



Конъюнктивно-ассоциированная лимфоидная ткань (КАЛТ), гистология, возрастной аспект, свинья

Conjunctiva-associated lymphoid tissue (CALT), histology, age aspect, a pig

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ КОНЪЮНКТИВО-АССОЦИИРОВАННОЙ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ У СВИНЕЙ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

З.К. Каландарова (фото)

соискатель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии

А.Ш. Иргашев

д.в.н., профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии

К.С. Арбаев

д.в.н., профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии

Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика

Существование лимфоидных клеток на поверхности глаз и придатков было известно давно, но долгое время они считались ошибочно воспалительными клетками [1].

Глаза постоянно подвергаются многим экологическим воздействиям и актам агрессии (высыхание, наркотики, аллергены, загрязняющие вещества, бактерии и вирусы), поэтому окулярная поверхность конъюнктивы требует постоянной стимуляции и притока лимфоцитов для физиологической защиты от ксенобиотиков. Чтобы лучше описать роль локальной иммунной системы окулярной поверхности, была предложена концепция глазо-ассоциированной лимфоидной ткани, которая была отмечена как новый компонент, включающий в себя конъюнктивно-ассоциированную лимфоидную ткань (КАЛТ) и лимфоидную ткань, связанную со слезным протоком. Система КАЛТ как структура предназначена для обнаружения антигенов и мобилизации защитных факторов на поверхности глаза.

В литературе продолжается дискуссия относительно существования КАЛТ и её функций. Кнор Е. и Кнор Н. (2005) подтвердили существование КАЛТ у человека в качестве автономной лимфоидной организации и важную роль её при выработке иммунитета и защитной функции на окулярной поверхности [1,2].

Диффузно расположенные лимфоидные клетки были обнаружены в нормальной конъюнктиве человека [3], где они представлены в основном лимфоцитами и плазматическими клетками.

Лимфоидные фолликулы встречаются в большей части (60%) полноценных конъюнктивальных тканей с правыми/левыми симметричными глазами у большинства (86%) доноров. Эпителий, который покрывает лимфофолликулы, имеет типичную специализацию и строение (в виде наличия уплощенных эпителиальных клеток, отсутствия бокаловидных клеток), повышение интраэпителиальных лимфоцитов и уменьшение количества IgA и его транспортера SC [3].

В постмортальных исследованиях человеческих глаз фолликулы, главным образом, наблюдались в тарзальной и орбитальной конъюнктиве верхних и нижних век, незначительном количестве в своде

и реже в бульбарной конъюнктиве [1]. Вокруг фолликулов встречаются специализированные сосуды с высоким эндотелием, называемые высокоэндотелиальными венулами, через которые лимфоциты поступают в конъюнктиву [1,2].

Проведенные исследования с 1970-го по 2000-е годы показали, что КАЛТ встречается и у животных, в частности, у крыс, мышей, морских свинок, кроликов, индюков, кур и у обезьян [1].

Специализированная лимфоидная ткань конъюнктивы у кроликов изучена гистологическими методами, в сравнении с аналогичными структурами других слизистых оболочек. Уплотненный лимфоэпителий конъюнктивы, покрывающий лимфоидные фолликулы, был лишен бокаловидных клеток. Отсутствие бокаловидных клеток характерно эпителиям, покрывающим лимфоидные колллекции в кишечнике и бронхах [4].

Гистологическое и ультраструктурное строение КАЛТ исследовано и у крупного рогатого скота. Солитарные и/или совокупные лимфоидные фолликулы и фолликуло-ассоциированный эпителий (ФАЭ) с плоскими клетками и без бокаловидных клеток составили лимфоидную зону. Некоторые характеристики высокоэндотелиальных венул (ВЭВ) наблюдались в интерфолликулярных районах [5].

Конъюнктивальные фолликулы у бабуин были определены как плотные овальные скопления лейкоцитов в подслизистой основе с инфильтрацией в конъюнктивальный эпителий [6].

Наружная поверхность конъюнктивы у японской обезьяны выстлана выделяющими слизь бокаловидными клетками с небольшим количеством эпителиальных бляшек без бокаловидных клеток, разбросанных между ними. Бляшки, называемые КАЛТ, состояли из уплощенных эпителиальных клеток, интраэпителиальных лимфоцитов, дендритных клеток и лимфоидных фолликулов с зародышевым центром. Бляшки КАЛТ колебались в размере от 200 до 300 микрон в диаметре. Количество фолликулов варьировалось от 20 до 40 в верхнем веке и от 10 до 20 в нижнем веке [7]. Вышеуказанные литературные данные говорят о том, что КАЛТ исследован у человека и у отдельных видов домашних и диких животных. В этом контексте интересно исследовать КАЛТ у свиней, как структуры локальной иммунной системы, расположенной в конъюнктиве глаз.

Цель настоящей научной работы заключается в исследовании структуры конъюнктиво-ассоциированной лимфоидной ткани у свиней

в возрастном аспекте с помощью гистологических и гистохимических методов исследований.

Материал и методы исследования

Материал для исследования брали во время забоя поросят и свиней в убойном пункте крестьянского хозяйства «Чабрец» в Сокулукском районе Чуйской области Кыргызской Республики. После забоя 12 голов поросят и свиней, все их органы были подвергнуты детальному осмотру для исключения каких-либо патологий в органах. При осмотре органов отсутствовали изменения. Объектами исследования служили конъюнктивы нижних и верхних век глаз от 12 голов свиней крупной белой породы, в том числе 3 головы – 5-7-дневные поросята (все самки), 3 головы – 2-месячные поросята (2 самца, 1 самка), 3 головы – 6-месячные подсвинки (2 самки, 1 самец) и 3 головы – 12-месячные свиньи (2 самки, 1 самец). Гистологические и гистохимические исследования были проведены на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии КНАУ им. К.И. Скрябина и в Институте ветеринарной патологии факультета ветеринарной медицины Жустус-Лиебегского университета (Гессен, Германия). Верхние и нижние веки глаз поросят и свиней сразу же после забоя и осмотра были зафиксированы в 4%-ном водном растворе нейтрального формалина (в соответствии с методикой). После фиксации дальнейшая гистологическая процедура (обезжизнение и заключение в парафин кусочков век) производилась в обычных лабораторных условиях (вручную) и в специальной машине в вакууме (автоматически). Из парафиновых блоков готовились серийные срезы на санном микротоме толщиной 5 мкм. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином для общего описания структуры и клеток КАЛТ и по ШИК-реакции для выявления бокаловидных клеток.

Результаты исследований

Макроскопически передняя часть глазного яблока у поросят и свиней до роговицы и внутренняя поверхность век покрыты слизистой оболочкой – конъюнктивой. Конъюнктивой глаз у поросят и свиней состоит из конъюнктивы нижнего века, верхнего века и третьего века. Третье веко представляет собой полулунную складку конъюнктивы и оно расположено во внутреннем углу глаза. Конъюнктивы нижнего и верхнего века, соединяясь к роговице, формируют конъюнктивальный мешок. Конъюнктивы нижнего

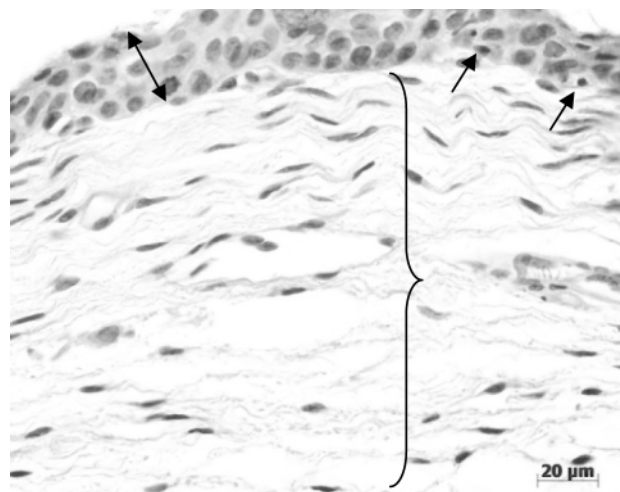
и верхнего века условно делятся на пальпебральные, бульбарные конъюнктивы и свод конъюнктивы. В конъюнктиве глаз у поросят и свиней исследованию в возрастном аспекте были подвергнуты структура конъюнктивы и лимфоидная ткань, расположенная в ней.

Гистологически конъюнктура у 5-7-дневных поросят состоит из двух слоев – эпителиальный слой и субэпителиальный слой, который состоит из рыхлой соединительной ткани (рис. 1.A). Эпителиальный слой представлен многослойным эпителием, состоящим из цилиндрических и кубических эпителиальных клеток, а также бокаловидными клетками. Последние по всей поверхности эпителиального слоя конъюнктивы выражены неодинаково – в отдельных местах они видны, в других местах они отсутствуют (рис. 1.B). Встречаются единичные лимфоциты между эпителиальными клетками конъюнктивы и в субэпителиальной соединительной ткани (рис. 1.A). Лимфоидные фолликулы в субэпителиальной соединительной ткани конъюнктивы отсутствуют.

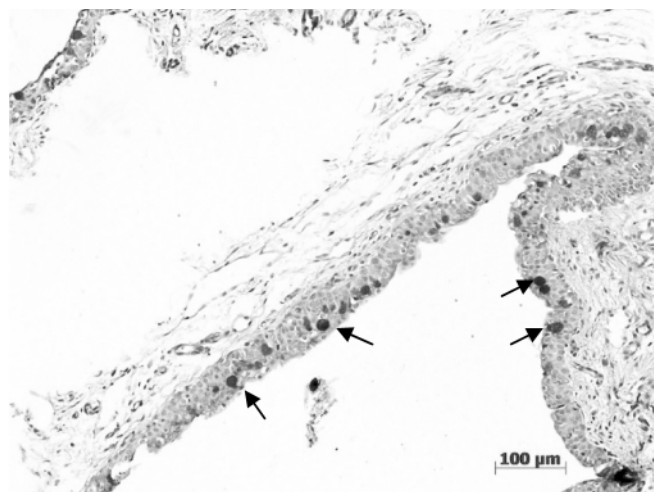
У двухмесячных поросят в субэпителиальной соединительной ткани встречаются лимфоциты и плазматические клетки, в отдельных местах отмечается небольшое скопление лимфоцитов. Также

в эпителиальном слое конъюнктивы встречаются интраэпителиальные лимфоциты (рис. 2.A). Бокаловидных клеток в конъюнктиве у двухмесячных поросят больше по сравнению с 5–7-дневными поросятами (рис. 2.B).

У свиней как 6-месячного, так и 12-месячного возраста, субэпителиальная ткань пальпебральной конъюнктивы содержит как лимфоциты и плазматические клетки, которые распространены диффузно, так и типичные лимфоидные фолликулы (рис. 3.A). Лимфоидные фолликулы могут располагаться в виде единичных лимфоидных фолликулов или в одном месте, могут локализоваться несколько лимфоидных фолликулов (обычно 2–3), но преобладает количество единичных первичных лимфоидных фолликулов. Отдельные лимфоидные фолликулы имеют центр размножения. Лимфоидные фолликулы и лимфоидные клетки тесно взаимосвязаны с эпителием конъюнктивы и создают структуры конъюнктиво-ассоциированной лимфоидной ткани (рис. 3.A). В местах конъюнктивы, где под эпителием располагаются лимфоидные фолликулы, эпителий конъюнктивы истончен и инфильтрирован лимфоцитами (рис. 3.A), а количество бокаловидных клеток уменьшено или бокаловидные



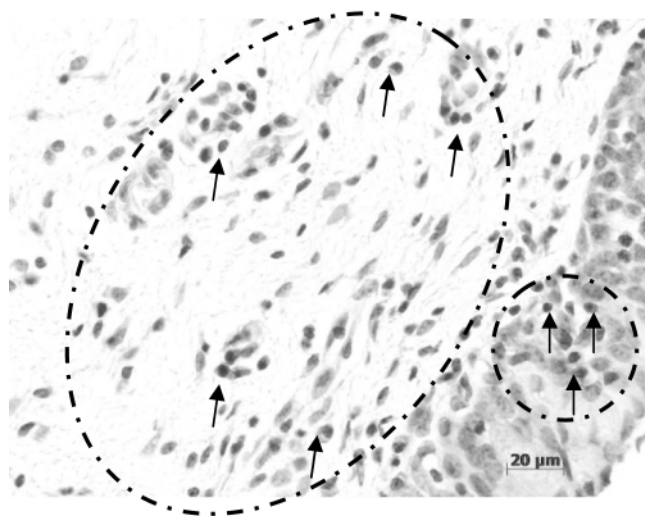
1.A



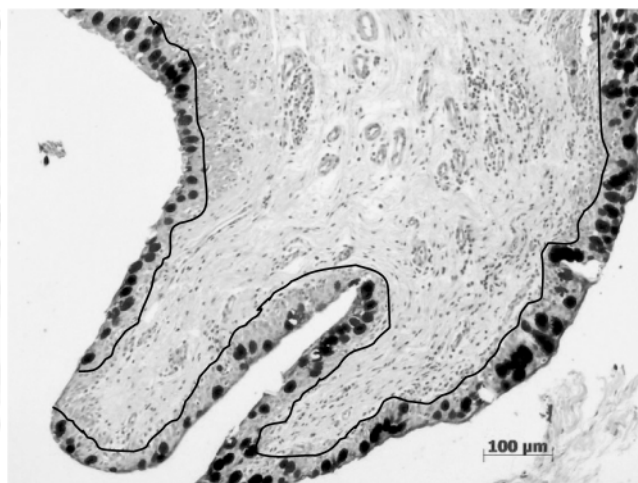
1.B

Рисунок 1.A – Конъюнктура глаз 5-дневного поросенка
Эпителиальный слой (указан двусторонней стрелкой) и субэпителиальный слой конъюнктивы (указан фигурной скобкой). Отмечается наличие единичных субэпителиальных и интраэпителиальных лимфоцитов (указаны стрелками). Гематоксилин-эозин. Bar = 20 μm.

Рисунок 1.B – Конъюнктура глаз 5-дневного поросенка
Между эпителиальными клетками конъюнктивы встречаются бокаловидные клетки (указаны стрелками). ШИК-реакция. Bar = 100 μm.



2.A



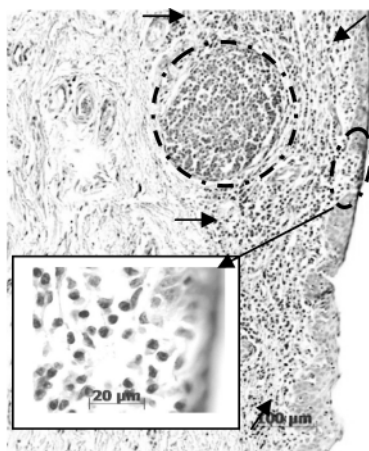
2.B

Рисунок 2.A – Конъюнктивa глаз 2-месячного поросенка

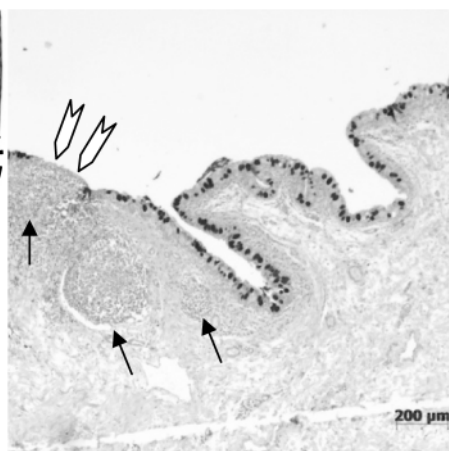
Отмечается наличие лимфоцитов, плазматических клеток (внутри овала они указаны стрелками) и интраэпителиальных лимфоцитов (внутри круга указаны стрелками). Гематоксилин-эозин. Bar = 20 μm.

Рисунок 2.B – Конъюнктивa глаз 2-месячного поросенка

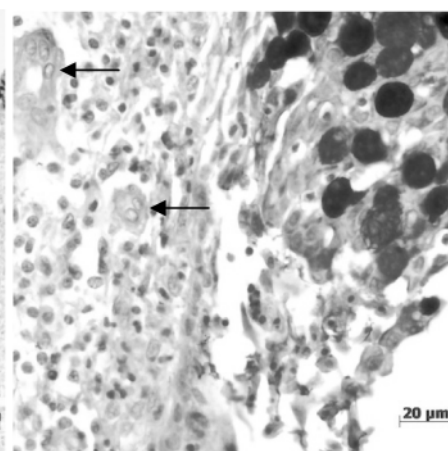
Количество бокаловидных клеток (окрашены фиолетовым цветом и выделены кривой линией) увеличено по сравнению с 5-дневными поросятами. ШИК-реакция. Bar = 100 μm.



3.A



3.B



3.C

Рисунок.3.A – Конъюнктивa 6-месячной свиньи

В субэпителиальной соединительной ткани расположен типичный лимфоидный фолликул (внутри круга), а также диффузное распространение лимфоидных клеток (указано стрелками). Большое увеличение участка КАЛТ внутри овала (в левом нижнем углу рис.3A). Эпителиальный слой конъюнктивы истончен и локализация в этом участке лимфоцитов. Гематоксилин-эозин. Bar = 100 μm.

Рисунок 3.B – Конъюнктивa 6-месячной свиньи

В субэпителиальной ткани конъюнктивы расположены 3 лимфоидных фолликула различных размеров (указаны стрелками). Эпителий конъюнктивы, покрывающий один из лимфоидных фолликулов, истончен и бокаловидные клетки отсутствуют (указан белой стрелкой). ШИК-реакция. Bar = 100 μm.

Рисунок 3.C – Конъюнктивa 6-месячной свиньи.

Высокоэндотелиальные вены в конъюнктивно-ассоциированной лимфоидной ткани (указаны стрелками). ШИК-реакция. Bar = 20 μm.

Гистологическое строение конъюнктивно-ассоциированной лимфоидной ткани у свиней в возрастном аспекте

клетки отсутствуют (рис. 3.В). В субэпителиальной ткани конъюнктивы и вокруг лимфоидных фолликулов имеются высокоэндотелиальные венулы (рис. 3.С).

Выводы

С помощью гистологических и гистохимических исследований установлено, что КАЛТ у свиней имеет структуру, подобную слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани у животных. КАЛТ у свиней свойственна специфическая структура, включающая в себя конъюнктивальный эпителий и наличие в субэпителиальном слое лимфоидных клеток, фолликулов, высокоэндотелиальных венул и фолликуло-ассоциированного эпителия.

У новорожденных поросят КАЛТ глаз слабо развит и представлен единичными лимфоцитами.

В процессе роста и развития поросят идет поэтапное формирование КАЛТ, которое характеризуется постепенным увеличением количества лимфоидных клеток и их скоплением, а также образованием лимфоидных фолликулов.

В КАЛТ у взрослых свиней отмечается наличие первичных и реже вторичных лимфоидных фолликулов.

КАЛТ у свиней является местной иммунной системой, которая содержит все необходимые структуры и клетки для формирования иммунной реакции и защиты параконъюнктивных тканей глаз.

Литература

1. Knop, E. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection [Text] / E. Knop, N. Knop // J Anat. – 2005. – V. 206. – P. 271–285.
2. Knop, N. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit reveals characteristics of M-cells, germinal centres and high endothelial venules [Text] / N. Knop, E. Knop // J Anat. – 2005. – V. 207(4). – P. 409–426.
3. Knop, N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye [Text] / N. Knop, E. Knop // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2000. – V. 41. – P. 1270–1279.
4. Franklin, R.M. Conjunctival-associated lymphoid tissue: evidence for a role in the secretory immune system [Text] / R.M. Franklin, L.E. Remus // Invest. Ophthalmol Vis Sci. – 1984. – V. 25(2). – P. 181–187.
5. Bayraktaroglu, A.G. Light and electron microscopic studies on Conjunctiva Associated Lymphoid Tissue (CALT) in cattle [Text] / A.G. Bayraktaroglu, R.N.Asti // Revue Méd. Vét. – 2009. – V. 160 (5). – p. 252–257.
6. Astley, R.A. Structural and cellular architecture of conjunctival lymphoid follicles in the baboon (*Papio anubis*) [Text] / R.A. Astley, R.C. Kennedy, J. Chodosh // Exp. Eye Res. – 2003. – V. 76. – P. 685–694.
7. Kageyama, M. Ocular defense mechanisms with special reference to the demonstration and functional morphology of the conjunctiva-associated lymphoid tissue in Japanese monkeys [Text] / M. Kageyama, K. Nakatsuka, T. Yamaguchi, R.L. Owen, T. Shimada // Arch. Histol Cytol. – 2006. – V. 69(5). – P. 311–322.

References

1. Knop, E. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection [Text] / E. Knop, N. Knop // J Anat. – 2005. – V. 206. – P. 271–285.
2. Knop, N. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit reveals characteristics of M-cells, germinal centres and high endothelial venules [Text] / N. Knop, E. Knop // J Anat. – 2005. – V. 207(4). – P. 409–426.
3. Knop, N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye [Text] / N. Knop, E. Knop // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2000. – V. 41. – P. 1270–1279.
4. Franklin, R.M. Conjunctival-associated lymphoid tissue: evidence for a role in the secretory immune system [Text] / R.M. Franklin, L.E. Remus // Invest. Ophthalmol Vis Sci. – 1984. – V. 25(2). – P. 181–187.
5. Bayraktaroglu, A.G. Light and electron microscopic studies on Conjunctiva Associated Lymphoid Tissue (CALT) in cattle [Text] / A.G. Bayraktaroglu, R.N.Asti // Revue Méd. Vét. – 2009. – V. 160 (5). – p. 252–257.
6. Astley, R.A. Structural and cellular architecture of conjunctival lymphoid follicles in the baboon (*Papio anubis*) [Text] / R.A. Astley, R.C. Kennedy, J. Chodosh // Exp. Eye Res. – 2003. – V. 76. – P. 685–694.
7. Kageyama, M. Ocular defense mechanisms with special reference to the demonstration and functional morphology of the conjunctiva-associated lymphoid tissue in Japanese monkeys [Text] / M. Kageyama, K. Nakatsuka, T. Yamaguchi, R.L. Owen, T. Shimada // Arch. Histol Cytol. – 2006. – V. 69(5). – P. 311–322.