



ПОНОМАРЕВ
Игорь Николаевич

**МОРФОЛОГИЯ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ СВИНЕЙ ПРИ БОЛЕЗНЯХ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

**06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саратов - 2010

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

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Панфилов Алексей Борисович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Салаутин Владимир Васильевич
кандидат ветеринарных наук, старший
научный сотрудник
Бородавкин Игорь Валерьевич

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Костромская государственная
сельскохозяйственная академия».

Защита состоится в «9.00» часов «25» июня 2010г. на заседании
диссертационного совета Д 220.061.01 при ФГОУ ВПО «Саратовский
государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу:
410005, РФ, г. Саратов, ул. Соколова, 335.

Отзывы на автореферат просим выслать по адресу:
410012, РФ, г. Саратов, Театральная площадь, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО
«Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по
адресу: 410005, РФ, г. Саратов, ул. Соколова, 335.

Автореферат разослан «23» мая 2010г. и размещен на сайте: www.sgau.ru.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор ветеринарных наук, доцент



И.Ю. Домницкий

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Заболеваемость молодняка сельскохозяйственных животных в условиях интенсификации сельского хозяйства продолжает оставаться одной из серьезнейших причин, сдерживающих развитие животноводства и наносящих ему значительный ущерб. Большинство авторов связывают данные изменения со снижением защитных сил организма (Ахметзянов Ф.Х., 1966; Зубец Н.А., 1980; Ткачев Е.З., 1995; Щербакова Г.П., 1996; Панин А.Н., 1998; Валеев Ф.Н., 2000; Малик Н.И., 2002; Дмитриенко В.Г., 2005; Пилип Л.В., 2005; Дронин-Дорчелинский Е.А., 2007; Петренко С.В., 2007; Adams M.R., 1988).

Особенностями этиологии и патогенеза неинфекционных желудочно-кишечных расстройств молодняка неонатального возраста являются структурные количественные и качественные изменения в микробиоценозе кишечника, лимфоидной системе, снижение активности коллострального иммунитета.

Нарушение нормального иммунологического статуса, обусловленное дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа, принято рассматривать как иммунную недостаточность или иммунодефицит. Это способствует усилению патогенных свойств ассоциаций условно-патогенной микрофлоры, которая постоянно находится в желудочно-кишечном тракте. Поэтому иммунодефицитное состояние организма, связанное со снижением активности защитных механизмов, обуславливает неблагоприятный исход воспалительной реакции (Мовэта Г.З., 1975; Жарикова Н.А., 1979; Лозовой В.П., 1981; Сапин М.Р., 1987-2001; Соколов В.И., 1987-2010; Осадчук М.А., Kereis S., 1997; Козлова И.В., 1998; Панин А.Н., 1998; Григорьев В.С., 1998; Каширская Н.Ю., 2000; Нестерова И.В., 2002; Малик Н.И., 2002; Панфилов А.Б., 1991-2010; Кафарская Л.И., 2005; Weiner H.L., 2001; Waket W.A., 2005).

В настоящее время известно, что становление собственного кишечного иммунитета происходит в период ранней микробной колонизации кишечника. В подтверждение этих слов многие авторы указывают на недоразвитие лимфоидной ткани у экспериментальных животных, выращенных в безмикробных условиях, которое выжалось в недостаточном количестве иммунокомпетентных клеток (Дмитриенко В.Г., 2005; Хавкин А.В., 2006; Мазанкова Л.Н. с соавт., 2007; Jarry A., 1989; Driessen A., 2002).

Поэтому, микрофлора кишечника обеспечивает ключевые сигналы для созревания иммунной системы и в дальнейшем активно контролирует связанный с кишечником гомеостаз. Практически доказано, что для полного созревания самого крупного иммунного органа человека, а именно связанной с кишечником лимфоидной ткани, необходимо воздействие не столько антигенов пищи, сколько антигенов микроорганизмов – симбионтов

Проблема углубленного изучения концепции взаимодействия микрофлоры кишечника с органами иммунитета и, в первую очередь, с иммунной системой желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), является актуальной и до настоящего времени не решенной (Ткачев Е.З., 1995; Мухина Ю.Г. с соавт., 2005).

В связи с этим особый интерес вызывает состояние лимфоидной системы кишечника сельскохозяйственных животных на фоне желудочно-кишечных расстройств, а так же под воздействием пробиотических препаратов.

Цель работы:

–определить состояние лимфоидной ткани кишечника свиней в норме, при гастроэнтероколите и после применения некоторых пробиотиков.

Задачи исследования:

- выявить особенности морфологии лимфоидной ткани стенки кишечника у свиней молочного периода;
- установить особенности морфологии лимфоидной ткани стенки кишечника у свиней молочного периода при гастроэнтероколите;
- определить гистологические и ультраструктурные особенности клеток лимфоидной ткани стенки кишечника и мезентериальных лимфатических узлов у молодняка свиней при гастроэнтероколите;
- выявить особенности состояния лимфоидной ткани кишечника свиней под влиянием пробиотиков;
- установить гистологические и ультраструктурные особенности клеток лимфоидной ткани стенки кишечника и брыжеечных лимфатических узлов у свиней под влиянием пробиотиков.

Научная новизна заключается в комплексном подходе к решению поставленных задач, позволившем более подробно изучить и описать структурную организацию лимфоидной ткани кишечника молодняка свиней в норме и при гастроэнтероколите незаразной этиологии. Получены новые данные о морфологии, синтопии, цитоархитектонике и иммуногистохимии клеток брыжеечных лимфатических узлов, одиночных и сгруппированных лимфоидных узелков в стенках тонкой и толстой кишок. Впервые подробно описана лимфоидная ткань мезентериальных лимфатических узлов и кишечника у свиней после применения пробиотических препаратов.

Теоретическая и практическая ценность.

Результаты исследований в значительной степени уточняют и пополняют имеющиеся знания о видовой и возрастной морфологии лимфоидной ткани кишечника и брыжеечных лимфатических узлов при их воспалительной патологии. Полученные результаты исследований могут быть использованы ветеринарными специалистами при коррекции пробиотиками иммунодефицитного состояния у молодняка свиней, для включения в специальную литературу для практикующих ветеринарных врачей и биологов при выборе стратегии профилактики и лечения воспалительной патологии кишечника, а также в учебном процессе на морфологических и клинических кафедрах.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Морфология клеток лимфоидной ткани кишечника поросят молозивного периода.
2. Морфология клеток лимфоидной ткани кишечника поросят при гастроэнтероколите незаразной этиологии.
3. Синтопия, цитоархитектоника, ультраструктура и иммуногистохимия лимфоидной ткани стенки кишечника и брыжеечных лимфатических узлов у свиней под действием пробиотических препаратов Бактоцеллолактин и Ветом 1.1.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 8-й, 9-й и 10-й научных конференциях аспирантов и соискателей «Науке нового века – знания молодых» ВГСХА (2008-2010 гг.); Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения П.Г. Петского «Современные научные тенденции в животноводстве» ВГСХА (2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе три в журналах, рекомендованных перечнем ВАК («Морфология», «Достижения науки и техники АПК», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета»).

Внедрение. Материалы диссертации используются в практической работе ветеринарных специалистов ЗАО Агрофирмы «Дороничи» и ЗАО «Заречье». Кроме того, результаты исследований включены в учебный процесс и научную работу на морфологических кафедрах Ивановской государственной сельскохозяйственной академии, Оренбургского государственного аграрного университета и Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 58 рисунками, 11 таблицами цифровых материалов. Список литературы включает 180 источников, в том числе 62 работы иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследования

В работе обобщены результаты комплексных научных исследований, проведенных в период с 2007 по 2010 г. Г. Эксперименты проведены на базе ЗАО Агрофирма «Дороничи» и ЗАО «Заречье». Материалом наших исследований являлись комплекты кишечника свиней крупной белой породы, которые получали от клинически здоровых животных, поросят, павших от гастроэнтероколита, а также после применения пробиотиков Ветом 1.1 и Бактоцеллолактин. Всего нами исследован материал от 89 животных различных возрастных групп (табл. 1).

При выполнении экспериментальной части работы мы использовали основные методы морфологического исследования: анатомические,

гистологические, иммуногистохимические, электронномикроскопические и морфометрические.

Препараты для макроанатомических исследований готовили по методу Т. Hellman (1921). Для этого тонкую и толстую кишку расправляли, измеряли длину, разрезали по брыжеечному краю, определяли ширину, промывали в проточной воде в течение 30-40 минут.

Таблица 1 - Возраст и количественный состав исследованных животных

Группа животных	Возраст	Количество голов
Интактные	6 суток	11
Интактные	21 суток	10
Интактные	28 суток	13
Интактные	4 месяца	7
Павшие с диагнозом гастроэнтероколит	6 суток	11
Павшие с диагнозом гастроэнтероколит	21 суток	10
Павшие с диагнозом гастроэнтероколит	28 суток	11
Получавшие пробиотик БЦД	4 месяца	8
Получавшие пробиотик Ветом 1.1	4 месяца	8
Итого:		89

Окрашивали 1 %-м раствором гематоксилина Гарриса. Затем дифференцировали в 2-3 %-м растворе уксусной кислоты в течение 18 часов, промывали и проводили дальнейшие исследования. На тотальных препаратах тонкой и толстой кишки в проходящем свете определяли общее количество одиночных лимфоидных узелков, а также их плотность на 1 см² кишки, как в собственной пластинке, так и в подслизистой основе и в лимфоидной бляшке, определяли размеры, форму, топографию, расстояние между лимфоидными бляшками. Подсчет количества одиночных лимфоидных узелков проводили не менее чем 11 полях зрения.

При исследовании макроанатомии мезентериальных лимфатических узлов определяли цвет, синтопию, количество, измеряли длину, ширину и толщину, а также абсолютную массу. Лимфатические узлы взвешивали на весах марки ВЛК-500 с точностью 0,001 г. Основные промеры проводились миллиметровой линейкой и микроштангенциркулем.

Параллельно для изучения цитоархитектоники кусочки лимфатических узлов и участки тонкой и толстой кишки с лимфоидной тканью фиксировали в 10 %-м водном растворе формалина на фосфатном буфере, жидкости Толеснишки. Биоматериал по общепринятой методике заливали в парафин. На санном микротоме изготавливали гистологические

срезы толщиной 4-5 мкм, окрашивали гематоксилином Гарриса и докрашивали эозин и метиловым зеленым, пиронином по Унна.

Для изучения ультраструктуры мезентериальных лимфатических узлов и лимфоидной ткани стенки кишечника предварительно кусочки этих органов фиксировали в 2,5 %-м растворе забуференного глутарового альдегида, дофиксировали в четыреххлористом осми. Обезвоживали материал в спиртах возрастающей крепости и ацетоне. Изготавливали ультратонкие срезы, которые контрастировали 4 % водным раствором уранилацетата 2 часа при $t=60^{\circ}\text{C}$, промывали и наносили цитрат свинца по Рейнольдсу на 30 минут при комнатной температуре, вновь промывали, просушивали. Просмотр ультратонких срезов осуществляли на трансмиссионном микроскопе JEM-100C.

Подсчет клеточного состава в мезентериальных лимфатических узлах, одиночных лимфоидных узелках и в лимфоидных бляшках стенки кишечника производили на микроскопе БИОЛАН, с помощью специализированной усовершенствованной сетки С.Б. Стефанова (1988). Количественную информацию о диаметре и площади первичных и вторичных лимфоидных узелков получали в ходе морфометрических исследований с использованием винтового окуляр-микрометра МОВ – 1-15x (ГОСТ 15150-69) и окулярных вставок.

Для иммуногистохимического исследования срезы толщиной 4 мкм наклеивали на стекла с полилизиним, демаскировка антигенов проводилась в скороварке. Применяли первичные антитела фирмы «Дак». В реакциях использовался поликлон CD3 – общая популяция Т-лимфоцитов. Система детекции – LSAB + «Дак». 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.

Названия анатомических, гистологических 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).

Все полученные данные протоколировались. Фотографирование макро- и микропрепаратов производили с помощью цифрового фотоаппарата BENQ DC E100.

Полученные в ходе работы цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики при помощи специализированной компьютерной программы для биологических и медицинских исследований «Primer Biostatistics», версия 4.03. Для каждой величины определяли: среднюю арифметическую (M); статистическую ошибку средней арифметической (m) и достоверность разницы между средними арифметическими двух вариационных рядов по критерию достоверности Ньюмана-Кейлса (p).

Разницу между двумя величинами считали достоверной при уровне вероятности $p \leq 0,05$. Итоговые показатели количественных данных вычисляли с помощью макрофункций описательной статистики пакета статистического анализа Microsoft® Excel 2003.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Морфология и иммуногистохимия клеток лимфоидной ткани кишечника молодняка свиней

У новорожденных поросят лимфатические узлы брыжейки тонкой и толстой кишки сформированы. С момента рождения до возраста 4 недель брыжеечные лимфатические узлы характеризуются интенсивным увеличением относительной массы и размеров. По строению лимфатические узлы моно- и полинодозные. Максимальной массы лимфатические узлы достигают в тощей кишке у 28-суточных животных. Существенные изменения массы и строения лимфатических узлов связаны с периодом отъема и переходом на другой тип кормления.

Капсула лимфатических узлов у поросят в возрасте 6 суток тонкая, прозрачная. Паренхима узлов с возрастом более отчетливо дифференцирована на морфофункциональные зоны: корковое плато, паракортикальную зону и мозговое вещество. У 6-суточных поросят корковое вещество представлено преимущественно первичными лимфоидными узелками, реже вторичными. В тоже время у 4-х недельных поросят в этой зоне обнаруживается в 2,2 раза больше вторичных лимфоидных узелков. Корона, которая окружает вторичные лимфоидные узелки, состоит из 2-3 рядов малых лимфоцитов. Во вторичных лимфоидных узелках коры герминативные центры слабо заметны.

Основными клетками лимфоидного ряда являются лимфоциты, составляющие более 85 %. Самая высокая плотность лимфоцитов на единицу площади – в паракортикальной зоне – до 93 %, и несколько ниже в коре и мозговом веществе - не более 90 % во всех возрастных группах. Т-лимфоциты преимущественно встречаются в паракортикальной зоне лимфатических узлов. Их число варьирует от 83 до 96 %. Здесь они располагаются наиболее плотно друг к другу. В этой морфофункциональной зоне выявляются и другие популяции лимфоцитов в небольшом количестве. Они локализируются около посткапиллярных венул и в местах перехода коры в мозговое вещество. Наличие в тимусзависимой зоне представителей разных пулов клеток связано с необходимостью функционального взаимодействия Т- и В-лимфоцитов. Иммунобласты встречаются преимущественно в герминативном центре и паракортикальной зоне лимфатических узлов – до 2,2 %, а число плазмобластов варьирует от 0 до 13,0 %. Количество незрелых плазмочитов находится в пределах 1%, а зрелых плазматических клеток до 9%.

В лимфатических узлах толстой кишки уровень зрелых плазмочитов значительно ниже – около 2%. Число ретикулярных клеток наибольшее в корковом веществе и достоверно увеличивается с 6-суточного до 3-х недельного возраста с 6,2 % до 9,2 %, а уровень макрофагов не превышает

2%. У поросят к 28 - суточному возрасту расширяются границы коркового вещества в лимфатических узлах. В коре по периферии встречается небольшое количество лимфоидных клеток и множество афферентных лимфатических сосудов. Количество трабекул 5-7 на срезе. Трабекулы, отходящие от капсулы, разделяют кору на отдельные сегменты.

В стенке тонкой и толстой кишки на всем их протяжении у поросят с 6-ти- до 28-дневного возраста встречаются диффузная лимфоидная ткань, одиночные лимфоидные узелки и сгруппированные лимфоидные образования – лимфоидные бляшки. У поросят в возрасте от 6 до 28 - ми суток одиночные лимфоидные узелки в стенке двенадцатиперстной кишки располагаются диффузно. В стенке тощей кишки, кроме одиночных лимфоидных узелков, встречались и сгруппированные. Лимфоидные бляшки имеют различную форму – от ромбовидной до вытянутой с закругленными краями, размеры варьируют от 0,5 см² до 1,4 см², располагаются на стороне противоположной брыжеечному. В подвздошной кишке лимфоидные узелки располагаются наиболее плотно в антимезентериальной области кишки и формируют полосовидную лимфоидную бляшку, которая берет свое начало в дистальной части тощей кишки. В стенке слепой кишки лимфоидные узелки располагаются диффузно, но наибольшая их плотность $1,8 \pm 0,2$ на 1 см² в верхушечной части у 28-суточных животных. В стенке ободочной кишки одиночные лимфоидные узелки рассеяны диффузно, размеры – до 0,4 см².

У поросят в возрасте 6-28 суток в структуре вторичных лимфоидных узелков различимы 3 зоны – купол и герминативный центр, а в бляшках формируется и межузелковая зона. Основным типом клеток лимфоидной ткани кишечника у поросят являются лимфоциты. Количество их варьирует от 82,0 % до 91,1 %. Т-лимфоциты в лимфоидных образованиях стенки тонкой и толстой кишки встречаются преимущественно в межузелковой зоне – до 95 %. В период с 6 до 28 суток уровень иммунобластов не превышает 1,5%, плазмобластов – 3,8 %, незрелых плазматических клеток – 2,5 %, зрелых плазмочитов – 3,0 %, макрофагов, тучных и митотически делящихся клеток – 0,5 %.

3.2. Морфология и иммуногистохимия клеток лимфоидной ткани брыжеечных лимфатических узлов молодняка свиней при гастроэнтероколите

Мезентериальные лимфатические узлы поросят, павших от катарально-геморрагического гастроэнтероколита, наибольших размеров достигают в проксимальной части тонкой кишки. В отличие от здоровых животных, абсолютное большинство узлов с поверхности и на разрезе имеют округлую или овальную форму, красно-коричневого цвета. У поросят с патологией тонкой и толстой кишки все лимфатические узлы мононодозные, абсолютная масса которых в 1,6 раза ниже аналогичных показателей здоровых животных.

Капсула лимфатических узлов наименее развита у 6-дневных поросят, павших от гастроэнтероколита. Отмечается расширение просветов синусов, преимущественно краевых (на $25,1 \pm 8,2$ мкм), по сравнению со здоровыми

животными. Контуры центрального синуса неровные и местами он выражен слабо. Паренхима узлов без четких границ дифференцирована на морфофункциональные зоны: корковое плато, паракортикальную зону и мозговое вещество. На гистологическом срезе, помимо первичных и вторичных лимфоидных узелков, в большом количестве обнаруживаются зоны формирующихся лимфоидных узелков, значительная инфильтрация плазмобластами и клетками фибробластического ряда, разрыхление слоев соединительнотканной капсулы, гиперемия сосудов.

В лимфатических узлах поросят, павших от гастроэнтероколита, в возрасте 21 суток, по всему срезу обнаруживаются как гипертрофированные лимфоидные узелки с расширенными герминативными центрами, так и лимфоидные узелки с герминативными центрами в стадии формирования. Обнаруживаются гиперемия, увеличение порозности сосудов. В сосудах капиллярного русла – сладж эритроцитов, при этом синусы расширены и наблюдается повышенное содержание бластных форм клеток – иммунобластов и плазмобластов.

В мезентериальных лимфатических узлах 4-х недельных поросят, павших с диагнозом гастроэнтероколит, просветы краевых, промежуточных и воротных синусов резко расширены (на $28,5 \pm 7,0$ мкм), наблюдаются диффузные кровоизлияния в мозговом веществе лимфатического узла, гиперплазия лимфоидных узелков, периваскулярный отек в строме узла. Следует отметить, что наиболее характерные изменения наблюдались в мезентериальных лимфатических узлах тонкой и краниальной части толстой кишки до ее дистального отдела – прямой кишки. Здесь выраженность патологического процесса менее заметна.

Основными клетками во всех зонах узлов у 6-28 - суточных поросят, павших с диагнозом гастроэнтероколит, являются лимфоциты - 80,1 - 92,4 %. Самая высокая плотность лимфоцитов на единицу площади – в паракортикальной зоне и несколько ниже в коре и мозговом веществе. При сравнении со здоровыми поросятами, обнаруживается снижение данных показателей у больных животных в среднем на 5,6%. На тимусзависимой территории лимфатического узла расположены в основном Т-лимфоциты, число их достигает 94 %. У поросят, павших от гастроэнтероколита, в узлах тонкой кишки показатель уровня иммунобластов и плазмобластов составляет 1,5 %. Обнаружено, что у больных животных в период с 6 до 28 суток жизни количество плазмобластов уменьшается на 1,5 %, а у интактных поросят в этот период происходит достоверное увеличение числа клеток с 0 до 3,5 %. У больных животных увеличивается количество незрелых плазмоцитов – на 2,5-3,0 % и макрофагов на 1,5-2,0 %, но в тоже время снижается число зрелых плазматических клеток на 2,5-3,2 %, ретикулярных клеток 3-7 %.

3.3. Морфология и иммуногистохимия клеток лимфоидной ткани стенки кишечника молодняка свиней при гастроэнтероколите

Площадь тонкой кишки у 6-суточных поросят с патологией кишечника ниже по сравнению с нормой на 38,3 %, толстой кишки – на 18,5 %. В меньшей степени изменяются данные показатели у поросят,

павших от гастроэнтерита в возрасте 21-день - ниже на 25,9% и 15,6% в тонкой и толстой кишке соответственно. В возрасте 28 дней обнаруживается уменьшение параметров площади кишки на 13,5% в сравнении с нормой.

В подслизистой основе двенадцатиперстной кишки у поросят, павших от гастроэнтероколита, обнаруживаются только одиночные лимфоидные узелки. У больных животных, в сравнении со здоровыми, обнаруживается уменьшение площади лимфоидных узелков в 10 раз. В собственной пластинке и подслизистой основе тощей кишки у животных с патологией кишечника обнаруживаются как одиночные лимфоидные узелки, так и сгруппированные лимфоидные образования. У животных, павших с диагнозом гастроэнтероколит, увеличивается плотность одиночных лимфоидных узелков на 1 см^2 кишки во всех возрастных группах на $0,15 \pm 0,05$, а в лимфоидной бляшке на $185,51 \pm 18,92$. Количество лимфоидных бляшек больше у здоровых животных на $3,0 \pm 0,5$. В подслизистой основе подвздошной кишки обнаруживается полосовидная лимфоидная бляшка. Ее площадь у здоровых животных выше в 1,6 раза. В стенках слепой и ободочной кишок поросят, павших от гастроэнтероколита, лимфоидные узелки расположены диффузно. Их плотность при сравнении со здоровыми животными изменяется незначительно. Кроме того, в стенке толстой кишки встречаются лимфогландулярные комплексы величиной до $0,2 \text{ см}^2$, состоящие из 3-10 мелких лимфоидных узелков, четко отделенных друг от друга и связанных с эпителием крипт.

У поросят, павших от гастроэнтероколита в возрасте 6 суток, в лимфоидной ткани различимы 3 зоны - купол и обособляющийся герминативный центр, а в бляшках формируется и межузелковая зона. Границы между узелками в лимфоидных бляшках отчетливо различимы. В лимфоидной ткани кишечника у поросят, павших от гастроэнтероколита основным типом клеток являются лимфоциты. Их число варьирует от 80% до 89%, что ниже по сравнению со здоровыми животными на 4-5%. У поросят, павших от гастроэнтероколита, обнаруживается увеличение уровня иммунобластов - на 1,5-3,0%, плазмобластов - на 1,5-2,0%, незрелых плазматических клеток - на 1,0-1,5%, зрелых плазмоцитов на - 2,0-3,0%, макрофагов на - 2,5-3,0%, а также уменьшение количества ретикулярных клеток на 1,0-2,5%.

В результате гистологических исследований у животных, павших от гастроэнтероколита, выявлены гиперпластические изменения в лимфоидных узелках с расширением герминативных центров. В тоже время встречаются редуцированные вторичные лимфоидные узелки вплоть до полного их отсутствия. Герминативные центры округлой или вытянутой формы расположены у основания лимфоидных узелков или в центре. Строение лимфоидных образований в стенке тонкой кишки у больных поросят по сравнению со здоровыми изменяется в сторону увеличения количества первичных лимфоидных узелков и уменьшения вторичных. Увеличивается количество ареактивных узелков. В то же время нарастает число гиперпластированных лимфоидных узелков. Расстояние между узелками

увеличивается. В короне насчитывается 3-5 рядов клеток. В лимфоидных образованиях стенки толстой кишки значительных изменений не происходит.

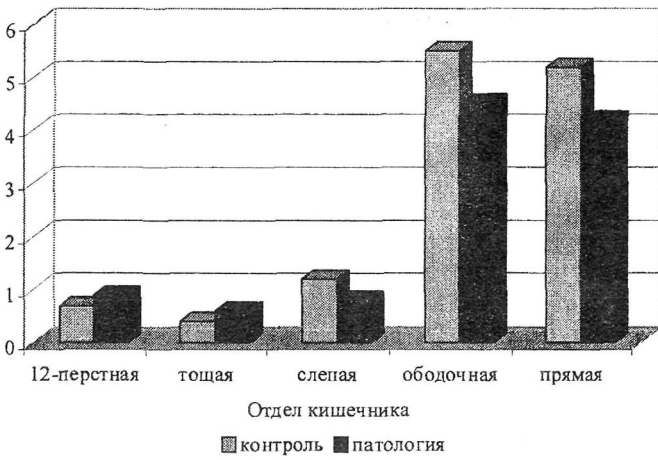


Рисунок 1 - Плотность одиночных лимфоидных узелков на 1 см^2 кишки у поросят в возрасте 6 суток (шт.).



Рисунок 2 - Плотность одиночных лимфоидных узелков на 1 см^2 кишки у поросят в возрасте 21 суток (шт.).

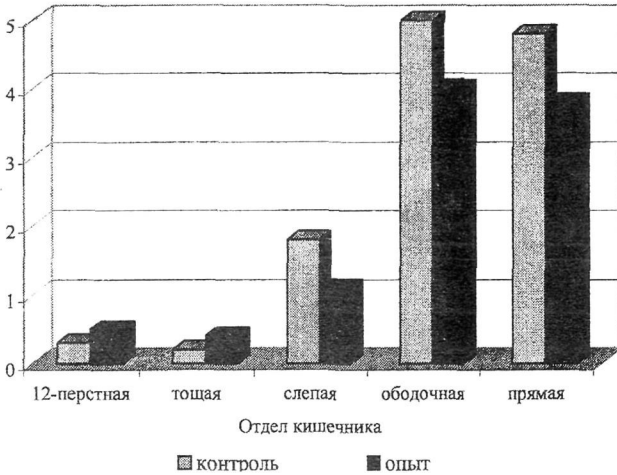


Рисунок 3 - Плотность одиночных лимфоидных узелков на 1 см² кишки у поросят в возрасте 28 суток (шт.).

3.4. Цитоархитектоника, ультраструктура и иммуногистохимия клеток лимфоидной ткани брыжеечных лимфатических узлов свиней под действием пробиотиков БЦЛ и Ветом 1.1

Мезентериальные лимфатические узлы свиней в возрасте 4-х месяцев, получавших пробиотики, анатомически сформированы, степень развития и иммунологическая зрелость сходна с таковыми у интактных животных. В лимфатических узлах выделяются хорошо развитое корковое вещество, представленное первичными и вторичными лимфоидными узелками, паракортикальная зона и мозговое вещество. Границы морфо-функциональных зон четкие, легко различимы. Основными клетками во всех морфо-функциональных зонах узлов у свиней, получавших пробиотик, являются лимфоциты. Их численность варьирует от 82,7 до 96,7 %. В герминативных центрах лимфатических узлов тонкой кишки применение пробиотиков сопровождается повышением количества лимфоцитов на 3,0-3,5 %, а в узлах толстой кишки на 2,4-3,0 %. Самая высокая плотность лимфоцитов на единицу площади – в коре, паракортикальной зоне и мозговом веществе и несколько ниже в герминативных центрах. На тимусзависимой территории лимфатического узла расположены в основном Т-лимфоциты, число их варьирует от 84 до 86 %. Т-лимфоциты так же встречаются по периферии лимфоидных узелков в количестве 33 %.

В лимфатических узлах тонкой и толстой кишки под действием пробиотиков происходит снижение уровня иммубластов и плазмобластов на 2,0-2,5 %, незрелых плазмочитов на 1,5-2,5 %, ретикулярных клеток на 2,0-3,0 %. В тоже время увеличивается число зрелых плазматических клеток на 1,0-2,0 % макрофагов на 1,0-2,5 %.

У животных, получавших пробиотики, границы между корковым и мозговым веществом в лимфатических узлах отчетливо заметны. Увеличивается площадь герминативных центров лимфоидных узелков (на 7,5 мкм. Краевой, промежуточные и центральные синусы отличаются большой емкостью. Уровень вторичных лимфоидных узелков в лимфатических узлах брыжейки тонкой и толстой кишки у животных, после применения пробиотиков, выше, по сравнению с интактными животными на 8,2 %.

3.5. Морфология и иммуногистохимия клеток лимфоидной ткани стенки кишечника свиней после применения пробиотиков БЦЛ и Ветом 1.1

У свиней, получавших пробиотики, в подслизистой основе стенки тонкой кишки обнаруживаются как одиночные лимфоидные узелки, которые располагаются диффузно, так сгруппированные лимфоидные образования. Плотность одиночных лимфоидных узелков в контрольной и опытных группах животных находится на одном уровне. Число лимфоидных бляшек больше у интактных животных, в то время как средняя площадь лимфоидной бляшки выше у животных, после применения пробиотиков. В подслизистой основе подвздошной кишки обнаруживается полосовидная лимфоидная бляшка, площадь и размеры которой выше в опытной группе животных.

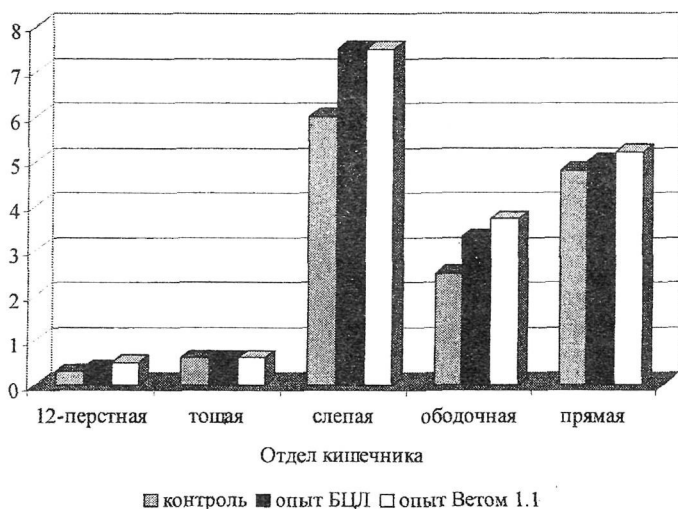


Рисунок 4 - Плотность одиночных лимфоидных узелков на 1 см² кишки у свиней, применения пробиотиков БЦЛ и Ветом 1.1

Кроме того, в стенке толстой кишки плотность одиночных лимфоидных образований выше у животных, рацион которых дополнялся пробиотиками Ветом 1.1 и БЦЛ.

У свиней в возрасте 4 месяцев, получавших пробиотики, в структуре лимфоидных узелков отчетливо различимы три зоны – герминативный центр, купол и межузелковая зона. Развитая соединительная ткань формирует хорошо заметные границы между лимфоидными узелками в лимфоидных бляшках. Корона лимфоидного узелка несет в своем составе 4-6 рядов клеток, большую часть которых составляют лимфоциты. Наиболее четко выражены герминативные центры в лимфоидных бляшках тощей и подвздошной кишок, а также в лимфогландулярных комплексах ободочной и прямой у опытных животных. Наряду с этим у животных контрольной группы чаще встречаются первичные лимфоидные узелки без герминативных центров. Основным типом клеток лимфоидной ткани стенки тонкой и толстой кишок у 4-месячных свиней во всех трех группах животных являются лимфоциты. Их число в контрольной группе варьирует от 78,6 до 94,3 %, тогда как в опытных группах этот показатель изменяется в пределах от 81,6 до 95,0 %.

У свиней, получавших пробиотики в лимфоидной ткани тонкой и толстой кишок снижается количество иммунобластов на 2,0 – 3,1 %, плазмобластов на 1,5 – 3,5 %, незрелых плазматических клеток на 1,0 – 1,5 % и клеток с фигурами митоза – в пределах 2 %. Вместе с тем, происходит увеличение числа зрелых плазмочитов на 1,0 – 1,7 % и макрофагов на 1,0 – 2,5 %, что указывает на повышенную иммунологическую активность у животных, получавших пробиотики.

ВЫВОДЫ

1. У новорожденных поросят лимфатические узлы брыжейки тонкой и толстой кишки сформированы. С момента рождения до возраста 4 недель брыжеечные лимфатические узлы тонкой и толстой кишок характеризуются интенсивным увеличением массы и размеров. Основными клетками лимфоидного ряда лимфатических узлов являются лимфоциты, составляющие более 85 %. Самая высокая плотность лимфоцитов на единицу площади – в паракортикальной зоне лимфатических узлов – до 93 %, и несколько ниже в коре и мозговом веществе - не более 90 % во всех возрастных группах.

2. В стенке тонкой и толстой кишок на всем их протяжении у поросят с 6-ти до 28-суточного возраста встречается диффузная лимфоидная ткань, одиночные и сгруппированные лимфоидные узелки. В стенке подвздошной кишки плотность лимфоидных узелков в полосовидной бляшке снижается к 4-х недельному возрасту с $813,2 \pm 102,2$ до $442,3 \pm 86,7$ на 1 см^2 . У 6-28-суточных поросят в структуре лимфоидных узелков различимы 3 зоны – купол и герминативный центр, а в бляшках формируется и межузелковая зона. Основным типом клеток лимфоидной ткани кишечника у поросят в этом возрасте являются лимфоциты, количество их варьирует от 82,0 % до 91,1 %. Вторые по численности – до 6,8 % - ретикулярные клетки. Доля иммунобластов, плазмобластов, макрофагов, сегментоядерных нейтрофилов и митозов не превышает 3,5 %.

3. У 6-суточных поросят, павших от гастроэнтероколита значительно ниже соотношение абсолютной массы лимфатических узлов к единице площади кишки (в 1,42 раза). В данной группе животных дифференцируются все морфофункциональные зоны: корковое плато преимущественно с первичными лимфоидными узелками, паракортикальная зона и мозговое вещество. В тоже время отмечаются признаки акцидентальной инволюции: сглаживание морфофункциональных зон узла, увеличение числа ареактивных узелков, уменьшение площади герминативных центров лимфоидных узелков на $1,45 \pm 0,02$ мкм, что может свидетельствовать о снижении интенсивности лимфоцитопоза. Показатель уровня лимфоцитов ниже по сравнению с аналогичным у здоровых животных на 5,2 % в узлах тонкой и на 5,6 % толстой кишки. Число зрелых плазматических клеток у животных, павших от гастроэнтероколита, в брыжейке тонкой кишки снижается на 3,2 %, а макрофагов увеличивается на 2,0-3,5 %.

4. В собственной пластинке и подслизистой основе тонкой и толстой кишки у животных с патологией кишечника обнаруживаются как одиночные лимфоидные узелки, так и сгруппированные лимфоидные образования. Площадь сгруппированных лимфоидных образований выше у интактных животных на 24 %. При сравнительном анализе морфометрических показателей полосовидной лимфоидной бляшки обнаруживается увеличение ее площади в 1,6 раза у здоровых животных.

5. У поросят, павших от гастроэнтероколита в возрасте 6-28 суток, в лимфоидной ткани различимы 3 зоны – купол и обособляющийся герминативный центр, а в бляшках формируется и межузелковая зона. Наряду с узелками, имеющими центры размножения, у животных, павших от гастроэнтероколита, встречаются узелки без герминативных центров. Основную часть клеток составляют лимфоциты – до 83 %. Обнаруживается уменьшение их числа на 4-5 % по сравнению со здоровыми животными, тогда как уровень зрелых плазматических и макрофагов выше на 2-3 %. Строение лимфоидных образований в стенке тонкой кишки у больных поросят по сравнению со здоровыми изменяется в сторону увеличения количества первичных лимфоидных узелков и уменьшения вторичных. Увеличивается число ареактивных узелков.

6. В лимфатических узлах брыжейки тонкой и толстой кишки свиней, получавших пробиотики БЦЛ и Ветом 1.1, отчетливо дифференцируются все морфофункциональные зоны: корковое плато с преобладанием вторичных лимфоидных узелков, паракортикальная зона и мозговое вещество. Основными клетками лимфоидной ткани являются лимфоциты, количество которых выше, по сравнению с интактными животными на 2-4 %. Возрастает число макрофагов и плазматических клеток на 2-4 %. Снижается уровень ретикулярных клеток на 2,5-3,0 %.

7. У животных, получавших пробиотики БЦЛ и Ветом 1.1, в стенке тонкой кишки уменьшается количество лимфоидных бляшек на $2,5 \pm 0,5$, но обнаруживается увеличение их размеров (на $1,3 \pm 0,3$ см²) и плотности лимфоидных узелков на 1см² площади бляшки (на $29,6 \pm 6,3$). Площадь

полосовидной лимфоидной бляшки выше в опытных группах животных на $159,5 \pm 35,6$ см². Плотность лимфоидных узелков на 1 см² бляшки $174,2 \pm 12,5$ (контроль $145,4 \pm 13,5$). У свиней в возрасте 4 месяца, получавших пробиотики бактоцеллолактин и Ветом 1.1, увеличивается плотность лимфоцитов на единицу площади в куполе на 1,0-1,5 % и на 2,1-3,6 % в герминативном центре лимфоидного узелка. Обнаруживается снижение количества иммунобластов и плазмобластов в зоне купола лимфоидного узелка на 1,5-2,0 %. Увеличивается число зрелых плазмоцитов и макрофагов на 1,0-2,5 % и уменьшается ретикулярных клеток 1,2-1,6 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные данные по морфологии лимфоидной ткани тонкой и толстой кишок свиней в норме, при гастроэнтероколите и после применения пробиотиков рекомендуется использовать при написании соответствующих разделов в учебных пособиях и справочных руководствах по видовой и возрастной морфологии и гистологии свиньи, использовании пробиотических препаратов в свиноводстве.

Количественные и качественные показатели лимфоидной ткани тонкой и толстой кишок свиньи при гастроэнтероколите и после применения пробиотиков можно использовать в научно-исследовательской работе и практике животноводства при выборе стратегии профилактики и лечения воспалительных заболеваний кишечника, а также в учебном процессе при изложении курса анатомии, гистологии и патологической анатомии на биологических, ветеринарных, зооинженерных факультетах высших учебных заведений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Пономарёв, И.Н. Синтопия лимфоидной ткани тонкой кишки у свиней при гастроэнтероколите / И.Н. Пономарев, А.Б. Панфилов // *Науке нового века – знания молодых: Материалы 8-й научной конференции аспирантов и соискателей.* – Киров: ВГСХА, 2008. – Ч. 1. – С. 25-28.
2. Кузнецова, Н.В. Действие бактоцеллолактоина на свиней / Н.В. Кузнецова, И.Н. Пономарёв, А.А. Ивановский, Е.Ю. Тимкина // *Достижения науки и техники АПК.* – 2008. - №12. – С. 42-44.
3. Пономарёв, И.Н. Цитоархитектоника лимфоидной ткани в стенке тонкой кишки у свиней при гастроэнтерите / И.Н. Пономарев, А.Б. Панфилов // *Науке нового века – знания молодых: Материалы 9-й научной конференции аспирантов и соискателей.* – Киров: ВГСХА, 2009. – Ч. 1. – С. 187-191.
4. Пономарев, И.Н. Влияние пробиотика Ветом 1.1 на морфологию лимфоидной ткани тонкой кишки свиней / И.Н. Пономарев, А.Б. Панфилов // *Современные научные тенденции в животноводстве: Сборник статей Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения П.Г. Петского.* – Киров, 2009. – С.222-224.
5. Пономарев, И.Н. Цитоархитектоника брыжеечных лимфатических узлов тонкой кишки у свиней после применения пробиотика бактоцеллолактоина / И.Н. Пономарев, А.Б. Панфилов // *Морфология.* – 2009.- Т. 136, №4.- С. 116.
6. Пономарев, И.Н. Морфология мезентериальных лимфатических узлов у свиней при гастроэнтероколите / И.Н. Пономарев, Н.В.Кузнецова. А.Б. Панфилов // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* – 2009. - №3 (23). – С. 85-89.
7. Пономарев, И.Н. Цитоархитектоника лимфоидной ткани в стенке тонкой кишки у свиней при гастроэнтероколите/ И.Н. Пономарев, А.Б. Панфилов // *Науке нового века – знания молодых: Материалы 10-й научной конференции аспирантов и соискателей.* – Киров: ВГСХА, 2010. – Ч. 2. – С. 122-125.

Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Подписано в печать 19.05.2010
Гарнитура Times. Печать Riso.
Усл. печ. л. 1,00. Тираж 100 экз. Заказ 0153

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии ИП «Экспресс тиражирование»
410005, Саратов, Пугачёвская, 161, офис 320 ☎ 27-26-93