються зростанням кількості середніх лімфоцитів (у 1,5 раза) та зменшенням великих лімфоцитів (у 1,4 раза), як у зоні розмноження ЛВ так і в мантийній зоні. Збільшується частка ретикулярних клітин у гермінативних центрах ЛВ (у 1,2 раза). МДЛТ характеризується зменшенням відсотку малих лімфоцитів у 1,1 раза. Зменшується вміст макрофагів МДЛТ у 1,3 раза, які знаходяться у власній пластинці. Відносна кількість плазматичних клітин у МДЛТ залишається без суттєвих змін до кінця молочного періоду.

Таблиця 2. Клітинний склад ДЛТ у лімфоїдних бляшках заднього відділу порожньої кишки, %

| Вікові групи поросят, доба | Лімфоцити | | | Плазматичні клітини | Макрофаги | Ретикулярні клітини |
|----------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------------|------------|---------------------|
| | малі | середні | великі | | | |
| Новонароджені | 34,8±0,66 | 30,4±0,40 | 22,4±0,75 | 1,7±0,57 | 3,0±0,63 | 6,4±0,68 |
| 3 | 31,8±0,37* | 35,2±0,58*** | 17,6±0,51*** | 2,0±0,45 | 3,0±0,84 | 8,2±0,37** |
| 5 | 27,4±0,87* | 37,0±0,71** | 15,2±0,37* | 3,0±0,32** | 6,0±0,63* | 8,08±0,55 |
| 10 | 25,2±0,58** | 38,6±0,75 | 13,2±0,49* | 3,4±0,51 | 9,2±0,37* | 6,4±0,51** |
| 15 | 22,8±0,86** | 44,02±0,45*** | 11,2±0,37* | 3,6±0,40 | 6,4±0,81* | 6,6±0,60 |
| 20 | 28,4±0,51*** | 40,4±0,75* | 9,6±0,67** | 3,4±0,40 | 5,8±0,58 | 8,2±0,66 |
| 30 | 25,8±0,73** | 39,6±0,68 | 7,8±0,58** | 3,2±0,58 | 4,4±0,60** | 8,8±0,37 |
| 60 | 32,0±0,71*** | 38,4±0,40 | 7,4±0,60 | 3,4±0,68 | 4,0±0,32 | 8,0±0,58 |

* P ≤ 0,01; ** P ≤ 0,05; *** P ≤ 0,001;

На 60-ту добу у поросят у лімфоїдних бляшках вторинні ЛВ складають 75,3 % від загальної кількості ЛВ лімфоїдної бляшки, а решта припадає на первинні ЛВ. Вторинні ЛВ займають всю підслизову основу, а їх купол виходить до епітеліального шару і розташовується між ворсинками слизової оболонки. Цитоархітектоніка первинних ЛВ характеризується сталістю відносної кількості середніх лімфоцитів, на тлі помірного зменшення великих. Незначно зростає вміст плазмоцитів, який не

перевищує 2 %. Відмічено зменшення кількості ретикулярних клітин у 1,3 раза. Зміни клітинного складу вторинних ЛВ заднього відділу порожньої кишки до кінця молочного періоду у поросят характеризується подальшим зменшенням частки малих лімфоцитів (біля 49 %) та великих (10,2 %) на тлі одночасного зростання середніх (17,8 %). Відбувається незначне зменшення плазматичних клітин. Відсоток макрофагів зростає у 1,4 рази і незначно зростає вміст ретикулярних клітин. Серед клітин МДЛТ необхідно відмітити, що вміст малих лімфоцитів збільшується до 32 %. Відсоток середніх лімфоцитів зменшується, а великих, плазмоцитів, макрофагів і ретикулярних клітин – не змінюється.

У ЛВ 60-добових поросят порівняно з новонародженими у первинних ЛВ заднього відділу порожньої кишки збільшується вміст плазматичних клітин у 1,5 раза, середніх лімфоцитів у 1,7 рази і макрофагів у 3,2 раза. Кількість великих лімфоцитів зростає у 3,5 рази, а ретикулярних клітин у 3,7 рази, на тлі незначного зменшення кількості малих лімфоцитів. Серед вторинних ЛВ заднього відділу порожньої кишки відмічається зростання середніх (2,8 рази) та великих (1,5 рази) лімфоцитів, макрофагів та плазмоцитів (у 2 рази), ретикулярних клітин (у 1,9 рази) на тлі помірного зменшення відсотку малих лімфоцитів (1,7 рази). Серед клітинного складу МДЛТ зростає частка ретикулярних клітин, макрофагів та середніх лімфоцитів (у 1,3 рази). Вміст плазматичних клітин зростає (у 2 рази), але зменшується частка малих (у 1,1 рази) та великих лімфоцитів (у 3 рази).

Висновки

1. Клітинний склад функціональних зон лімфоїдних бляшок заднього відділу порожньої кишки новонароджених поросят відрізняється чітко вираженою гетерогенністю, що є наслідком пренатальної структурно-функціонального диференціювання з формуванням специфічної для кожної зони стромального мікрооточення.

2. Динаміка клітинного складу лімфоїдної паренхіми лімфоїдних бляшок задньої частини порожньої кишки у поросят на протязі неонатального та молочного періодів характерна для кожної окремої функціональної зони, що є свідченням її структурно-функціональної спеціалізації у виконанні імунобіологічної функції у період адаптації до умов поза утробного існування.

3. Наявність у лімфоїдних бляшках порожньої кишки морфологічних ознак імунокомпетентності на клітинному рівні структурної організації, починаючи з перших діб поза утробного існування, вказує на факт раннього (до закінчення молозивного та молочного періодів) становлення імунобіологічної функції слизових оболонок кишечника у даного виду продуктивних тварин.

Перспективи подальших досліджень: для поглибленого вивчення лімфоїдних структур кишечника нами планується проведення досліджень лімфоїдних структур товстої кишки на макро- та мікроскопічному рівнях у поросят неонатального та молочного періодів.

Література

1. *Афанасьев Ю.И., Ноздрин В.И., Волков Ю.Т., Квачев В.Г.* Сгруппированный лимфоидный узелок кишечника // Успіхи сучасної біології. – Том 104. – 2000. – Вип. 1(4). – С. 79–88
 2. *Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І.* Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології. Житомир: Полісся, –2005. –288 с.
 3. *Григоренко Д.Е., Сапин М.Р.* Структурная организация групповых лимфоидных узелков (пейеровых бляшек) у Байкальской нерпы // Вестн. новых мед. технологий, 2006. – Т. XIII, № 1. – С. 29–30.
 4. *Кораблева Т.Р., Барсуков Н. П.* Иммунные структуры органов пищеварения: Учебное пособие.– Симферополь. 1997.–77с.
 5. *Кораблева Т.Р.* Методи оцінки вікової динаміки змін структурних компонентів лимфоїдних образів тонкого кишечника телят // Наук. праці Полтавськ. держ. аграр. академії.– Т.2 (21).–Ветеринарні науки. – Полтава. 2002.–С.41–44
 6. *Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.* Иммунология //–М.: Мир, 2000. – С. 44–57.
 7. *Сапин М. Р., Этинген Л. Ю.* Иммуная система человека.– М.: Медицина. –1996. –304 с.
 8. *Parrott D. M. V.* The gut as a lymphoid organ // Clin. Gastroenterol.–1976. –V.5. –P. 211–228.
-
-