

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

**В. В. МАЛАШКО, А. М. КАЗЫРО, В. Л. КОВАЛЕВИЧ,  
О. А. СЕНЬКО, О. Н. ВОРОНИС**

*УО «Гродненский государственный аграрный университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь 230008; e-mail: ggau@ggau.by*

**Е. Л. МИКУЛИЧ, Д. В. МАЛАШКО**

*УО «Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции  
и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия»,  
г. Горки, Республика Беларусь, 213407*

*(Поступила в редакцию 02.04.2024)*

*Исследована структурно-функциональная организация лимфоидных элементов тонкого кишечника телят и поросят в раннем постнатальном онтогенезе. Впервые выявлены морфологические и ультраструктурные особенности развития лимфоидных структур в зависимости от возраста, отдела тонкого кишечника, при смене рациона. Выявлено увеличение тучных клеток период перехода с лактотрофного на преимущественно фитотрофное кормление – на 6–13 %. Количество плазмочитов в подслизистом слое двенадцатиперстной кишки у телят с 5- до 40-дневного возраста увеличивается на 14–24 %, в тощей кишке – на 8–17 %, в подвздошной кишке – на 11–19 %, у поросят – на 8–12 %, 9–15 % и 11–18 % соответственно. Содержание макрофагов увеличивается в тонком кишечнике у телят в среднем на 14–28 %, у поросят – на 9–18 %. Лимфоциты следует рассматривать как центральное звено в специфических иммунных реакциях, как предшественников образования антител. Среди разных категорий лимфоцитов больше всего приходилось на средние лимфоциты у телят – 12–18 %, у поросят – 8–16 %, на малые лимфоциты – 9–14 % и 7–13 % соответственно. Содержание лимфоцитов на 1000 эпителиоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у телят достигало 32–38, в тощей кишке – 42–51, в подвздошной кишке – 58–74 клетки, у поросят – 29–34, 41–47, 53–68 клеток соответственно. У телят и поросят в 3–5-дневном возрасте в 24–36 % случаев в тонком кишечнике встречались локальные (очаговые) скопления диффузной лимфоидной ткани. Их соотношение к лимфоидным узелкам без светлых центров в тощей кишке у телят составило 1:9, у поросят – 1:6, в подвздошной кишке – 1:14 и 1:11 соответственно.*

**Ключевые слова:** иммунитет, иммунокомпетентные клетки, лимфоидная ткань, морфология, пищеварительный тракт, поросята, телята.

*The structural and functional organization of the lymphoid elements of the small intestine of calves and piglets in early postnatal ontogenesis was studied. For the first time, morpholog-*

ical and ultrastructural features of the development of lymphoid structures have been identified depending on age, part of the small intestine, and with a change in diet. An increase by 6–13 % in fat cells during the transition from lactotrophic to predominantly phytotrophic feeding was revealed. The number of plasma cells in the submucosal layer of the duodenum in calves from 5 to 40 days of age increases by 14–24 %, in the jejunum – by 8–17 %, in the ileum – by 11–19 %, in piglets – by 8–12 %, 9–15 % and 11–18 %, respectively. The content of macrophages increases in the small intestine of calves by an average of 14–28 %, and in piglets by 9–18 %. Lymphocytes should be considered as a central link in specific immune reactions, as precursors for the formation of antibodies. Among the different categories of lymphocytes, the majority were medium lymphocytes: in calves – 12–18 %, in piglets – 8–16 %; small lymphocytes – 9–14 % and 7–13 %, respectively. The content of lymphocytes per 1000 epithelial cells in the mucous membrane of the duodenum in calves reached 32–38 cells, in the jejunum – 42–51, in the ileum – 58–74 cells, in piglets – 29–34, 41–47, 53–68 cells, respectively. In calves and piglets at 3–5 days of age, in 24–36 % of cases, local (focal) accumulations of diffuse lymphoid tissue were found in the small intestine. Their ratio to lymphoid nodules without clear centers in the jejunum of calves is 1:9, in piglets – 1:6; in the ileum – 1:14 and 1:11, respectively.

**Key words:** immunity, immunocompetent cells, lymphoid tissue, morphology, digestive tract, piglets, calves.

**Введение.** По современным данным, иммунологическая система включает три ведущие группы органов, в частности, костный мозг и тимус – это центральные органы иммунитета; органы иммунитета, не входящие в состав пищеварительного тракта – селезенка и лимфоузлы, лимфоидные органы и лимфоидная ткань, ассоциированные с желудочно-кишечным трактом [10, 11, 13]. Иммунная система пищеварительного тракта находится в тесном контакте с мощным потоком микробного и аллергенного материала, поступающего из просвета кишечника, и является первым барьером на пути антигенного материала [9].

При стимуляции иммунных структур наблюдается резкое увеличение числа лимфоидных узелков, имеющих герминативные центры. Появление этих образований отражает процесс пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов в лимфатических узелках. В герминативных центрах происходит пролиферация лимфоцитов, приводящая к появлению клеток, синтезирующих иммуноглобулины (*Ig*) с наиболее подходящей структурой антигенсвязывающего участка [2].

Термин «общая система слизистых оболочек» объединяет компоненты специфической защиты и функционирует в известной степени независимо от системы иммунологической реактивности. Эта система включает лимфоидную ткань кишечника (*GALT-gut associated tissue*), лимфоидная ткань бронхов (*BALT-bronchus associated tissue*), иммунокомпетентные клетки глотки, слюнных желез, респираторного тракта, молочной железы и гениталий. Замечательной особенностью иммун-

ной системы слизистых оболочек является наличие больших количеств молекул секреторного иммуноглобулина А (sIgA), что является уникальной характеристикой слизистых покровов [3, 8, 14].

Как указывают В. А. Сергеева и др. [3], особенность sIgA обусловлена следующими его свойствами: 1) устойчивостью к деградирующему воздействию протеаз пищеварительного тракта; 2) у поросят-сосунов sIgA выстилает кишечный эпителий, что обеспечивает эффективное взаимодействие с антигеном; 3) преобладающим содержанием его в секрете молочной железы. sIgA, начиная с 3–5 дня лактации становится доминирующим молоком большинства млекопитающих.

Желудочно-кишечный тракт, легкие, мочеполовые и желчевыводящие пути, а также железы внешней секреции обладают собственной лимфоидной тканью, которая по морфологическим признакам классифицируется на структурированную (миндалины, пейеровы бляшки, регионарные лимфатические узлы) и диффузную (лимфоидные скопления в lamina propria, внутриэпителиальные лимфоциты, макрофаги и другие клетки, несущие иммунные функции).

В кишечнике в собственной пластинке слизистой оболочки содержится столько же лимфоидных клеток, сколько и в селезенке [3]. Эти образования, контактируя с антигенами, выполняют индуктивные функции (восприятие, переработка, представление) для реализации последующих иммунологических реакций. Имеются доказательства, что барьерная лимфоидная ткань разных отделов системы местного иммунитета имеет определенные различия по составу клеточных элементов [7, 12].

Локальный иммунный ответ в собственной пластинке слизистой оболочке включает все клеточные элементы, необходимые для его формирования – Т- и В-лимфоциты, макрофаги, естественные клетки-киллеры [1, 4, 5, 6]. Другими словами, пищеварительная система в целом может рассматриваться в качестве «рекордсмена» по содержанию лимфоидных структур. Данные Б. Б. Першин и др. [8] свидетельствуют, что лимфоидная ткань кишечника в 1 мм<sup>3</sup> содержит 75–150 млн. лимфоидных клеток.

**Основная часть.** Исследовались образцы ткани на участках, соответствующих 1–1,5 % (двенадцатиперстная кишка), 32–37 % (средний участок тощей кишки) и 95–100 % (подвздошная кишка) длины тонкого кишечника телят и поросят. Биоматериал тонкого кишечника фиксировали в 10%-ным нейтральным забуференным формалином при

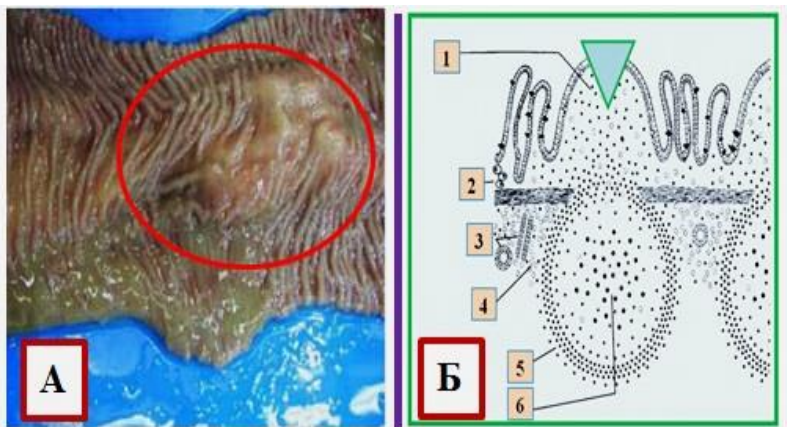
t+4 °С, жидкостью И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А. М. Бродского. Возраст экспериментальных животных составлял: телят – 5–40 дней, поросят – 3–40 дней, было подвергнуто исследованию 9 голов телят и 12 голов поросят. Для получения обзорной информации структурных компонентов тонкого кишечника гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином. Определение плазмочитов проводили по методу Ж. Браше. Для выявления тучных клеток срезы окрашивались по методу М. Г. Шубича [1961] с использованием основного коричневого (бисмарка), что позволило выявить тучные клетки по наличию в них специфической зернистости, окрашивающейся в коричневый цвет.

Подсчет межэпителиальных лимфоцитов проводили в 10 полях зрения микроскопа в расчете на 1000 поверхностных эпителиоцитов ворсинок. Подсчет плазмочитов проводился в 10 полях зрения микроскопа. Для оценки физиологической и репаративной регенерации клеток слизистой оболочки тонкого кишечника телят и поросят применяли подсчет митозов на разных уровнях крипт и ворсинок.

Для электронно-микроскопического исследования брали соответствующие участки тонкого кишечника около 3–6 см, которые были лигированы, и интралиминально вводился методом диффузии 2%-ный раствор глютарового альдегида. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопом *JEM-100CX «JEOL»* (Япония). Статистическую обработку цифрового материала проводили с использованием приложения *MS Office*. Результаты исследований приведены к Международной системе единиц СИ. Термины приведены согласно «Международной ветеринарной анатомической номенклатуре. – М.: Мир, Колос, 2003».

Как свидетельствуют наши данные, лимфоидная структура сформирована конгломератами лимфатических узелков, так называемые «пейеровы бляшки». Впервые изучена структурная организация пейеровых бляшек у телят и поросят в тонком кишечнике в раннем постнатальном онтогенезе. Пейеровы бляшки покрыты двумя видами клеток – энтероцитами и микроскладчатыми М-клетками (*microfoldcells*).

М-клетки, по нашим данным, составляют около 19–33 % от числа клеток, покрывающих это образование. Функциональное значение М-клеток заключается в том, что они осуществляют «захват» и транспортировку антигенов из просвета тонкого кишечника внутрь пейеровой бляшки. С базолатеральной стороны М-клетки имеют глубокие инвагинации плазматической мембраны (карманы), где локализуются Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки и макрофаги (рис. 1).



А – макровид пейеровой бляшки (в круге) в слизистой оболочке подвздошной кишки теленка. 1. Купол пейеровой бляшки. 2. Собственный слой слизистой оболочки с плазмощитями. 3. Посткапиллярные венулы. 4. Межклеточное пространство с Т-лимфоцитами. 5. Корона с В-лимфоцитами. 6. Узелок с В-лимфоцитами.

Рис. 1. Схема строения пейеровой бляшки (Б) (по: В. В. Малашко и др., 2023)

М-клетки снабжены многочисленными выростами (микроворсинками), по нашим подсчетам, на клетки приходится до 2500–30000 цитоплазматических везикул. Благодаря везикулам происходит транспорт антигенов к иммунокомпетентным клеткам. Пейеровы бляшки имеют «зародышевый центр», Т- и В-зависимые зоны, где 22 % В-клеток несут на своей поверхности *IgA*. На долю Т-клеток приходится 40–45 % лимфоцитов. Из числа Т-лимфоцитов 55 % принадлежат *CD4<sup>+</sup>*, а 20 % – к *CD8<sup>+</sup>*.

В связи с некоторыми функциональными особенностями двенадцатиперстной кишки, которая служит регулятором адаптации кишечника, наблюдается определенная иммунологическая особенность. В поверхностном и ямочном эпителии содержится у телят на 12–19 % ( $P < 0,05$ ), у поросят – на 8–14 % ( $P < 0,05$ ) больше лимфоцитов по сравнению с тощей кишкой.

Топографически лимфоциты располагаются на разных уровнях эпителиоцитов и контактируют как между собой, так и с макрофагами. Нами отмечено, что межклеточные контакты наблюдаются в форме адгезии с участием гликокаликса, утолщенного в местах соприкосновения клеток. При электронно-микроскопическом исследовании выяв-

лено, что более плотный контакт клеток осуществляется плазмалеммами, которые в этих участках претерпевают изменения.

Нами констатировано, что количество плазмоцитов в подслизистом слое двенадцатиперстной кишки у телят с 5- до 40-дневного возраста увеличивается на 14–24 % ( $P<0,01$ ), в тощей кишке – на 8–17 % ( $P<0,05$ ), в подвздошной кишке – на 11–19 % ( $P<0,05$ ), у поросят – на 8–12 % ( $P<0,05$ ), 9–15 % ( $P<0,05$ ) и 11–18 % ( $P<0,05$ ) соответственно.

Макрофагальная реакция возрастает у телят с 10-дневного возраста, у поросят – с 5-дневного возраста. Содержание макрофагов увеличивается в тонком кишечнике у телят в среднем на 14–28 % ( $P<0,05$ ), у поросят – на 9–18 % ( $P<0,05$ ). Макрофагам в настоящее время придается важная роль во взаимоотношении Т- и В-лимфоцитов при иммунологических реакциях.

Подсчет тучных клеток (лаброциты, мастоциты) в светооптическом режиме показал, что их количество в среднем у телят в тонком кишечнике составляло на 1 мм<sup>2</sup> гистопрепарата  $49,25 \pm 5,57$ , у поросят –  $37,28 \pm 4,37$  клеток. Увеличение тучных клеток отмечено у телят в период перехода с лактоτροφного на преимущественно фитотрофное кормление, где этот показатель возрастает на 8–13 % ( $P<0,05$ ), у поросят – на 6–9 % ( $P<0,05$ ). Очевидно, это связано с активизацией иммунологических процессов в организме поросят с переходом на изменение рациона и предотъемным периодом. Для тучных клеток характерно наличие многочисленных гранул с осmioфильным содержимым, окаймленных одноконтурной мембраной (рис. 2).



Рис. 2. Фрагмент цитоплазмы тучной клетки. Гранулы (стрелки) находятся на разных стадиях дегрануляции, с различной электронной плотностью содержимого. Электронограмма. Ув.:  $\times 20000$

Гранулы местами лежат вплотную друг к другу, создавая различные конфигурации. Отмечено, что у тучных клеток мало митохондрий. У неактивных тучных клеток вещество гранул выглядит кристаллическим, подобных клеток у телят выявлено в среднем 23–28 % ( $P < 0,05$ ), у поросят – 18–23 % ( $P < 0,05$ ). При активации тучных клеток, особенно у телят на 15–30 день и у поросят на 10–20 день, вещество становится аморфным и неоднородным, пузырчатым. Впервые установлено, что активные и неактивные гранулы могут содержаться в одной клетке.

Тучные клетки преимущественно имеют околосоудистое расположение. Тучные клетки признаны активными участниками реакций иммунитета. Модуляция эффекторных функций тучных клеток определяется *Th2*-цитокинами и активизируется несколькими путями, включая *IgE*-зависимые и *IgE*-независимые, реализуемые через рецепторы фрагментов компонента и лейкотриенов.

Следует отметить, что развитие нервных элементов пищеварительного тракта происходит при активизации тучных клеток. Тучные клетки способны компенсировать недостаток холинергической и общей иннервации желудочно-кишечного тракта животных.

Определена степень гранулярного насыщения тучных клеток в тонком кишечнике поросят (таблица). Выделено четыре типа клеток по этому показателю. На долю резко темных клеток в двенадцатиперстной кишке приходится 20,72 %, в тощей – 21,72 % и подвздошной кишке – 35,70 %, на умеренно темные клетки – 22,07 %, 26,49 % и 38,79 %, незначительно просветленные клетки – 27,01 %, 24,02 % и 16,26 %, светлые клетки – 30,20 %, 27,77 % и 9,28 % соответственно. Возможно, эти данные отражают определенный вклад в иммунологические процессы разных отделов кишечника поросят.

**Состав тучных клеток по степени гранулярного насыщения в тонком кишечнике поросят**

Отдел кишечника	Уровень гранулярного насыщения цитоплазмы клеток, %			
	А тип ++++	Б тип +++	В тип ++	Г тип +
Двенадцатиперстная кишка	20,72 (24,28±17,36)	22,07 (18,91±25,23)	27,01 (28,17±25,85)	30,20 (29,11±31,74)
Тощая кишка	21,72 (25,61±17,83)	26,49 (29,15±24,83)	24,02 (22,96±21,05)	27,77 (30,78±25,12)
Подвздошная кишка	35,70 (36,18±35,22)	38,79 (44,12±35,51)	16,26 (21,43±11,08)	9,28 (10,37±8,19)

Примечание: ++++ – резко темная клетка; +++ – умеренно темная клетка; ++ – незначительно светлая клетка; + – светлые клетки.

Лимфоциты следует рассматривать как центральное звено в специфических иммунных реакциях, как предшественников образования антител. В наших исследованиях среди разных категорий лимфоцитов больше всего приходилось на средние лимфоциты у телят 12–18 %, у поросят – 8–16 %, на малые лимфоциты – 9–14 % и 7–13 % соответственно. Существует научное предположение, что малые лимфоциты выполняют также трофическую функцию (рис. 3).

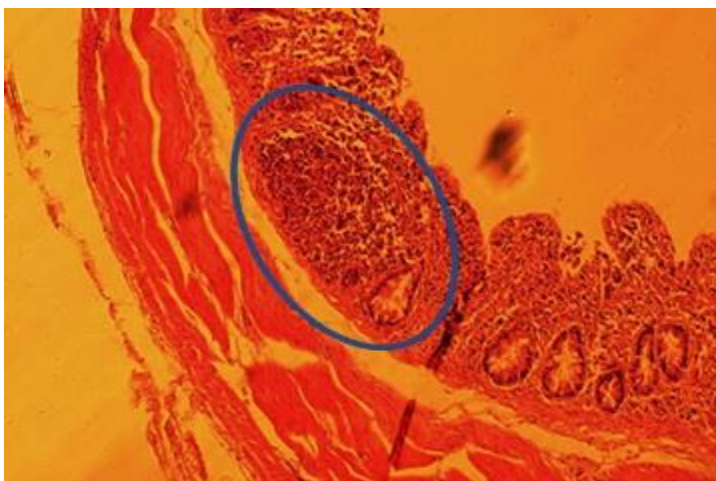


Рис. 3. Общий вид лимфатического узелка (в круге) в тощей кишке поросенка. Гематоксилин-эозин. Микрофото. *Olympus IX71*. Ув.: х 280

По современным данным, межэпителиальные лимфоциты в тонком кишечнике реализуют две важные функции – иммунологический контроль и перенос морфогенетической информации. Основная масса межэпителиальных лимфоцитов в слизистой оболочке тонкого кишечника представлена субпопуляцией супрессоров-киллеров. Наличие межэпителиальных лимфоцитов является обязательным компонентом цитологического состава, участвующего в местных иммуноморфологических реакциях пищеварительного тракта у телят и поросят.

Среднее содержание лимфоцитов на 1000 эпителиоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у телят достигало 32–38, в тощей кишке – 42–51, в подвздошной кишке – 58–74 клетки, у поросят – 29–34, 41–47, 53–68 клеток соответственно. У телят и поросят в 3–5-дневном возрасте в 24–36 % случаев в тонком кишечнике встречались

локальные (очаговые) скопления диффузной лимфоидной ткани. Эти образования имели одинаковое строение – без светлых центров.

По мере возрастания антигенной нагрузки на пищеварительный тракт в результате увеличивающегося количества приема корма, происходит появление в большом количестве лимфоидных узелков со светлыми центрами. Подобных образований у телят и поросят больше всего было в конечных отделах тощей кишки и на всем протяжении подвздошной кишки. Их соотношение к лимфоидным узелкам без светлых центров в тощей кишке у телят составляет 1:9, у поросят – 1:6, в подвздошной кишке – 1:14 и 1:11 соответственно. Это свидетельствует о возрастании функциональной активности лимфоидных образований пищеварительного тракта животных.

Гистологические исследования показали, что светлые центры образованы ретикулярными клетками, средними и большими лимфоцитами с базофильной цитоплазмой. Центры окружены темной зоной, сформированной преимущественно малыми лимфоцитами. Светлые центры также содержат лимфобласты. Диаметр этих клеток составляет 10–12 мкм, ядра с большим количеством инвагинаций (рис. 4).

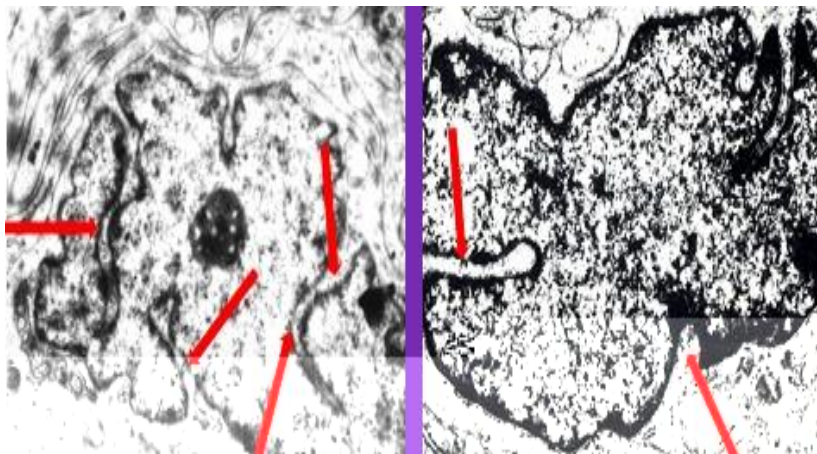


Рис. 4. Ядра лимфобластов из светлых центров лимфатических узелков подвздошной кишки поросенка. Кариолема ядра формирует различной глубины инвагинации (стрелки). Электронограмма. Ув.: x 20000

В отличие от лимфоцитов ядро их бедно гетерохроматином. В светлых центрах много митотически делящихся клеток лимфоидного ряда, встречаются незрелые плазмоциты и макрофаги. Мы считаем, что в узелках со светлыми центрами (вторичные узелки) происходит созревание клеток, которые готовы к быстрой пролиферации в случае антигенного раздражения (вакцинация, токсины, кормовые антигены и т.д.).

**Заключение.** Отделы пищеварительного тракта обладают диффузной и структурированной лимфоидной тканью, которая имеет свои функциональные и морфологические особенности в зависимости от возраста, типа кормления (переход из лактотрофного на фитотрофное кормление). В связи с некоторыми функциональными особенностями констатировано различное содержание лимфоцитов в двенадцатиперстной и тощей кишке у телят и поросят. У телят и поросят иммунологическая защита пищеварительного тракта активизируется в период с 3–5- до 10–20-дневного возраста, что следует учитывать при организации лечебно-профилактических мероприятий.

#### *ЛИТЕРАТУРА*

1. Аруин Л. И., Капуллер Л. Л., Исаков В. А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: «Триада-X», 1998. – С. 36–53.
2. Иванова Е. А. Индивидуальные особенности реакции лимфоидных образований тощей кишки у крыс при стрессорном воздействии // Морфология. – 2011. – Т. 139, № 2. – С. 45–48.
3. Имунная система слизистых: концепция общности механизма функционирования / Т. Н. Сергеев и др. // Вопросы вирусологии. – 1988. – № 4. – С. 392–402.
4. Логинов А. С., Потапова В. Б., Гудкова Р. Б. Межклеточные контакты иммунокомпетентных клеток в слизистой оболочке желудка // Иммунология. – 1990. – № 3. – С. 26–30.
5. Малашко В. В., Микулич Е. Л., Малашко Д. В. Структурные изменения в тонком отделе кишечника поросят при отъемном стрессе // Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства: матер. I Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 1996. – С. 54.
6. Микулич Е. Л. Структурно-функциональные изменения в сычуге телят при заболевании диспепсией // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. – 1998. – № 2. – С. 84–87.
7. Морфогенез хронических воспалительных заболеваний дыхательной и пищеварительной систем: стереотипные иммунологические реакции слизистых оболочек / А. В. Кононов и др. // Бюл. Сиб. отд. АМН СССР. – 1988. – № 1. – С. 75–82.
8. Система лимфоидной ткани пищеварительного тракта животных и перорально индуцированная иммунная толерантность / Б. Б. Першин и др. // Иммунология. – 2001. – № 6. – С. 10–17.
9. Хайтов Р. М., Пинегин Б. В. Иммунная система желудочно-кишечного тракта // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 4–7.

10. Basil, J. A. Altered intestinal morphology and immunity in patients with acute necrotizing pancreatitis / J. A. Basil, C. Alison, F. Michael // *J. Hepatobiliary.* – 2002. – Vol. 128. – P. 490–496.
11. Berkes, J. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effect on the junction barrier, ion transport, and inflammation / J. Berkes, V. K. Viswanathan, S. D. Savkovic // *Gut.* – 2003. – Vol. 52. – P. 439–451.
12. Dhabhar, F. S. Stress – induced augmentation of immune function – the role of stress hormones, leukocyte, trafficking and cytokines / F. S. Dhabhar // *Brain Behav. Immun.* – 2002. – Vol. 16, N 6. – P. 785–798.
13. Rummel, W. Action mechanismus of antiabsorptive and hydragogue drugs / W. Rummel, G. Nell, R. Wanitschke // *Intestinal absorption and malabsorption.* – New York, 2005. – P. 209–217.
14. Shizgal, H. M. Nutrition and immune function / H. M. Shizgal // *Ann. Surg.* – 2001. – Vol. 13. – P. 15–29.