

25

На правах рукописи

Ирина

ПЕСТОВА
Ирина Викторовна



**МОРФОГЕНЕЗ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ РОТОГЛОТКИ, ПИЩЕВОДА
И ЖЕЛУДКА СВИНЕЙ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

5 НОЯ 2009

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Саранск – 2009

Работа выполнена на кафедре морфологии и микробиологии
ФГОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Панфилов Алексей Борисович

Официальные оппоненты: **Зенкин Александр Сергеевич**
доктор биологических наук, профессор
(Мордовский государственный
университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск)

Грызлова Лариса Владимировна
кандидат биологических наук, доцент
(Мордовский государственный педаго-
гический институт им. М.Е. Евсевьева,
г. Саранск)

Ведущая организация: Казанская государственная академия
ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана,
г. Казань

Защита состоится 28 ноября 2009 г. в 12 часов
на заседании объединенного диссертационного совета ДМ 212.117.15 при
ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»
(430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, 68)

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ГОУ ВПО
«Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева»

Автореферат диссертации опубликован на сайте Мордовского
государственного университета им. Н.П. Огарева www.mrsu.ru
E-mail: dsovet@mrsu.ru

Автореферат разослан «22» октября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Т.А.Романова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Промышленное развитие свиноводства, использование нетрадиционных кормов и другие изменения в технологии разведения свиней требуют углубленных знаний по становлению у них иммунной системы в онтогенезе.

В настоящее время исследования в области теоретической и клинической иммунологии сельскохозяйственных животных достигли значительных успехов. В связи с интенсивным развитием этих научных направлений, отмечается большой интерес к исследованию морфологии иммунных структур различных органов и систем организма животных и человека (Петров Р.В., 1987; Ройт А., 1991; Сапин М.Р. с соавт., 2000; Теплова С.Н. с соавт., 2002; Воронин Е.С., 2002; Федоров Ю.Н., 2004; Труфакин В.А., 2005; Bienenstock J., 1984; Guy-Grand et al., 1987 и др.).

На современном этапе развития иммунологии важнейшее значение придается органам, участвующим в механизмах возникновения гуморального и клеточного иммунитета. Значительное место среди них наряду с вилочковой железой, костным мозгом, селезенкой и лимфатическими узлами, занимают одиночные и групповые лимфоидные узелки пищеварительной системы. Достаточно много научных работ посвящено изучению кишечной ассоциированной лимфоидной ткани у различных видов животных (Гусейнов Т.С., 1987; Хаитов Р.М. с соавт., 1997; Сапин М.Р., 1987-2009; Соколов В.И., 1992-2009; Панфилов А.Б., 1991-2009; Сунцова Н.А., 2000-2009; Видякина М.А., 2003; Douglas A.P. et al., 1975; Kawanishi H. et al., 1989 и др.). В то время как лимфоидные образования ротоглотки, пищевода и желудка остаются почти не изученными.

До сих пор нет полной ясности о макро- и микроанатомии и топографии миндалин ротоглотки и лимфоидных образований пищевода и желудка у свиньи. Не исследованы их структурные особенности и клеточный состав на протяжении постнатального онтогенеза, особенно с учетом возрастных и регионарных факторов изменчивости. В связи с этим особое значение приобретает изучение сроков закладки, развития, синтопии и цитоархитектоники лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка у свиньи, составляющую одну из важнейших частей иммунной системы.

Особый интерес представляют вопросы функционального созревания и реактивности лимфоидной ткани плода, так как знания о закономерностях развития и функции популяций лимфоцитов в эмбриональном периоде жизни необходимы для понимания иммунологической целостности плода. Они являются основой для изучения внутриутробных инфекций, иммунодефицитных состояний и заболеваний, которые проявляются у взрослых, но своим происхождением обязаны нарушениям иммунной системы плода.

Из всего вышеизложенного становится очевидным, что изучение видовой и возрастной морфологии миндалин ротоглотки, лимфоидных узелков пищевода и желудка и регионарных лимфатических узлов является

весьма актуальным и представляет не только научный интерес, но имеет большое практическое значение.

Цель исследования. Изучить возрастные особенности морфогенеза лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка у свиньи.

Задачи исследования:

1. Изучить последовательность закладки и развития лимфатических узлов и лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка в пренатальном периоде развития свиней.
2. Изучить морфогенез лимфатических узлов и лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней.
3. Определить клеточный состав, ультраструктурные и иммуногистохимические особенности клеток лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка и регионарных лимфатических узлов в возрастном аспекте.
4. Провести сравнительный анализ изменений клеточного состава лимфоидных образований и лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка в пре- и постнатальном онтогенезе, а также по морфофункциональным зонам.

Научная новизна заключается в комплексном подходе к решению поставленных задач, позволившем подробно изучить и описать последовательность образования, формирования, развития, возрастные изменения и возрастную инволюцию лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка у свиньи. Получены новые данные о синтопии лимфоидной ткани на протяжении переднего отдела пищеварительного тракта; впервые даны показатели клеточного состава, особенности ультраструктуры и количество Т-лимфоцитов (CD₃) лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка и одноименных лимфатических узлов у свиньи в норме. Впервые изучено развитие и топография лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка у плодов поросят.

Теоретическая и практическая ценность. Результаты исследований в значительной степени уточняют и дополняют имеющиеся знания о видовой и возрастной морфологии лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка. Установленная последовательность закладки и возрастной динамики изменений синтопии и цитоархитектоники лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка, а так же знание их ультраструктурных и гистохимических (CD₃) особенностей позволит клиницистам глубже вникнуть и осмыслить суть происходящих патологических процессов. И на этой основе разработать наиболее оптимальные сроки вакцинации, методы лечения и профилактики. Полученные результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе на морфологических и клинических кафедрах, а также их можно рекомендовать для включения в учебные руководства по видовой и возрастной морфологии, в специальную литературу для ветеринарных врачей, биологов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Гистогенез лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка в пренатальный период развития свиней.
2. Морфогенез лимфатических узлов и лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней.
3. Цитоархитектоника, гистологические, ультраструктурные и иммуногистохимические особенности клеток лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальном периоде свиней.
4. Возрастные особенности цитоархитектоники, ультраструктуры и иммуногистохимии клеток лимфоидных образований переднего отдела пищеварительного тракта свиней в возрастном аспекте.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 6-й и 8-й научных конференциях аспирантов и соискателей «Науке нового века – знания молодых» Вятской ГСХА (2006, 2008 гг.), на научно-практической конференции «Теоретические и практические проблемы ветеринарной медицины» Вятской ГСХА (2006, 2008 гг.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 2 работы опубликованы в журналах перечня бюллетеня ВАК («Морфологические ведомости», «Вестник Оренбургского государственного аграрного университета»).

Внедрение. Материалы диссертации включены в учебный процесс и научную работу на морфологических кафедрах: Брянской, Бурятской, Ивановской, Костромской, Пермской, Дагестанской государственных сельскохозяйственных академий; Алтайского, Саратовского, Башкирского, Ставропольского, Оренбургского, Красноярского государственных аграрных университетов; Уральской, Санкт-Петербургской государственных академий ветеринарной медицины; Хакасского государственного университета; Белоцерковского национального аграрного университета (Украина).

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 199 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 94 рисунками, 15 таблицами цифровых материалов. Список литературы включает 191 источник, в том числе 68 работ иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

В работе обобщены результаты комплексных научных исследований, проведенных в период с 2005 по 2008 г.г. Эксперимент проведен на базе ЗАО «Агрофирма Дороничи». Материалом наших исследований являлись плоды и комплекты переднего отдела пищеварительного тракта свиней крупной белой породы, которые брали от клинически здоровых животных, подобранных методом аналогов, хорошей упитанности и правильного телосложения. Возраст плодов определялся по Л.В. Давлетовой (1975). Всего нами

исследован материал от 36 плодов и 51 животных после рождения различных возрастных групп (табл. 1).

Таблица 1

Возраст и количество исследованных животных

Периоды развития	Возраст	Количество голов
Пренатальный период		
Ранний плодный	7 недель	13
Поздний плодный	12 недель	10
	16 недель	13
Постнатальный период		
	Новорожденные	5
	14-суточные	3
	1 месяц	8
	3 месяца	11
	4 месяца	8
	6 месяцев	8
	12 месяцев	5
	36 месяцев и старше	3
ИТОГО:		87

При выполнении экспериментальной части работы мы использовали основные методы морфологического исследования: анатомические, гистологические, иммуногистохимические, электронно-микроскопические и морфометрические. Абсолютную массу лимфатических узлов определяли путем их взвешивания на торсионных весах марки ВЛК-500 с точностью до 0,001 г.

Для морфологических исследований ротоглотку, пищевод и желудок расправляли, проводили снятие морфометрических показателей (измеряли длину, ширину). Затем изготавливали плоскостные тотальные препараты по методу Т.Гелльмана (1921). Окраску биоматериала производили 1% раствором гематоксилина Гарриса.

На тотальных препаратах ротоглотки изучали миндалины (парные небные, околонадгортанные, тубарные, язычную миндалины и миндалину мягкого неба). Определяли их размеры, форму, наличие крипт, топографию, расстояние между ними, количество одиночных лимфоидных узелков на 1 см². На тотальных препаратах пищевода и желудка определяли плотность расположения лимфоидных узелков на 1 см² слизистой, их размер, форму, топографию, локальные особенности расположения, расстояния между ними. Все измерения проводили миллиметровой линейкой и микроштангенциркулем. При подсчете количества лимфоидных узелков учтены зоны однокамерного желудка (кардия, фундус, пилорус и дивертикул).

Регионарные лимфатические узлы ротоглотки, пищевода и желудка определяли по общепринятой методике, с использованием комбинированного метода инъекции лимфатических сосудов. Контрастная масса с помощью шприца вводилась в толщу исследуемых тканей, откуда она под действием давления поступала сначала в лимфатические капилляры, а затем в отводящие сосуды и по ним достигала регионарных лимфатических узлов. Инъекция осуществлялась в течение первых 5-6 ч после убоя, когда физиологическая активность сосудов еще сохранена. При исследовании макроанатомии лимфатических узлов определяли цвет, синтопию, количество, длину, ширину, толщину и абсолютную массу.

Параллельно для изучения цитоархитектоники фиксировали участки миндалин, пищевода, желудка и лимфатических узлов в 10 % водном растворе нейтрального формалина. Биоматериал по общепринятой методике заливали в парафин. На микротоме изготавливали срезы толщиной 4-5 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином Гарриса с последующей докраской эозином.

Клеточный состав определяли в функционально различных зонах лимфатического узла: корковом веществе, герминативном центре, паракортикальной зоне, мягкотных тяжах. В лимфоидных узелках миндалин и стенки пищевода и желудка изучалась цитоархитектоника в зоне купола и герминативного центра. Подсчет количества клеток осуществлялся на микроскопе марки МИКМЕД – 1 АУ-12, специализированный усовершенствованной сеткой С.Б.Стефанова (1974, 1985, 1988). Идентификацию уценных в работе клеток проводили по Г.С. Катинасу (1981).

Для иммуногистохимического исследования срезы толщиной 4 мкм наклеивали на стекла с полилизинном, демаскировка антигенов проводилась в скороварке. Применяли первичные антитела фирмы «Dako». В реакциях использовался поликлон CD₃ – общая популяция Т-лимфоцитов. Система детекции – LSAB + «Dako». Реакция выявлялась 3,3-диаминобензидином. Затем срезы докрашивали гематоксилином, заключали в канадский бальзам (Петров С.В., Райхин Н.Т., 2004). При просмотре препаратов антигенпозитивные клетки идентифицировали по их коричневому окрашиванию на светооптическом уровне. Все гистохимические реакции проводились с соответствующими контролями.

Для электронно-микроскопического исследования брали кусочки лимфатических узлов, миндалин и участки стенки пищевода и желудка с лимфоидной тканью. Материал фиксировали в 2 % забуференном растворе глутарового альдегида, дофиксировали в четыреххлористом осмии. Обезвоживали материал в спиртах возрастающей крепости и ацетоне. На ультрамикротоме типа Nova получали ультратонкие срезы. Ультратонкие срезы контрастировали до 60 минут в уксуснокислом ураниле и 5-15 секунд в цитрате свинца по Рейнольдсу. Просматривали ультратонкие срезы на трансмиссионном электронном микроскопе JEM – 1011.

Названия анатомических, гистологических и эмбриологических структур и образований приведены в соответствии с Международной (Парижской) анатомической и гистологической номенклатурой, а русские

эквиваленты – по международной ветеринарной номенклатуре (Зеленевский Н.В., 2003; N.A.V., N.H., N.E.V., 1994).

Полученные в работе цифровые данные обработаны методами вариационной статистики при помощи специализированной компьютерной программы для биологических и медицинских исследований «Primer of Biostatistics», версия 4.03. Для каждой величины определяли среднее арифметическое значение (M), среднестатистическую ошибку средней величины ($\pm m$) и достоверность разницы между средними арифметическими двух вариационных рядов по критерию достоверности Ньюмена – Кейлса (P). Разницу между двумя величинами считали достоверной при уровне вероятности $P \leq 0,05$. Итоговые показатели количественных данных обрабатывали при помощи компьютерной программы Microsoft®Excel 2003.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Морфогенез лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка в пренатальный период онтогенеза свиней

К 49 суткам эмбрионального развития (ранний плодный период) у плодов свиней передний отдел пищеварительного тракта анатомически сформирован, но визуально обнаружить лимфатические узлы не удастся. Миграция лимфоцитов в лимфатические узлы ротоглотки и развитие этих узлов совершается быстрее, чем заселение и формирование узлов пищевода и желудка. Возможно, это обусловлено гетерохронностью развития переднего отдела пищеварительного тракта. В возрасте 7 недель визуально заметны околоушные и нижнечелюстные лимфатические узлы. У плодов в возрасте 12 недель визуально обнаруживаются заглоточные латеральные и медиальные лимфатические узлы, глубокие шейные, левые трахеобронхиальные и бифуркационные, лимфатические узлы малой кривизны желудка и собственно селезеночные. Только на 112 сутки выявлены добавочные нижнечелюстные, дорсальные трахеальные, средостенные каудальные, поджелудочно-селезеночные и надпривратниковые лимфатические узлы. Формирование условно-функциональных зон морфологически происходит интенсивнее там, куда раньше мигрируют малые лимфоциты. В период внутриутробного развития число, размер и абсолютная масса лимфатических узлов переднего отдела пищеварительного тракта нарастает к 112 суткам.

В течение плодного периода формируется капсула лимфатических узлов, трабекулярный аппарат и система синусов. Формируются полинодозные узлы. В лимфатических узлах ротоглотки эти процессы протекают интенсивнее. У 84-суточных плодов в узлах начинают образовываться примитивные первичные лимфоидные узелки, расположенные между субкапсулярным синусом и центром узла, но ближе к наружной области органа.

К 112-м суткам внутриутробного развития, в лимфатических узлах идет разделение и формирование коркового плато и мозгового вещества. В мозговом веществе к этому времени выявляются мякотные шнуры. Формируется паракортикальная зона. Самыми многочисленными клетками

лимфатических узлов являются малые лимфоциты. Число их составляет 80-90 %. Они плотно расположены в коре и более рыхло по остальной площади узла. На ретикулярные клетки приходится 6-20 %, 0,33-1,33 % составляет blastные формы клеток. Макрофаги и митотически делящиеся клетки не превышают 0,33-1 %.

3.2. Морфогенез лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка в пренатальный период онтогенеза свиней

Первые малые лимфоциты обнаружены у плодов 49-50 суток в стенках ротоглотки и желудка. В стенке ротоглотки появляются как единичные, преимущественно малые лимфоциты, так и их скопления в собственной пластинке слизистой оболочки из 15-32 клеток, которые лежат в тонкой сети ретикулярного синцития и мезенхимы. Аналогичные процессы протекают и в стенке желудка, но менее интенсивно. В стенке пищевода первые лимфоциты появляются к 84-м суткам внутриутробного развития, локализация их носит диффузный характер.

У 84-суточных плодов в стенке ротоглотки визуально выявляются парные небные миндалины, околонадгортанные и тубарные. В этот период в миндалинах формируются первичные лимфоидные узелки. В небных миндалинах в этот период начинают формироваться крипты. В желудке идет формирование первичных лимфоидных узелков, которые располагаются на границе собственной пластинки и подслизистой основы. В лимфоидных узелках миндалин и стенки желудка в основном обнаруживаются малые лимфоциты, а ближе к центру располагаются немногочисленные blastные формы клеток, как правило, со светлым ядром. Рядом с предузелками располагаются отдельные отростчатые ретикулярные клетки.

У 112-суточных плодов к моменту рождения в стенках ротоглотки визуально обнаруживаются язычная миндалина и миндалина мягкого неба. Абсолютная масса небных и околонадгортанных миндалин больше по сравнению с 84-суточными в 3 и 2 раза соответственно, что свидетельствует об интенсивном росте миндалин в этот период. В этот период в миндалинах дифференцируются первичные лимфоидные узелки и межузелковая зона. В позднеплодный период происходит постепенное увеличение количества и размеров лимфоидных узелков. Герминативные центры в течение всего внутриутробного периода не обнаруживаются. В стенке желудка визуально выявлены одиночные первичные лимфоидные узелки. По мере развития лимфоидной ткани, в лимфоидных узелках обнаруживаются ретикулярные клетки до 9-16 %, blastные формы клеток и клетки с фигурами митоза – 0,33-1,0 %. В стенке пищевода выявляются лишь небольшие скопления малых лимфоцитов.

3.3. Морфогенез лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней

Лимфатические узлы ротоглотки, пищевода и желудка у новорожденных поросят анатомически сформированы. У суточных поросят лимфатические узлы интенсивно коричневого или серого цвета. Встречаются как полинодозные, так и мононодозные лимфатические узлы.

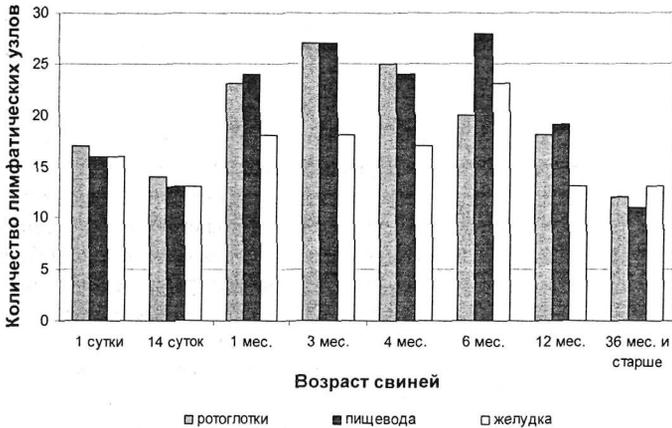


Рис. 1. Динамика изменений общего числа лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка свиней в постнатальном онтогенезе

На основании проведенного исследования регионарными лимфатическими узлами ротоглотки являются околоушные, заглоточные латеральные, заглоточные медиальные, нижнечелюстные и добавочные нижнечелюстные лимфатические узлы. Лимфатические узлы ротоглотки являются самыми стабильными образованиями по синтопии во все возрастные периоды. Максимальное количество лимфатических узлов ротоглотки наблюдается в 3-месячном возрасте (рис. 1). К трем годам в связи с процессами инволюции их число сокращается.

Регионарными лимфатическими узлами пищевода являются глубокие шейные, бронхиальные (левые трахеобронхиальные, бифуркационные, дорсальные трахеальные), средостенные каудальные. Кроме того, от нижней трети грудной части пищевода лимфатические сосуды в большинстве случаев идут в нисходящем направлении через пищеводное отверстие диафрагмы в брюшную полость. Здесь они подходят к лимфатическим узлам малой кривизны желудка. Число лимфатических узлов пищевода с периода новорожденности нарастает до 3-месячного возраста (рис. 1). Их количество остается на одном уровне до 6-ти месяцев и снижается к 3-м годам.

Регионарные лимфатические узлы желудка свиньи составляют три основные группы (лимфатические узлы малой кривизны, селезеночные и привратниковые лимфатические узлы), которые подразделяются на более мелкие подгруппы. Количество лимфатических узлов желудка нарастает до 6-месячного возраста (рис. 1). Число кардиальных и левых желудочных лимфатических узлов стабилизируется к этому периоду и остается на сходном уровне вплоть до трехлетнего возраста. Количество селезеночных и надпривратниковых узлов после 6-ти месячного возраста уменьшается.

Интенсивный рост всех узлов происходит в первый месяц после рождения, что вероятно, связано с периодом отъема и переходом на другой тип кормления, а также с возрастом. Затем отмечается увеличение массы до 4-6-месячного возраста, что свидетельствует о повышении иммунологической зрелости. Максимальную абсолютную массу в этот период имели добавочные нижнечелюстные, бифуркационные, средостенные каудальные, кардиальные, левые желудочные и надпривратниковые лимфатические узлы. От 4-х – 6-ти до 12-ти месяцев – период максимального развития лимфоидной ткани в узлах. К трехлетнему возрасту происходят процессы угасания иммунологических функций в лимфатических узлах.

3.4. Морфогенез лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней

В переднем отделе пищеварительного тракта новорожденные поросята имели развитую лимфоидную ткань, представленную в ротоглотке миндалинами и одиночными лимфоидными узелками, а в стенке желудка – солитарными лимфоидными узелками. В пищеводе одиночные лимфоидные узелки обнаруживаются у поросят в 14-суточном возрасте.

Из одиночных лимфоидных узелков с высокой плотностью залегания в ротоглотке сформировались небные, околонадгортанные, тубарные, язычная миндалина и миндалина мягкого неба. Небные, околонадгортанные, и тубарные миндалины являются парными, а язычная миндалина и миндалина мягкого неба – непарными.

Общая площадь парных небных, околонадгортанных миндалин и миндалина мягкого неба с возрастом увеличивается, достигает максимума в годовалом возрасте и равняется $32,77 \text{ см}^2$, $3,10 \text{ см}^2$ и $6,19 \text{ см}^2$ соответственно. Площадь тубарных миндалин достигает наибольших значений у свиней в возрасте 6 месяцев – $3,12 \text{ см}^2$. Затем площадь миндалин имеет тенденцию к снижению с возрастом в связи с инволюцией. Площадь язычной миндалина постоянно с возрастом возрастает, так как увеличивается собственная площадь языка и соответственно возрастает площадь взаимодействия слизистой оболочки с антигенами корма. Кроме того, расстояние между лимфоидными узелками увеличивается, а их количество снижается.

В постнатальном онтогенезе во всех миндалинах ротоглотки наблюдается постепенное уменьшение количества лимфоидных узелков (рис. 2). Особенно резкое снижение числа лимфоидных узелков на 1 см^2 происходит от 1 суток до 14-суточного возраста. Мы это связываем с быстрым ростом организма, и ротоглотки в частности и увеличением размеров лимфоидных узелков.

В стенках ротоглотки свиней помимо миндалин имеются и одиночно расположенные лимфоидные узелки. Они встречаются латерально от небных миндалин в слизистой оболочке небо-язычных дуг, краниально от парных небных миндалин и в слизистой оболочке язычно-надгортанной складки, расположены диффузно. Максимальное их количество наблюдается в 3-4-месячном возрасте, а в язычно-надгортанной складке в возрасте 12 месяцев. У свиней в возрасте трех лет их количество снижается.

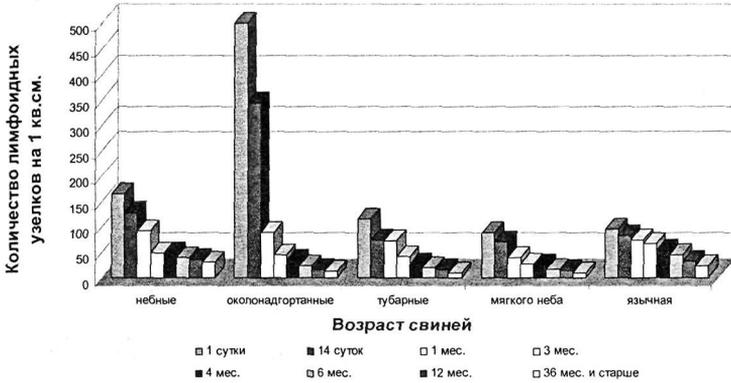


Рис. 2. Динамика количества лимфоидных узелков в миндалинах ротоглотки свиней в постнатальном онтогенезе

В пищеводе у новорожденных поросят лимфоидные узелки визуально не обнаружены, они появляются к 14-суточному возрасту. Лимфоидные узелки округлой или овальной формы, лежат в собственной пластинке слизистой оболочки и в подслизистой основе. В стенке пищевода плотность лимфоидных узелков на 1 см^2 уменьшается в каудальном направлении. Величина их варьирует в возрастном аспекте от 0,001 до $0,2 \text{ см}^2$. С возрастом их количество постепенно увеличивается и достигает максимума у свиней в возрасте 4-х месяцев и составляет в краниальной части $43,21 \pm 9,35$ ($p \leq 0,05$), в средней – $13,86 \pm 0,81$ ($p \leq 0,05$) узелков на 1 см^2 , в дальнейшем происходит снижение их числа (рис. 3).

В стенке желудка во всех морфофункциональных зонах в собственной пластинке слизистой оболочки и в подслизистой основе также располагаются одиночные диффузно разбросанные лимфоидные узелки, за исключением безжелезистой части, располагающейся от кардиального отверстия до дивертикула, где они отсутствуют. Солитарные лимфоидные узелки имеют овальную, грушевидную или округлую форму. Наибольшая плотность размещения лимфоидных узелков на 1 см^2 почти во всех возрастных периодах отмечается в стенке дивертикула желудка. Наименьшее количество лимфоидных узелков на 1 см^2 наблюдается в фундальной части (рис. 4). Плотность лимфоидных узелков на 1 см^2 во всех отделах желудка в 14-суточном возрасте снижается. В дальнейшем происходит увеличение числа лимфоидных образований в стенке желудка. В кардиальной части наибольшая плотность солитарных лимфоидных узелков отмечается у свиней в возрасте 4-х месяцев и составляет $31,09 \pm 3,57$ ($p \leq 0,05$) на 1 см^2 , в пилорической – в возрасте 3-х – 4-х месяцев – $38,63 \pm 3,87$ ($p \leq 0,05$) на 1 см^2 . Количество узелков на 1 см^2 в фундальном отделе увеличивается до 4-месячного возраста, а затем постепенно снижается.

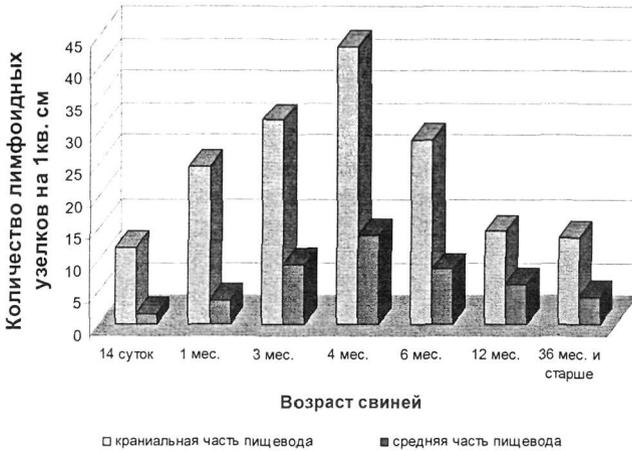


Рис. 3. Динамика солитарных лимфоидных узелков в стенке пищевода свиней в постнатальном онтогенезе

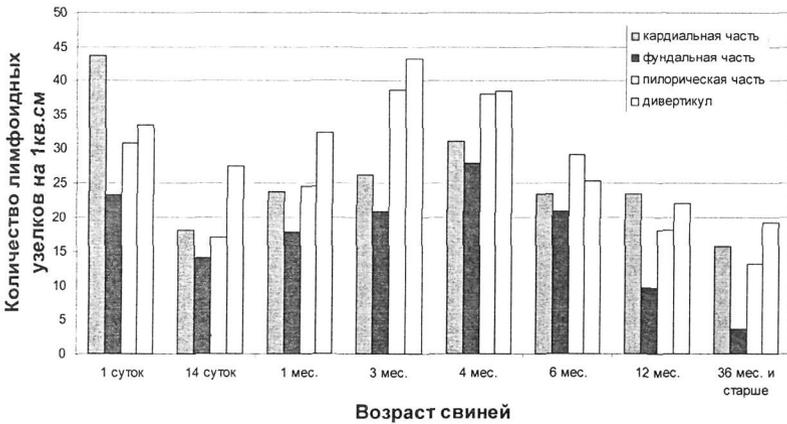


Рис. 4. Динамика количества одиночных лимфоидных узелков в стенке желудка свиней в постнатальном онтогенезе

В дивертикуле плотность лимфоидных узелков достигает максимума у свиней в возрасте 3-х месяцев – $43,27 \pm 1,86$ ($p \leq 0,05$) узелка на 1 см^2 . Интенсивный рост лимфоидных узелков наступает в наиболее неблагоприятный период для животного (отъем от матки, смена типа кормления, условий содержания и т.д.), когда организм животных чаще подвержен различным антигенным воздействиям. К трем годам жизни свиней во всех морфофункциональных зонах желудка отмечается снижение количества лимфоидной ткани.

3.5. Цитоархитектоника, гистологические, ультраструктурные и иммуногистохимические особенности клеток лимфатических узлов ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней

В лимфатических узлах ротоглотки, пищевода и желудка у новорожденного поросенка идентифицируются все морфофункциональные зоны: корковое вещество, представленное преимущественно первичными лимфоидными узелками и реже вторичными, паракортикальная зона, мозговое вещество и система синусов. Основными клетками лимфоидного ряда являются лимфоциты – $66,67$ - $96,67$ %. Проллиферативная активность лимфоцитов выше в герминативных центрах лимфатических узлов пищевода и желудка, чем в нижнечелюстном лимфатическом узле. Самая высокая плотность лимфоцитов на единицу площади – в паракортикальной зоне. На тимусзависимой территории лимфатического узла расположены в основном Т-лимфоциты, число их варьирует от 86 до 97 %. Т-лимфоциты в герминативных центрах встречаются у новорожденных поросят в количестве 36 %, к 6-месячному возрасту пул Т-клеток снижается до 23 %.

Максимальное развитие и иммунологическая зрелость лимфатических узлов завершается к 3-4-месячному возрасту. Наибольшее количество иммунобластов $1,33$ - $6,67$ % отмечается в месячном возрасте, плазмобластов – 15 % в 3-4-месячном возрасте, пик незрелых и зрелых плазматических клеток наблюдается у свиней в возрасте 3-х месяцев и составляет $2,33$ - $5,33$ % и $5,33$ - $8,33$ % соответственно. Дифференцировка клеток, способных к выработке антител (иммунобласты, плазмобласты, незрелые и зрелые плазмоциты), происходит преимущественно в герминативных центрах вторичных лимфоидных узелков коры и в мягкотных тяжах мозгового вещества. Наибольший процент митотически делящихся клеток регистрируется у свиней в 1-3-месячном возрасте. Количество макрофагов увеличивается к 14-суточному возрасту и сохраняется на сходном уровне до 12-месячного возраста. Число макрофагов в узлах увеличивается по направлению от ротоглотки к желудку. С 4-х месяцев и до года наблюдается стабилизация соотношения клеточных популяций и лимфоцитопоза. У трехлетних свиней регистрируется угасание лимфоцитопоза в органе, отмечаются признаки инволюции: сглаживание морфофункциональных зон, появление ареактивных лимфоидных узелков и уменьшение в них лимфоцитов. Относительное число Т- лимфоцитов в зародышевых центрах снижается к трехлетнему возрасту до 12 %. Происходит значительное снижение

иммунокомпетентных клеток и возрастает число ретикулярных клеток. С возрастом в лимфатических узлах увеличивается количество соединительной ткани, утолщается капсула, трабекулы.

3.6. Цитоархитектоника, гистологические, ультраструктурные и иммуногистохимические особенности клеток лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка в постнатальный период онтогенеза свиней

Гистологически у новорожденных поросят в стенках переднего отдела пищеварительного тракта обнаруживаются диффузная лимфоидная ткань, одиночные и сгруппированные лимфоидные узелки (миндалины). В миндалинах и стенке желудка встречаются только первичные лимфоидные узелки. В собственной пластинке слизистой оболочки пищевода у суточных поросят лимфоидная ткань представлена диффузно разбросанными клетками рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани и скоплениями лимфоцитов из 20-42 клеток. В стенке пищевода первичные лимфоидные узелки (без герминативных центров) формируются к 14-суточному возрасту. Дифференциация лимфоидных узелков на купол и герминативный центр в небных миндалинах и стенке желудка происходит к концу первого месяца, а в стенке пищевода – в 3-месячном возрасте.

Основным типом клеток лимфоидной ткани переднего отдела пищеварительного тракта являются лимфоциты. Количество лимфоцитов в первичных лимфоидных узелках небных миндалин, пищевода и желудка постепенно снижается до 64,33 %, в связи с образованием герминативных центров. В миндалинах Т-лимфоциты располагаются преимущественно в межузелковой лимфоидной ткани – 88-98 %. В герминативных центрах их число составляет 18-30 %. В лимфоидных образованиях стенки пищевода и желудка Т-клетки чаще встречаются в куполах и в толще слизистой оболочки небольшими группами.

В лимфоидных образованиях переднего отдела пищеварительного тракта площадь и количество лимфоидных узелков с герминативными центрами увеличиваются к 4-6-месячному возрасту. В этот период количество иммунобластов достигает 3,33-4,33 %, плазмобластов – 7-10,67 %, незрелых плазматических клеток – 1,33-2,67 %, зрелых плазмоцитов – до 8 %, макрофагов – 2-4,33 %, тучных и митотически делящихся клеток – до 3 %, что указывает на повышенную иммунологическую активность в этом возрасте. С периода 4-6-ти месяцев и до года в лимфоидной ткани отмечается некоторое гистологическое постоянство. В возрасте 3-х лет и старше в одиночных лимфоидных узелках и миндалинах начинаются инволютивные изменения.

ВЫВОДЫ

1. В период внутриутробного развития у свиней околоушные и нижнечелюстные лимфатические узлы обнаруживаются на 49 сутки, заглоточные латеральные и медиальные, глубокие шейные, левые трахеобронхиальные и бифуркационные, лимфатические узлы малой кривизны желудка и собственно селезеночные – на 84 сутки, а добавочные нижнечелюстные, дорсальные трахеальные, средостенные каудальные, поджелудочно-селезеночные и надпривратниковые – только на 112 сутки. В пренатальном онтогенезе формируются капсула и трабекулярный аппарат, корковое плато с первичными лимфоидными узелками, мозговое вещество и система синусов. Основные клетки 80-90 % - лимфоциты. Вторые по численности – 6-20 % - ретикулярные клетки. Доля иммунобластов, плазмобластов, макрофагов, сегментоядерных нейтрофилов и митозов не превышает 0,33-1,33 %.

2. Первые лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки ротоглотки и желудка обнаруживаются у 49-суточных плодов, а в стенке пищевода у плодов в возрасте 84-х суток. В пренатальном онтогенезе парные небные, околонадгортанные и тубарные миндалины впервые визуально определяются у плодов в возрасте 84-х суток. Язычная миндалина и миндалина мягкого неба формируются только к моменту рождения. Одиночные лимфоидные узелки в стенке желудка обнаруживаются у 112-суточных плодов. К моменту рождения в миндалинах и в стенке желудка встречаются только узелки без герминативных центров. В диффузной лимфоидной ткани, в лимфоидных узелках обнаруживаются ретикулярные клетки до 9-16 %, бластные формы клеток и митозы – 0,33-1,0 %. В стенке пищевода выявляют небольшие скопления малых лимфоцитов.

3. У новорожденных поросят лимфатические узлы ротоглотки, пищевода и желудка анатомически сформированы. Встречаются как полинодозные, так и мононодозные узлы. В лимфатических узлах дифференцируются все морфофункциональные зоны: корковое вещество преимущественно с первичными лимфоидными узелками, паракортикальная зона, мозговое вещество и система синусов. Лимфоциты составляют 66,67-96,67 %, ретикулярные клетки – 3,33-32,33 %, иммунобласты и плазмобласты – 0,33-2,33 %, незрелые и зрелые плазмциты, макрофаги, тучные и митотические – 0,33-1,67 %. Количество и абсолютная масса узлов в возрастном аспекте варьирует. Интенсивный рост массы наблюдается в первый месяц после рождения. Затем отмечается постепенное увеличение массы до 4-6-месячного возраста.

4. Лимфоидная ткань в переднем отделе пищеварительного тракта у новорожденных поросят представлена в ротоглотке миндалинами и одиночными лимфоидными узелками, а в стенке желудка – солитарными лимфоидными узелками. В пищеводе одиночные лимфоидные узелки обнаруживаются к 14-суточному возрасту. Одиночные лимфоидные узелки располагаются как в собственной пластинке слизистой оболочки, так и в подслизистой основе. Основными клетками 78,33-89,34 % лимфоидной ткани

роголотки, пищевода и желудка у новорожденных поросят являются лимфоциты. Вариация ретикулярных клеток составляет от 9,34 до 23,67 %.

5. Максимальное количество лимфоидных узелков на 1 см² в миндалинах ротоглотки в постнатальном онтогенезе отмечается у новорожденных животных. В стенке желудка их количество снижается в 14-суточном возрасте. Число одиночных лимфоидных узелков в стенке пищевода и желудка достигает наибольшего количества в возрасте 3-х – 4-х месяцев. Дифференциация лимфоидных узелков на купол и герминативный центр в миндалинах и стенке желудка происходит к концу первого месяца, а в стенке пищевода – в 3-месячном возрасте.

6. В лимфатических узлах Т-лимфоциты преимущественно расположены в паракортикальной зоне, число их варьирует от 86 до 97 %. Т-лимфоциты в герминативных центрах лимфатических узлов встречаются у новорожденных поросят в количестве 36 %, к 6-месячному возрасту их число снижается до 23 %. В лимфоидных образованиях ротоглотки, пищевода и желудка Т-лимфоциты – 71-98 % преимущественно располагаются в куполе лимфоидных узелков и несколько плотнее в межузелковой зоне миндалин. В герминативных центрах в возрасте 6-ти месяцев число Т-клеток – 18-23 %.

7. Максимальное развитие и иммунологическое созревание лимфатических узлов у свиньи завершается к 3-4-месячному возрасту, лимфоидных образований ротоглотки, пищевода и желудка – к 4-6-месячному возрасту. В возрасте трех лет и старше отмечается снижение функции лимфоцитопоэза, проявляющееся в инволютивных изменениях: появление ареактивных узелков, сглаживание зон, уменьшение количества лимфоцитов до 75,34-85 %, иммунобластов и плазмобластов до 0,33-4,33 %, незрелых и зрелых плазмоцитов до 0,33-2,35 %, макрофагов, тучных и митотически делящихся клеток – менее 1-2 %. Число ретикулярных клеток нарастает до 9,34-22,67 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные данные по морфологии лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка свиньи и закономерностях ее возрастного развития в пре- и постнатальном онтогенезе рекомендуется использовать в учебном процессе при изложении курса анатомии, гистологии и патологической анатомии на биологических, ветеринарных, зооинженерных факультетах высших учебных заведений, а также при написании соответствующих разделов в учебных пособиях и справочных руководствах по видовой и возрастной анатомии и гистологии свиньи.

Количественные и качественные показатели лимфоидной ткани ротоглотки, пищевода и желудка у свиньи как нормативный критерий (норма), которые можно использовать в научно-исследовательской работе и в практике животноводства.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Панфилов, А.Б. Морфология глоточного кольца у свиньи / А.Б. Панфилов, И.В. Пестова // *Науке нового века – знания молодых: Материалы 6-й научной конференции аспирантов и соискателей.* – Киров: ВГСХА, 2006. – Ч. 1. – С. 78-83.
2. Пестова, И.В. Морфология лимфатических узлов головы, пищевода и желудка у свиньи / И.В. Пестова, А.Б. Панфилов // *Современные проблемы ветеринарной медицины: Материалы Всероссийской научно-практической конференции.* – Киров: ВГСХА, 2006. – С. 48-53.
3. **Пестова И.В. Особенности синтопии лимфоидной ткани ротоглотки у свиньи / И.В. Пестова, А.Б. Панфилов // *Морфологические ведомости.* – 2007. - № 3-4. – С. 206-208.**
4. Пестова, И.В. Особенности клеточного состава парных небных миндалин у свиньи / И.В. Пестова // *Наука и молодежь: новые идеи и решения. Материалы II Международной научно-практической конференции молодых исследователей.* – Волгоград: ИПК ФГОУ ВПО ВГСХА «Нива», 2008. – Ч. 2. – С. 330-333.
5. Пестова, И.В. Особенности синтопии лимфоидной ткани пищевода и желудка у свиньи в постнатальном онтогенезе / И.В. Пестова // *Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации: сборник научных трудов.* – Ставрополь: Сервисшкола, 2008. – С. 319-324.
6. **Пестова, И.В. Цитоархитектоника лимфоидной ткани стенок пищевода и желудка у свиньи / И.В. Пестова, А.Б. Панфилов // *Известия Оренбургского аграрного университета.* – 2008. - № 4 (20). – С. 113-116.**
7. Пестова, И.В. Цитоархитектоника лимфатических узлов головы, пищевода и желудка у свиньи / И.В. Пестова, А.Б. Панфилов // *Науке нового века – знания молодых: Сборник статей 8-й научной конференции аспирантов и соискателей.* – Киров: ВГСХА, 2008. – Ч. 2. – С. 21-25.

Подписано в печать 21.10.09. Объем 1,0 п. л.

Тираж 100 экз. Заказ № 1423.

Типография Издательства Мордовского университета
430005, Саранск, ул. Советская, 24