

УДК 612.335:636.4

**МЕЖЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ЛИМФОЦИТЫ В СЛИЗИСТОЙ
ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ
ПРИ ГАСТРОЭНТЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ЖИВОТНЫХ**

**В.В. Малашко¹, В.Л. Сукач¹, А.М. Казыро¹, Н.К. Гойлик¹,
А.С. Юшкевич¹, Д.В. Малашко¹, Я. Шенгаут², Дм.В. Малашко³**

¹УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

²ЗАО «Jakovo veterinarijos centras»,
г. Вильнюс (Литовская Республика)

³УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Могилевская область, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.06.2014 г.)

Аннотация. Установлено, что лимфоциты, локализующиеся в эпителии генеративных зон сычуга и двенадцатиперстной кишки телят, участвуют в обеспечении и координации клеточного обновления данных органов.

Summary. It has been determined that lymphocytes locating in epithelium of abomasums generative zones and duodenum of calves are involved in providing and coordinating of cells renovation of these organs.

Введение. Лимфоидная ткань занимает почти четвертую часть слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [1, 2, 9]. Она играет чрезвычайно важную роль в обеспечении местного иммунитета и считается в функциональном отношении идентичной периферической лимфоидной ткани лимфатических узлов и селезенке [3]. В этом отношении большой интерес представляют лимфоциты, расположенные в эпителии, выстилающем поверхность слизистой оболочки. Само их положение позволяет предположить, что они первыми из всех иммунокомпетентных клеток встречаются с различными антигенами, находящимися в просвете желудочно-кишечного тракта [4].

Установлено, что 90% лимфоцитов являются активированными или трансформированными, что свидетельствует об иммунологической активности этих клеток [5]. Лимфоциты локализируются между эпителиальными клетками и не претерпевают дистрофических изменений в эпителии, не мигрируют в просвет кишечника [10]. Их расположение между клетками, для которых характерно интенсивное обновление, позволяет допустить участие межэпителиальных лимфоцитов (МЭЛ) в его регуляции [6]. Это предположение основано на доказанном феномене иммунологической регуляции процессов регенерации и переносе лимфоцитами регенерационной информации [7].

Лимфоциты характеризуются широким спектром биологической активности. Медиаторами лимфоцитов являются лимфокины. Лимфокины усиливают поглощение, биоцидность, кислородозависимый метаболизм, секрецию, адгезию, меняют заряд плазматической мембраны, вызывают перестройку рецепторного аппарата. В целом подобная кооперация лимфоцит – макрофаг, лимфокины способны воссоздать облик активированного нейтрофила, мобилизуя его функциональные резервы [11].

Важно обратить внимание на то, что кишечный эпителий взрослых животных является классическим тест-объектом для изучения кинетики обновляющихся клеточных популяций. Именно на этом объекте, впервые разработаны основные принципы анализа кинетики клеточных популяций и, в частности, графический метод определения временных параметров митотического цикла [8].

В первые недели после рождения репродукция клеток должна обеспечивать не только компенсацию гибнущих в процессе физиологической регенерации клеточных элементов, но и интенсивный прирост клеток в связи с увеличением поверхности слизистой оболочки, ростом ворсинок и формированием крипт [12].

Одной из важнейших проблем ветеринарной и медицинской практики является профилактика и лечение заболеваний пищеварительной системы, имеющих большой удельный вес в патологии внутренних органов. В этой связи актуальным является изучение иммунологических и морфологических изменений в пищеварительной системе домашних и сельскохозяйственных животных при гастро (абомазо) энтеральной патологии [13].

Цель работы – изучить МЭЛ в морфологически измененной слизистой оболочке сычуга и двенадцатиперстной кишке телят.

Материал и методика исследований. Исследовались образцы сычуга и двенадцатиперстной кишки телят молозивно-молочного периода (n=8). Биоптаты фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине по Р. Лилли, жидкости И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А.М. Бродского, 70° спирте, а для проведения гистохимических исследований биоматериал замораживали в жидком азоте (t-196°С) в сосуде Дьюара. Для получения обзорной информации структурных компонентов сычуга и двенадцатиперстной кишки телят гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином по П. Эрлиху, прочным зеленым по И. Ван Гизону, эозином-метиленовым синим по Лейшману, альтиновым синим с докраской ядер гематоксилином, проводили ШИК-реакцию и определение плазмоцитов по методу Браше.

На продольных правильно ориентированных срезах желез при 400-кратном увеличении с использованием микроскопа «Биоскан» и компьютерной программы производили подсчет МЭЛ на 1000 ядер поверхностного и ямочного эпителия сычуга, эпителия ворсинок и крипт, а в собственной пластинке слизистой оболочки – плазмоциты.

Результаты исследований и их обсуждение. В неизменной слизистой оболочке фундального и пилорического отделов сычуга как в ямочном, так и щеечном эпителии содержалось незначительное количество МЭЛ (таблица 1). Почти все они (82%) располагались под ядрами или на уровне ядер эпителиальных клеток и были окружены характерным светлым ободком. Неизменная слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки телят содержала МЭЛ несколько больше лимфоцитов (таблица 2).

Таблица 1 – Доля лимфоцитов и плазматических клеток по отношению к общему числу клеток (M±m) в слизистой оболочке сычуга

Отдел слизистой оболочки	Клетки	Сычуг			
		фундальный отдел		пилорический отдел	
		поверхностный эпителий	ямочный эпителий	поверхностный эпителий	ямочный эпителий
Эпителий	Лимфоциты, %	54,37±5,12	56,12±6,33	61,08±4,37	55,37±5,06

Собственная пластинка слизистой оболочки	Лимфоциты, %	2,67±0,18	2,34±0,41
	Плазмоциты, %	7,83±3,67	12,44±2,58

Таблица 2 – Доля лимфоцитов и плазматических клеток по отношению к общему числу клеток ($M \pm m$) в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки

Отдел слизистой оболочки	Клетки	Двенадцатиперстная кишка			
		ворсинки			крипты
		над ядрами	под ядрами	всего	всего
Эпителий	Лимфоциты, %	6,27±6,34	118,40±9,83	124,67±8,09	76,22±4,45
Собственная пластинка слизистой оболочки	Лимфоциты, %	7,94±1,23			-
	Плазмоциты, %	16,72±2,48			-

МЭЛ в 65% были обнаружены под ядрами, а 35% их находилось над уровнем локализации эпителиальных ядер. Это указывает на определенные особенности МЭЛ двенадцатиперстной кишки, отличающие их не только от МЭЛ сычуга, но и других отделов тонкой кишки, в которых, по данным А. Ferguson [14], 95-98% МЭЛ локализуются в базальных отделах эпителиальной выстилки и только 2-7% над ядрами эпителия. Хотя общее количество лимфоцитов в эпителии двенадцатиперстной кишки почти такое же, как и в тощей, где их содержится от 100 до 350 на 1000 энтероцитов.

При исследовании гистопрепаратов, окрашенных гематоксилин-эозином, в криптах тонкой кишки и эпителии ямок и шеек пилорического отдела сычуга встречаются клетки, окруженные, подобно лимфоцитам в эпителии, светлым ободком. Эти клетки, по нашему мнению, можно отнести к APUD-системе (рис. 1). По наличию большого объема цитоплазмы и менее интенсивной окраске ядер, даже не пользуясь специфическими методами, их легко дифференцировать от МЭЛ.

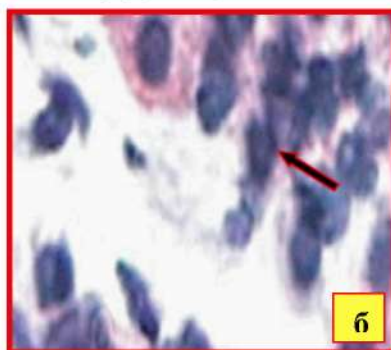
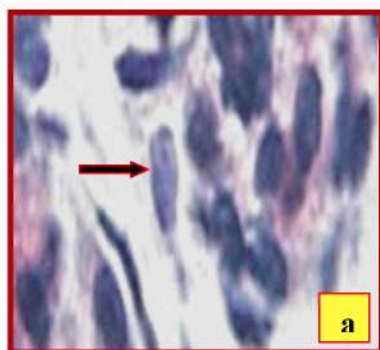


Рисунок 1 – Эндокринные клетки (стрелка) в ямках пилорического отдела сычуга (а); лимфоциты (стрелка) в ямках пилорического отдела сычуга. Гематоксилин-эозин. Микрофото. Биоскан. Ув.: а – 280, б – 400

Различия в числе МЭЛ в ворсинках двенадцатиперстной кишки и в поверхностном эпителии сычуга объясняется функциональными особенностями сычужного и кишечного эпителия. Эпителий сычуга соприкасается с антигенами, находящимися в его просвете, но абсорбирует их. Эпителий кишечника, основная функция которого заключается во всасывании пищевых веществ, способен не только к абсорбции, но и к персорбции [4, 15], благодаря которой через эпителиальный барьер могут проникать довольно крупные частицы диаметром до 100-150 мкм (рис. 2).

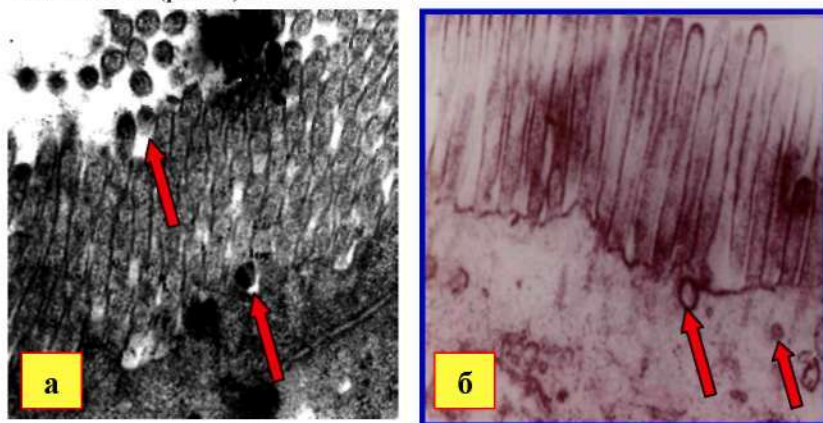


Рисунок 2 – Проникновение антигенов (стрелки) через эпителиальный барьер двенадцатиперстной кишки теленка. а – нахождение антигенов между микроворсинками; б – проникновение антигенов в глубь слизистой оболочки. Электронограмма. Ув.: 30000

Нами найдены отличия в содержании МЭЛ в ворсинках и криптах двенадцатиперстной кишки. Энтероциты крипт не обладают функцией всасывания, кроме того, контакт их с содержимым просвета кишки значительно меньший, чем на ворсинках. Можно предположить, что большая концентрация лимфоцитов в эпителии ворсинок, возможно, обусловлена контактами с антигенами.

Таким образом, наличие МЭЛ в нормальной слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки, так же как и в остальных отделах тонкого кишечника, следует считать проявлением клеточного иммунного отве-

та на действие многочисленных агентов, находящихся в просвете и всасывающихся через слизистую оболочку. Большая иммунологическая вооруженность тонкой кишки обеспечивается и более выраженной инфильтрацией ее собственной пластинки лимфоцитами и плазмочитами по сравнению с сычугом.

При развитии воспалительного процесса в собственной пластинке слизистой оболочки фундального отдела сычуга содержание лимфоцитов возрастает в 2,1 раза, в пилорическом отделе – в 2,8 раза, а плазмочитов в 1,4 и 1,2 раза соответственно.

В двенадцатиперстной кишке увеличение клеток данной категории при воспалительном процессе достигло среди лимфоцитов 1,6 раза и плазмочитов – в 1,4 раза по отношению к физиологической норме.

Увеличение содержания лимфоцитов и плазмочитов свидетельствует о том, что сычуг и двенадцатиперстная кишка телят обладают хорошо выраженным иммунологическим барьером.

Таблица 3 – Содержание лимфоцитов и плазмочитов в слизистой оболочке сычуга и двенадцатиперстной кишки телят при воспалительном процессе

Показатель	Сычуг		Двенадцатиперстная кишка
	фундальный отдел	пилорический отдел	
Собственная пластинка слизистой оболочки:			
• лимфоциты, %	5,64±0,95	6,54±0,94	13,05±1,04
• плазмочиты, %	11,10±1,46	15,28±1,65	23,23±2,55

Роль МЭЛ в слизистой оболочке пищеварительного тракта, по-видимому, не однозначна. Лимфоциты были обнаружены в эпителии ямок и шеек сычуга и крипт двенадцатиперстной кишки, являющихся генеративной зоной. Несколько большую инфильтрацию генеративных зон двенадцатиперстной кишки (крипт) по сравнению с генеративными зонами сычуга, а именно, ямочным и шеечным эпителием, очевидно, можно связать с большей скоростью обновления в тонком кишечнике [16]. Например, при усилении пролиферативной активности эпителия, которая наступает при гастрите, число МЭЛ в ямочном и шеечном эпителии возрастает втрое [4].

Закключение. Пищеварительный тракт представляет собой открытую систему, посредством которой осуществляется его контакт с внешней средой и заселяющим ее миром микробов. В настоящее время считается доказанным, что качественный и количественный состав колонизирующей микрофлоры контролируют факторы естественной резистентности и иммунологической защиты, созревание которых происходит по мере развития животных. Контакты с бактериальными

антигенами определяют созревание иммунной системы, а состав микрофлоры кишечника должен косвенно отражать особенности физиологического состояния как защитных, так и других систем организма в различные периоды жизни. В реализации иммунных механизмов на уровне пищеварительного тракта участвуют нормальная микрофлора, лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой кишечника, и цитокины как фактор межклеточного взаимодействия.

У физиологически незрелых животных гастроинтестинальный тракт не готов к бактериальной колонизации. Поэтому начальная бактериальная колонизация (особенно грам-флорой) играет основную роль в развитии гастроэнтероколитов. В первые часы и дни жизни животных лимфоидная ткань получает мощную стимуляцию заселяющейся микрофлорой, вследствие чего начинает немедленно нарастать количество интраэпителиальных лимфоцитов, плазмочитов и иммуноглобулин продуцирующих клеток в лимфоидных фолликулах, так и в собственной пластинке слизистой оболочки.

Таким образом, можно констатировать, что лимфоциты, локализующиеся в эпителии генеративных зон сычуга и двенадцатиперстной кишки, участвуют в обеспечении клеточного обновления данных органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меерсон, Ф.З. Общий механизм адаптации / Ф.З. Меерсон. – М.: Медицина, 1973. – 359 с.
2. Уголев, А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций / А.М. Уголев. – Л.: Наука, 1985. – 544 с.
3. Шварцман, Я.С. Местный иммунитет / Я.С. Шварцман, Я.Б. Хазенсон. – Л.: Медицина, 1978. – 235 с.
4. Аруин, Л.И. Межэпителиальные лимфоциты в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки человека / Л.И. Аруин, О.Л. Шаталова // Арх. АГЭ. – 1982. – Т. 82, № 6. – 58-61 с.
5. Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1989. – 344 с.
6. Лившиц, Е.Г. Синдром малабсорбции в педиатрической клинике / Е.Г. Лившиц, Т.А. Медве. – Рига: Зинатне, 1979. – 187 с.
7. Кендыш, И.Н. Значение гуморальных факторов лимфоидной ткани в регуляции функций организма / И.Н. Кендыш // Успехи совр. биол. – 1972. – Т. 73, вып. 3. – 62-75 с.
8. Заварзин, А.А. Синтез ДНК и кинетика клеточных популяций в онтогенезе млекопитающих / А.А. Заварзин. – Л.: Наука, 1967. – 193 с.
9. Douglas, A.P. Intraepithelial lymphocytes of the small intestine / A.P. Douglas, A.P. Weetman // Digestion. – 1975. – Vol. 13, N 6. – 344-371 p.
10. Touer, P.G. The digestive system. An ultrastructural atlas and review / P.G. Touer, K.E. Carr, G.M. Wybur. – London, 1971. – 312 p.
11. Bienenstock, J. Bronchial lymphoid tissue. Morphologic characteristics / J. Bienenstock, N. Johnston, D. Perey // Lab. Invest. – 1973. – Vol. 28, N 6. – 686-691 p.
12. Asari, M. Development of the bovine ileal mucosa / M. Asari, W. Naohiko, S. Wakui // Acta anat. – 1987. – Vol. 129, N 4. – 315-325 p.
13. Wolff, G. Über die Höhe der Magenschleimhaut in Biopsiematerial / G. Wolff // Gastroenterologia. – 2007. N. 107, N 4. – 235-241s.

