

А. К. Титко

**ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА
СУБЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ЗОНЫ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ
АППЕНДИКСА КРОЛИКА**

Научный руководитель ст. преп. И. А. Мельников

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. K. Titko

**CHARACTERISTICS OF CELL COMPOSITION OF THE SUBEPITHELIAL
ZONE OF LYMPHOID NODULES OF THE RABBIT APPENDIX**

Tutor head teacher I. A. Melnikov

Department of Histology, Cytology, Embryology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Статья посвящена изучению клеточного состава субэпителиальной зоны аппендикса кролика методами качественной и количественной морфологии и характеристике его разнообразия. Эпителий лимфоидных узелков аппендикса содержит М-клетки, которые обеспечивают поступление растворенных и корпускулярных антигенов из просвета кишки в субэпителиальную зону [3, С.1354; 4, С. 1114]. В субэпителиальной зоне под М-клетками происходит взаимодействие антигена с клетками иммунной системы.

Ключевые слова: аппендикс кролика, М-клетки, антигенпрезентирующие клетки, лимфоидные фолликулы, лимфоциты.

Resume. The article is devoted to the study of cell composition of subepithelial zone of rabbit appendix by methods of qualitative and quantitative morphology and characterization of its diversity. The M-cells of the epithelium of the lymphoid nodes of the appendix allow antigens to enter the subepithelial zone. Subsequent cell reactions in the lymphoid node, involving antigen-presenting cells (APCs), T- and B-lymphocytes, lead to the origin of local mucosal immunity.

Keywords: rabbit appendix, M-cells, antigen-presenting cells, lymphoid follicles, lymphocytes.

Актуальность. Изучение механизмов работы органов иммунной системы необходимо, так как именно от работы этой системы зависит существование живых организмов. Червеобразный отросток является значимой частью системы иммунной защиты слизистых оболочек, поэтому изучение закономерностей его развития, клеточного состава и строения представляют особый интерес для медицины.

Как известно, М-клетки эпителия лимфоидных узелков аппендикса являются разновидностью энтероцитов [1, С.2] и обеспечивают поступление антигенов в субэпителиальную зону [2, С.202]. Последующие клеточные реакции в лимфоидном узелке с участием антигенпрезентирующих клеток (АПК), Т- и В-лимфоцитов приводят к возникновению местного иммунитета слизистых оболочек. Взаимодействие с антигеном должно отражаться на клеточном составе и соотношениях клеточных популяций в субэпителиальной зоне.

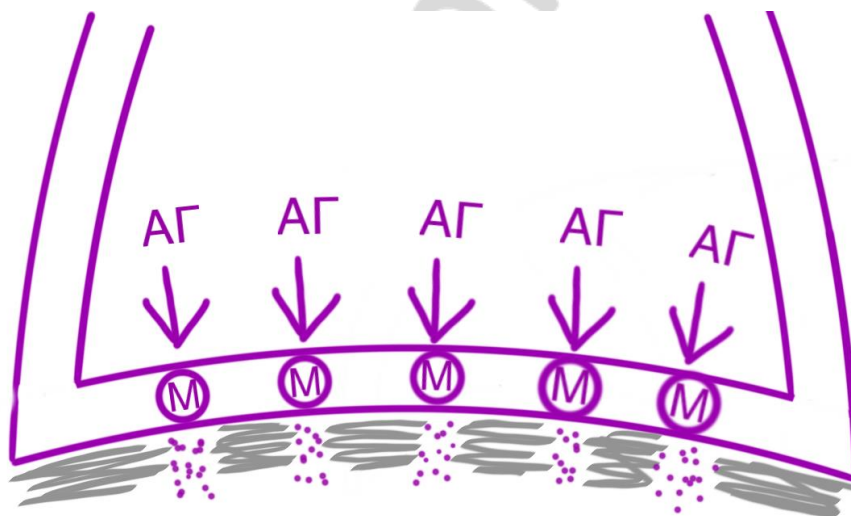
Цель: изучить клеточный состав субэпителиальной зоны аппендикса кролика методами качественной и количественной морфологии и охарактеризовать его разнообразие.

Задачи:

1. Выявить различия в популяциях клеток в зависимости от их расположения по отношению к М-клеткам.
2. Качественно и количественно оценить эти различия.

Материал и методы. Изучены гистологические срезы аппендиксов 8 взрослых кроликов толщиной 6-8 мкм. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азур II - эозином, фосфорновольфрамным гематоксилином. Для количественного анализа препараты фотографировали с помощью микроскопа ZEISS Axiolab и цифровой камеры Levenhuk с размером матрицы 2048×1536 пикселей. Цифровые фотографии обрабатывали с помощью программы ImageJ v.1.49. Измерялись и вычислялись такие параметры как площадь клеточного ядра, его периметр, фактор формы, максимальная и минимальная яркость хроматина ядер и другие. Количественные результаты обрабатывались статистически с помощью программ Excel и Statistica 10.0 и сравнивались с использованием критериев непараметрической статистики.

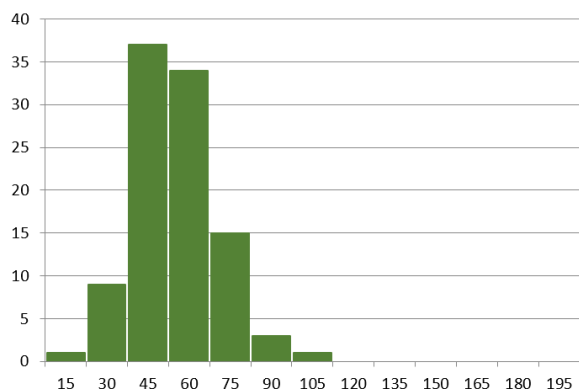
Результаты и их обсуждение. Описанным выше методом были изучены и сравнены 2 группы клеток: 1 группа «М+» – клетки субэпителиальной зоны, расположенной непосредственно под М-клетками или М-ассоциированная область, 2 группа «М-» – клетки субэпителиальной зоны в промежутках между М-клетками и в удалении от последних (диаграмма 1).



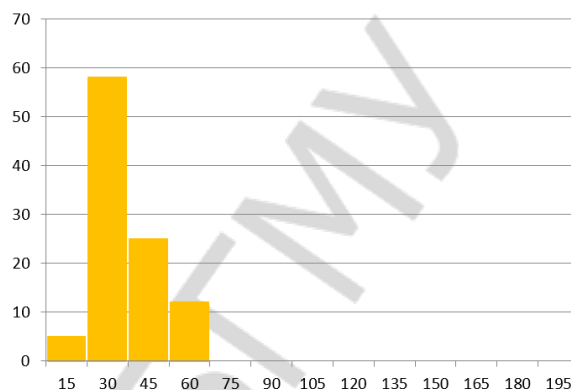
Диagr. 1 – Схема поступления антигена в субэпителиальную зону. Фиолетовым цветом показан путь антигена и фиолетовыми точками – зоны под М-клетками (группа М+), серым цветом – зоны вне М-клеток (группа М-)

Клеточный состав субэпителиальной зоны фолликула функционально отличается в областях под М-клетками, транспортирующими антигены, и в областях, над которыми нет М-клеток. Однако анализ морфометрических характеристик ядер клеток субэпителиальной зоны (площадь, периметр, форма) не выявил статистически значимых различий между указанными группами клеток.

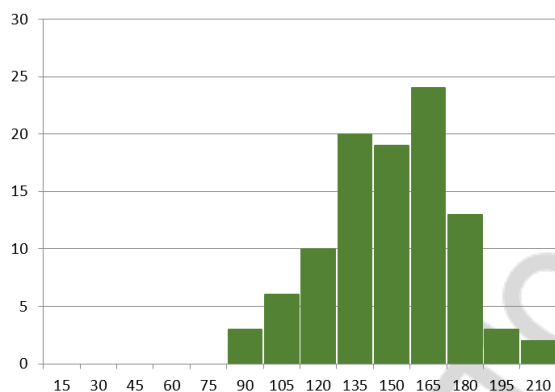
Анализ характеристик хроматина ядер двух групп клеток показал значимые различия в этих группах. Были проанализированы показатели максимальной и минимальной яркости ядер обеих групп (диаграммы 2, 3, 4, 5).



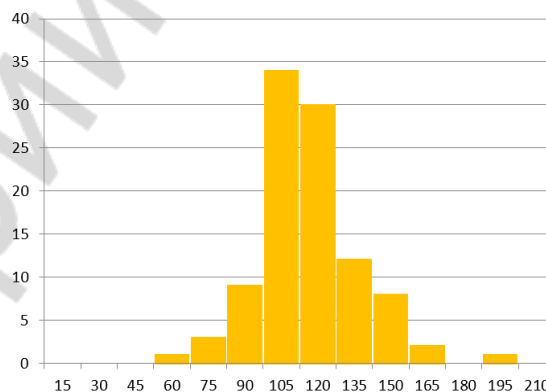
Диagr. 2 – Минимальная яркость ядер клеток группы М+. По горизонтали – показатель яркости, по вертикали – количество клеток



Диagr. 3 – Минимальная яркость ядер клеток группы М-. По горизонтали – показатель яркости, по вертикали – количество клеток



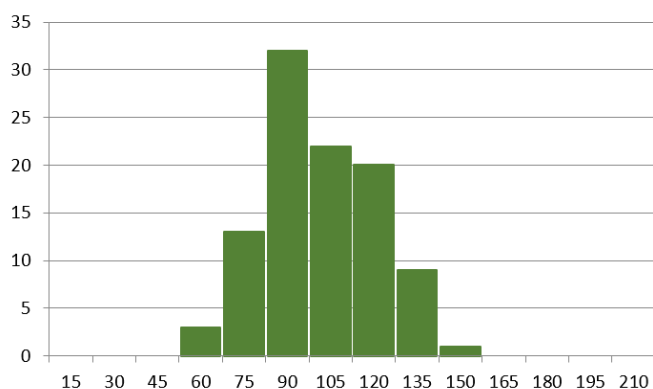
Диagr. 4 – Максимальная яркость ядер клеток группы М+. По горизонтали – показатель яркости, по вертикали – количество клеток



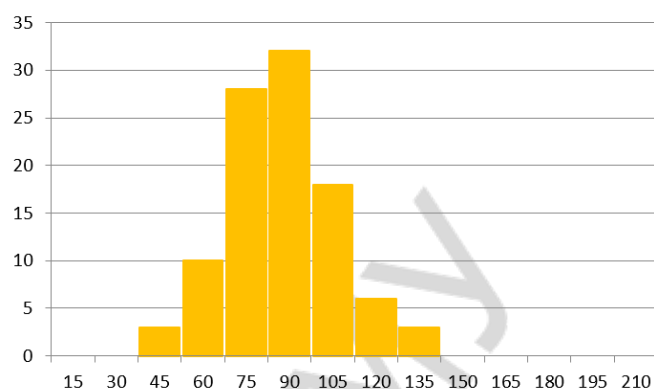
Диagr. 5 – Максимальная яркость ядер клеток группы М-. По горизонтали – показатель яркости, по вертикали – количество клеток

Минимальная яркость хроматина ядер группы М+ находится в среднем в пределах 30-45, этот показатель в группе М- составляет для большинства исследованных клеток 30. Максимальная яркость ядер группы М+ составляет 150-165, для группы М- – 105-120.

Диапазон яркости, т. е. разница между максимальной и минимальной яркостью, для обеих групп одинаков и составляет в среднем 90 (диаграммы 6, 7).



Диагр. 6 – Диапазон яркости ядер клеток группы М+. По горизонтали – диапазон яркости, по вертикали – количество клеток

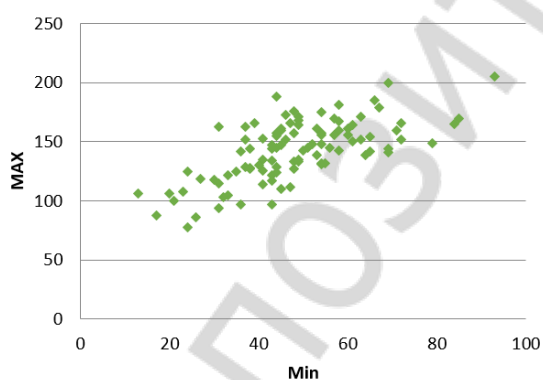


Диагр. 7 – Диапазон яркости ядер клеток группы М-. По горизонтали – диапазон яркости, по вертикали – количество клеток

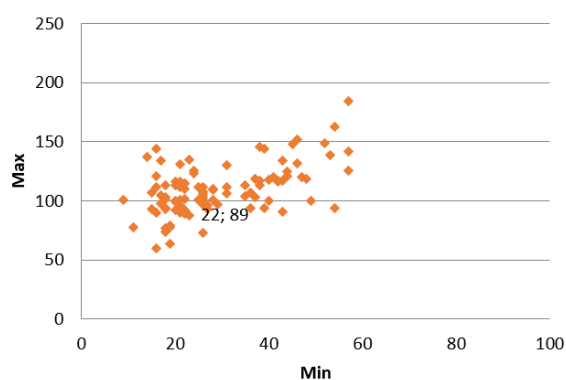
Вместе с тем, ядра клеток группы М+ содержат более яркие области эухроматина по сравнению с группой М-. Сравнение гистограмм этих групп по данному показателю с помощью теста Колмогорова-Смирнова показывает, что они достоверно отличаются.

Одновременное сравнение показателей максимальной и минимальной яркости ядер обеих групп с помощью диаграмм рассеяния показывает большую тенденцию к сочетанию в одном ядре одновременно очень светлых и очень темных участков хроматина, что свидетельствует о том, что в ядрах клеток в группе М+ интенсивно протекают процессы дифференцировки.

Меньший диапазон яркости рисунка хроматина в ядрах клеток группы М- дает картину более равномерно окрашенных ядер, в которых относительная доля гетерохроматина выше, чем в ядрах клеток из группы М+ (диаграммы 8, 9).



Диагр. 8 – Соотношение максимальной и минимальной яркости ядер клеток группы М+. По горизонтали – минимальная яркость, по вертикали – максимальная яркость хроматина ядра



Диагр. 9 – Соотношение максимальной и минимальной яркости ядер клеток группы М-. По горизонтали – минимальная яркость, по вертикали – максимальная яркость хроматина ядра

Выводы:

1 Площадь, периметр и показатели формы ядер групп клеток, расположенных в М⁺ и М⁻ -областях субэпителиальной зоны лимфоидных узелков аппендикса взрослых кроликов, достоверно не отличаются.

2 Выявлены статистически достоверные различия групповых характеристик ядер клеток М⁺ и М⁻ -областей, относящиеся к оценке состояния хроматина (максимальная и минимальная яркость и их разность, то есть, диапазон яркости).

3 Выявленные различия структуры хроматина ядер свидетельствуют о разной степени вовлеченности клеток М⁺ и М⁻ -областей в процессы антигензависимой дифференцировки, протекающие в субэпителиальной зоне лимфоидного узелка.

Литература

1. Аكوпова Е. О., Урванцева И. А. М-клетки желудочно-кишечного тракта и их роль в формировании местного иммунного ответа [Текст] / Е. О. Аكوпова, И. А. Урванцева // Научно-практический электронный журнал Аллея Науки. - 2017. - №11.

2. Норматов Р. А., Марьяновская Ю. В. Лимфоидная ткань кишечника как основа иммунной системы пищеварительного тракта [Электронный ресурс] / Р. А. Норматов, Ю. В. Марьяновская // Молодой ученый. — 2017. — №20. — С. 201-203. — Режим доступа <https://moluch.ru/archive/154/43637/> (дата обращения: 08.05.2020).

3. Gerbe F., Jay P. Intestinal tuft cells: epithelial sentinels linking luminal cues to the immune system [Текст] / F. Gerbe, P. Jay // MucosalImmunology. – 2016. - № 6. – P. 1353-1359.

4. Spencer J., Sollid L. M. The human intestinal B-cell response [Текст] / J. Spencer, L. M. Sollid // MucosalImmunology. – 2016. - № 5. – P. 1113-1124.