

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 в 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 составляет 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-сосунков 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 мм³ 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

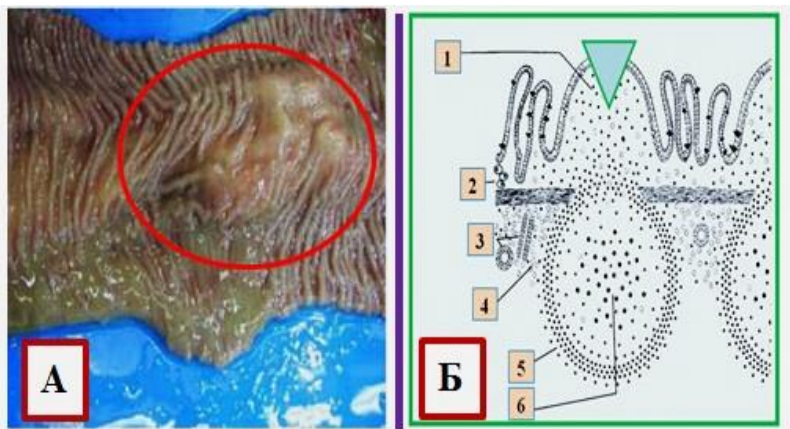
t+4 °С, жидкостью И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А. М. Бродского. Возраст экспериментальных животных составлял: телят – 5–40 дней, поросят – 3–40 дней, было подвергнуто исследованию 9 голов телят и 12 голов поросят. Для получения обзорной информации структурных компонентов тонкого кишечника гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином. Определение плазмоцитов 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 плазмоцитов 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 (*microfold cells*).

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 телят. 1. Купол пейеровой бляшки. 2. Собственный слой слизистой оболочки с плазматическими. 3. Посткапиллярные вены. 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⁺*, а 20 % – к *CD8⁺*.

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 констатируется, 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 мм² гистопрепарата $49,25 \pm 5,57$, у поросят – $37,28 \pm 4,37$ клеток. Увеличение тучных клеток отмечено у телят в период перехода с лактотрофного 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 содержанием, 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).

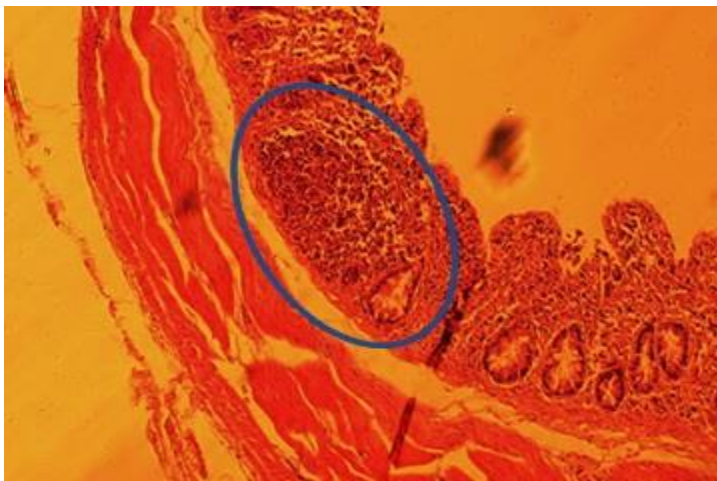


Рис. 3. Общий вид лимфатического узелка (в круге) в тощей кишке поросенка. Гематоксилин-эозин. Микрофото. *Olympus IX71*. Ув.: $\times 280$

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).

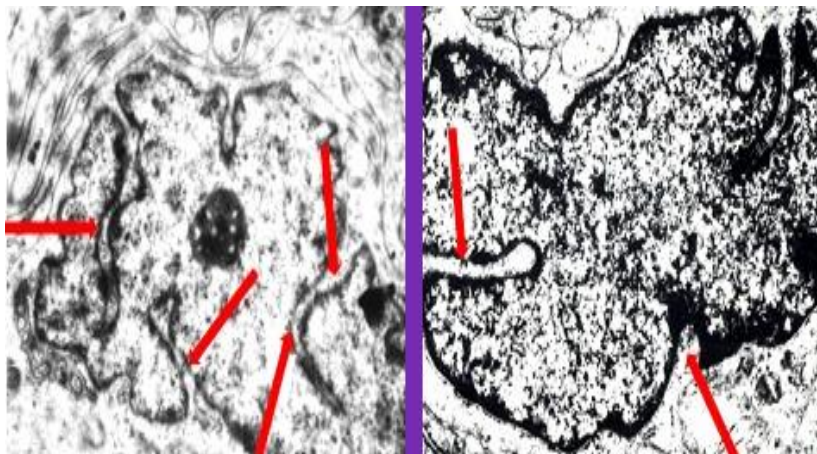


Рис. 4. Ядра лимфобластов из светлых центров лимфатических узелков подвздошной кишки поросенка. Кариолемма ядра формирует различной глубины инвагинации (стрелки). Электронограмма. Ув.: x 20000

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. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Имунная 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.