

УДК 616.341:611.42:599.323.4
DOI: 10.24061/1727-0847.18.4.2019.11

В.Г. Гринь, Ю.П. Костиленко

Кафедра анатомії людини (зав. – проф. О.О. Шерстюк) Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава

СТРУКТУРА ЛІМФОЇДНО-АСОЦІЙОВАНОГО ЕПІТЕЛІЮ ПЕЙЄРОВИХ БЛЯШОК ТОНКОЇ КИШКИ БІЛИХ ЩУРІВ

Резюме. Найбільш показовими і структурованими утвореннями адаптивного імунітету в слизовій оболонці кишок є лімфоепітеліальні утворення (пейєрові бляшки). Ці утворення периферійного відділу імунної системи здійснюють, опосередковані епітелієм, механізми взаємодії між патогенною мікрофлорою кишок та імунокомпетентними клітинами, ініціюючи цим самим розвиток імунних реакцій у слизових оболонках. Мета дослідження – встановлення форми і топологічних співвідношень М-клітин з іншими типами ентероцитів, а також з лімфоїдними елементами пейєрових бляшок тонкої кишки. Дослідження здійснено на 30 білих щурах-самцях репродуктивного віку, масою $200,0 \pm 20,0$ грам. Об'єктом дослідження були відрізки тонкої кишки з наявністю в них пейєрових бляшок. З отриманих препаратів, укладених в парафінові блоки, виготовляли серійні зрізи товщиною 4 мкм, забарвлені гематоксилін-еозином і за Ван-Гізеном, які вивчалися за допомогою світлового мікроскопа «Konus», обладнаного цифровою мікрофотонасадкою Sigeta DCM-900 9.0MP. Встановлено, що при збереженні загальної форми будови пейєрові бляшки схильні до пластичної мінливості, що залежить від ситуаційно мінливих чинників антигенного впливу, тобто для них властивий функціональний поліморфізм. Особливо це стосується їх лімфоїдно-асоційованого епітелію. Ідентифікація М-клітин за допомогою тільки одних традиційних гістологічних методів на практиці виявляється ускладненою. І все ж у процесі цілеспрямованого вивчення серійних парафінових зрізів вдалося виявити деякі морфологічні ознаки, які вказують на місце їх розташування.

Ключові слова: лімфоїдно-асоційований епітелій, М-клітини, пейєрові бляшки, тонка кишка, білі щури.

За останні два десятиліття з'явилося багато публікацій, присвячених подальшому розвитку актуальної проблеми стосовно імунної системи слизових оболонок травного тракту, що отримала назву мукозо-асоційованої лімфоїдної тканини (МАЛТ), яка містить сфери вродженого (неспецифічного) та адаптивного (специфічного) імунітету [1-3]. Найбільш показовими і структурованими утвореннями адаптивного імунітету в слизовій оболонці кишок є лімфоепітеліальні утворення, відомі під назвою поодиноких і групових лімфоїдних вузликів (пейєрових бляшок). Давно відомо, що ці утворення периферійного відділу імунної системи здійснюють опосередковані епітелієм механізми взаємодії між патогенною мікрофлорою (та іншими антигенними структурами) кишок та імунокомпетентними клітинами, ініціюючи цим розвиток імунних реакцій в слизових оболонках [4-7].

У літературі здавна існує концепція, відповідно якої визначальне місце належить особливому типу ентероцитів, які отримали назву М-клітин [8]. При цьому приналежний їм індекс «М» можна трактувати по-різному. Належність мікро складчатого рельєфу апікальної поверхні, який вирізняє їх від типового кишкового (облямівчас-

того) епітелію. Але з урахуванням функціональної спеціалізації варто було б його розцінювати як вказівку на посередницьку (медіаторну) роль цих клітин. Цікаво те, що до появи концепції про ініціальну роль цих клітин у розвитку імунних реакцій у слизових оболонках кишкового тракту вони були відомі під назвою печеристих клітин [9].

За наявними даними, у поляризованому моношарі кишкового епітелію пейєрових бляшок знаходиться не більше 10 % таких клітин [10]. На відміну від прилеглих їх типових ентероцитів вони мають зменшену цитоплазму через наявність у них в базолатеральному відділі глибоких інвагінацій, які називаються цитоплазматичними «кишенями» або «нішами». У літературі є дані, що така незвична форма М-клітин підтримується за допомогою внутрішньоцитоплазматичного щільного каркасу проміжних філаментів, які утворюють арки біля цитоплазматичних кишень і навколо ядра. Необхідно відзначити, що наявність подібного цитоскелета підтверджує їх тотожність з печеристими клітинами [9, 11]. На жаль, не вдалося з'ясувати походження останньої назви, що допомогло б прояснити їх топологічне положення серед інших клітин.

Відповідно до даних літератури, саме ці цито-

плазматичні заглиблення в базолатеральних відділах М-клітин є резервуаром для певних сукупностей імункомпетентних клітин, серед яких знаходяться лімфоцити, макрофаги і дендритні клітини. Потрібно звернути увагу на те безсумнівне протиріччя, яке полягає в невідповідності між можливим розміром цитоплазматичної інвагінації окремої М-клітини і кількістю в ній лімфоїдних елементів. З цим протиріччям доводиться стикатися під час вивчення структурної організації лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок. У літературі він називається фолікуло-асоційованим епітелієм, що відповідно до загальноприйнятої термінології на сьогодні є неправильним.

М-клітини є ще більш унікальними за своїми цитофізіологічними властивостями тим, що вони мають здатність вибірково вловлювати з вмісту кишок різні патогени і переносити їх шляхом трансцитозу в незмінному вигляді в базолатеральні кишені, де вони, піддаючись процесингу дендритними клітинами і макрофагами, презентуються Т-лімфоцитам, запускаючи імунні реакції в слизових оболонках, послідовність яких відома [12-16].

У такому поданні ця концепція тепер є основоположною під час аналізу різних аспектів взаємодії лімфоїдної тканини слизових оболонок травного тракту з його мікробіотою. Проте останнім часом є публікації, в яких наводяться дані, що фагоцитарні властивості мають практично всі клітини лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок, включаючи і келихоподібні клітини [17-19]. Але водночас виникає питання: як можуть останні поєднувати в собі два взаємно протилежні процеси: екзоцитоз, що лежить в основі екструзії продуктів слизового секрету, і фагоцитарну активність? Інша справа, якщо питання стосується абсорбуючих (облямівчатих) ентероцитів, у яких процес всмоктування поживних речовин збігається за спрямованістю з фагоцитозом.

Мета дослідження: встановити форми і топологічне співвідношення М-клітин з іншими типами ентероцитів, а також з лімфоїдними елементами пейєрових бляшок тонкої кишки.

Матеріал і методи. Дослідження здійснено на 30 білих щурах-самцях репродуктивного віку, масою $200,0 \pm 20,0$ грам. До цього всі тварини знаходилися у стандартних умовах експериментально-біологічної клініки (віварій) Української медичної стоматологічної академії, згідно з правилами утримання експериментальних тварин, встановлених Директивою Європейського Парламенту та Ради (2010/63/EU), наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249 «Про затвердження порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» і «Загальних етич-

них принципів експериментів на тваринах», прийнятих П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013), (Протокол № 155 від 26.04.2017 р. засідання Комісії з біомедичної етики при Українській медичній стоматологічній академії) [20-22].

Після евтаназії, яка проводилася шляхом передозування тіопенталового наркозу (75 мг/кг маси тіла тварини внутрішньом'язово в верхню третину стегна задньої лапи) [23, 24], згідно з усіма нормами і вимогами, що висувають до проведення експериментальних досліджень над тваринами, у них проводився розтин черевної порожнини і промивка всього його вмісту фізіологічним розчином, після чого їх тушки цілком занурювали в 10% розчин формаліну. Надалі (після промивання в проточній воді) проводили цілеспрямоване вилучення шлунково-кишкового тракту, з якого виділяли тонку кишку, слугувала для отримання з неї коротких відрізків з наявністю в них пейєрових бляшок. Отримані таким чином препарати укладали в парафінові блоки, з яких виготовляли серійні зрізи товщиною 4 мкм (Microt HM 325). Після забарвлення гематоксилін-еозином і за Ван-Гізоном вони вивчені і задокументовані за допомогою світлового мікроскопа «Konus», обладнаного цифровою мікрофотонасадкою Sigeta DCM-900 9.0MP з адаптованою для цих досліджень програмою Biorex 3 (серійний номер 5604). Морфометричні характеристики тканинних структур відповідних препаратів отримували, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів, а також за допомогою об'єкт-мікрометра Sigeta X 1мм/100 Div.x0.01мм, масштабна шкала якого (дорівнює 1 мм, де мала поділка відповідає 10 мкм) наносилася на відповідну мікрофотографію, отриману при рівнозначному збільшенні.

Результати дослідження та їх обговорення. Як відомо, пейєрові бляшки являють собою групу асоціацію лімфоїдних вузликів, серед яких за розмірами виділяються малі, середні та великі форми [25]. У наших дослідженнях зосереджено увагу, в основному, на останніх формах. Під час вивчення значної кількості серій парафінових зрізів, забарвлених гематоксилін-еозином, встановлено, що при збереженні загальної форми будови вони схильні до пластичної мінливості, що залежить від ситуаційно мінливих чинників антигенного впливу, тобто для них властивий функціональний поліморфізм. Особливо це стосується їх лімфоїдно-асоційованого епітелію [26], який видається в досить різноманітному вигляді, що залежить не тільки від ракурсу перетину, але і, ймовірно, від його реактивного стану. Зокрема, в одних випадках він представляє собою відносно рівний моношар кишкового епітелію, що скла-

дається, в основному, з абсорбуючих ентероцитів, серед яких найбільш чітко виділяються келихоподібні клітини. При цьому звертає на себе увагу те, що в апікальних відділах деяких з них є явні ознаки розриву плазмолемі і наявність у цитоплазмі базофільного зернисто-волокнистого матеріалу невідомого походження (рис. 1).

Досліджуване явище можна інтерпретувати двояко: або це належить до моменту екструзії секрету з келихоподібної клітини, або спостерігається процес фагоцитозу клітиною якогось пристінкового матеріалу. Напевно, саме такі явища і слугувало підставою цитованим у вступі авторам говорити на користь останнього. Однак поки що варто утриматися від однозначного висновку.

Поряд з такою картиною інші гістологічні зрізи великих лімфоїдних вузликів пейерових бляшок тонкої кишки демонструють інший конфігураційний характер лімфоїдно-асоційованого епітелію, в якому чітко зазначається кластерний принцип розподілу клітин у вигляді обмежених порційних сукупностей (рис. 2).

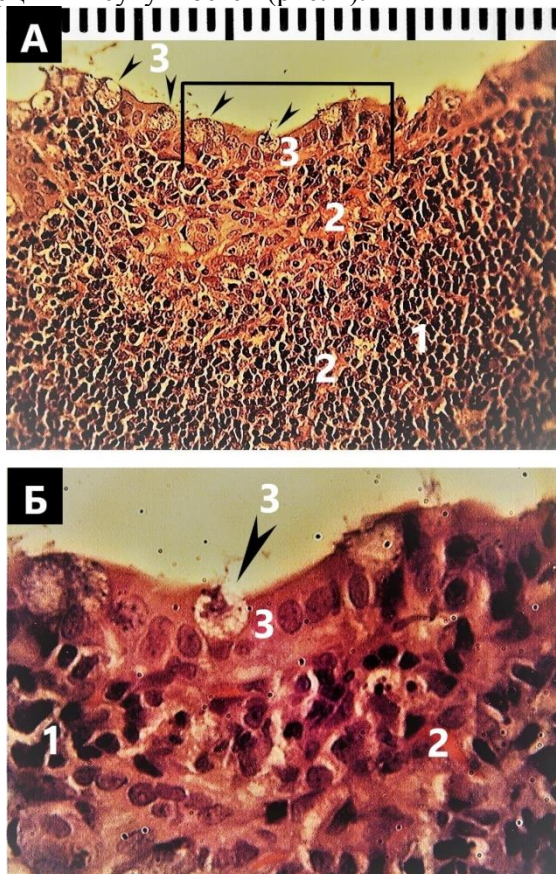


Рис. 1. Апікальний відділ лімфоїдного вузлика пейерової бляшки тонкої кишки. Парафіновий зріз; забарвлення гематоксилін-еозином. А – об'єктив 40 (одна поділка масштабної шкали – 10 мкм). Прямокутною скобою вказано ділянку, яка представлена на нижній мікрофотографії (Б) при більшому збільшенні (об'єктив 100): 1 – лімфоцитарні елементи; 2 – сполучнотканинні прошарки; 3 – фолікул-асоційований епітелій, серед якого знаходяться келихоподібного типу клітини з явищами фагоцитозу (наведені стрілками)

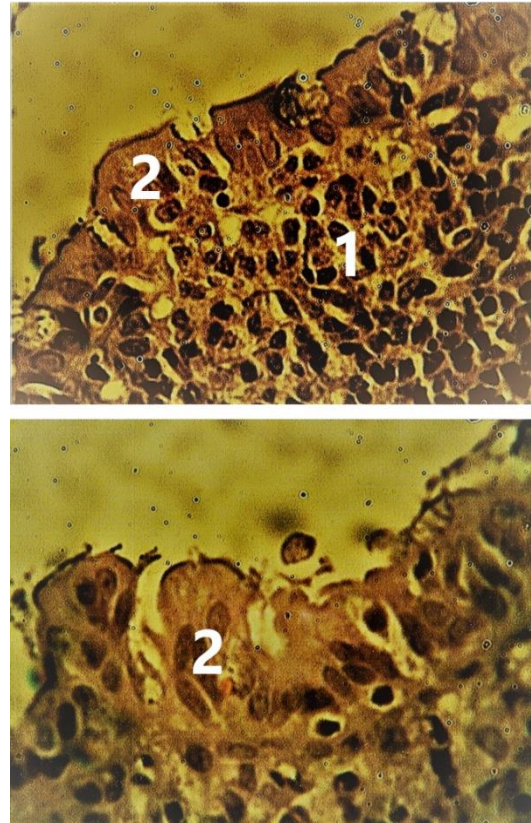


Рис. 2. Апікальні відділи лімфоїдних вузликів пейерових бляшок тонкої кишки. Парафінові зрізи; забарвлення за Ван-Гізоном; об'єктив 100: 1 – лімфоцитарні елементи; 2 – фолікул-асоційований епітелій

Варто зазначити, що така брунькоподібна форма, яка має різну, неповторну в кожному випадку, конфігурацію трапляється під час досліджень найчастіше.

Що ж стосується М-клітин, які, згідно з даними літератури, повинні мати місце серед ентероцитів лімфоїдно-асоційованого епітелію пейерових бляшок, то їх ідентифікація за допомогою тільки одних традиційних гістологічних методів на практиці виявляється ускладненою. І все ж в процесі цілеспрямованого вивчення серійних парафінових зрізів вдалося виявити деякі морфологічні ознаки, які вказують на місце їх розташування. У наочному вигляді ті утворення, з якими повинні бути асоційовані М-клітини, показані на рисунку 3, на якому зліва представлена оглядова мікрофотографія, що охоплює бічну ділянку лімфоїдного вузлика (внизу), і (зверху) близько прилегло до нього крайову кишкову ворсинку.

Наведені утворення, про які йде мова, позначені стрілками. При великому збільшенні вони представлені на правій мікрофотографії того ж малюнка. Дані, поруч розташовані утворення, є неоднаковими за розміром, проте це залежить не від істинної їх величини, а від рівневого положення їх у гістологічному зрізі, на якому вони представлені у вигляді світлих комірок округлої форми. Ці утворення знаходяться серед приле-

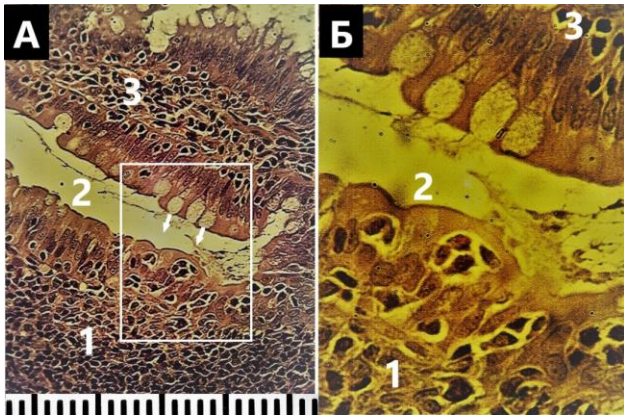


Рис. 3. Мікроскопічна будова лімфоїдно-асоційованого епітелію великого лімфоїдного вузлика і суміжної кишкової ворсинки пейєрової бляшки тонкої кишки білих щурів. Парафіновий зріз; забарвлення гематоксилін-еозином; А – об’єктив 40; Б – об’єктив 100: 1 – лімфоїдний вузлик; 2 – пристінкова ділянка порожнини тонкої кишки; 3 – кишкова ворсинка. Стрілками наведені брунькоподібні інтраепітеліальні лімфоїдні комірочки

глих їх ентероцитів у такий спосіб, що стають виокремленими від вмісту тонкої кишки стоншеним шаром епітеліального покриву. Окрім того, вдається встановити, що ці комірочки мають відгалуження, які в базальному шарі покривного епітелію поєднуються з підлеглими інтерстиціальними щілинами лімфоїдної тканини вузлика. Цілком характерно, що дані інтраепітеліальні комірочки і їх відгалуження є резервуаром для імунокомпетентних клітин. З метою більш розбірливої візуалізації зазначеного, продубльована ця мікрофотографія; на ній графічно нанесені контури цих утворень і суміжних з ними структур (рис. 4).

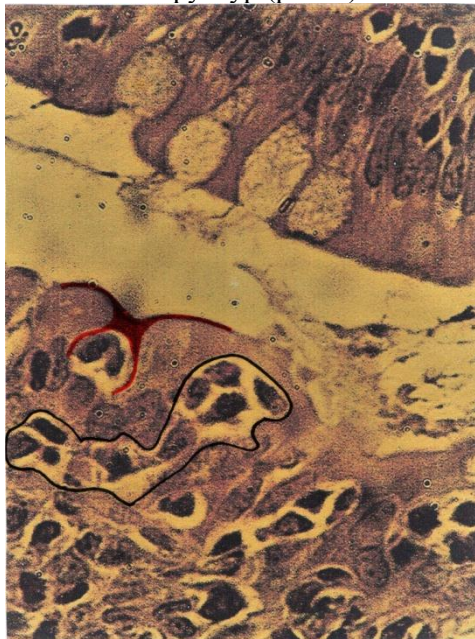


Рис. 4. Дублююча мікрофотографія рисунка 3, на якій чорним контуром показана межа інтраепітеліальної лімфоїдної комірочки, а червоним кольором забарвлена передбачувана М-клітина

Постає питання: які з цих структур можуть претендувати на роль стверджувальних М-клітин? Звертаємо увагу на те, що навіть при максимальному збільшенні світлового мікроскопа (об’єктив 100) неможливо чітко розрізнити в цьому місці межу між суміжними епітеліальними клітинами. Єдиним показником може слугувати інтенсивність забарвлення їх цитоплазми. Тут обмежимося лише попередньою вказівкою на ту клітинну структуру, яка позначена червоним кольором на рисунку 4. При уважному вивченні в ній розпізнається наявність розкинутих відростків, в охопленні яких знаходиться сама лімфоїдно-епітеліальна комірочка. Така форма дещо співпадає з описом в літературі М-клітин, а саме в тому, що вони мають глибокі цитоплазматичні інвагінації. Однак останні, при такій точці зору, не можуть бути досить великими, щоб вмещувати в себе хоча б декілька лімфоцитарних елементів, сумарний розмір яких суттєво перевищує розмір будь-якого ентероциту окремо. Це наводить на думку, що насправді М-клітини мають зовсім іншу форму, пристосовану до виконання в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок особливої, специфічної ролі. За нашим припущенням, цим клітинам належить, насамперед, опорна роль у підтримці структурної сталості тих лімфоцитарних комірок, які мають місце в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок. На користь цього побічно засвідчує той, зазначений у вступі, факт, що М-клітини мають добре розвинений цитоскелет, який представлений переплетенням в цитоплазмі філаментів проміжного типу (мікрофібрил), які надають клітині стійку форму, і цим, можуть бути опорою для інших клітин, у комплексі з якими вони перебувають [15, 27]. Якщо це правильно, то цим прояснюється сенс колишньої назви М-клітин: печеристі клітини. Цілком можливо, що їх назвали так через свою локалізацію в зоні мікроскопічних «печеристих» ходів у кишкового епітелію, які в поперечному перерізі мають форму округлих комірок. Слід зазначити, що подібні утворення знаходяться не тільки в пейєрових бляшках, а й поширені в епітелії слизової оболонки всього кишкового тракту, де, за даними літератури, мають місце і М-клітини, хоча і в меншій кількості, ніж у пейєрових бляшках [8, 28].

Висновок. Висловлену точку зору про форму і топологію М-клітин в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок підказала трансмісійна електронорама, яка фігурує в багатьох публікаціях, її авторство належить Magian R. Neutra зі співавторами [18, 29]. Вона є найбільш демонстративною з усіх ілюстрацій, які у великій кількості наводяться іншими авторами. Вирішено використовувати її тут, щоб показати її велику

схожість з описаною нами вище формою і будовою лімфоїдних комірок у покривному епітелії пейєрових бляшок (рис. 5).

На ній чітко виділяються своєю електроннооптичною щільністю цитоплазми (за рахунок наявності в ній щільної композиції мікрофібрил) кілька М-клітин, що мають стовпчасту форму. Орім того, у досить виразній формі візуалізуються їх

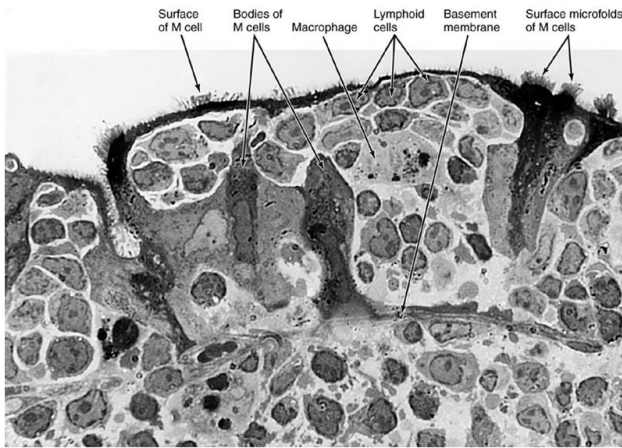


Рис. 5. Трансмисійна електронограма М-клітин пейєрової бляшки тонкої кишки. (Запозичене з атласу «Basic Histology» за редакцією: Junqueira LC and Carneiro J (2003) Basic Histology. 10th ed. A Lange Medical Book. P: 317. Fig. 15-31)

стоншені цитоплазматичні відростки, що покривають апікальну поверхню внутрішньоепітеліальної комірки, у якій зосереджені різні типи імунокомпетентних клітин.

За рахунок цього останні виявляються виокремленими від кишкового вмісту найтоншим цитоплазматичним бар'єром, який значною мірою полегшує взаємодію між ними і пристінково розташованими антигенами. Цілком очевидно, що такий термінальний бар'єр може бути легко вразливим для деяких штамів патогенної мікрофлори, що призводить, за даними літератури, до інфікування слизової оболонки [11, 12].

Отже, усі вищенаведені факти наводяться, щоб показати неспроможність вирішення основоположного питання про структурну організацію лімфоїдно-асоційованого епітелію пейєрових бляшок і концептуальну роль в ньому так званих М-клітин на підставі тільки традиційних гістологічних методів. Але отримані з їх допомогою результати спроможні визначити надалі правильний підхід для вирішення даної проблеми.

Перспективи подальших досліджень. Детальне вивчення імунокомпетентних клітин пейєрових бляшок тонкої кишки шурів за допомогою відповідних імуногістохімічних маркерів.

Список використаної літератури

1. Жеребятъев АС, Камышинный АМ. Региональные особенности распределения клеток врожденного и адаптивного иммунитета в различных отделах кишечника как определяющие факторы локализации патологического процесса. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015;2(114):46-51. <https://cyberleninka.ru/article/n/regionalnye-osobennosti-raspredeleniya-kletok-vrozhdennogo-i-adaptivnogo-immuniteta-v-razlichnyh-otdelah-kishechnika-kak>.
2. Добродеева ЛК, Самодова АВ, Патракеева ВП. Соотношение микрофлоры и реакций врожденного иммунитета в мукозо-ассоциированной лимфоидной ткани. *Журнал медико-биологических исследований* 2015;2:71-80. <https://cyberleninka.ru/article/n/sootnoshenie-mikroflory-i-reaktsiy-vrozhdennogo-immuniteta-v-mukozo-assotsirovannoy-limfoidnoy-tkani>.
3. Nagatake T, Fukuyama S, Sato S, Okura H, Tachibana M, Taniuchi I, et al. Central Role of Core Binding Factor $\beta 2$ in Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Organogenesis in Mouse. *PLOS ONE*. 2015;10(5):1-14. e0127460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127460>.
4. Гринь ВГ. Загальний принцип будови лімфоїдних вузликів у складі пейєрових бляшок тонкої кишки білих шурів. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019;2,2(151):200-204. DOI:10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-200-204.
5. Хавкин АИ, Блат СФ. Микробиоценоз кишечника и иммунитет. *Российский Вестник перинатологии и педиатрии*. 2011;1:66-72. <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiotsenoz-kishechnika-i-immunitet>.
6. Хавкин АИ. Микрофлора и развитие иммунной системы. *Вопросы современной педиатрии*. 2012;11(5):86-89. <https://cyberleninka.ru/article/n/mikroflora-i-razvitie-immunnoy-sistemy>.
7. Kombar RJ, Strömberg A, Biram A, Cervin J, Lebrero-Fernández C, Mabbott N, Yrlid U, Shulman Z, Bemark M, Lycke N. Activated Peyer's patch B cells sample antigen directly from M cells in the subepithelial dome. *Nat Commun*. 2019;Jun 3;10(1):2423. doi: 10.1038/s41467-019-10144-w.
8. Dillon A, Lo DD. M Cells: Intelligent Engineering of Mucosal Immune Surveillance. *Front. Immunol*. 2019;10:1499. doi: 10.3389/fimmu.2019.01499.
9. Nabeyama A, Leblond CP. "Caveolated cells" characterized by deep surface invaginations and abundant filaments in mouse gastro-intestinal epithelia. *The American journal of anatomy*. 1974;140(2):147-65.
10. Быков АС, Караулов АВ, Цомартова ДА, Карташкіна НЛ, Горячкина ВЛ, Кузнецов СЛ, и др. М-клетки – один из важных компонентов в инициации иммунного ответа в кишечнике. *Russian Journal of Infection and Immunity. Infektsiya i immunitet*. 2018;8(3):263-72. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-263-272>.

11. Kanaya T, Ohno H. The Mechanisms of M-cell Differentiation. *Biosci Microbiota Food Health*. 2014;33(3):91-7. doi:10.12938/bmfh.33.91.
12. Corr SC, Gahan CC, Hill C. M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;Jan52(1):2-12. PMID: 18081850 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00359.x.
13. Sehgal A, Kobayashi A, Donaldson DS, Mabbott NA. c-Rel is dispensable for the differentiation and functional maturation of M cells in the follicle-associated epithelium. *Immunobiology*. 2017;Feb;222(2):316-26. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2016.09.008>.
14. Rouch JD, Scott A, Lei NY, Solorzano-Vargas RS, Wang J, Hanson EM, Kobayashi M, et al. Development of Functional Microfold (M) Cells from Intestinal Stem Cells in Primary Human Enteroids. *PLOS ONE*. 2016;Jan 28;11(1):e0148216. doi: 10.1371/journal.pone.0148216. eCollection 2016.
15. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR, Mahajan A. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol*. 2013;6:666-77. doi:10.1038/mi.2013.30 PMID: 23695511; PMCID: PMC3686595.
16. Rios D, Wood MB, Li J, Chassaing B, Gewirtz AT. Antigen sampling by intestinal M cells is the principal pathway initiating mucosal IgA production to commensal enteric bacteria. *Mucosal Immunol*. 2016;9:907-16. DOI: 10.1038/mi.2015.121.
17. Фальчук ЕЛ, Марков АГ. Изучение барьерных характеристик эпителия пейеровых бляшек крысы. *Вестник СПбГУ. Серия 3:Биология*. 2015;3(3):75-86. <http://proxy.library.spbu.ru:2110/item.asp?id=24307669>.
18. Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nature Immunology*. 2001;2:1004-9. PMID: 11685223 DOI: 10.1038/ni1101-1004.
19. Sachiko O, Toshifumi Y, Keigi C, Midori Y, Tetsurou I, Wang-Mei Q, et al. Ultrastructural Study on the Differentiation and the Fate of M cells in Follicle-Associated Epithelium of Rat Peyer's Patch. *The Journal of veterinary medical science. The Japanese Society of Veterinary Science*. 2007;69:501-8. DOI:10.1292/jvms.69.501.
20. Рыбакова АВ, Макарова МН. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями. *Международный вестник ветеринарии*. 2015;4:81-9. <https://rucont.ru/efd/379080>.
21. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. *St. Petersburg, Official Journal of the European Union*. 20.10.2010;276:33-79. <https://docplayer.ru/49033909-Direktiva-2010-63-eu-evropeyskogo-parlamenta-i-soveta-evropeyskogo-soyuza.html>.
22. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». *Офіційний вісник України*. 2012;24:82. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12>.
23. Макаренко ІЕ, Авдеева ОІ, Ванатиев ГВ, Рыбакова АВ, Ходько СВ, Макарова МН, Макаров ВГ. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным. *Международный вестник ветеринарии*. 2013;3:8-84. <https://spbgavm.ru/wp-content/uploads/2017/11/Международный-вестник-№-3-2013.pdf>.
24. Рыбакова АВ, Макарова МН, Кухаренко АЕ, Вичаре АС, Рюффер Ф. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):207-17. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>.
25. Hryn VH. Planimetric correlations between Peyer's patches and the area of small intestine of white rats. *Reports of morphology*. 2018;2(24):66-72. DOI:[https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24\(2\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24(2)-10).
26. Гринь ВГ, Костиленко ЮП, Корчан НА, Лавренко ДА. Структурные формы фолликул-ассоциированного эпителия пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс. *Georgian Med News*. 2019 Sep;(294):118-23. PMID:31687962.
27. Windoffer R, Beil M, Magin TM, Leube RE. Cytoskeleton in motion: the dynamics of keratin intermediate filaments in epithelia. *J Cell Biol*. 2011 Sep 5;194(5):669-78. doi: 10.1083/jcb.201008095. PMID: 21893596; PMCID: PMC3171125.
28. El-Bassouny, Dalia R, Tarek E. Ultrastructural study on microfold cells and microvillus cells in the follicle-associated epithelium over Peyer's patches in albino rat. *The Egyptian Journal of Histology*. 2013;36(4):837-46. doi: 10.1097/01.EHX.0000437938.07612.a2.
29. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology: Text & Atlas, 10th Edition, Lange Edition, McGraw Hill*, 16. 2003:340 p. ISBN 0-07-121565-4.

References

1. Zherybyat'yev AS, Kamyshnyy AM. Regional'nyye osobennosti raspredeleniya kletok vrozhdennogo i adap-

- ativnogo immuniteta v razlichnykh otdelakh kishechnika kak opredelyayushchiye faktory lokalizatsii patologicheskogo protsessa [Regional features of the distribution of cells of innate and adaptive immunity in various parts of the intestine as determining factors for the localization of the pathological process]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2015;2(114):46-51. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/regionalnye-osobennosti-raspredeleniya-kletok-vrozhdenno-go-i-adaptivnogo-immuniteta-v-razlichnykh-otdelakh-kishechnika-kak> (in Russian).
2. Dobrodeyeva LK, Samodova AV, Patrakeyeva VP. Sootnosheniye mikroflory i reaktsiy vrozhdenno-go immuniteta v mukozno-assotsirovannoy limfoidnoy tkani [Correlation of microflora and innate immunity reactions in mucoso-associated lymphoid tissue]. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy* 2015;2:71-80. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/sootnoshenie-mikroflory-i-reaktsiy-vrozhdenno-go-immuniteta-v-mukozno-assotsirovannoy-limfoidnoy-tkani> (in Russian).
 3. Nagatake T, Fukuyama S, Sato S, Okura H, Tachibana M, Taniuchi I, et al. Central Role of Core Binding Factor β 2 in Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Organogenesis in Mouse. *PLOS ONE*. 2015;10(5):1-14. e0127460. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127460>
 4. Hryn' VH. Zahal'nyy pryntsyyp budovy limfoidnykh vuzlykiv u skladi peyerovykh blyashok tonkoyi kyshky bilykh shchuriv [The general principle of the structure of lymph nodes in the composition of peyer plaques of the small intestine of white rats]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2019;2,2(151):200-4. DOI:10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-200-204. (in Ukrainian).
 5. Khavkin AI, Blat SF. Mikrobiotsenoz kishechnika i immunitet [Intestinal microbiocenosis and immunity]. *Ros. Vestn. perinatol. i pediat.* 2011;1:66-72. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiotsenoz-kishechnika-i-immunitet> (in Russian).
 6. Khavkin AI. Mikroflora i razvitiye immunnoy sistemy [Microflora and the development of the immune system]. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2012;11(5):86-9. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikroflora-i-razvitiye-immunnoy-sistemy> (in Russian).
 7. Komban RJ, Strömberg A, Biram A, Cervin J, Lebrero-Fernández C, Mabbott N, et al. Activated Peyer's patch B cells sample antigen directly from M cells in the subepithelial dome. *Nat Commun*. 2019;Jun 3;10(1):2423. doi: 10.1038/s41467-019-10144-w.
 8. Dillon A, Lo DD. M Cells: Intelligent Engineering of Mucosal Immune Surveillance. *Front. Immunol*. 2019;10:1499. doi: 10.3389/fimmu.2019.01499.
 9. Nabeyama A, Leblond CP. "Caveolated cells" characterized by deep surface invaginations and abundant filaments in mouse gastro-intestinal epithelia. *The American journal of anatomy*. 1974;140(2):147-65.
 10. Bykov AS, Karaulov AV, Tsomartova DA, Kartashkina NL, Goryachkina VL, Kuznetsov SL, i dr. M-kletki – odin iz vazhnykh komponentov v initsiatsii immunnogo otveta v kishechnike [M cells are one of the important components in the initiation of an immune response in the intestine]. *Russian Journal of Infection and Immunity. Infektsiya i immunitet*. 2018;8(3):263-72. DOI:<https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-263-272> (in Russian).
 11. Kanaya T, Ohno H. The Mechanisms of M-cell Differentiation. *Biosci Microbiota Food Health*. 2014;33(3):91-7. doi: 10.12938/bmfh.33.91.
 12. Corr SC, Gahan CC, Hill C. M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;Jan52(1):2-12. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00359.x.
 13. Sehgal A, Kobayashi A, Donaldson DS, Mabbott NA. c-Rel is dispensable for the differentiation and functional maturation of M cells in the follicle-associated epithelium. *Immunobiology*. 2017;Feb;222(2):316-26. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2016.09.008>.
 14. Rouch JD, Scott A, Lei NY, Solorzano-Vargas RS, Wang J, Hanson EM, et al. Development of Functional Microfold (M) Cells from Intestinal Stem Cells in Primary Human Enteroids. *PLOS ONE*. 2016;Jan 28;11(1):e0148216. doi: 10.1371/journal.pone.0148216. eCollection 2016.
 15. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR, Mahajan A. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol*. 2013;6:666-77. doi:10.1038/mi.2013.30
 16. Rios D, Wood MB, Li J, Chassaing B, Gewirtz AT. Antigen sampling by intestinal M cells is the principal pathway initiating mucosal IgA production to commensal enteric bacteria. *Mucosal Immunol*. 2016;9:907-16. DOI: 10.1038/mi.2015.121.
 17. Fal'chuk YEL, Markov AG. Izucheniye bar'yernykh kharakteristik epiteliya peyerovykh blyashek krysy [The study of the barrier characteristics of the rat Peyer's plaque epithelium]. *Vestnik SPbGU. Seriya 3: Biologiya*. 2015;3(3):75-86. Available from: <http://proxy.library.spbu.ru:2110/item.asp?id=24307669> (in Russian).
 18. Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nature Immunology*. 2001;2:1004-1009. DOI: 10.1038/ni1101-1004.
 19. Sachiko O, Toshifumi Y, Keigi C, Midori Y, Tetsurou I, Wang-Mei Q, et al. Ultrastructural Study on the Differentiation and the Fate of M cells in Follicle-Associated Epithelium of Rat Peyer's Patch. *The Journal of veterinary medical science. The Japanese Society of Veterinary Science*. 2007;69:501-8.

DOI: 10.1292/jvms.69.501.

20. Rybakova AV, Makarova MN. Sanitarnyy kontrol' eksperimental'nykh klinik (vivariyev) v sootvetstvii s lokal'nymi i mezhdunarodnymi trebovaniyami [Sanitary control of experimental clinics (vivariums) in accordance with local and international requirements]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2015;4:81-9. Available from: <https://rucont.ru/efd/379080> (in Russian).

21. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. *St. Petersburg, Official Journal of the European Union*. 20.10.2010;276:33-79. <https://docplayer.ru/49033909-Direktiva-2010-63-eu-evropeyskogo-parlamenta-i-soveta-evropeyskogo-soyuza.html>.

22. Nakaz Ministerstva osvity i nauky, molodi ta sportu Ukrayiny № 249 vid 01.03.2012 r. «Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh» [Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine No. 249 of March 1, 2012 “On approval of the Procedure for conducting scientific experiments, experiments on animals” by scientific institutions]. *Ofitsiyyny visnyk Ukrayiny*. 2012;24:82. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12> (in Ukrainian).

23. Makarenko IE, Avdeeva OI, Vanati GV, Rybakova AV, Khodko SV, Makarova MN, et al. Vozmozhnyye puti i ob'yemy vvedeniya lekarstvennykh sredstv laboratornym zhyvotnym [Possible ways of administration and standard drugs in laboratory animals]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2013;3:8-84. (in Russian).

24. Rybakova AV, Makarova MN, Kukharenyk AY, Vichare AS, Ryuffer F. Sushchestvuyushchiye trebovaniya i podkhody k dozirovaniyu lekarstvennykh sredstv laboratornym zhyvotnym [Existing requirements and approaches to the dosage of drugs for laboratory animals]. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2018;8(4):207-17. DOI: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217> (in Russian).

25. Hryn VH. Planimetric correlations between Peyer's patches and the area of small intestine of white rats. *Reports of morphology*. 2018;2(24):66-72. DOI: [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24\(2\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24(2)-10).

26. Hryn VH, Kostylenko YuP, Korchan NA, Lavrenko DA. Strukturnyye formy follikul-assotsirovannogo epiteliya peyzerovykh blyashek tonkoy kishki belykh krysov [Structural forms of follicle-associated epithelium of Peyer's plaques of the small intestine of white rats]. *Georgian Med News*. 2019 Sep;(294):118-23. (in Russian).

27. Windoffer R, Beil M, Magin TM, Leube RE. Cytoskeleton in motion: the dynamics of keratin intermediate filaments in epithelia. *J Cell Biol*. 2011 Sep 5;194(5):669-78. doi: 10.1083/jcb.201008095.

28. El-Bassouny, Dalia R, Tarek E. Ultrastructural study on microfold cells and microvillus cells in the follicle-associated epithelium over Peyer's patches in albino rat. *The Egyptian Journal of Histology*. 2013;36(4):837-46. doi: 10.1097/01.EHX.0000437938.07612.a2.

29. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology: Text & Atlas, 10th Edition, Lange Edition*. McGraw Hill; 2003. 340 p.

СТРУКТУРА ЛИМФОИДНО-АССОЦИИРОВАННОГО ЭПИТЕЛИЯ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС

Резюме. Наиболее показательными и структурированными образованиями адаптивного иммунитета в слизистой оболочке кишечника является лимфоэпителиальные образования (пейеровы бляшки). Данные образования периферического отдела иммунной системы осуществляют косвенные эпителием механизмы взаимодействия между патогенной микрофлорой кишечника и иммунокомпетентными клетками, инициируя тем самым развитие иммунных реакций в слизистых оболочках. Целью данного исследования было установление формы и топологических соотношений М-клеток с другими типами энтероцитов, а также с лимфоидными элементами пейеровых бляшек тонкой кишки. Исследование осуществлено на 30 белых крысах-самцах репродуктивного возраста, массой 200,0±20,0 грамм. Объектом исследования были отрезки тонкой кишки с наличием в них пейеровых бляшек. Из полученных препаратов, заключенных в парафиновые блоки, изготавливали серийные срезы толщиной 4 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону, которые изучались с помощью светового микроскопа «Konus», оборудованного цифровой микрофотонасадкой Sigeta DCM-900 9.0MP. Установлено, что при сохранении общей формы строения пейеровы бляшки подвержены пластической изменчивости, зависящей от ситуационно изменяющихся факторов антигенного воздействия, то есть для них характерен функциональный полиморфизм. Особенно это касается их лимфоидно-ассоциированного эпителия. Идентификация М-клеток с помощью только одних традиционных гистологических методов на практике оказывается усложненной. И все же в процессе целенаправленного изучения серийных парафиновых срезов удалось обнаружить некоторые морфологические признаки, указывающие на место их расположения.

Ключевые слова: лимфоидно-ассоциированный эпителий, М-клетки, пейеровы бляшки, тонкая кишка, белые крысы.

THE STRUCTURE OF LYMPHOID-ASSOCIATED EPITHELIUM OF PEYER'S PATCHES OF THE ALBINO RATS' SMALL INTESTINE

Abstract. Over the past two decades, there have been many publications dealing with the further development of an urgent issue on the immune system of the mucous membranes of the digestive tract, called mucosa-associated lymphoid tissue (MALT), which includes spheres of innate (non-specific) and adaptive (specific) immunity. Most structured formations and indicators of adaptive immunity in the intestinal mucosa are lymphoepithelial formation (Peyer's patches). The data on the formation of the peripheral part of the immune system are carried through the epithelium, mechanisms of interaction between pathogenic intestinal microflora and immunocompetent cells, thereby initiating the development of immune responses in the mucous membranes. A concept has long been established in the literature, according to which a leading role in mediating these reactions belongs to a special type of enterocytes, called M-cells. Before the concept of the initial role of these cells in the development of immune responses in the mucous membranes of the intestinal tract they were known as caveolated cells. The purpose of this study was to determine the shape and topological relations of M-cells with other types of enterocytes, and also with lymphoid elements Peyer's patches of the small intestine. 30 mature albino male rats weighted $200,0 \pm 20,0$ g were involved into the study. After vivisection, which was carried out by an overdose of thiopental anesthesia (75 mg / kg of animal body weight intramuscularly in the upper third of the thigh of the hind paw) [1] in compliance with the requirements for dissection of the abdominal cavity, the entire complex of the gastrointestinal tract was removed, which was preserved in 10 % formalin solution. Subsequently, short sections of the small intestine, containing Peyer's patches, were selectively excised. Finding the latter was not difficult due to their clear visualization on the external (non-mesenteric) surface of the small intestine in the form of whitish spots. The specimens, after washing from formalin and dehydration in alcohol of increasing concentration, were embedded into paraffin blocks, from which serial sections of 4 μ m thick (Microm HM 325) were obtained with subsequent staining with hematoxylin-eosin and Van Gieson. Their study and documentation was carried out using the "Konus" light microscope equipped with the Sigeta DCM-900 9.0MP digital microphoto attachment and the Biorex 3 program (serial number 5604) adapted for these studies. In the study of many series of paraffin sections stained with hematoxylin-eosin, it was found that while maintaining the general shape of the structure, lymphoid nodules are susceptible to plastic variability, which depends on situationally changing factors of antigenic effect, i.e., functional polymorphism is characteristic of them. This is especially true of their lymphoid-associated epithelium, which appears in a rather diverse form, which depends not only on the section angle, but also, probably, on its reactive state. Thus, in some cases it is a relatively even monolayer of intestinal epithelium, consisting mainly of absorbing enterocytes, among which the most distinct are goblet cells. At the same time, it draws attention to itself that in the apical sections of some of them there are clear signs of rupture of the plasmolemma and the presence in the cytoplasm of basophilic granular fibrous material of an unknown nature. Along with this picture, other histological sections of large lymphoid nodules of Peyer's patches of the small intestine demonstrate a different configurational character of lymphoid-associated epithelium, in which the cluster principle of cell distribution in the form of limited portioned sets is clearly noted. While maintaining the general structural shape, Peyer's patches were found to be subjected to plastic variability, which depends on situationally changing factors of antigenic exposure, i.e., functional polymorphism is characteristic of them. This is especially true of their lymphoid-associated epithelium. Identification of M-cells using only traditional histological methods in practice is complicated. And yet, in the process of a focused study of serial paraffin sections, it was possible to detect some morphological signs indicating their location.

Key words: lymphoid-associated epithelium, M-cells, Peyer's patches, small intestine, albino rats.

Інформація про авторів:

Гринь Володимир Григорович – кандидат медичних наук, доцент кафедри анатомії людини Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава;

Костиленко Юрій Петрович – доктор медичних наук, професор кафедри анатомії людини Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава.

Information about authors:

Hryn Volodymyr H. – PhD, Associate Professor of the Department of Human Anatomy, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

Kostylenko Yuriy P. – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Human Anatomy, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

Надійшла 29.08.2019 р.

Рецензент – проф. Цигикало О.В. (Чернівці)